

ساخت و ارزیابی نانوالیاف پلی‌وینیل‌الکل / سدیم آلژینات حاوی کورکومین به‌عنوان سامانه رهایش موضعی دارو برای بدخیمی‌های پوستی

فاطمه باغشاهی^۱، هادی بهاری فر^{۱*}، ناهید حسن زاده نعمتی^۱

۱- گروه مهندسی پزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

خلاصه

سرطان‌های پوستی، به‌ویژه ملانوما، از تهاجمی‌ترین بدخیمی‌های پوستی هستند که به دلیل رشد سریع و توانایی متاستاز، نیازمند سامانه‌های دارورسانی موضعی با قابلیت افزایش غلظت دارو در محل ضایعه و کاهش عوارض سیستمیک می‌باشند. در این مطالعه، داربست نانوالیافی مبتنی بر پلی‌وینیل‌الکل (PVA) و سدیم آلژینات (SA) حاوی کورکومین (CC) به روش الکتروریسی تهیه و به‌عنوان سامانه دارورسانی موضعی مورد ارزیابی قرار گرفت. تصاویر SEM نشان داد که نانوالیاف یکنواخت و بدون گره با قطر متوسط ۱۵۰ تا ۲۵۰ نانومتر تشکیل شده‌اند. نتایج FTIR وجود برهم‌کنش‌های هیدروژنی میان اجزای پلیمری و تثبیت موفق کورکومین را تأیید کرد. راندمان انکپسولاسیون دارو حدود ۸۲٪ به‌دست آمد که نشان‌دهنده ظرفیت بالای ماتریس پلیمری در بارگذاری کورکومین است. آزمون‌های تورم و تخریب وابستگی معناداری به pH نشان دادند، به‌طوری‌که بیشترین تورم و رهایش در pH 7.4 مشاهده شد. پروفایل رهایش دارو الگوی دو مرحله‌ای شامل رهایش اولیه سریع و سپس رهایش پایدار را نشان داد؛ به‌گونه‌ای که پس از ۴۸ ساعت، میزان رهایش تجمعی به ۸۶٪ در pH=7.4 و ۷۸٪ در pH=5.5 رسید. آزمون MTT بر روی سلول‌های ملانومای انسانی A375 نشان داد که داربست فاقد دارو زیست‌سازگاری بالایی (۹۲-۹۴٪ بقا) دارد، در حالی که داربست حاوی کورکومین موجب کاهش زیست‌پذیری سلولی به حدود ۲۵٪ در ۴۸ ساعت شد که نسبت به کورکومین آزاد اثربخشی بیشتری نشان داد. در مجموع، نتایج این مطالعه بیانگر آن است که داربست نانوالیافی PVA/SA/CC یک سامانه زیست‌سازگار و کارآمد با رهایش کنترل‌شده و وابسته به pH برای دارورسانی موضعی کورکومین در درمان ملانوما است.

کلمات کلیدی: نانوالیاف، کورکومین، PVA/SA، سرطان‌های پوستی، دارورسانی موضعی، ملانوما.

۱. مقدمه

پوست به‌عنوان بزرگ‌ترین اندام بدن، نخستین سد دفاعی در برابر عوامل محیطی، عوامل بیماری‌زا و آسیب‌های فیزیکی و شیمیایی محسوب می‌شود و نقش مهمی در حفظ هموستاز، تنظیم دمای بدن و پاسخ‌های ایمنی ایفا می‌کند [۱]. با وجود این عملکردهای حیاتی، پوست به‌طور مداوم در معرض آسیب‌ها و بیماری‌های مختلف قرار دارد که از میان آن‌ها سرطان‌های پوستی از مهم‌ترین چالش‌های سلامت عمومی به شمار می‌روند. سرطان پوست یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در سراسر جهان است و شامل انواع مختلفی نظیر کارسینوم سلول بازال، کارسینوم سلول سنگفرشی و ملانوما می‌شود [۲]. در میان این موارد، ملانوما اگرچه شیوع کمتری نسبت به سایر انواع سرطان پوست دارد، اما به دلیل تهاجم بالا، قابلیت متاستاز و نرخ

