

## ساخت و مشخصه‌یابی زخم پوش منعقدکننده خون مبتنی بر نانوالیاف کامپوزیتی کیتوسان/تانیک اسید/

### چارچوب ایمیدازولات زئولیتی (ZIF-8)

الناز لامعی<sup>۱</sup>، مهدی حسن‌زاده<sup>۲\*</sup>

۱ کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی نساجی، دانشگاه یزد، یزد، ایران

۲ استادیار، دانشکده مهندسی نساجی، دانشگاه یزد، یزد، ایران، صندوق پستی ۷۴۱-۸۹۱۹۵

تاریخ دریافت:

۱۴۰۰/۰۷/۲۹

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۰/۱۱/۰۳

چکیده

در این پژوهش نانوالیاف کامپوزیتی کیتوسان حاوی تانیک اسید و چارچوب آلی-فلزی بر پایه روی (ZIF-8) به منظور استفاده بعنوان زخم‌پوش منعقدکننده خون تولید شد. برای این منظور ابتدا چارچوب آلی-فلزی موسوم به چارچوب ایمیدازولات زئولیتی (ZIF-8) سنتز شد و در ادامه نانوالیاف کامپوزیتی کیتوسان حاوی تانیک اسید و ZIF-8 به کمک روش الکتروریسی تولید شدند. تأثیر حضور تانیک اسید و چارچوب آلی-فلزی بر مورفولوژی و خواص انعقادی نانوالیاف کیتوسان مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. برای این منظور از میکروسکوپ الکترونی روبشی، پراش اشعه ایکس و آزمون انعقاد خون استفاده شد. مطالعه مورفولوژی زخم‌پوش‌های نانولیفی نشان‌دهنده تولید نانوالیاف یکنواخت و عاری از دانه‌تسبیجی با متوسط اندازه قطر ۱۲۰ تا ۱۵۰ نانومتر می‌باشد. همچنین حضور تانیک اسید به دلیل برقراری پیوندهای هیدروژنی و افزایش ویسکوزیته محلول پلیمری، سبب افزایش قطر نانوالیاف کیتوسان گردید. به منظور بررسی فعالیت انعقادی زخم‌پوش‌های تولید شده، از آزمون‌های زمان پروترومبین (PT) و زمان نسبی ترومبوپلاستین فعال شده (aPTT)، که به ترتیب صحت عملکرد مسیر خارجی و مسیر داخلی انعقاد خون را بررسی می‌کنند، استفاده شد. نتایج بدست آمده حاکی از آن است که زخم‌پوش نانولیفی تولید شده بطور قابل‌توجهی بر مسیر خارجی انعقاد خون و فاکتور VII تأثیرگذار است، بطوریکه زمان انعقاد خون به میزان ۶۰ درصد نسبت به نمونه شاهد کاهش یافته است. با توجه به خواص ساختاری و مورفولوژی مناسب و همچنین و عملکرد تسریع انعقاد خون نانوالیاف کامپوزیتی تولید شده، میتوان از آن بعنوان گزینه مناسب در کاربردهای زخم‌پوش استفاده کرد.

کیتوسان، چارچوب آلی-فلزی، نانوالیاف کامپوزیتی، زخم‌پوش، خون‌ایستی.

واژگان کلیدی

## Fabrication and characterization of hemostatic wound dressing based on chitosan/tannic acid/zeolitic imidazole framework (ZIF-8) composite nanofibers

Elnaz Lameie<sup>1</sup>, Mahdi Hasanzadeh<sup>2\*</sup>

1- M.Sc. student, Department of Textile Engineering, Yazd University, P.O. Box 89195-741, Yazd, Iran

2- Assistant Professor, Department of Textile Engineering, Yazd University, P.O. Box 89195-741, Yazd, Iran

### Abstract

In this study, chitosan composite nanofibers containing tannic acid and zinc-based metal-organic framework (ZIF-8) were produced for application as a hemostatic wound dressing. First, metal-organic framework named zeolite imidazolate framework (ZIF-8) was synthesized and chitosan composite nanofibers containing tannic acid and ZIF-8 were fabricated through electrospinning. The effect of tannic acid and metal-organic framework on the morphology and hemostatic properties of chitosan nanofibers was studied. Scanning electron microscopy, X-ray diffraction and blood coagulation tests were utilized. The study of the morphology of nanofibrous wound dressings shows the fabrication of uniform and bead-free nanofibers with an average diameter of 120 to 150 nm. The addition of tannic acid, due to the formation of hydrogen bonds and increasing the viscosity of the polymer solution, increased the diameter of chitosan nanofibers. Prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) tests, which check the performance of extrinsic and intrinsic pathway of blood coagulation, respectively, were used to evaluate the hemostatic activity of the fabricated wound dressings. The results show that the fabricated nanofibrous wound dressings significantly affect the extrinsic pathway of blood coagulation and factor VII, so that the blood coagulation time is reduced by 60% compared to the control sample. Due to the suitable structural and morphological properties of fabricated composite nanofibers, as well as their accelerated coagulation performance, they can be used as a suitable candidate in wound dressing applications.

### Keywords

Chitosan, metal-organic framework, composite nanofibers, wound dressing, hemostasis.

## ۱- مقدمه

خونریزی‌های شدید یکی از دلایل اصلی مرگ و میر ناشی از صدمات و جراحات به شمار می‌رود، بطوریکه حدود ۵۰ درصد از مصدومین، به دلیل خونریزی‌های شدید، پیش از رسیدن به بیمارستان جان خود را از دست می‌دهند [۱]، [۲]. مهار خونریزی در مواردی با پانسمان محل خونریزی و یا اعمال فشار موضعی امکان‌پذیر است؛ اما در موارد شدید، مستلزم استفاده از مواد موثر بر تسریع انعقاد خون (مواد هموستاتیک) است. از اینرو تلاش‌های فراوانی برای توسعه فناوری‌ها و زیست‌مواد گوناگون به منظور استفاده در مواقع اضطراری، نظیر مجروحان جنگی و مصدومین تصادفات یا سایر مداخلات درمانی مرتبط با خونریزی‌های شدید صورت گرفته است [۳].

