

الکتروریسی نانوکامپوزیت پلی یورتان تقویت شده با اکسید گرافن، نانوذرات سلنیوم و عصاره گیاه حنا برای کاربرد زخم پوش

شهاب سپانلو^۱، میثم جلالی^{۱*}، ابوالفضل میرزاپور ارمکی^{۲*}، سید علی پارسای گنج آور^۱

۱- گروه نانوفناوری، دانشکده فناوری‌های نوین، دانشگاه علم و صنعت ایران

۲- گروه نانوزیست فناوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس

*صندوق پستی ۱۶۸۴۶۱۳۱۱۴، تهران، ایران

maisam_jalaly@iust.ac.ir, a.mirzapour@modares.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۲۰

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۹

چکیده

جایگزینی بافت‌ها و اندام‌هایی که به دلیل ضربه یا بیماری‌های مختلف دچار اختلال شده‌اند، اجتناب ناپذیر است. یکی از روش‌هایی که می‌توان با بهینه سازی آن، به سرعت باز سازی زخم‌ها کمک کرد، ارتقای فناوری زخم‌پوش‌ها است. در پژوهش حاضر، با بهره‌گیری از خواص نانوالیاف‌های پلی‌یورتان و بهبود خواص آنها با افزودنی‌هایی شامل اکسید گرافن، نانوذرات سلنیوم و عصاره گیاه حنا، ارتقای عملکرد زخم‌پوش هدف‌گیری شد. به بیان دیگر، هدف از پژوهش حاضر، دستیابی به یک زخم‌پوش با ترکیب بهینه‌شده و حاوی عصاره گیاهی است تا خواص ترمیم زخم در آن ارتقا یابد. پس از یافتن غلظت بهینه متناسب با دستگاه الکتروریسی، از محلول ۱۲ درصد وزنی پلی‌یورتان در حلال DMSO برای تولید نانوالیاف زخم‌پوش استفاده شد. تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) تولید داربست‌هایی یکنواخت متشکل از نانوالیاف پلی‌یورتان را تایید کرد. برای بررسی عملکرد پارچه تولیدی به عنوان زخم‌پوش، خواص ضدباکتریایی و خواص مکانیکی پارچه مطالعه شد. برای نمونه کامپوزیتی پلی‌یورتان- اکسید گرافن- نانوذرات سلنیوم- عصاره حنا (PU-GO-Se-Henna) فعالیت ضدباکتریایی نسبت به دو باکتری *S.aureus* و *E. coli* به ترتیب برابر ۳/۲۶ و ۲/۸۵ بود که نشان‌دهنده ویژگی ضدباکتریایی مطلوب این نمونه است. این نمونه در آزمون کشش به استحکام پارگی ۹۲ مگا پاسکال رسید که نسبت به نمونه پلی‌یورتان خالص حدود ۱۰۴ درصد افزایش استحکام نشان داد.

کلید واژگان: زخم‌پوش، نانوکامپوزیت، پلی‌یورتان، الکتروریسی، باکتری.

۱-مقدمه

پوست انسان بزرگترین عضو بدن انسان است که اندام‌های داخلی را از محیط خارجی جدا می‌کند و اندام‌های درونی را از هر عامل مضری از جمله سموم، میکروب‌ها، میکروارگانیسم‌ها و اثرات مختلف شیمیایی و مکانیکی محافظت می‌کند. این بافت نرم می‌تواند به راحتی توسط انواع مختلف زخم‌ها و سوختگی‌ها آسیب ببیند. برای محافظت از زخم در برابر از دست دادن مایعات و پروتئین‌ها و تهاجم میکروارگانیسم‌های مضر بیرونی، زخم نیازمند پوشانده شدن است. بر این اساس، پانسمان زخم تکنیکی است که هدف آن محافظت از زخم‌ها در برابر عفونت و در عین حال بهبود سریع آن‌ها است [۱].

در مهندسی بافت، همیشه به جایگزینی بافت‌ها و اندام‌های آسیب دیده یا تغییر شکل داده شده نیاز است. در این خصوص، از جمله اهداف مهندسی بافت می‌توان به دستیابی به افزایش عملکرد اعضای بدن از طریق عناصه اصلی و مهم مانند سلول‌ها، فاکتورهای رشد و داربست اشاره کرد که سرعت پیوند و بازسازی را افزایش می‌دهند. داربست‌ها با شبیه‌سازی ماتریس خارج سلولی طبیعی نقش بسیار موثری در مهندسی بافت دارند [۲ و ۳]. در مورد زخم‌ها، استفاده از پانسمان‌هایی که ساختار داربستی با تخلخل بالا فراهم می‌آورند و به عنوان یک محافظ ضد باکتری در طول درمان زخم عمل کنند، به یک مرحله اجباری تبدیل شده است. یکی از روش‌های نوین بهبود و ترمیم سریع زخم‌ها، استفاده از نانوالیاف پلیمری برای تولید زخم‌پوش‌ها است [۴-۶].

داربست‌های پلیمری ویژگی‌های مختلفی، مانند زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری با نرخ متناسب با رشد بافت طبیعی و خواص مکانیکی قابل قبولی دارند. پرکاربردترین پلیمرهای سنتزی شامل موادی مانند پلی گلیکولیک اسید، پلی لاکتیک اسید، پلی یورتان و... هستند [۷-۹]. داربست‌های پلی یورتان به دلیل زیست سازگاری،

عملکرد مکانیکی عالی و انعطاف پذیری، توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده‌اند. پلی یورتان یکی از زیست سازگارترین مواد پلیمری است که به عنوان ماتریس خارج سلولی موقت در داربست‌های مهندسی بافت استخوانی استفاده می‌شود. کاربرد پلی یورتان در مهندسی بافت استخوان نیز تایید شده است. بر اساس مطالعات پیشین [۱۰ و ۱۱]، پلی یورتان یک پلیمر زیست سازگار با خواص مکانیکی خوب است که می‌تواند بدون سمیت با ارگانیسم زنده برخورد کند. از سویی در برخی از تحقیقات، از پلی یورتان در ترکیب با سایر پلیمرها (مثل پلیمرهای طبیعی) برای ساخت زخم‌پوش پلیمری سنتزی استفاده شده است که پلی یورتان با استحکام مکانیکی مطلوب در ترکیب با پلیمرهای طبیعی با خواص زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری مطلوب و فعالیت زیستی مناسب می‌تواند شرایط مطلوبی را برای غلبه بر کاستی‌های هر یک از پلیمرها فراهم سازد [۱۲ و ۱۳].

با استفاده از نانوالیاف، امکان تولید بسترهایی با تخلخل بالا و نسبت سطح به حجم زیاد فراهم می‌شود که می‌توان از آنها به عنوان پانسمان یا داربست‌های کشت سلول استفاده کرد. به طور معمول، نانوالیاف پلیمری پلی یورتان را می‌توان توسط روش‌هایی مانند الکتروریسی، تکنیک‌های کشش، سنتز الگو، جدایش فازی، خودآرایی، ریسندگی جت هوا، ریسندگی گریز از مرکز و پلیمریزاسیون سطحی تولید کرد. در این میان، تکنیک‌های جدایش فازی و خودآرایی به دلیل عدم توانایی در کنترل اندازه منافذ، ابعاد، هندسه و جهت‌گیری فضایی نانوالیاف تولید شده، در توسعه داربست‌های مورد نیاز برای انتقال اکسیژن و مواد مغذی به سلول‌های بدن کارایی لازم را نداشته‌اند [۱۴]. الیاف تولید شده به روش الکتروریسی دارای قطری بین ۳ نانومتر تا چند میکرومتر هستند، در حالی که الیاف حاصل از روش‌های دیگر معمولاً قطری بین ۵۰۰ نانومتر تا چند میکرومتر دارند [۱۵]. روش

الکتروریسی ویژگی‌های منحصر به فردی مانند سادگی، مقرون به صرفه بودن، تخلخل بالا (توزیع اندازه منافذ خوب) و تولید الیاف پیوسته است. در این روش می‌توان از انواع مواد زیستی برای تولید نانوالیاف استفاده کرد و به مقدار بسیار کمی محلول اولیه نیاز است [۱۶]. زخم‌پوش تهیه شده توسط روش الکتروریسی ساختاری میکرومتخلخل متشکل از الیافی با قطرهای مختلف از اندازه نانو تا میکرو دارد. این ساختار فیبری سطح ویژه قابل توجهی دارد و نه تنها برای اتصال سلول‌ها مناسب است، بلکه نفوذ اکسیژن را تسهیل و از تجمع مایع جلوگیری می‌کند. اخیراً از مواد غیر پلیمری یا پلیمری برای بهبود خواص نهایی سازه‌ها استفاده می‌شود. به عنوان نمونه، مواد افزودنی مانند هیدروکسی آپاتیت (HA)، کیتوسان و نانولوله‌های کربنی (CNT)، از اجزای اصلی ارتقا بخشی به داربست‌ها در مطالعات پیشین هستند [۱۷ و ۱۸].