مرگ‌ومیر قابل توجه، خطرناک‌ترین نوع سرطان پوستی محسوب می‌شود [۳]. روش‌های درمانی متداول نظیر جراحی، شیمی‌درمانی و پرتودرمانی در بسیاری از موارد اثربخشی مناسبی دارند، اما اغلب با محدودیت‌هایی از جمله آسیب به بافت‌های سالم، عوارض جانبی سیستمیک، مقاومت دارویی و کاهش کیفیت زندگی بیماران همراه هستند [۳]. از این رو، توسعه رویکردهای درمانی نوین با هدف افزایش اثربخشی درمان و کاهش عوارض ناخواسته، مورد توجه گسترده پژوهشگران قرار گرفته است.

در سال‌های اخیر، سامانه‌های دارورسانی موضعی به‌عنوان راهکاری مؤثر برای درمان بیماری‌ها و ضایعات پوستی مطرح شده‌اند. این سامانه‌ها با فراهم کردن امکان انتقال مستقیم دارو به محل ضایعه، می‌توانند غلظت درمانی مؤثری در بافت هدف ایجاد کرده و در عین حال عوارض ناشی از توزیع سیستمیک دارو را کاهش دهند [۴]. با این حال، دستیابی به رهایش کنترل‌شده و پایدار دارو در محل مورد نظر همچنان یکی از چالش‌های اصلی در طراحی سامانه‌های دارورسانی موضعی به شمار می‌رود. علاوه بر این، بسیاری از ترکیبات دارویی به دلیل ناپایداری، نفوذپذیری محدود یا آزادسازی سریع، اثربخشی درمانی مطلوبی از خود نشان نمی‌دهند. بنابراین طراحی حامل‌هایی که بتوانند ضمن حفاظت از دارو، رهایش تدریجی و کنترل‌شده آن را فراهم کنند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

در این میان، داربست‌های نانوالیافی حاصل از فرآیند الکتروریسی به دلیل ویژگی‌های ساختاری منحصر به فرد خود به‌طور گسترده در حوزه‌های مهندسی بافت و دارورسانی مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۵،۶]. فرآیند الکتروریسی امکان تولید لیافی با قطر نانومتری، نسبت سطح به حجم بالا و ساختار متخلخل را فراهم می‌کند که این ویژگی‌ها شباهت زیادی به ماتریکس خارج سلولی طبیعی (Extracellular Matrix, ECM) دارند [۵]. چنین ساختاری می‌تواند تبادل مؤثر مواد مغذی و اکسیژن را تسهیل کرده و محیط مناسبی برای برهم‌کنش سلولی فراهم سازد. علاوه بر این، سطح ویژه بالا و تخلخل مناسب نانوالیاف ظرفیت بارگذاری قابل توجهی برای ترکیبات زیست‌فعال ایجاد کرده و امکان تنظیم رفتار رهایش دارو را فراهم می‌آورد. به همین دلیل، داربست‌های نانوالیافی به‌عنوان یکی از گزینه‌های امیدبخش در توسعه سامانه‌های دارورسانی موضعی مورد توجه قرار گرفته‌اند.