از گذشته تاکنون از مواد مختلفی به منظور پوشاندن زخم استفاده شده‌اند که از آن جمله می‌توان به مواد طبیعی نظیر کتان، کنف، پشم، چربی‌های حیوانی و عسل و موم زنبور اشاره کرد. اکثر این زخم پوش‌ها به دلیل جذب ترشحات زخم و چسبیدن به محل زخم، سبب التهاب و عفونت و در نتیجه کند شدن روند ترمیم زخم می‌شوند [۴]، [۵]. امروزه با توسعه پلیمرهای زیستی جدید و ارائه تکنیک‌های ساخت پانسمان‌های جدید، امکان بهبود سریع‌تر و کاهش احتمال عفونت زخم فراهم شده است [۴]. با این وجود محدودیت اصلی این پانسمان‌ها، عدم توانایی آن‌ها برای جلوگیری از خونریزی در زمان کوتاه و شرایط بحرانی است. به منظور رفع این مشکلات، محققان از مواد مختلفی مانند کیتوسان، ژلاتین، کراتین، کتیرا و پلی‌وینیل‌الکل (PVA) که از طریق تاثیر بر مراحل مختلفی از انعقاد خون، توانایی تسریع در فرایند انعقاد خون را دارند استفاده کرده‌اند [۶-۸]. در این بین کیتوسان بعنوان پلی‌ساکاریدی طبیعی که از فرایند استیل‌زدایی کیتین حاصل می‌شود، مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است [۹]. تاکنون مطالعات فراوانی بر روی اثرات منعقدکنندگی موضعی خون، تسریع موضعی انعقاد خون و اثرات ضد میکروبی کیتوسان صورت گرفته است [۱۰]، [۱۱]. با این حال زخم‌پوش‌های انعقاد خون مبتنی بر کیتوسان در محل ضایعه یک لخته بزرگ تشکیل می‌دهند که به صورت زیستی جذب نمی‌شوند و معمولاً برای انحلال کامل نیاز به شرایط اسیدی می‌باشد. بنابراین پس از استفاده، باید از موضع زخم برداشته شوند [۳].

استفاده از کامپوزیت‌های مبتنی بر کیتوسان که با مکانیزم‌های مختلف و به صورت همزمان در فرایند انعقاد نقش ایفا می‌کنند، بعنوان یکی از راهکارهای برون‌رفت از این چالش توسط محققان ارائه شده است. از سوی دیگر با توجه به اینکه فناوری‌های انعقاد خون موضعی مبتنی بر نسبت بالای سطح است؛ با افزایش سطح واکنش در این ترکیبات، می‌توان بر سرعت برهم‌کنش‌های سطحی با پلاکت‌ها و فاکتورهای انعقادی موجود در خون افزود [۳]. در این راستا، استفاده از نانوساختارهای با نسبت سطح به حجم بالا، علاوه بر تسریع انعقاد خون و عدم تشکیل لخته‌های بزرگ در محیط فیزیولوژیک، می‌تواند

قابلیت جذب بهتری را نیز ارائه دهد. در این میان نانوالیاف پلیمری با تخلخل بالا بعنوان بستر مناسب برای مواد انعقادی زخم‌پوش بشمار می‌رود که ویژگی‌های منحصر به فردی از جمله قطر کم، نسبت سطح به حجم بالا، خصوصیات مکانیکی مناسب، استحکام بالا، انعطاف‌پذیری و تخلخل‌های مناسب و قابل کنترل دارد [۱۲-۱۶]. در همین راستا Varshosaz و همکارانش [۱۷] با استفاده از نانوالیاف پلی‌گلیسرول‌سیاسیت/پلی‌هیدروکسی‌اتیل‌متاکریلات حاوی ترانکزامیک اسید، موفق به تولید زخم پوشی با توانایی تسریع انعقاد خون شدند. زخم پوش تهیه شده با کاهش زمان و حجم خونریزی در کنترل خونریزی و شرایط آن موثر بوده است. همچنین Mishra و همکارانش [۱۸] نشان دادند که سطح مخصوص بالای نانوالیاف زیست‌سازگار کیتوسان-کازئین موجب تسریع در فرایند انعقاد خون می‌شود.

علاوه بر مزیت‌های فراوان نانوالیاف پلیمری بعنوان زخم پوش، اخیراً محققان برای بهبود عملکرد و افزایش کارایی در انعقاد خون، روش‌های مختلفی از جمله اصلاح نانوالیاف با برخی ترکیبات و افزودن نانوساختارهای مختلف را پیشنهاد داده‌اند. در میان نانوساختارهای مورد استفاده، چارچوب‌های آلی-فلزی (MOFs) بدلیل برخورداری از تخلخل و سطح مخصوص بالا، دانسیته پایین، تنوع ساختاری زیاد، اندازه حفره نانومتری و حجم حفره بزرگ، دارای مزایای فراوانی برای کاربرد در حوزه‌های مختلف از جمله در زخم‌پوش‌ها به منظور تسریع در انعقاد خون می‌باشند [۱۹-۲۱]. این ترکیبات که دسته جدیدی از مواد بلوری و متخلخل هستند، از یون‌های فلزی و لیگاند‌های آلی تشکیل شده است و ویژگی‌های هر دو ماده آلی و معدنی را باهم ترکیب می‌کنند. در جدیدترین مطالعه صورت گرفته در این زمینه می‌توان به تحقیقات صورت گرفته توسط Xu و همکارانش [۲۲] اشاره کرد که از اسفنج کامپوزیتی مبتنی بر کیتین و حاوی MOF به منظور ایجاد خاصیت ضدباکتری و انعقاد سریع خون استفاده کردند. Yang و همکارانش [۲۳] نیز به بررسی خاصیت تسریع انعقاد خون و ترمیم زخم نانوالیاف پلی‌اکریلونیتریل/ژلاتین حاوی MOF پرداختند. با وجود تحقیقات گسترده‌ای که در زمینه انعقاد خون انجام شده، همچنان دستیابی به زخم‌پوش منعقدکننده خونریزی با قابلیت‌های تسریع در انعقاد خون، زیست‌سازگار و ضدباکتری با محدودیت‌هایی روبرو بوده است. از اینرو هدف این پژوهش، توسعه زخم‌پوش نانولیفی زیست‌سازگار، زیست‌تخریب‌پذیر، بر پایه کیتوسان و چارچوب آلی-فلزی با قابلیت تسریع در فرایند انعقاد خون می‌باشد. برای این منظور از کیتوسان بعنوان یک پلیمر طبیعی دارای خواص برجسته از جمله زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، و عدم سمیت برای تولید نانوالیاف استفاده شد. انتظار می‌رود زخم‌پوش ساخته شده مبتنی بر کیتوسان، دارای خاصیت ضد میکروبی خوبی هم باشد. لذا می‌توان تا حد مطلوبی اطمینان حاصل کرد که در هنگام انعقاد خون، میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از طریق زخم و محل جراحی، وارد بدن نمی‌شود. با این حال

ساعت هم زده شدند. پس از انحلال کامل، محلول نیترات روی شش آبه به ۲-میتیل ایمیدازول اضافه شده و در دمای ۵۰ درجه سلسیوس و به مدت ۳۰ دقیقه در هم آمیخته شدند. پس از تکمیل واکنش، رسوب تشکیل شده از طریق سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه جدا شده و دو بار با متانول شستشو داده شده و در دمای ۶۰ درجه سلسیوس و به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید.