در این پژوهش، برای تولید زخم‌پوشی با خواص مکانیکی قابل اعتماد و ویژگی‌های ضدباکتریایی بالا، سه افزودنی شامل اکسید گرافن (GO)، عصاره گیاه حنا^۱ و نانوذرات سلنیوم در نظر گرفته شده‌اند. گرافن و مشتقات آن به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد خود در سال‌های اخیر به عنوان مواد زیستی بالقوه، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. اکسید گرافن، به عنوان یکی از مهم‌ترین مشتقات گرافن، تعداد زیادی گروه آبدوست بر روی سطح خود دارد که امکان استفاده از آن در کاربردهای زیست‌فناوری، از جمله مهندسی بافت را افزایش می‌دهد. اگرچه اکسید گرافن برای دارورسانی، تحویل ژن و کشت انواع مختلف سلول‌ها استفاده شده است، اما شناخت سمیت سلولی آن همچنان بحث برانگیز است. به طور معمول، این باور وجود دارد که مقدار کم اکسید گرافن غیر سمی است و حتی می‌تواند هدایت سلولی را تحریک کند، در حالی که

غلظت بالای اکسید گرافن می‌تواند منجر به القاء استرس اکسیداتیو در سلول‌ها و از دست دادن زنده‌مانی سلول‌ها شود [۵، ۲۱-۱۹].

عصاره حنا به دلیل وجود ترکیبات فعال در آن مانند تانن‌ها، اسیدهای فنولیک، کینوئیدها، بتا-سترونها، زانتون‌ها، فلاونوئیدها، اسید گالیک، کومارین‌ها و مشتقات نفتالین، از جمله لائوسون (۲-هیدروکسی-۴-نفتوئیکون)^۲ دارای خاصیت ترمیم زخم است. لائوسون که به نام اسید هنوتانیک^۳ نیز شناخته می‌شود، یک رنگدانه قرمز-نارنجی است که به حنا خاصیت رنگی می‌دهد و مسئول فعالیت قارچ‌کشی حنا است. در بررسی مطالعات مختلف نیز به قابلیت ضد میکروبی و باکتریایی حنا در ترکیبات دیگر پرداخته شده است [۲۴-۲۲]. انتخاب حنا به عنوان ماده اولیه برای تولید زخم‌پوش‌ها، علاوه بر ویژگی‌های مفید آن از قبیل خاصیت ضد باکتریایی و ضد میکروبی، می‌تواند به دلایل تجاری‌سازی نیز جذابیت داشته باشد. حنا به عنوان یک ماده طبیعی و قابل دسترس، می‌تواند در بازار پرمصرف زخم‌پوش‌ها، که تخمین زده می‌شود حجم بازار جهانی آن به ۲۰٫۴ میلیارد دلار تا سال ۲۰۲۱ برسد، فرصت‌های جدیدی را ایجاد کند [۲۵].

سلنیوم یک ریزمغذی ضروری برای عملکرد مناسب مکانیسم‌های بیولوژیکی و متابولیک در بدن انسان است. کمبود سلنیوم منجر به ایجاد چندین اختلال مضر مانند سرطان، عصبی، عضلانی، ایمنی و... می‌شود. عموماً سلنیوم به دلیل کمبود، اثر فیزیولوژیکی و دوزهای سمی آن می‌تواند در محدوده غلظت بسیار محدودی به تصویر کشیده شود. مطالعه‌ی مروری انجام شده توسط بیشت و همکاران نشان می‌دهد که در مقادیر بهینه، سلنیوم به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند و از آن می‌توان برای کاربرد های ضد باکتریایی بهره برد [۲۶]. در یکی از مطالعات اخیر که بر خواص ضدباکتریایی سلنیوم متمرکز

³ Lawsone (Hennotannic acid)

¹Lawsonia inermis

² Lawsone (2-hydroxy-1,4-naphthoquinone)

(ابتدا به صورت مجزا و سپس، به صورت جمعی) بر زخم پوش پایه پلی یورتان بررسی می کند.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

گرانول پلی یورتان و عصاره حنا از نمونه های متداول موجود در بازار تجاری تهیه شدند. اکسید گرافن (GO) با غلظت ۴ گرم بر لیتر و خلوص ۹۸ درصد و سوسپانسیون نانوذرات سلنیوم با خلوص حداقل ۹۵ درصد از شرکت نانومواد گستران پارس خریداری شد. همچنین، حلال دی متیل فرمامید (DMF) از شرکت مرک تهیه شد.

۲-۲- فرایند الکتروریسی

در این پژوهش از دستگاه الکتروریسی مدل ES-۱۰۰۰ شرکت فناوران نانو مقیاس استفاده شد. پس از آماده سازی، محلول پلیمری برای انجام فرایند الکتروریسی به آرامی به داخل سرنگ کشیده شد تا حباب های هوا به محلول موجود در سرنگ وارد نشوند. دما داخل محفظه دستگاه با توجه به تاثیر مستقیم در ویسکوزیته محلول و تبخیر حلال لازم است که ثابت باشد، به همین منظور دما در ۴۰ درجه سانتی گراد تنظیم شد.

بر اساس آزمایشات انجام شده و مطالعات اولیه، شرایط الکتروریسی که شامل ولتاژ الکتروریسی، فاصله الکتروریسی، میزان روبش نازل، سرعت چرخش جمع کننده و دما برای فرایند الکتروریسی با پارامترهای جدول ۱ تعیین شد.

است، نانوذرات سلنیوم عمدتاً کروی و شبه کروی با پتانسیل زتای ۲۵/۶- میلی ولت و اندازه متوسط ۱۲۰ نانومتر سنتز شدند. ارزیابی های انجام شده فعالیت ضد باکتریایی قوی بر روی پنج پاتوژن در ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نشان دادند و دو باکتری *S. aureus* و *B. cereus* پس از ۱۲ ساعت از محلول حذف شدند [۲۷]. نانوذرات سلنیوم در مطالعات مختلفی در فرایند تولید زخم پوش ها استفاده شده اند. بیس واس و همکارانش خواص ضد باکتریایی کیتوسان/پلی وینیل الکل (CS/PVA) را در حضور نانومیله های سلنیوم بررسی و نتایج آن را با نانوذرات نقره مقایسه کردند. هر دو زخم پوش حاوی نانوذره CS-Ag و CS-Se فعالیت ضد باکتریایی خوبی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس (*S. aureus*) به عنوان باکتری گرم مثبت و اشرشیا کلی (*E. coli*) به عنوان باکتری گرم منفی نشان دادند [۲۸]. همچنین، رامیا و همکارانش تاثیر نانوذرات سلنیوم بیو سنتز شده (به شکل کروی) بر روی موش های آلبینو سوئسی برای درمان زخم را بررسی کردند. نتایج به دست آمده نشان داد که دوز بالای پماد حاوی ۱۰ درصد وزنی نانوذرات سلنیوم به طور موثر و سریع زخم را التیام می بخشد [۲۹].

با توجه به مطالعات انجام شده درباره افزودنی های مذکور که عمدتاً به صورت مجزا مورد مطالعه قرار گرفتند، پژوهش مشخصی یافت نشد که به صورت تجربی اثر افزودن این سه ماده را در زخم پوش ها و از منظر فعالیت ضد باکتریایی بررسی کرده باشد. از این رو، پژوهش حاضر، اثر افزودن عصاره حنا، اکسید گرافن، و نانوذرات سلنیوم

جدول ۱ پارامترهای تعیین شده برای الکتروریسی.