انتخاب پلیمر مناسب نقش تعیین‌کننده‌ای در عملکرد داربست‌های نانوالیافی دارد. پلی‌وینیل الکل (PVA) یکی از پلیمرهای سنتزی زیست‌سازگار، غیرسمی و محلول در آب است که به دلیل خواص مکانیکی مطلوب، قابلیت تشکیل فیلم و فرآیندپذیری مناسب در الکتروریسی، کاربرد گسترده‌ای در تولید داربست‌های زیستی دارد [۷،۸]. با این وجود، استفاده منفرد از PVA می‌تواند به دلیل ماهیت نسبتاً خنثی سطح و برهم‌کنش محدود با سلول‌ها، برخی از ویژگی‌های زیستی مورد نیاز برای کاربردهای زیست‌پزشکی را محدود کند [۸]. از سوی دیگر، سدیم آلژینات (SA) به‌عنوان یک پلی‌ساکارید طبیعی زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر، به دلیل توانایی جذب آب، حفظ رطوبت و تشکیل ساختارهای ژلی، کاربرد گسترده‌ای در سامانه‌های دارورسانی و پانسمان‌های پیشرفته دارد [۹،۱۰]. حضور گروه‌های کربوکسیلات در ساختار آلژینات می‌تواند برهم‌کنش‌های مناسبی با محیط زیستی ایجاد کرده و خواص عملکردی داربست را بهبود بخشد [۹]. ترکیب PVA و آلژینات علاوه بر بهبود قابلیت الکتروریسی، می‌تواند منجر به ایجاد داربست‌هایی با خواص مکانیکی و زیستی مطلوب برای کاربردهای پوستی شود [۱۰].

در کنار انتخاب ماتریس پلیمری مناسب، استفاده از ترکیبات زیست‌فعال با خواص درمانی مؤثر نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. کورکومین، ترکیب پلی‌فنولی اصلی استخراج‌شده از گیاه *Curcuma longa*، یکی از ترکیبات طبیعی شناخته‌شده با فعالیت‌های زیستی متعدد از جمله خواص ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی است [۱۱]. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که کورکومین می‌تواند از طریق تنظیم مسیرهای پیام‌رسانی سلولی، مهار تکثیر سلول‌های سرطانی و القای آپوپتوز در کنترل رشد تومورها نقش مؤثری ایفا کند [۱۲]. همچنین گزارش شده است که این ترکیب در بهبود

فرآیندهای ترمیم بافتی و کاربردهای پوستی نیز دارای پتانسیل قابل توجهی است [۱۳]. با این حال، حلالیت پایین در آب، پایداری محدود و زیست‌فراهمی نامناسب از مهم‌ترین موانع استفاده مستقیم از کورکومین در کاربردهای درمانی محسوب می‌شوند [۱۴]. در این راستا، بارگذاری کورکومین در ساختارهای نانوالیافی می‌تواند ضمن محافظت از دارو در برابر تخریب، امکان رهایش تدریجی و حفظ غلظت مؤثر آن را در محل هدف فراهم سازد [۱۵، ۱۶].

اگرچه سامانه‌های مبتنی بر PVA، آلژینات و کورکومین در مطالعات مختلف برای کاربردهای زیست‌پزشکی و ترمیم زخم گزارش شده‌اند [۱۷، ۱۸]، بسیاری از این پژوهش‌ها عمدتاً بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی یا رفتار رهایش دارو متمرکز بوده‌اند و اطلاعات محدودی درباره ارتباط میان رفتار رهایش کورکومین و اثرات ضدتکثیری آن علیه سلول‌های ملانومای انسانی ارائه شده است. علاوه بر این، نقش اتصال عرضی در افزایش پایداری داربست‌های نانوالیافی PVA/SA و تأثیر آن بر عملکرد دارورسانی این سامانه‌ها هنوز به‌طور کامل روشن نشده است.

بر این اساس، هدف از پژوهش حاضر طراحی و ساخت داربست نانوالیافی پلی‌وینیل‌الکل/سديم آلژینات حاوی کورکومین به روش الکتروروسی و ارزیابی قابلیت آن به‌عنوان یک سامانه دارورسانی موضعی برای کاربردهای ضدسرطان پوستی است. در این مطالعه، داربست‌های تهیه‌شده پس از فرآیند اتصال عرضی مورد بررسی قرار گرفتند و ویژگی‌های ساختاری و مورفولوژیکی آن‌ها با استفاده از طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) و میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) ارزیابی شد. همچنین رفتار رهایش کورکومین و فعالیت ضدتکثیری داربست‌ها علیه سلول‌های ملانومای انسانی A375 مورد مطالعه قرار گرفت تا پتانسیل این سامانه برای کاربرد در دارورسانی موضعی و درمان سرطان پوست بررسی شود.