در ادامه به منظور تهیه نانوالیاف پلیمری، ابتدا محلول پلی‌وینیل‌الکل و کیتوسان (PVA/CS) با نسبت ۵۰:۵۰ تهیه شد و به مدت ۸ ساعت در دمای اتاق بر روی همزن مغناطیسی مخلوط شدند. به منظور اصلاح نانوالیاف کیتوسان با تانیک اسید (PVA/CS-TA)، به محلول کیتوسان به میزان ۱ درصد وزنی تانیک اسید افزوده شد. همچنین به منظور بررسی اثر چارچوب آلی-فلزی سنتز شده، مقدار مشخص از ذرات ZIF-8 (۱ درصد وزنی) به محلول فوق (PVA/CS-TA) اضافه گردید و تحت امواج فراصوت قرار داده شد. در نهایت محلول‌ها به مدت ۱۰ ساعت در دمای محیط بر روی همزن مغناطیسی هم‌زده شدند و جهت فرایند الکتروریسی بکار گرفته شدند.

محلول‌های پلیمری تهیه شده توسط دستگاه الکتروریسی (شرکت فناوران نانومقیاس مدل ES1000) و با نرخ تغذیه ۰/۶ میلی‌لیتر بر ساعت در دمای اتاق الکتروریسی شدند. فاصله بین نازل و صفحه جمع‌کننده دوار به میزان ۱۷ سانتی‌متر تنظیم شد و با اعمال اختلاف پتانسیل ۲۵ کیلوولت، نانوالیاف یکنواخت بر روی جمع‌کننده دوار جمع‌آوری شدند. شکل ۱ شماتیک فرایند تولید نانوالیاف کامپوزیتی را نشان می‌دهد. جدول ۱ مشخصات نانوالیاف کامپوزیتی تولید شده با درصد‌های مختلف ZIF-8 را نشان می‌دهد.

### ۲-۳- مشخصه‌یابی

به منظور بررسی مورفولوژی و توزیع اندازه چارچوب آلی-فلزی و نانوالیاف کامپوزیتی تولید شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FESEM مدل MITRA3) مجهز به طیف سنج پراش انرژی پرتو ایکس (EDS) استفاده شد. پیش از تصویربرداری از

به‌منظور افزایش خاصیت ضدباکتری زخم‌پوش‌های نانولیفی مبتنی بر کیتوسان، از تانیک اسید که یک پلی‌فنولیک با وزن مولکولی بالا بوده و کاملاً زیست‌تخریب‌پذیر و با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا است [۲۴]، استفاده شده است. از چارچوب آلی-فلزی بر پایه روی (ZIF-8) نیز به منظور افزایش تخلخل و سطح مخصوص نانوالیاف استفاده شده است. براساس مطالعات گذشته [۲۲]، ZIF-8 از خاصیت ضدباکتریایی ذاتی برخوردار است که این امر به دلیل آزادسازی یون‌های روی ( $Zn^{2+}$ ) و لیگاند ۲-میتیل ایمیدازول (2-MIM) می‌باشد. درواقع 2-MIM ساختار لیپوزوم‌های غشای میکروبی را از بین می‌برد و  $Zn^{2+}$  با چسبیدن بر روی غشای میکروبی، بردرونی‌سازی سلولی و برهمکنش با محتوای درون سلولی تأثیر می‌گذارد. لذا هم‌افزایی 2-MIM و  $Zn^{2+}$  سبب از بین رفتن باکتری می‌شود. براین اساس ابتدا نانوالیاف کامپوزیتی مبتنی بر کیتوسان اصلاح شده با تانیک اسید و حاوی ذرات ZIF-8 به روش الکتروریسی تهیه شد. در ادامه ضمن بررسی ساختار و مورفولوژی چارچوب آلی-فلزی و نانوالیاف کامپوزیتی تولید شده، زمان انعقاد خون و مکانیزم آن مورد ارزیابی و بررسی قرار گرفت.

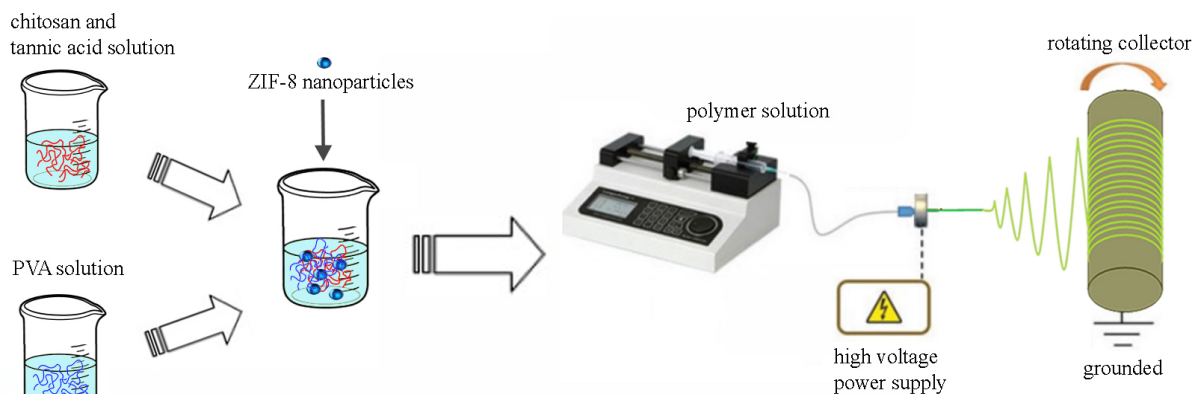
### ۲-تجربیات

#### ۲-۱- مواد

در این مطالعه از کیتوسان (CS) با وزن مولکولی متوسط، پلی‌وینیل‌الکل (PVA) با وزن مولکولی ۶۰۰۰۰ دالتون، به عنوان پلیمر در تولید نانوالیاف استفاده شده است. همچنین تانیک اسید (TA) و استیک اسید ۹۹٪ از شرکت مرک آلمان تهیه شد. به منظور تهیه چارچوب آلی-فلزی بر پایه روی (ZIF-8)، از نیترات روی ۶ آبه  $Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ، ۲-میتیل ایمیدازول (2-MIM) و متانول (تهیه شده از شرکت مرک آلمان) استفاده شد.