پارامتر	ولتاژ (kV)	طول روبش (mm)	سرعت روبش (mm/min)	نرخ تزریق (ml/h)	فاصله نوک سوزن تا درام (cm)	حجم سرنگ (ml)	سرعت چرخش درام (rpm)	دما (°C)
مقدار	۲۴	۸۰	۱۶۰	۱/۴	۱۵	۱۰	۱۱۵-۱۲۵	۴۰

۲-۳- تهیه محلول پلیمری

برای تهیه محلول پلی یورتان از حلال دی متیل سولفوکسید (DMSO) استفاده شد. ابتدا برای تعیین میزان غلظت مناسب برای فرایند الکتروریسی، محلول‌هایی حاوی ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۴ درصد وزنی پلی یورتان با استفاده از همزن مغناطیسی به مدت ۶ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۸۰۰ دور بر دقیقه هم زده شد تا به طور کامل مخلوط شوند و هیچ گرانولی داخل حلال باقی نماند. محلول ۶ درصد وزنی جهت فرایند الکتروریسی مناسب نبود و غلظت پایینی داشت و در نتیجه، فرایند الکتروریسی به درستی انجام نشد. محلول دارای ۱۴ درصد وزنی به دلیل غلظت بالای محلول، قابلیت عبور از سوزن سرنگ الکتروریسی را نداشت و این نمونه نیز کنار گذاشته شد. از میان محلول‌های حاوی ۸، ۱۰ و ۱۲ درصد وزنی پلی یورتان که غلظت مناسبی برای فرایند الکتروریسی نشان دادند، نمونه محلول حاوی ۱۲ درصد وزنی محصول یکنواخت‌تر و مناسبی تولید کرد و برای ادامه پژوهش از این درصد وزنی پلی یورتان استفاده شد.

۲-۴- تهیه محلول پلیمری حاوی افزودنی گرافنی

برای تهیه زخم‌پوش پلیمری پلی یورتان تقویت شده با اکسید گرافن، کلئوئید اکسید گرافن با غلظت ۴ گرم بر لیتر تهیه شد. پلیمر پلی یورتان به دلیل آب‌گریز بودن امکان مخلوط شدن با کلئوئید GO را نداشت، بنابراین نانوصفحات اکسید گرافن با استفاده از سانتریفیوژ و با سرعت ۸۰۰۰ دور بر دقیقه از آب موجود در محلول کلئوئیدی جدا شد، سپس، با دی متیل فرمامید (DMF) یک بار شسته شد و دوباره گرافن با استفاده از سانتریفیوژ از حلال DMF جدا شد تا مقدار آب به حداقل برسد. در نهایت، دوباره مقدار متناسبی DMF به رسوب اکسید گرافن اضافه شده و ۲ ساعت آلتراسونیک شد تا ترکیب یکنواختی از GO و DMF با غلظت ۴ گرم بر لیتر حاصل شود. کلئوئید اکسید گرافن در DMF با سرعت ۲ میلی لیتر

بر ساعت به میزان ۲ درصد وزنی پلی یورتان به محلول پلی یورتان در DMSO در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و با سرعت هم زدن ۱۲۰۰ دور بر دقیقه اضافه شده و به مدت ۱۲ ساعت به هم زدن ادامه داده شد. سپس، محلول ۱ ساعت نیز با توان متوسط با همگن‌ساز آلتراسونیک فراوری شد. ترکیب حاصل که شامل پلی یورتان، DMSO، GO و DMF بود با استفاده از همزن مغناطیسی در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد تا حلال DMF به طور کامل تبخیر شود و محلول به غلظت مناسبی برسد. سپس، محلول تهیه شده به آرامی داخل سرنگ کشیده شد و درون دستگاه الکتروریسی قرار داده شد. ۷ میلی لیتر از محلول در مدت ۵ ساعت الکتروریسی شد.

۲-۵- تهیه محلول پلیمری حاوی افزودنی عصاره حنا

جهت تهیه زخم‌پوش پلیمری پلی یورتان تقویت شده با حنا، از عصاره حنای ایرانی استفاده شد. به دلیل آب‌گریزی پلی یورتان نمی‌توان از روش‌های عصاره‌گیری که در آنها آب به کار می‌رود استفاده کرد [۳۰ و ۳۱]. بنابراین، از روش عصاره‌گیری آلتراسونیک برای گرفتن عصاره‌ی حنا استفاده شد. ۱۰ گرم حنا در داخل ۱۰۰ میلی لیتر حلال DMF ریخته شد و با دمای کنترل شده بین ۳۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد و توان ۱۰۰ وات آلتراسونیک شد. سپس، تفاله‌ی حنا توسط کاغذ فیلتر گرفته شد و عصاره مورد نظر به دست آمد. ۱۲ میلی لیتر از عصاره‌ی به دست آمده را با سرعت ۲ میلی لیتر بر ساعت به محلول پلی یورتان که در حال همزدن با همزن مغناطیسی با سرعت ۱۲۰۰ دور بر دقیقه و دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد است، اضافه و به مدت ۱۲ ساعت به همزدن ادامه داده شد تا به طور کامل اختلاط انجام شود. سپس، محلول ۱ ساعت با توان متوسط با همگن‌ساز آلتراسونیک فراوری شد. ترکیب حاصل که شامل پلی یورتان، DMSO، عصاره‌ی حنا و DMF بود با استفاده از همزن مغناطیسی در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد تا حلال DMF تبخیر شود. محلول تهیه

شده به آرامی داخل سرنگ کشیده شد و درون دستگاه الکتروریسی قرار داده شد. ۷ میلی لیتر از محلول در مدت ۵ ساعت الکتروریسی شد.

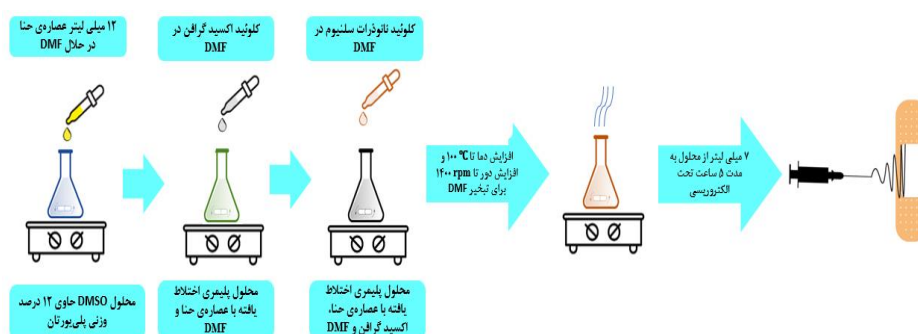
۶-۲- تهیه محلول پلیمری حاوی افزودنی نانوذرات سلنیوم

برای تهیه زخم پوش پلیمری پلی یورتان تقویت شده با نانوذرات سلنیوم، ابتدا کلویید آبی سلنیوم با غلظت ۱ گرم بر لیتر تأمین شد. به دلیل آبگریز بودن پلی یورتان، کلویید سلنیوم امکان مخلوط شدن با محلول پلی یورتان را نداشت، بنابراین نانوذرات سلنیوم با استفاده از سانتریفیوژ و با سرعت ۸۰۰۰ دور بر دقیقه از آب جدا شده و سپس به مدت ۷ ساعت داخل آون در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا کامل خشک شود. سپس، نانوذرات دوباره در DMF توزیع شده و به مدت ۱ ساعت آلتراسونیک شدند. محلول DMF حاوی نانوذرات سلنیوم با محلول ۱۲ درصد وزنی پلی یورتان در حلال DMSO توسط همزن مغناطیسی در دمای ۶۰ C درجه سانتی گراد و سرعت ۱۲۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۲ ساعت هم زده شد تا ترکیبی یکنواخت حاصل شود. سپس، دما به ۱۰۰ درجه سانتی گراد رسانده شد تا حلال DMF به طور کامل تبخیر شود و به غلظت مناسب برسد. جهت ساخت زخم پوش پلیمری پلی یورتان تقویت شده با نانوذرات

سلنیوم، محلول تهیه شده را به آرامی داخل سرنگ کشیده شد و درون دستگاه قرار داده شد. ۷ میلی لیتر از محلول در مدت ۵ ساعت الکتروریسی شد.