۲. مواد و روشها

۲-۱ مواد

پلی‌وینیل‌الکل (PVA) با وزن مولکولی ۷۲۰۰۰ دالتن، سديم آلژینات (SA) و کورکومین (CC) از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. گلوکارآلدئید از شرکت سیگما (ایالات متحده) و اتانول از شرکت دکتر مجلی ایران استفاده شد. تمامی مواد شیمیایی بدون انجام خالص‌سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفتند.

۲-۲ تهیه محلول‌ها و فرآیند الکتروروسی

برای تهیه محلول PVA، مقدار ۰/۸ گرم پلی‌وینیل‌الکل به‌تدریج در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد تا از تجمع پلیمر جلوگیری شود. محلول حاصل به مدت ۴ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد و با سرعت ۷۰۰ دور بر دقیقه هم زده شد تا محلولی یکنواخت به‌دست آید. به منظور تهیه محلول سديم آلژینات، مقدار ۰/۲ گرم آلژینات به‌صورت تدریجی در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق هم زده شد. برای تهیه محلول PVA/SA، محلول‌های PVA و SA با نسبت ۴ به ۱ مخلوط شدند. به منظور بارگذاری دارو، مقدار ۱ میلی‌گرم کورکومین ابتدا در ۱۰ میکرولیتر اتانول حل شد و سپس به ۱۰ میلی‌لیتر از محلول PVA/SA افزوده گردید و به آرامی هم زده شد تا محلول یکنواخت PVA/SA/CC حاصل شود.

فرآیند الکتروروسی PVA/SA با استفاده از سرنگ ۵ میلی‌لیتری انجام شد. نرخ جریان ۱ mL/h، فاصله سوزن تا کلکتور

۱۵ cm و ولتاژ اعمالی ۲۰ kV تنظیم شد و فرآیند به مدت ۶۰ دقیقه انجام گرفت. در نمونه PVA/SA/CC نرخ جریان به ۰/۵ mL/h کاهش یافت و سایر پارامترها ثابت ماند.

برای افزایش پایداری ساختاری نانوالیاف در محیط آبی، داربست‌های نانوالیافی الکترورسی شده با استفاده از بخار گلو تار آلدهید کراس‌لینک شدند. بدین منظور، ابتدا داربست‌های نانوالیافی به ابعاد مناسب برش داده شدند. سپس نمونه‌ها بر روی یک نگهدارنده مشبک در داخل یک دسیکاتور شیشه‌ای در بسته قرار داده شدند. در کف دسیکاتور یک پتری‌دیش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول گلو تار آلدهید ۲۵٪ قرار داده شد تا بخار گلو تار آلدهید در محفظه ایجاد شود. نمونه‌های نانوالیافی به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق در معرض بخار گلو تار آلدهید قرار گرفتند، به گونه‌ای که تماس مستقیمی با محلول نداشتند. پس از پایان فرایند کراس‌لینک، نمونه‌ها از دسیکاتور خارج شده و به مدت ۲۴ ساعت در هود شیمیایی قرار داده شدند تا بخار باقی‌مانده گلو تار آلدهید از آن‌ها حذف شود. در نهایت، داربست‌های کراس‌لینک‌شده تا زمان انجام آزمون‌های بعدی در دسیکاتور خشک نگهداری شدند.