#### ۲-۲- روش‌ها

برای سنتز ZIF-8، نیترات روی شش آبه (۴ گرم) در متانول و همچنین ۲-میتیل ایمیدازول (۸ گرم) بصورت جداگانه به مدت ۳



شکل ۱: شماتیک فرایند تولید نانوالیاف کامپوزیتی

جدول ۱: مشخصات نانوالیاف کامپوزیتی تولید شده

متوسط قطر الیاف (nm)	ولتاژ اعمالی (kV)	چارچوب آلی-فلزی (%wt.)	تانیک اسید (%wt.)	کد نمونه
۱۴۶/۳	۲۵	۰	۰	PVA/CS
۱۵۳/۹	۲۵	۰	۱	PVA/CS-TA
۱۳۹/۶	۲۵	۱	۰	PVA/CS-ZIF-8
۱۲۳/۸	۲۵	۱	۱	PVA/CS-TA-ZIF-8

روند، فاکتور پروترومبین است که توسط کبد ساخته شده و طی فرایند انعقاد به ترومبین تبدیل می‌شود. برای بررسی تاثیر نانوالیاف کامپوزیتی تهیه شده در سیستم انعقادی بدن، معمولاً از بررسی دو متغیر زمان پروترومبین (PT) و زمان نسبی ترومبوپلاستین فعال شده (aPTT) استفاده می‌شود. این دو آزمون هر یک به ترتیب بیانگر میزان فعالیت لخته‌سازی از یکی از دو مسیر خارجی یا داخلی آبشار انعقادی (شکل ۲) هستند. آزمون PT صحت عملکرد مسیر خارجی و aPTT مسیر داخلی انعقاد را بررسی می‌کند. در این پژوهش ابتدا مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از پلاسما بدون پلاکت و واکنش‌گرهای مخصوص آزمون PT یا aPTT را با هم به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس مخلوط کرده، سپس قطعات نانوالیاف کامپوزیتی با ابعاد مشخص به محیط اضافه شدند. در ادامه زمان تشکیل لخته از زمان آغاز واکنش محاسبه می‌گردد.

نمونه‌ها جهت ممانعت از تجمع الکترون‌ها و ایجاد رسانایی در آن‌ها، کلیه نمونه‌ها با استفاده از دستگاه پوشش‌دهی کاتانداز (Sputter coater) با اتم‌های طلا پوشانیده شدند. تصاویر نمونه‌های مختلف در بزرگنمایی‌های مختلف تهیه و مورد مطالعه قرار گرفت. اندازه ذرات ZIF-8 سنتز شده و همچنین قطر نانوالیاف الکترورسی شده با استفاده از نرم افزار Image J و با اندازه‌گیری ۵۰ نقطه در هر تصویر بدست آمد. همچنین طیف‌های FTIR ترکیبات تهیه شده به وسیله طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) (مدل AVATAR ساخت کشور آمریکا) استفاده شد. الگوهای پراش اشعه ایکس چارچوب آلی-فلزی سنتز شده توسط دستگاه پراش سنج اشعه ایکس (XRD) ساخت شرکت Philips کشور هلند، تحت تابش  $K\alpha$  بدست آمد.

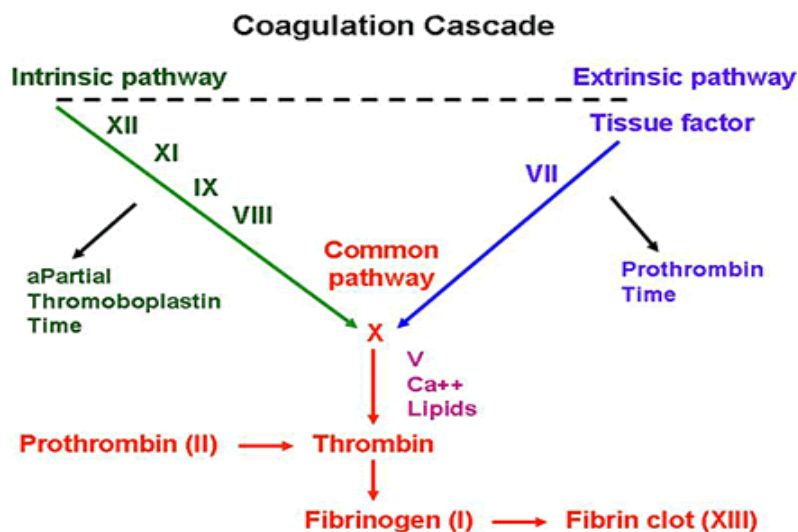
## ۲-۴- ارزیابی انعقاد خون

فرایند لخته شدن خون در بدن شامل یکسری واکنش‌های متوالی و پشت سر هم است که در آن فاکتورهای انعقادی پشت سرهم فعال شده و باعث لخته شدن خون می‌شوند. چنانچه یکی از این فاکتورها دارای اختلال باشند میزان PT زیاد می‌شود. یکی از فاکتورهای این

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- ارزیابی چارچوب آلی-فلزی

شکل ۳a الگوی پراش اشعه ایکس ZIF-8 را نشان داده است. بررسی‌ها نشان از ساختار کریستالی ترکیب سنتز شده با پیک‌های



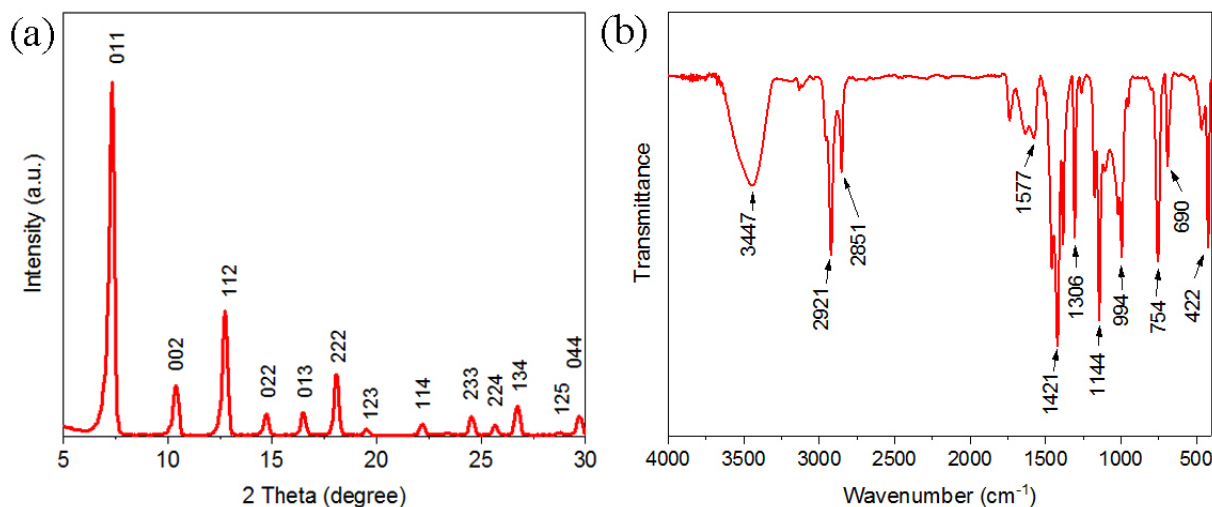
شکل ۲: طرحواره آبشار انعقادی از دو مسیر داخلی و خارجی.