۷-۲- تهیه محلول پلیمری حاوی افزودنی گرافن، عصاره حنا و نانوذرات سلنیوم

در نهایت نمونه ای ساخته شد که به صورت همزمان دارای هر سه افزودنی اکسید گرافن، عصاره حنا و نانوذرات سلنیوم بود. بدین منظور، ابتدا کلویید DMF حاوی اکسید گرافن با غلظت ۴ گرم بر لیتر، محلول DMF حاوی عصاره حنا، و محلول DMF حاوی نانوذرات سلنیوم به ترتیب به محلول ۱۲ درصد وزنی پلی یورتان در حلال DMSO اضافه شدند و کل محلول با استفاده از همزن مغناطیسی با سرعت ۱۵۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ ساعت ترکیب شدند تا به طور کامل مخلوط شوند. سپس، دما تا ۱۰۰ درجه سانتی گراد افزایش داده شد تا حلال دی متیل فرامید به طور کامل حذف شود. محلول تهیه شده به آرامی داخل سرنگ کشیده شد و درون دستگاه قرار داده شد. سپس، ۷ میلی لیتر از محلول توسط دستگاه الکتروریسی در ولتاژ ۲۴ کیلو ولت الکتروریسی شد. روندنمای تهیه نانوالیاف از محلول حاوی هر سه افزودنی در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱ روندنمای تهیه نانوالیاف حاوی هر سه افزودنی اکسید گرافن، عصاره حنا، و نانوذرات سلنیوم.

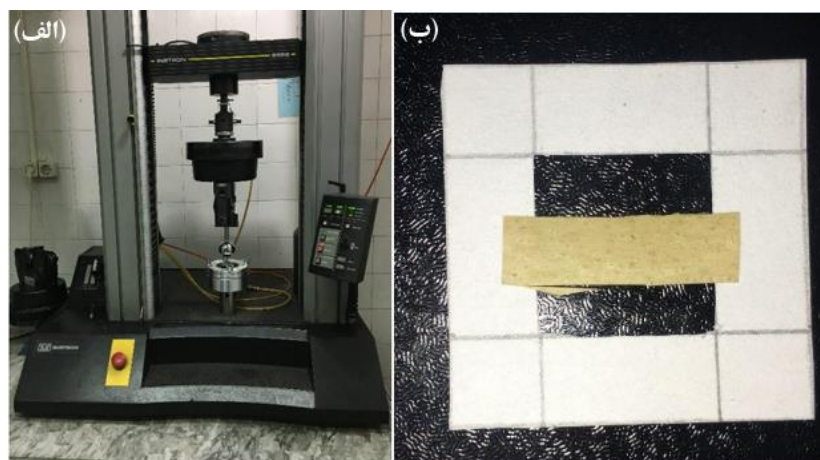
۲-۸- آزمون‌ها و مشخصه‌یابی

برای بررسی مورفولوژی نانوالیاف تهیه‌شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل FEI Quanta 200 با ولتاژ ۳۰ کیلوولت استفاده شد. بررسی خاصیت ضد باکتریایی زخم‌پوش‌های تولید شده بر طبق استاندارد ۱۰۹۰۰ انجام شد. نمونه‌ها با ابعاد 50×50 میلی‌متر مربع تهیه شدند و زخم‌پوش پلی‌یورتان عاری از هر گونه افزودنی به‌عنوان نمونه شاهد استفاده شد. برای بررسی این خاصیت، از دو نوع باکتری / ستافیلوکوکوس / اورئوس (گرم مثبت، *S. aureus*) با شماره مرجع ATCC6538 و باکتری / اشرشیا کلی (گرم منفی، *E. Coli*) با شماره مرجع ATCC8739 استفاده شد. مقدار کلونی‌های شمارش شده بعد از رقیق‌سازی، برای باکتری *S. aureus* برابر با 2×10^6 CFU/ml و برای باکتری *E. Coli* برابر با 2×10^6 CFU/ml بود. سوپانسیون ۰/۵ مک فارلند از هر دو نوع باکتری در محلول آبی نوترینت براث (۰/۱ میلی‌لیتر نوترینت براث در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر) تهیه شد. نمونه زخم‌پوش بر روی شیشه‌های استریل و سپس در پلیت استریل خالی قرار داده شدند. ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی باکتری زیر هود لامینار روی زخم‌پوش مستقر روی لام شیشه‌ای ریخته

شد. بعد از ۲۴ ساعت قرارگیری در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ میلی‌لیتر پپتون واتر با غلظت ۰/۱ در صد برای شست‌شوی نمونه آغشته به سوپانسیون باکتری مصرف شد. ۱ میلی‌لیتر از مایع شسته‌شده برداشته و با ۹ میلی‌لیتر پپتون واتر جدید رقیق‌سازی شد. دوباره ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول رقیق‌شده برداشته و به پلیت کانت آگار منتقل و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. برای بررسی خاصیت ضد باکتریایی زخم‌پوش‌ها، لگاریتم تعداد باکتری‌های زیست‌پذیر بازایی شده بلافاصله و بعد از گذشت ۲۴ ساعت در انکوباتور توسط کلونی‌شمار دیجیتال شمارش شده و نتیجه آزمایش توسط این دو عدد و مقایسه با نمونه شاهد، از طریق رابطه زیر گزارش می‌شود:

$$R = (U_t - U_0) - (A_t - U_0) = U_t - A_t$$

در این رابطه، R فعالیت ضد باکتریایی، U_0 میانگین لگاریتم تعداد باکتری‌های زیست‌پذیر بازایی شده در نمونه‌های آزمایش‌نشده بلافاصله، U_t میانگین لگاریتم تعداد باکتری‌های زیست‌پذیر بازایی شده در نمونه شاهد بعد از ۲۴ ساعت، و A_t میانگین لگاریتم تعداد باکتری‌های زیست‌پذیر بازایی شده در نمونه تقویت‌شده بعد از ۲۴ ساعت است.



شکل ۲ الف) دستگاه مورد استفاده در آزمون کشش. ب) نمونه مورد استفاده در آزمون کشش.

برای بررسی خواص مکانیکی و استحکام زخم‌پوش‌های تولید شده، آزمون کشش با استفاده از دستگاه Instron 5566 انجام شد (شکل ۲-الف). در این راستا هر کدام از زخم‌پوش‌ها به شکل مستطیل به طول ۲ سانتی‌متر و عرض ۰/۵ سانتی‌متر برش داده و درون قالب کاغذی 2×2 سانتی‌متر مربع چسبانده شد (شکل ۲-ب). قالب آماده شده درون فک‌های بالایی و پایینی دستگاه قرار گرفت و آزمون کشش با نرخ ۱ میلی‌متر بر دقیقه انجام شد.

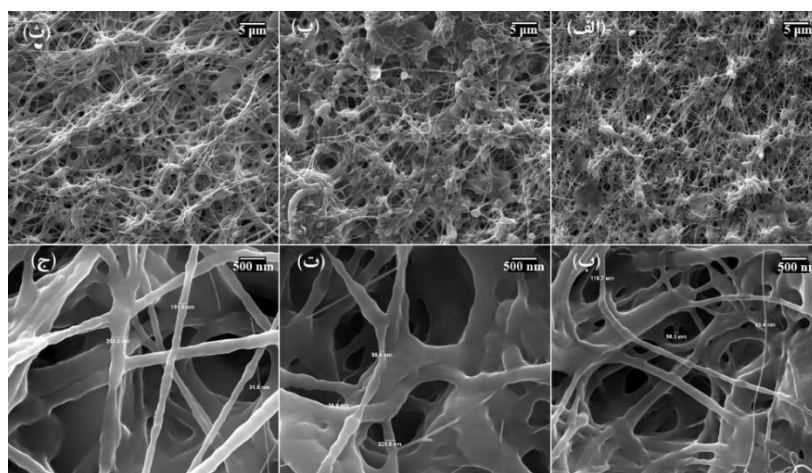
۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی مورفولوژیکی تشکیل نانوالیاف

تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای سه نمونه نانوالیاف پلی‌یورتان با غلظت ۸، ۱۰ و ۱۲ درصد وزنی در شکل ۳ نشان داده شده است. در فرایند الکتروریسی تمامی پارامترهای دستگاه یکسان بوده است (جدول ۱). این آزمون جهت انتخاب درصد وزنی مناسب و بررسی یکنواختی نانوالیاف و میزان قطره‌ای شدن انجام شد.