۳-۲ تعیین مشخصات الیاف الکترورسی شده

۳-۳-۱ بررسی مورفولوژی و قطر

مورفولوژی سطح، یکنواختی الیاف و وجود عیوب احتمالی در ساختار نانوالیاف با استفاده از SEM بررسی شد. پیش از تصویربرداری، نمونه‌ها با لایه نازکی از طلا پوشش داده شدند تا هدایت الکتریکی سطح افزایش یابد. تصاویر در ولتاژ شتاب‌دهنده ۲۰ kV ثبت گردیدند و توزیع قطر الیاف با استفاده از نرم‌افزار ImageJ از حداقل ۱۰۰ الیاف به صورت تصادفی اندازه‌گیری و میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد.

۳-۳-۲ شناسایی گروه‌های عاملی

برای شناسایی گروه‌های عاملی و بررسی برهم‌کنش‌های مولکولی در نمونه‌های PVA/SA و PVA/SA/CC از طیف‌سنجی FTIR استفاده شد. طیف‌ها در محدوده عدد موج ۴۰۰ تا 4000 cm^{-1} ثبت گردیدند.

۴-۲ بررسی تورم و تخریب داربست

جهت بررسی رفتار تورمی داربست‌ها، نمونه‌های نانوالیافی با ابعاد 1×1 cm تهیه و پس از اندازه‌گیری وزن خشک اولیه (Wd)، در PBS با pH=7.4 در دمای 37°C غوطه‌ور شدند. در زمان‌های مشخص، نمونه‌ها خارج شده، رطوبت سطحی آن‌ها با کاغذ صافی حذف و وزن تر (Ws) اندازه‌گیری شد. درصد تورم از رابطه ۱ محاسبه گردید. تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد.

$$(1) \text{Swelling \%} = \left(\frac{W_s - W_d}{W_d} \right) \times 100$$

برای ارزیابی تخریب در شرایط برون‌تنی، نمونه‌های نانوالیافی با وزن اولیه مشخص (W0) در PBS با pH=7.4 و دمای 37°C انکوبه شدند. در زمان‌های معین، نمونه‌ها خارج شده، شسته و پس از خشک شدن کامل وزن‌کشی شدند (Wt). درصد کاهش وزن بر اساس رابطه ۲ محاسبه شد. تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار مستقل انجام شدند.

$$(2) \text{Weight loss \%} = \left(\frac{w_0 - w_t}{w_0} \right) \times 100$$

۲-۵ بررسی خواص مکانیکی

به منظور بررسی استحکام مکانیکی داربست‌های نانوالیافی، آزمون کشش تک‌محوره انجام شد. نمونه‌های نانوالیافی پس از فرآیند کراس‌لینک شدن به صورت نوارهای مستطیلی با ابعاد تقریبی 5×40 میلی‌متر برش داده شدند. ضخامت هر نمونه با استفاده از میکرومتر دیجیتالی اندازه‌گیری و میانگین آن برای محاسبات بعدی مورد استفاده قرار گرفت. آزمون کشش در دمای اتاق با طول گیج ۲۰ میلی‌متر، سرعت حرکت فک ۵ میلی‌متر بر دقیقه و لودسل ۱۰ نیوتن انجام شد. برای هر گروه حداقل سه نمونه مستقل مورد ارزیابی قرار گرفت و پارامترهای مکانیکی شامل استحکام کششی نهایی (Tensile Strength)، درصد ازدیاد طول تا نقطه شکست (Elongation at Break) و مدول ینگ (Young's Modulus) محاسبه شدند.

۲-۶ تعیین بازده بارگذاری، راندمان انکپسولاسیون و ارزیابی رهایش کورکومین

برای تعیین میزان کورکومین بارگذاری شده در نانوالیاف و محاسبه راندمان انکپسولاسیون، مقدار مشخصی از نانوالیاف خشک شده حاوی کورکومین وزن‌کشی شد. به طور معمول، حدود ۲۰ mg از نمونه نانوالیافی در یک ویال حاوی ۱۰ mL دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) قرار داده شد تا داروی محبوس شده در ماتریس پلیمری به طور کامل استخراج گردد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت تحت هم‌زدن ملایم (۱۵۰ rpm) در دمای اتاق انکوبه شدند. در ادامه، محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد و سوپرناتانت شفاف برای آنالیز انتخاب گردید. مقدار کورکومین استخراج شده با استفاده از طیف‌سنجی UV-Vis در طول موج ۴۲۵ nm اندازه‌گیری شد. غلظت کورکومین بر اساس منحنی کالیبراسیون استاندارد در محدوده غلظتی مناسب تعیین گردید. درصد راندمان انکپسولاسیون (EE%) و درصد بارگذاری دارو (LC%) با استفاده از روابط ۳ و ۴ محاسبه شدند.