بررسی مورفولوژی ذرات ZIF-8 سنتز شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM) انجام شد. همانطور که در شکل a4 مشاهده می‌شود ذرات ZIF-8 با ساختار مکعبی شکل و یکپارچه با توزیع اندازه ذرات یکنواخت سنتز شده است. متوسط اندازه ذرات ZIF-8 حدود ۶۰ نانومتر است (شکل c4). همچنین طیف EDS بدست آمده از ذرات ZIF-8 (شکل b4) دلالت بر وجود عنصر روی در سطح ترکیب سنتز شده دارد.

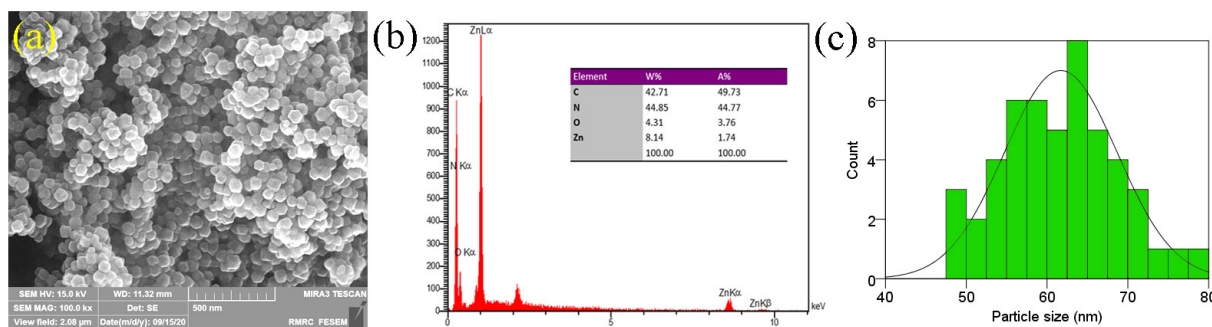
### ۳-۲- ارزیابی ساختاری نانوالیاف کامپوزیتی

در این مطالعه، مورفولوژی نانوالیاف کامپوزیتی تولید شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفت. شکل ۵ تصویر میکروسکوپی نانوالیاف کامپوزیتی کیتوسان حاوی تانیک اسید و ZIF-8 و همچنین توزیع قطر آنها را نشان می‌دهد. همچنین نتایج متوسط قطر نانوالیاف در جدول ۱ ارائه گردیده است. همانطور که ملاحظه می‌شود، تمامی نمونه‌های نانوالیاف تهیه شده، دارای ساختار نسبتاً یکنواخت و بدون دانه تسبیحی می‌باشند و حضور ذرات ZIF-8 در بین الیاف بخوبی قابل مشاهده است. بررسی توزیع قطر نانوالیاف نیز بیانگر افزایش قطر نانوالیاف با افزودن تانیک اسید و

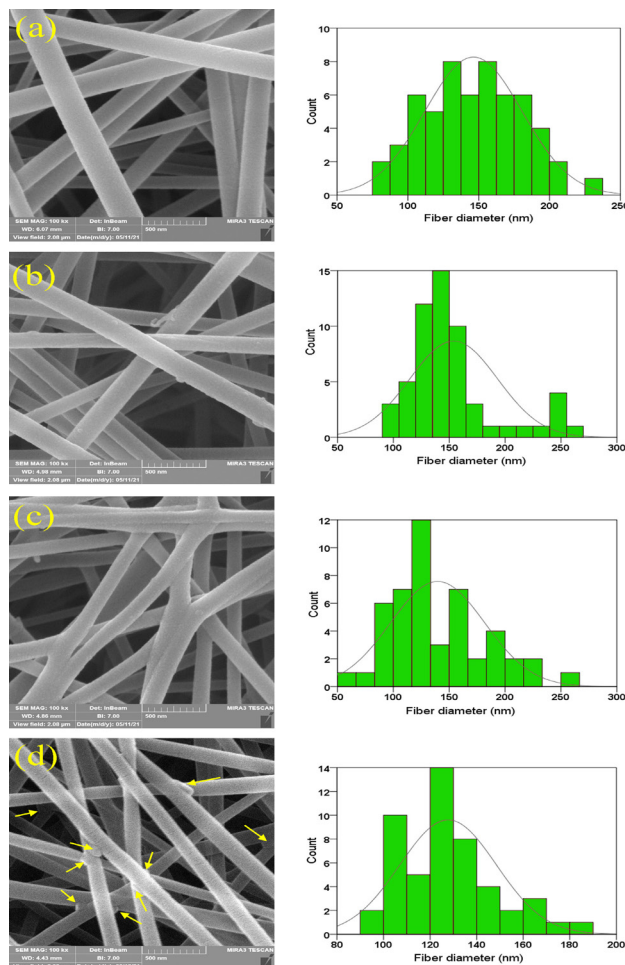
مشخصه در ناحیه 2θ حدود ۷ تا ۳۰ درجه دارد پیک‌های موجود در زوایای (2θ) ۷/۳، ۱۰/۳، ۱۲/۸، ۱۴/۸، ۱۶/۵، ۱۸/۱، ۱۹/۷، ۲۲/۲، ۲۴/۶، ۲۵/۷، ۲۶/۸، ۲۸/۹، ۲۹/۸ درجه به ترتیب مربوط به صفحات (۰۱۱)، (۰۰۲)، (۱۱۲)، (۰۲۲)، (۰۱۳)، (۰۲۲)، (۱۲۳)، (۱۱۴)، (۲۳۳)، (۲۲۴)، (۱۳۴)، (۱۲۵)، و (۰۴۴) است. بررسی‌های بعمل آمده در مطابقت کامل با مطالعات پیشین می‌باشد [۲۵]، [۲۶]. بررسی‌های طیف مادون قرمز تبدیل فوریه (شکل b3) نیز نشان از وجود گروه‌های عاملی جدید منسوب به چارچوب فلز-آلی برپایه روی (ZIF-8) دارد که موید انجام واکنش بین 2-MIM (بعنوان لیگاند) و نیترات روی (نمک فلزی) و سنتز موفق ZIF-8 است. پیک مشاهده شده در ناحیه  $3447\text{ cm}^{-1}$  مربوط به گروه‌های هیدروکسیل ZIF-8 است. جذب در ناحیه  $1577\text{ cm}^{-1}$  ناشی از ارتعاش کششی پیوند C=N است. ارتعاش کششی متقارن و نامتقارن گروه‌های متیلن نیز به ترتیب در  $2851\text{ cm}^{-1}$  و  $2921\text{ cm}^{-1}$  رخ داده است. ارتعاش حلقه 2-MIM نیز در ناحیه  $1421\text{ cm}^{-1}$  مشاهده شده است. ارتعاش خمشی درون صفحه و خارج صفحه حلقه 2-MIM نیز به ترتیب در ناحیه  $1306\text{ cm}^{-1}$  و  $1144\text{ cm}^{-1}$  مشاهده شده است. پیک مشاهده شده در  $820\text{ cm}^{-1}$  و  $754\text{ cm}^{-1}$  و  $690\text{ cm}^{-1}$  نیز مربوط به ارتعاش کششی Zn-N است [۲۸].