در بزرگنمایی بالاتر در شکل ۳-الف مشاهده می‌شود که مقداری از محلول به صورت قطره‌ای پاشش شده است و این پاشش قطره‌ای از تبخیر حلال پلیمر جلوگیری کرده و

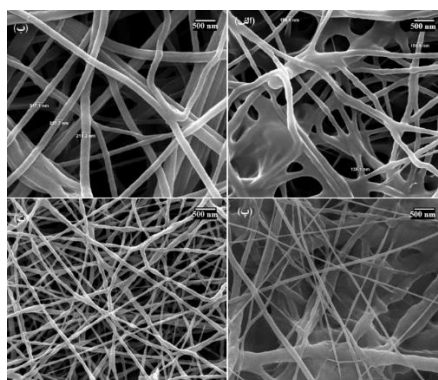
باعث دیده شدن سطح‌های می‌شود که نانوالیاف در آنها تشکیل نشده است یا گلوله‌های بزرگی را شکل داده است. شکل ۳-پ نانوالیاف پلی‌یورتان با ۱۰ درصد وزنی را نشان می‌دهد که پاشش قطره‌ای نسبت به نمونه ۸ درصد کمتر است اما همچنان در تصاویر مشاهده می‌شود. در نمونه ۱۲ درصد وزنی (شکل ۳-ث) پاشش قطره‌ای به میزان زیادی کاهش یافته و به حداقل رسیده است. در بزرگنمایی بالاتر برای نمونه ۸ درصد وزنی در شکل ۳-ج، ب اختلاف زیادی در قطر نانوالیاف تولید شده دیده می‌شود. در نمونه ۱۰ درصد وزنی میزان نظم نانوالیاف نسبت به نمونه ۸ درصد وزنی نیز کمتر شده است و اختلاف در قطر نانوالیاف بیشتر شده است. اما در نمونه ۱۲ درصد وزنی (شکل ۳-ج) مشاهده می‌شود که الیاف به خوبی در هم‌گره خورده و نظم مناسبی دارند. همچنین قطر نانوالیاف برای این نمونه اختلاف کمتری با یکدیگر دارند. از این‌رو، غلظت بهینه برای محلول پلیمری ۱۲ درصد وزنی انتخاب شد و در تمام پژوهش از آن بهره گرفته شد. میانگین قطر نانوالیاف در این نمونه حدود ۲۰۰ نانومتر حاصل شد. شکل ۴ تصاویر SEM از نانوالیاف حاوی افزودنی‌ها به صورت مجزا (الف، ب، پ) و ترکیبی (ت) را نشان می‌دهد.



شکل ۳ تصاویر SEM از داربست حاوی نانوالیاف حاصل از الکتروریسی محلول پلی‌یورتان در حلال DMSO به میزان (الف و ب) ۸ درصد وزنی (پ و ت) ۱۰ درصد وزنی و (ث و ج) ۱۲ درصد وزنی در بزرگنمایی‌های مختلف.

ریزساختار زخم پوش حاوی افزودنی GO در شکل ۴-الف دیده می شود. قطر نانوالیاف تولید شده تقریباً یکسان و هم اندازه شده است. همچنین میانگین قطر نانوالیاف پلیمری تقویت شده با GO نسبت به قطر نانوالیاف پلی یورتان خالص کمتر شده است که احتمالاً به دلیل افزایش رسانایی و کاهش ویسکوزیته محلول است [۳۲]. همچنین، تشکیل گلوله ها روی الیاف کمتر شده و محلول بهتر الکتروریسی شده است که در نتیجه نانوالیاف کشیده تر، طولانی تر و منظم تر شده است. همان طور که در شکل ۴-ب مشاهده می شود، عصاره حنا تأثیر چشمگیری در چیدمان نانوالیاف داشته است به طوری که الیافی صاف، بدون نقص و بسیار منظم تشکیل شده است. اندازه قطر نانوالیاف (میانگین حدود 200 ± 20 نانومتر) نیز در اغلب رشته ها هم اندازه می باشد. همچنین، اثر تشکیل گلوله ها در این نمونه مشاهده نشد که نشان می دهد عصاره حنا نقش موثری در الکتروریسی پذیری الیاف دارد. شکل ۴-پ مورفولوژی رشته های حاوی افزودنی نانوذرات سلنیوم را نشان می دهد. مشاهده می شود که در این نمونه قطر نانوالیاف تولیدی از یکنواختی بالایی برخوردار نیست. این امر احتمالاً به دلیل افزایش غلظت محلول است که در اثر ورود نانوذرات سلنیوم رخ داده است. همچنین، میزان پاشش قطره ای (میزان گلوله ای شدن الیاف) نسبت به نمونه

پلی یورتان خالص افزایش داشته است. پاشش محلول به صورت قطره ای باعث می شود حلال طی فرایند الکتروریسی نتواند به صورت کامل تبخیر و الیاف کشیده شود، در نتیجه میزان تخلخل میان رشته ها کاهش شدیدی خواهد داشت [۲۷]. مورفولوژی رشته های پلی یورتان حاوی هر سه افزودنی GO، عصاره حنا و نانوذرات Se در شکل ۴-ت نشان داده شده است. نانوالیاف تولید شده صاف، بدون نقص و منظم هستند که به نظر می رسد این صافی سطح بالای رشته ها متأثر از وجود عصاره حنا باشد. از طرفی پاشش قطره ای به حداقل رسیده و باعث امتزاج پذیری و پراکندگی خوبی از اکسید گرافن و سلنیوم شده است. قطر نانوالیاف نهایی کاهش قابل ملاحظه ای (حدود 100 ± 10 نانومتر) کرده است. تصاویر مندرج در شکل ۴ (به ویژه نانوالیاف حاوی تمام افزودنی ها در شکل ۴-ت) نشان می دهند که خلل و فرج مناسبی در میان داربست حاصل از نانورشته ها در این نمونه ها به وجود آمده است و پراکندگی مناسبی از تخلخل نیز در شکل ۴-ت قابل مشاهده است. وجود تخلخل مناسب میان نانورشته ها ضمن امکان برقراری تماس موثر میان داربست و سلول ها، اجازه نفوذ و انتشار اکسیژن از هوا به پوست را خواهد داد که راهی موثر برای تسریع روند بهبود زخم محسوب می شود [۳۳].



شکل ۴ مقایسه ی داربست های حاوی نانوالیاف پلی یورتان به همراه انواع افزودنی ها: الف) اکسید گرافن، ب) عصاره ی حنا، پ) نانوذرات سلنیوم، ت) همه افزودنی ها.

۳-۲- بررسی رفتار ضدباکتریایی

فعالیت ضدباکتریایی زخم پوش های تولید شده در این پژوهش بر اساس استاندارد ملی ۱۰۹۰۰ و بر روی دو نوع باکتری *S. aureus* (گرم مثبت) و *E. Coli* (گرم منفی) انجام شد. میانگین لگاریتم تعداد باکتری های بازیابی شده بعد از ۲۴ ساعت در زخم پوش های پلیمر تقویت شده با GO، عصاره حنا، نانوذرات سلنیوم و ترکیب آنها گزارش شد. برای اطمینان از اینکه گزارش فوق تحت تاثیر مرگ طبیعی باکتری ها بوده است یا خیر، آزمون بررسی فعالیت ضدباکتریایی روی نمونه ی پلی یورتان خالص نیز انجام شد و میانگین لگاریتم تعداد باکتری های بازیابی شده بعد از ۲۴ ساعت در این نمونه نیز گزارش شد. بر اساس استاندارد مذکور، در صورتی که اختلاف میانگین لگاریتم تعداد باکتری های بازیابی شده بعد از ۲۴ ساعت در نمونه های تقویت شده و نمونه شاهد که به نام فعالیت ضد باکتریایی نمونه (R) شناخته می شود، مساوی یا بیشتر از عدد ۲ باشد، نمونه این استاندارد را پاس کرده و به عنوان نمونه ی دارای ویژگی ضد باکتریایی شناخته خواهد شد. برای بررسی خاصیت ضد باکتریایی زخم پوش ها، لگاریتم تعداد باکتری های زیست پذیر بازیابی شده بلافاصله و بعد از گذشت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد توسط کلنی شمار دیجیتال شمارش می شود و نتیجه آزمایش توسط این دو عدد و مقایسه با نمونه شاهد، از طریق رابطه ۱ گزارش می شود. نتایج این ارزیابی در جدول ۲ و شکل ۵ نشان داده شده است.

بر اساس نتایج حاصله فعالیت ضدباکتریایی زخم پوش پلی یورتان تقویت شده با اکسید گرافن در برابر هر دو باکتری خیلی کمتر از عدد ۲ می باشد و بنابراین، استاندارد ۱۰۹۰۰ را پاس نمی کند. پیش از این، در مطالعه ای Pant و همکارانش [۳۴] از اکسید گرافن به میزان ۲ در صد وزنی پلی یورتان استفاده کردند و نانوالیاف تولید شده آنها خاصیت ضدباکتریایی از خود نشان داد. البته در پژوهش

این محققین، سطح نانوصفحات اکسید گرافن به نانوذرات نقره (که به عنوان یک ماده ضدباکتری بسیار قوی شناخته می شود) متصل شده بود و اغلب فعالیت ضدباکتریایی مناسب آنها به دلیل وجود این افزودنی بود. به هر حال، رفتار ضعیف نمونه حاوی GO هنوز به خوبی روشن نیست.