شکل ۳: (a) الگوی پراش اشعه ایکس، و (b) طیف مادون قرمز تبدیل فوریه چارچوب آلی-فلزی ZIF-8.



شکل ۴: (a) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی، (b) طیف پراش انرژی پرتو ایکس (EDS) و (c) توزیع اندازه ذرات چارچوب آلی-فلزی ZIF-8.

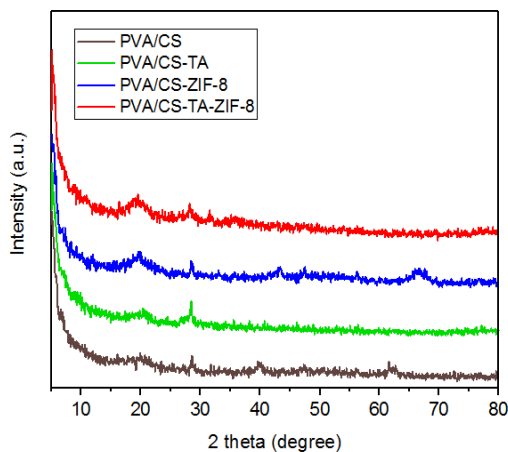


شکل ۵: تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی و توزیع قطر نانوالیاف کامپوزیتی (a) PVA/CS، (b) PVA/CS-TA، (c) PVA/CS-ZIF-8، (d) PVA/CS-TA-ZIF-8.

به منظور بررسی نحوه عملکرد زیستی نانوالیاف کامپوزیتی تولید شده بر روی فاکتورهای انعقادی، آزمون PT و aPTT انجام شد. همانطور که اشاره شد، آزمون PT جهت بررسی مسیر خارجی آبشار انعقادی و بیانگر میزان فعالیت فاکتورهای انعقادی V، VII، X، پروترومبین و فیبرینوژن است. لذا کاهش زمان انعقاد خون

اصلاح نانوالیاف کیتوسان بوده است، بطوریکه قطر نانوالیاف کیتوسان از ۱۴۶ نانومتر به ۱۵۳ نانومتر افزایش یافت. این افزایش قطر بدلیل افزایش ویسکوزیته محلول پلیمری و افزایش میزان درهم‌تنیدگی زنجیرهای پلیمری کیتوسان می‌باشد [۲۹]. همچنین افزودن ذرات ZIF-8 در نانوالیاف کیتوسان سبب تشکیل الیاف یکنواخت و عاری از دانه تسبیحی با متوسط قطر ۱۳۹ نانومتر گردید. بررسی‌ها حاکی از کاهش قطر نانوالیاف کیتوسان با افزودن ذرات ZIF-8 بوده است. شکل ۶ الگوی پراش اشعه ایکس نانوالیاف کامپوزیتی تولید شده را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، ساختار کریستالی نانوالیاف کیتوسان پس از افزودن تانیک اسید و ذرات ZIF-8 تغییر چندانی نداشته است که دلیل این امر را می‌توان درصد کم ترکیبات اشاره شده در نانوالیاف کیتوسان و همچنین برقراری پیوند هیدروژنی بین اجزای افزوده شده و پلیمر دانست. با این حال در خصوص نمونه‌های حاوی ذرات ZIF-8، پیک‌های مشخصه ZIF-8 که با نانوالیاف کیتوسان نیز تاحدی همپوشانی داشته، شدت گرفته است.

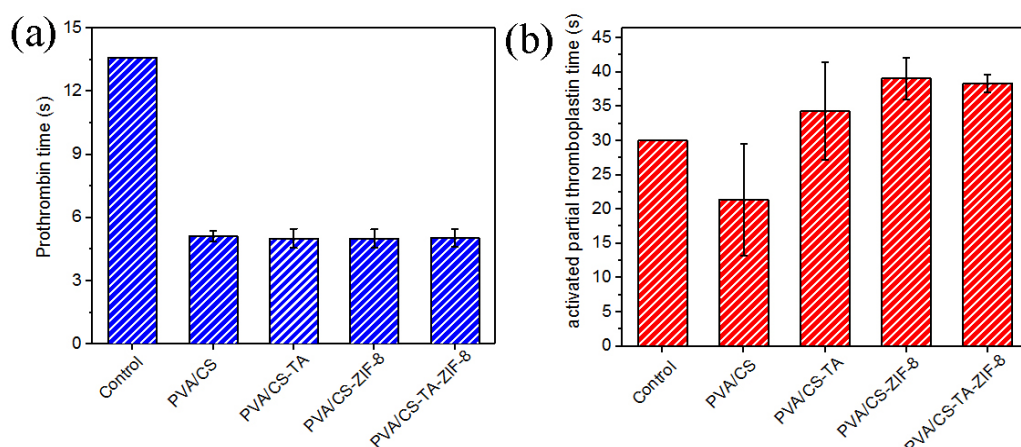
### ۳-۳- عملکرد زخم پوش نانولیفی در تسریع انعقاد خون



شکل ۶: الگوی پراش اشعه ایکس نانوالیاف کامپوزیتی تولید شده.

لیگاند 2-MIM تجزیه می‌شود [۲۲]. در نتیجه یون  $Zn^{2+}$  پیرامون نانوالیاف کیتوسان پخش شده و سبب جذب گلبول‌های قرمز خون / پلاکت‌ها از طریق برهمکنش الکترواستاتیکی می‌شود. چسبندگی گلبول‌های قرمز خون / پلاکت‌ها به نانوالیاف در نهایت منجر به تشکیل لخته‌های اولیه و انعقاد خون می‌شود. با بررسی نتایج آزمون aPTT مشاهده می‌شود که زمان انعقاد خون در نمونه نانوالیاف کیتوسان به میزان حدود ۳۰ درصد نسب به نمونه شاهد کاهش یافته است. با این حال افزودن تانیک اسید و چارچوب آلی-فلزی ZIF-8 تأثیری در کاهش زمان انعقاد آزمون aPTT (مسیر داخلی انعقاد خون) نداشته است. با توجه به این که هر یک از آزمون‌های PT و aPTT از مسیر انعقادی متفاوتی زمان انعقاد خون را ارزیابی می‌کنند، می‌توان نتیجه گرفت زخم‌پوش نانولیفی تولید شده بر فاکتورهای VIII و IX تأثیری نداشته است. از اینرو از طریق مسیر داخلی آبشار انعقاد خون و فعالسازی فاکتور VII به تسریع انعقاد خون کمک شایانی می‌نماید.

در آزمون PT می‌تواند بیانگر تأثیرگذاری زخم‌پوش تولید شده در این فاکتورهای انعقادی و بخصوص فاکتور VII باشد. نتایج این آزمون‌ها در شکل ۷ و جدول ۲ آمده است. همچنین نتایج نسبت نرمال شده بین‌المللی (INR) نیز که روش استاندارد شده آزمون PT است نیز در جدول ۲ قابل مشاهده است. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که نانوالیاف کامپوزیتی تولید شده سبب کاهش قابل توجه زمان انعقاد خون (بیش از ۶۰ درصد) در آزمون PT در مقایسه با نمونه شاهد گردیده است. همانطور که مشاهده می‌شود، اصلاح نانوالیاف کیتوسان با تانیک اسید نیز سبب کاهش اندک زمان انعقاد خون شده است. نتایج مشابهی نیز برای نانوالیاف کیتوسان حاوی ZIF-8 مشاهده شد. خاصیت آبدوستی نانوالیاف مبتنی بر کیتوسان از یکسو و ساختار متخلخل با سطح ویژه بالای ZIF-8 از سوی دیگر به افزایش قابلیت نانوالیاف در جذب سریع مایعات و خون و در نتیجه تجمع گلبول‌های قرمز خون / پلاکت‌ها کمک شایانی می‌کند. همچنین هنگامیکه نانوالیاف کیتوسان حاوی ZIF-8 در تماس با خون قرار می‌گیرد، ZIF-8 به تدریج به یون  $Zn^{2+}$



شکل ۷: نتایج آزمون‌های (a) زمان پروترومبین و (b) زمان نسبی ترومبوپلاستین فعال شده بر روی نمونه‌های نانوالیاف کامپوزیتی

جدول ۲. نتایج آزمون‌های انعقادی نانوالیاف کامپوزیتی تولید شده

زمان انعقاد خون (s)			نمونه
زمان نسبی ترومبوپلاستین فعال شده (aPTT)	نسبت نرمال شده بین‌المللی (INR)	زمان پروترومبین (PT)	
۳۰	۱/۲۱	۱۳/۶	Control
۲۱/۳۸	۰/۲۹۲	۵/۱۲	PVA/CS
۳۴/۳۲	۰/۲۵۲	۵/۰۲	PVA/CS-TA
۳۹/۰۶	۰/۲۵۲	۵/۰۲	PVA/CS-ZIF-8
۳۸/۳۴	۰/۲۵۲	۵/۰۴	PVA/CS-TA-ZIF-8



## ۴- نتیجه گیری

در این تحقیق زخم‌پوش نانولیفی مبتنی بر کیتوسان حاوی تانیک اسید و چارچوب آلی-فلزی بر پایه روی (ZIF-8) به روش الکتروروسی تولید شدند و تأثیر حضور تانیک اسید و چارچوب آلی-فلزی بر خواص ساختاری و مورفولوژی و همچنین رفتار انعقاد خون آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی مورفولوژی زخم‌پوش‌های نانولیفی توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان‌دهنده تولید نانوالیاف یکنواخت و عاری از نقص‌های ساختاری نظیر دانه‌تسبیچی بوده است. همچنین بررسی توزیع قطر نانوالیاف حاکی از تولید نانوالیاف با متوسط اندازه قطر ۱۲۰ تا ۱۵۰ نانومتر می‌باشد. بررسی خواص انعقاد خون زخم‌پوش‌های تولید شده با استفاده از آزمون‌های زمان پروترومبین (PT) و زمان نسبی ترومبوپلاستین فعال شده (aPTT)، نشان‌دهنده تأثیر چشمگیر زخم‌های نانولیفی کامپوزیتی در کاهش زمان انعقاد خون از طریق مسیر خارجی انعقاد و فعالسازی فاکتور VII بوده است. نتایج بدست آمده بیانگر پتانسیل کاربردی نانوالیاف کامپوزیتی حاوی تانیک اسید و ZIF-8 بعنوان زخم‌پوش منعقدکننده خون می‌باشد. حضور تانیک اسید بعنوان ترکیبی با خاصیت ضدالتهابی، ضد میکروبی، زیست‌تخریب‌پذیری و با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا در کنار الیاف کیتوسان و نانوذرات ZIF-8 سبب ایجاد قابلیت‌های مضاعف در این زخم‌پوش‌ها می‌شود، که این مهم نیازمند مطالعات تکمیلی می‌باشد.

## ۵- مراجع

- [1] H. B. Alam, D. Burris, J. A. DaCorta, and P. Rhee, "Hemorrhage Control in the Battlefield: Role of New Hemostatic Agents," *Mil. Med.*, vol. 170, no. 1, pp. 63–69, Jan. 2005, doi: 10.7205/MILMED.170.1.63.
- [2] M. V. Pogorielov and V. Z. Sikora, "Chitosan as a Hemostatic Agent: Current State," *Eur. J. Med. Ser. B*, vol. 2, no. 1, pp. 24–33, 2015, doi: 10.13187/ejm.s.b.2015.2.24.
- [3] E. E. Leonhardt, N. Kang, M. A. Hamad, K. L. Wooley, and M. Elsabahy, "Absorbable hemostatic hydrogels comprising composites of sacrificial templates and honeycomb-like nanofibrous mats of chitosan," *Nat. Commun.* 2019 101, vol. 10, no. 1, pp. 1–9, May 2019, doi: 10.1038/s41467-019-10290-1.
- [4] P. Zahedi, I. Rezaeian, S.-O. Ranaei-Siadat, S.-H. Jafari, and P. Supaphol, "A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages," *Polym. Adv. Technol.*, vol. 21, no. 2, pp. 77–95, Feb. 2010, doi: 10.1002/PAT.1625.
- [5] A. J. Hassiba et al., "Review of recent research on biomedical applications of electrospun polymer nanofibers for improved wound healing," <https://doi.org/10.2217/nnm.15.211>, vol. 11, no. 6, pp. 715–737, Jan. 2016, doi: 10.2217/NNM.15.211.
- [6] K. S. B. Mašters, S. J. Leibovich, P. Belem, J. L. West, and L. A. Poole-Warren, "Effects of nitric oxide releasing poly(vinyl alcohol) hydrogel dressings on dermal wound healing in diabetic mice," *Wound Repair Regen.*, vol. 10, no. 5, pp. 286–294, Sep. 2002, doi: 10.1046/J.1524-475X.2002.10503.X.
- [7] O. Chiara et al., "A systematic review on the use of topical hemostats in trauma and emergency surgery," *BMC Surg.* 2018 181, vol. 18, no. 1, pp. 1–20, Aug. 2018, doi: 10.1186/S12893-018-0398-Z.
- [8] A. Hadjizadeh and C. J. Doillon, "Directional migration of endothelial cells towards angiogenesis using polymer fibres in a 3D co-culture system," *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, vol. 4, no. 7, pp. 524–531, Oct. 2010, doi: 10.1002/TERM.269.
- [9] A. Abedi, M. Hasanazadeh, and L. Tayebi, "Conductive nanofibrous Chitosan/PEDOT:PSS tissue engineering scaffolds," *Mater. Chem. Phys.*, vol. 237, p. 121882, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.matchemphys.2019.121882.
- [10] X. Fan, Y. Li, N. Li, G. Wan, M. A. Ali, and K. Tang, "Rapid hemostatic chitosan/cellulose composite sponge by alkali/urea method for massive haemorrhage," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 164, pp. 2769–2778, Dec. 2020, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2020.07.312.
- [11] Z. Hu, D.-Y. Zhang, S.-T. Lu, P.-W. Li, and S.-D. Li, "Chitosan-Based Composite Materials for Prospective Hemostatic Applications," *Mar. Drugs* 2018, Vol. 16, Page 273, vol. 16, no. 8, p. 273, Aug. 2018, doi: 10.3390/MD16080273.
- [12] م. علیزاده، م. حسن زاده، س. محتشمی، بهبود رفتار جذب صوت فوم پلی یورتان نرم تقویت شده با نانوالیاف پلیمری، نانولوله کربنی و نانوذرات، نشریه علمی پژوهشی مواد پیشرفته و پوشش‌های نوین ۳۸ (۱۴۰۰)، تابستان ۱۳۹۸.