فعالیت ضد باکتریایی زخم پوش پلی یورتان تقویت شده با عصاره حنا در برابر هر دو باکتری تقریباً ۲/۳ بود که مقدار مناسبی است و معیار استاندارد را برآورده می کند. این رفتار به خواص ضدباکتریایی طبیعی عصاره حنا مربوط می شود. توصیف مکانیزم بازدارندگی عصاره حنا به دلیل تعداد زیاد ترکیبات آن دشوار است. پیش از این نیز، محققین نشان دادند که استفاده از عصاره حنا در ضدباکتریایی کردن نخ ابریشمی [۳۵] و فیلم های ژلاتینی [۳۶] موثر بوده و سهم بسزایی داشته است. ترکیبات شیمیایی اصلی حنا شامل لاوسون (۲-هیدروکسی نفتوکینون)، موسیلاژ، مانیت، اسید گالیک و اسید تانیک است که مسئول فعالیت های بیولوژیکی عصاره برگ حنا هستند [۳۷]. مکانیسم احتمالی فعالیت ضد باکتریایی عصاره حنا ممکن است به وجود هیدروکسیل های آزاد متعدد در اجزای شیمیایی اصلی عصاره حنا مرتبط باشد که قابلیت ترکیب با کربوهیدرات ها و پروتئین های دیواره سلولی باکتری را دارند. آنها ممکن است به مکان های آنزیمی متصل شوند و آنها را غیرفعال کند [۳۸]. بنابراین زخم پوش پلی یورتان تقویت شده با عصاره حنا به دلیل اثر ضد باکتریایی مناسب خود می تواند نقش موثری در تسریع روند بهبود زخم و ترمیم بافت پوست داشته باشد.

نانوذرات سلنیوم موجب فعالیت ضدباکتریایی ۲/۹۵ و ۲/۸۲ به ترتیب برابر باکتری های *S. aerues* و *E. coli* شده است که از رفتار عصاره حنا نیز بالاتر است. به طور کلی سلنیوم دارای خواص ضدسرطانی و ضد میکروبی بوده که می تواند به سلامت انسان کمک کند و نه تنها به عنوان

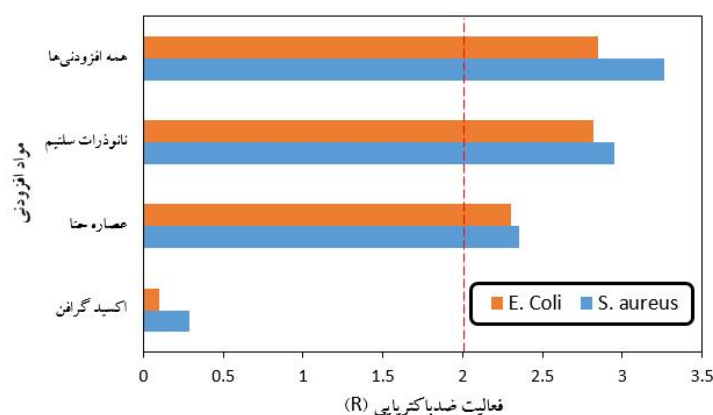
مکمل های تغذیه ای، بلکه به عنوان داروهای درمانی نیز شناخته می شود [۳۹].

بر اساس نتایج مندرج در جدول ۲، فعالیت ضدباکتریایی زخم پوش پلی یورتان تقویت شده با گرافن، عصاره حنا و نانوذرات سلنیوم در برابر باکتری های *E. coli* و *S. aerues* به ترتیب ۳/۲۶ و ۲/۸۵ است. بنابراین، فعالیت ضدباکتریایی این نمونه نیز بیشتر از عدد ۲ است و استاندارد ۱۰۹۰۰ را کسب می کند. این میزان نشان دهنده

بیشترین فعالیت ضدباکتریایی زخم پوش در بین همه نمونه ها می باشد. بنابراین، می توان گفت که ترکیب نانوذرات سلنیوم و عصاره حنا تاثیر بسیار بالایی در فعالیت ضد باکتریایی داشته اند. همچنین، مطابق شکل ۵ دیده می شود که تمام نمونه ها فعالیت ضدباکتریایی بالاتری در برابر باکتری *S. aerues* (گرم مثبت) در مقایسه با *E. coli* (گرم منفی) از خود نشان دادن

جدول ۲ نتایج آزمون فعالیت ضدباکتریایی با دو نوع باکتری گرم مثبت و گرم منفی برای همه نمونه ها

پارامتر	باکتری <i>S. aureus</i>	باکتری <i>E. Coli</i>
میانگین لگاریتم تعداد باکتری های بازیابی شده نمونه شاهد پس از ۲۴ ساعت (CFU/cm^2)	۴/۸۶	۴/۷۷
میانگین لگاریتم تعداد باکتری های بازیابی شده نمونه تقویت شده با اکسید گرافن پس از ۲۴ ساعت (CFU/cm^2)	۴/۵۷	۴/۶۷
فعالیت ضد باکتریایی نمونه تقویت شده با اکسید گرافن (RGO)	۰/۲۹	۰/۱۰
میانگین لگاریتم تعداد باکتری های بازیابی شده نمونه تقویت شده با عصاره حنا بعد از ۲۴ ساعت (CFU/cm^2)	۲/۵۱	۲/۴۷
فعالیت ضد باکتریایی نمونه تقویت شده با عصاره حنا (RH)	۲/۳۵	۲/۳۰
میانگین لگاریتم تعداد باکتری های بازیابی شده نمونه تقویت شده با نانوذرات سلنیوم بعد از ۲۴ ساعت (CFU/cm^2)	۱/۹۱	۱/۹۵
فعالیت ضد باکتریایی نمونه تقویت شده با نانوذرات سلنیوم (RSe)	۲/۹۵	۲/۸۲
میانگین لگاریتم تعداد باکتری های بازیابی شده نمونه تقویت شده با اکسید گرافن، عصاره حنا و نانوذرات سلنیوم بعد از ۲۴ ساعت (CFU/cm^2)	۱/۶۰	۱/۹۲
فعالیت ضد باکتریایی نمونه تقویت شده با اکسید گرافن، عصاره حنا و نانوذرات سلنیوم (RT)	۳/۲۶	۲/۸۵



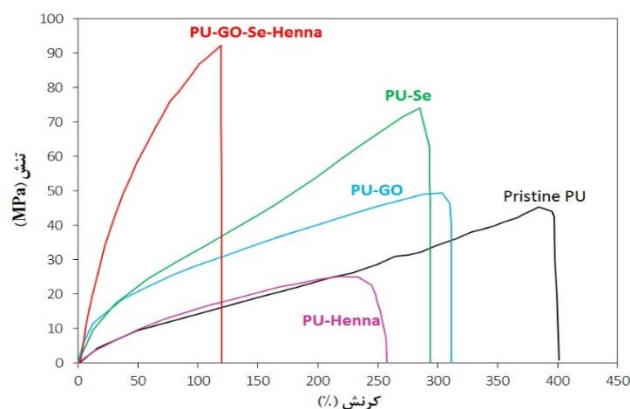
شکل ۵ مقایسه ی فعالیت ضدباکتریایی برای نمونه های نانوالیاف پلی یورتان حاوی افزودنی های مختلف.

۳-۳- بررسی رفتار مکانیکی زخم پوش ها

یکی از مهم ترین خواص مورد بررسی برای تعیین کارایی نانورشته ها، تعیین حداکثر نیروی کششی است که می تواند در راستای محور تحمل کنند [۴۰ و ۴۱]. با توجه به رابطه مستقیم نیرو و ضخامت ساختار، معمولاً به جای نیرو از نسبت آن به ضخامت و یا همان تنش کششی استفاده می شود. یکی دیگر از پارامترهای مهم در تست کشش، میزان کرنش در نقطه گسیختگی (حداکثر تنش) است. این کمیت میزان تغییر طول نمونه نسبت به طول اولیه آن را بر حسب درصد بیان می کند. کرنش در نقطه UTS در واقع میزان تغییر طول ساختار در زمان تحمل حداکثر نیروی وارد شده را ارائه می دهد. منحنی تنش بر حسب کرنش در آزمون کشش مهم ترین نتیجه این بررسی است. منحنی تنش - کرنش حاصله برای نمونه های زخم پوش در شکل ۶ نشان داده شده است.