- ب. مداح، ع. یآوری پور، س. حسنی رمدانی، ح. حسینی، م. حسن‌زاده، بهبود جذب [13] گاز سولفید هیدروژن در غشاهای نانولیفی پلی یورتان با استفاده از نانولوله‌های کربنی اصلاح شده با نانوذرات اکسید فلزی، نشریه علمی پژوهشی مواد پیشرفته و پوشش های نوین، دوره ۸، شماره ۳۰، ۲۱۳۰-۲۱۳۸، پاییز ۱۳۹۸.
- [14] B. H. Moghadam and M. Hasanzadeh, "Predicting contact angle of electrospun pan nanofiber mat using artificial neural network and response surface methodology," *Adv. Polym. Technol.*, vol. 32, no. 4, 2013, doi: 10.1002/adv.21365.
- [15] S. F. Dehghan et al., "Optimization of electrospinning parameters for polyacrylonitrile-MgO nanofibers applied in air filtration," *J. Air Waste Manag. Assoc.*, vol. 66, no. 9, pp. 912-921, 2016, doi: 10.1080/10962247.2016.1162228.
- [16] B. Maddah, A. Yavaripour, S. H. Ramedani, H. Hosseini, and M. Hasanzadeh, "Electrospun PU nanofiber composites based on carbon nanotubes decorated with nickel-zinc ferrite particles as an adsorbent for removal of hydrogen sulfide from air," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 27, no. 28, pp. 35515-35525, 2020, doi: 10.1007/s11356-020-09324-9.
- [17] J. Varshosaz, Z. Chooapannejad, M. Minaiyan, and A. Z. Kharazi, "Rapid hemostasis by nanofibers of polyhydroxyethyl methacrylate/polyglycerol sebacic acid: An in vitro / in vivo study," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 138, no. 5, p. 49785, Feb. 2021, doi: 10.1002/APP.49785.
- [18] B. Mishra, S. Hossain, S. Mohanty, M. K. Gupta, and D. Verma, "Fast acting hemostatic agent based on self-assembled hybrid nanofibers from chitosan and casein," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 185, pp. 525-534, Aug. 2021, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2021.06.116.
- [19] H. S. Far, M. Hasanzadeh, M. S. Nashtaei, M. Rabbani, A. Haji, and B. Hadavi Moghadam, "PPI-Dendrimer-Functionalized Magnetic Metal-Organic Framework (Fe3O4@MOF@PPI) with High Adsorption Capacity for Sustainable Wastewater Treatment," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 12, no. 22, pp. 25294-25303, 2020, doi: 10.1021/acsami.0c04953.
- [20] A. Hamed, A. Anceschi, F. Trotta, M. Hasanzadeh, and F. Caldera, "Rapid temperature-assisted synthesis of nanoporous  $\gamma$ -cyclodextrin-based metal-organic framework for selective CO2 adsorption," *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, vol. 99, no. 3-4, pp. 245-253, 2021, doi: 10.1007/s10847-020-01039-1.
- [21] H. Shahriyari Far, M. Hasanzadeh, M. Najafi, T. R. Masale Nezhad, and M. Rabbani, "Efficient Removal of Pb(II) and Co(II) Ions from Aqueous Solution with a Chromium-Based Metal-Organic Framework/Activated Carbon Composites," *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 60, no. 11, pp. 4332-4341, 2021, doi: 10.1021/acs.iecr.0c06199.
- [22] Y. Xu et al., "Zinc Metal-Organic Framework @ Chitin Composite Sponge for Rapid Hemostasis and Antibacteria Infection," *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 8, no. 51, pp. 18915-18925, 2020, doi: 10.1021/acssuschemeng.0c06044.
- [23] J. Yang et al., "Synergistic antibacterial polyacrylonitrile/gelatin nanofibers coated with metal-organic frameworks for accelerating wound repair," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 189, pp. 698-704, Oct. 2021, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2021.08.175.
- [24] F. Xu, B. Weng, R. Gilkerson, L. A. Materon, and K. Lozano, "Development of tannic acid/chitosan/pullulan composite nanofibers from aqueous solution for potential applications as wound dressing," *Carbohydr. Polym.*, vol. 115, pp. 16-24, 2015, doi: 10.1016/j.carbpol.2014.08.081.
- [25] N. M. Mahmoodi, M. Oveisi, A. Taghizadeh, and M. Taghizadeh, "Synthesis of pearl necklace-like ZIF-8@chitosan/PVA nanofiber with synergistic effect for recycling aqueous dye removal," *Carbohydr. Polym.*, vol. 227, p. 115364, 2020, doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115364.
- [26] A. Ahmad et al., "Cu-doped zeolite imidazole framework (ZIF-8) for effective electrocatalytic CO2 reduction," *J. CO2 Util.*, vol. 48, p. 101523, Jun. 2021, doi: 10.1016/J.JCOU.2021.101523.
- [27] W. Xu, Y. Chen, J. Kang, and B. Li, "Fabrication of ZIF-8 based on lignin with high yield for dye removal from water," *J. Iran. Chem. Soc.*, vol. 16, no. 2, pp. 385-392, 2019, doi: 10.1007/s13738-018-1517-6.
- [28] S. Yang et al., "Synthesis of nano-ZIF-8@chitosan microspheres and its rapid removal of p-hydroxybenzoic acid from the agro-industry and preservatives," *J. Porous Mater.*, vol. 28, no. 1, pp. 29-38, 2021, doi: 10.1007/s10934-020-00966-1.
- [29] A. Mozaffari, M. Mirjalili, M. P. Gashti, and M. Parsania, "Effect of tannic acid on properties of electrospun gelatin nanofibres," *Indian J. Fibre Text. Res.*, vol. 45, no. 2, pp. 153-163, 2020.