با توجه به شکل ۶، میزان استحکام گسیختگی (تنش حداکثر) برای نمونه های پلی یورتان خالص (Pristine PU)، کامپوزیت پلی یورتان-عصاره حنا (PU-Henna)، کامپوزیت پلی یورتان-اکسید گرافن (PU-GO)، کامپوزیت پلی یورتان-نانوذرات سلنیوم (PU-Se)، و کامپوزیت پلی یورتان-اکسید گرافن-عصاره حنا-نانوذرات سلنیوم (PU-GO-Se-Henna) به ترتیب برابر ۴۵، ۲۵، ۵۰، ۷۳ و

۹۲ مگا پاسکال به دست آمد. از این نتایج مشخص می شود که افزودنی حنا با اینکه فعالیت ضدباکتریایی قوی از خود نشان داد، اما استحکام زخم پوش را به شدت (حدود ۴۵ درصد) کاهش داده است. بنابراین، افزودن عصاره حنا به تنهایی به زخم پوش پلی یورتانی نمی تواند گزینه مناسبی تلقی شود. افزودن GO تنها (نمودار آبی رنگ) نیز باعث تغییر محسوس استحکام زخم پوش نشده است. از آنجا که رفتار ضدباکتریایی نمونه حاوی اکسید گرافن نیز مطلوب نبود، بنابراین، افزودن تنهای GO نیز توصیه نمی شود. نمونه کامپوزیتی حاوی نانوذرات سلنیوم ۴۲ درصد افزایش استحکام نسبت به پلی یورتان نشان داد. این نمونه فعالیت ضدباکتریایی خوبی نیز نشان داده بود. نمونه کامپوزیتی حاوی همه افزودنی ها ۱۰۴ درصد افزایش استحکام کششی نشان داد و بهترین نمونه هم از جنبه مکانیکی و هم از جنبه فعالیت ضدباکتریایی شناخته شد. این افزایش استحکام پارگی می تواند به دلیل اتصال مکانیکی نانو صفحات اکسید گرافن و نانوذرات سلنیوم برهمکنش قوی بین آنها باشد. البته نمونه PU-GO-Se-Henna کاهش قابل ملاحظه ای در ازدیاد طول (کرنش نقطه پارگی) نشان داد و از حدود ۴۰۰ درصد برای PU خالص به ۱۲۰ درصد تنزل یافت. این امر به منزله کاهش ارتجاعیت زخم پوش خواهد بود.



شکل ۶ نمودار تنش - کرنش حاصل از انجام آزمون کشش روی تمام نمونه های زخم پوش.

۴- نتیجه گیری

در پژوهش حاضر، هدف رسیدن به داربست‌های زیستی متشکل از نانوالیاف پلی‌یورتان برای استفاده به‌عنوان زخم پوش بود به نحوی که اضافه کردن افزودنی‌های گیاهی باعث ایجاد یک رفتار ضدباکتریایی مناسب شود. تصاویر ریزساختاری نشان داد که نانوالیاف تولیدشده از محلول حاوی ۱۲ در صد وزنی پلیمر مورفولوژی صاف و منظمی دارند. اثر افزودن اکسید گرافن، عصاره حنا، و نانوذرات سلنیوم به‌صورت مجزا و ترکیب‌شده با هم به نانوالیاف پلی‌یورتان بر مورفولوژی، فعالیت ضدباکتریایی و رفتار مکانیکی زخم‌پوش مورد مطالعه قرار گرفت. اکسید گرافن و عصاره حنا الیاف خیلی صاف و منظم با اندازه قطر یکنواختی تولید کردند اما نانورشته‌های حاوی نانوذرات Se قطر متغیری به همراه گلوله‌های باقیمانده روی سطح الیاف از خود بروز دادند. نانورشته‌های حاوی افزودنی ترکیبی (حنا-Se-Go) نیز بهترین مورفولوژی از منظر صافی سطح و قطر نازک (۱۰۰ نانومتر) را دارا بودند. از بین چهار نمونه پلی‌یورتان تقویت‌شده، نمونه حاوی اکسید گرافن فعالیت ضدباکتریایی نشان نداد، اما سایر نمونه‌ها معیار استاندارد را برآورده ساختند و بیشترین فعالیت ضدباکتریایی در برابر دو باکتری *S.aureus* و *E. coli* به نمونه کامپوزیت PU-GO-Se-Henna تعلق داشت. استحکام مکانیکی نمونه ترکیبی نیز با ۱۰۴ درصد رشد نسبت به زخم‌پوش تهیه‌شده از پلی‌یورتان خالص، بیشترین استحکام کششی را از خود نشان داد.

۵- منابع

- [3] Braghirolli, D.I., Steffens, D., Pranke, P. (2014) Electrospinning for regenerative medicine: a review of the main topics. *Drug Discovery Today*. 19, 743–53.
- [4] Rusu, L., Ardelean, L.C., Jitariu, A., Miu, C.A., Streian, C.G. (2020) An Insight into the Structural Diversity and Clinical Applicability of Polyurethanes in Biomedicine. *Polymers*. 12(5), 1197.
- [5] Ghorbani, F., Zamanian, A., Aidun, A. (2019) Bioinspired polydopamine coating-assisted electrospun polyurethane-graphene oxide nanofibers for bone tissue engineering application. *J Appl Polym Sci*. 136(24), 47656.
- [6] El-Sherbiny I.M., Ali I.H. (2015) Eco-friendly Electrospun Polymeric Nanofibers-Based Nanocomposites for Wound Healing and Tissue Engineering. In: *Eco-friendly Polymer Nanocomposites*. Edited by Thakur, V.K., Springer, Berlin, p. 399–431.
- [7] Garg, T., Rath, G., Goyal, A.K. (2015) Biomaterials-based nanofiber scaffold: targeted and controlled carrier for cell and drug delivery. *J Drug Target*. 23(3), 202–221.
- [8] Xu, R., Fang, Y., Zhang, Z., Cao, Y., Yan, Y., Gan, L., Xu, J., (2023) Recent advances in biodegradable and biocompatible synthetic polymers used in skin wound healing. *Materials* 16(15), 5459.
- [9] Khalili, S., Khorasani, S.N., Razavi, S.M., Hashemibeni, B., Tamayol, A. (2019) Nanofibrous Scaffolds with Biomimetic Composition for Skin Regeneration. *Appl Biochem Biotechnol*. 187(4), 1193–1203.
- [10] Davis, F.J., Mitchell, G.R. (2010) Polyurethane Based Materials with Applications in Medical Devices. In: *Bio-Materials and Prototyping Applications in Medicine*, Springer, Boston, p. 27–48.
- [11] Morales-González, M., Díaz, L.E., Dominguez-Paz, C., Valero, M.F. (2022) Insights into the Design of Polyurethane Dressings Suitable for the Stages of Skin Wound-Healing: A Systematic Review. *Polymers*. 14(15), 2990.
- [12] Mahalakshmi, P., Reshma, G., Arthi, C., Másson, M. (2023) Biodegradable polymeric scaffolds and hydrogels in the treatment of chronic and infectious wound healing. *European Polymer Journal*. 198, 112390.
- [1] Zhong, S.P., Zhang, Y.Z., Lim, C.T. (2010) Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. *Wiley Interdisciplinary Review Nanomedicine Nanobiotechnology*. 2, 510–525.
- [2] Kanjwal, M.A., Ghaferi A.A. (2022) Graphene Incorporated Electrospun Nanofiber for Electrochemical Sensing and Biomedical Applications: A Critical Review. *Sensors*. 22, 8661.

- characterization and biological evaluation. *Polym Bull.* 76(8), 4069–4086.
- [23] Yousefi, I., Pakravan, M., Rahimi, H., Bahador, A., Farshadzadeh, Z., Haririan, I. (2017) An investigation of electrospun Henna leaves extract-loaded chitosan based nanofibrous mats for skin tissue engineering. *Mater Sci Eng C.* 75, 433–444.
- [24] Adamu, B.F., Gao, J., Jhatial, A.K., Kumelachew, D.M. (2021) A review of medicinal plant-based bioactive electrospun nano fibrous wound dressings. *Mater Des.* 209, 109942.
- [25] Homaeigohar, S., Boccaccini, A.R. (2020) Antibacterial biohybrid nanofibers for wound dressings, *Acta Biomaterialia.* 107, 25–49.
- [26] Bisht, N., Phalswal, P., Khanna, P.K. (2022) Selenium nanoparticles: a review on synthesis and biomedical applications. *Mater Adv.* 3(3), 1415–1431.
- [27] Zhang, H., Li, Z., Dai, C., Wang, P., Fan, S., Yu, B., et al. (2021) Antibacterial properties and mechanism of selenium nanoparticles synthesized by *Providencia* sp. DCX. *Environ Res.* 194, 110630.
- [28] Biswas, D.P., O'Brien-Simpson, N.M., Reynolds, E.C., O'Connor, A.J., Tran, P.A. (2018) Comparative study of novel in situ decorated porous chitosan-selenium scaffolds and porous chitosan-silver scaffolds towards antimicrobial wound dressing application. *Journal of Colloid and Interface Science.* 515, 78–91.
- [29] Ramya, S., Shanmugasundaram, T., Balagurunathan, R. (2015) Biomedical potential of actinobacterially synthesized selenium nanoparticles with special reference to anti-biofilm, anti-oxidant, wound healing, cytotoxic and anti-viral activities. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 32, 30–39.
- [30] Tiwari, B.K. (2015) Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends Anal Chem.* 71, 100–109.
- [31] Chemat, F., Khan, M.K. (2011) Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrason Sonochem.* 18(4), 813–835.
- [۱۳] محمدی، عباس. صالحی، نگار. (۱۴۰۱) نانوالیاف آمیخته‌های پلی‌یورتان-پلیمرهای طبیعی برای کاربرد در زخمپوش‌های الکتروریسی‌شده. *بسیار ش.* ۱۲، ۱۵–۲۹.
- [14] Kim, H.J., Park, S.H. (2022) Reinforced tensile strength and wettability of nanofibrous electrospun cellulose acetate by coating with waterborne polyurethane and graphene oxide. *J Eng Fiber Fabr.* 17, 1–17.
- [15] Hong, Y. (2016) Electrospun fibrous polyurethane scaffolds in tissue engineering. In: *Advances in Polyurethane Biomaterials*, Elsevier, p. 543–59.
- [16] Akduman, C., Kumbasar, E.P.A. (2017) Electrospun Polyurethane Nanofibers. In: *Aspects of Polyurethanes*, Edited by: Yilmaz, F. InTech.
- [17] Mi, H.Y., Jing, X., Yilmaz, G., Hagerty, B.S., Enriquez, E., Turng, L.S. (2018) In situ synthesis of polyurethane scaffolds with tunable properties by controlled crosslinking of tri-block copolymer and polycaprolactone triol for tissue regeneration. *Chem Eng J.* 348, 786–798.
- [18] Sadeghianmaryan, A., Ahmadian, N., Wheatley, S., (2024) Advancements in 3D-printable polysaccharides, proteins, and synthetic polymers for wound dressing and skin scaffolding—A review. *International Journal of Biological Macromolecules.* 266, 131207.
- [19] Jo, S.B., Erdenebileg, U., Dashnyam, K., Jin, G.Z., Cha, J.R., El-Fiqi, A., et al. (2020) Nano-graphene oxide/polyurethane nanofibers: mechanically flexible and myogenic stimulating matrix for skeletal tissue engineering. *J Tissue Eng.* 11, 1–10.
- [20] Khan, U., May, P., O'Neill, A., Coleman, J.N. (2010) Development of stiff, strong, yet tough composites by the addition of solvent exfoliated graphene to polyurethane. *Carbon.* 48(14), 4035–4041.
- [21] Depan, D., Girase, B., Shah, J.S., Misra, R.D.K. (2011) Structure–process–property relationship of the polar graphene oxide-mediated cellular response and stimulated growth of osteoblasts on hybrid chitosan network structure nanocomposite scaffolds. *Acta Biomater.* 7(9), 3432–3445.
- [22] Raafat A. I., El-Hag Ali A. (2019) A novel *Lawsonia inermis* (Henna) / (hydroxyl ethyl cellulose/ polyvinyl pyrrolidone) wound dressing hydrogel: radiation synthesis,

- Films Enriched by Aloe Vera and Henna to Build an Organic Band Aid, *Herbal Medicines Journal*. 8(1), 49–58.
- [37] Semwal, R.B., Semwal, D.K., Combrinck, S., Cartwright-Jones, C., Viljoen, A. (2014) *Lawsonia inermis* L. (henna): Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological aspects. *Journal of Ethnopharmacology*. 155, 80–103.
- [38] Abulyazid, I., Mahdy, E.M.E., Ahmed, R.M. (2013) Biochemical study for the effect of henna (*Lawsonia inermis*) on *Escherichia coli*. *Arabian Journal of Chemistry*. 6, 265–273.
- [39] Skalickova, S., Milosavljevic, V., Cihalova, K., Horky, P., Richtera, L., Adam, V. (2017) Perspective of selenium nanoparticles as a nutrition supplement. *Nutrition*. 33, 83–90.
- [40] Wang, C., Zhang, Y., Lin, L., Ding, L., Li, J., Lu, R., et al. (2015) Thermal, mechanical, and morphological properties of functionalized graphene-reinforced bio-based polyurethane nanocomposites. *Eur J Lipid Sci Technol*. 117(12), 1940–1946.
- [41] Wan, T., Chen, D. (2018) Mechanical enhancement of self-healing waterborne polyurethane by graphene oxide. *Prog Org Coatings*. 121, 73–79.
- [32] Pant, H.R., et al. (2012) Bimodal fiber diameter distributed graphene oxide/nylon-6 composite nanofibrous mats via electrospinning. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 407, 121–125.
- [33] Liu, X., Lin, T., Fang, J., Yao, G., Zhao, H., Dodson, M., Wang, X. (2010) In vivo wound healing and antibacterial performances of electrospun nanofibre membranes. *Journal of biomedical materials research Part A*. 94, 499–508.
- [34] Pant, B., Park, M., Jang, R., Choi, W., Kim, H., Park, S. (2017) Synthesis, characterization, and antibacterial performance of Ag-modified graphene oxide reinforced electrospun polyurethane nanofibers. *Carbon Letters*. 23, 17–21.
- [۳۵] رفیعی، سعیده. (۱۴۰۳) مقایسه پارامترهای رنگی و اثر ضدباکتریای دو رنگزای حنا و جفت بر روی ابریشم. *علوم و فناوری نساجی و پوشاک*. دوره ۱۳، شماره ۱، ۱۵–۲۹.
- [36] Khoshkalam, B., Manaffar, R., Sohrabi, N., Khaliliaqdam N. (2023) An Evaluation of Anti-Microbial Properties of Gelatin and Collagen

The electrospinning of polyurethane nanocomposite reinforced by graphene oxide, selenium nanoparticles, and henna extract for wound dressing applications

Shahab Sepanloo¹, Maisam Jalaly^{1,*}, Aboulfazl Mirzapour Aramaki^{2,*}, Seyed Ali Parsay Ganjavar¹

¹ Nanotechnology Department, School of Advanced Technologies, Iran University of Science and Technology, Tehran, Iran

² Nanobiotechnology Department, School of Advanced Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

maisam_jalaly@iust.ac.ir, a.mirzapour@modares.ac.ir

Receipt: 2024/01/10

Accepted: 2024/10/20

Abstract

Replacing tissues and organs disrupted by trauma or various diseases is often unavoidable. One method to accelerate wound regeneration is improving wound dressing technology. This research aimed to improve the performance of wound dressings by utilizing the properties of polyurethane (PU) nanofibers and enhancing them with additives such as graphene oxide (GO), selenium nanoparticles (Se), and henna plant extract. After determining the optimal concentration for the electrospinning process, a DMSO solution containing 12 wt.% polyurethane was used to produce wound dressing nanofibers. Scanning electron microscope (SEM) images confirmed the production of uniform scaffolds composed of polyurethane nanofibers. The antibacterial properties and mechanical properties of the fabric were studied to check its effectiveness as a wound dressing. For the PU-GO-Se-Henna composite sample, the antibacterial activity against two bacteria, *S.aureus* and *E.coli*, was recorded at 3.26 and 2.85, respectively, indicating attractive antibacterial properties. This sample achieved a tensile strength of 92 MPa in the tensile test, representing a 104% increase in strength compared to the pure polyurethane sample.

Keywords: Wound dressing; Nanocomposite; Polyurethane; Electrospinning; Antibacterial.