$$EE (\%) = (W_a / W_t) \times 100 \quad (3)$$

$$LC (\%) = (W_a / W_n) \times 100 \quad (4)$$

که در آن W_a مقدار کورکومین استخراج شده از نانوالیاف، W_t مقدار اولیه داروی افزوده شده به محلول الکتروریسی و W_n وزن نمونه نانوالیافی مورد استفاده در آزمون است.

برای ارزیابی رفتار رهایش کورکومین از داربست‌های نانوالیافی، نمونه‌هایی با جرم مشخص (۱۰ mg) در ویال‌های حاوی ۱۰ mL بافر فسفات سالین (PBS) در دو pH شامل pH=5.5 و pH=7.4 قرار داده شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت هم‌زدن ملایم نگهداری شدند. در زمان‌های مشخص (۱، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت)، ۱ میلی‌لیتر از محلول برداشت شده و پس از اندازه‌گیری جذب نوری در طول موج ۴۲۵ نانومتر با محلول تازه جایگزین شد. غلظت کورکومین آزاد شده با استفاده از منحنی کالیبراسیون استاندارد محاسبه گردید و درصد رهایش تجمعی دارو بر اساس رابطه ۵ تعیین شد.

$$\text{Release } (\%) = (M_t / M_i) \times 100 \quad (5)$$

که در آن Mt مقدار داروی آزاد شده در زمان t و Mi مقدار اولیه داروی بارگذاری شده در داربست است.

۷-۲ ارزیابی تاثیر ضد سرطانی برون تن

به منظور بررسی اثرات ضدسرطانی داربست‌های نانوالیافی، آزمون سمیت سلولی به روش MTT و به صورت مستقیم (Direct MTT) بر روی سلول‌های ملانومای انسانی (A375) انجام شد. سلول‌ها در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) و ۱٪ آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین/استرپتومایسین) در شرایط استاندارد انکوباتور (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۵٪ CO_2) کشت داده شدند.

برای انجام آزمون، پیش از انجام آزمون‌های سلولی، نمونه‌های نانوالیافی به مدت ۳۰ دقیقه تحت تابش فرابنفش (UV) از هر دو طرف استریل شدند. سلول‌ها با تراکم اولیه ۱۰۰۰۰ سلول در هر چاهک در پلیت ۹۶ خانه کشت داده شدند و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، نمونه‌های نانوالیافی استریل شامل داربست PVA/SA و داربست حاوی کورکومین (PVA/SA/CC) به چاهک‌ها افزوده شدند. پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت تماس سلول‌ها با نمونه‌ها، محلول MTT با غلظت ۰/۵ mg/mL به هر چاهک اضافه شد و پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند.

در ادامه، محلول حاصل از تشکیل کریستال‌های فورمازان با استفاده از دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) حل شد و جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر اندازه‌گیری شد. زیست‌پذیری سلولی بر اساس رابطه ۶ محاسبه گردید.

$$\text{Cell viability (\%)} = (\text{OD}_{\text{sample}} / \text{OD}_{\text{Control}}) \times 100 \quad (6)$$

۸-۲ مطالعات آماری

تمامی نتایج کمی در سه تکرار مستقل انجام شدند و به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شدند. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism (Version 9.0) انجام شد. مقایسه بین گروه‌ها با آزمون One-way ANOVA صورت گرفت و مقدار $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد.

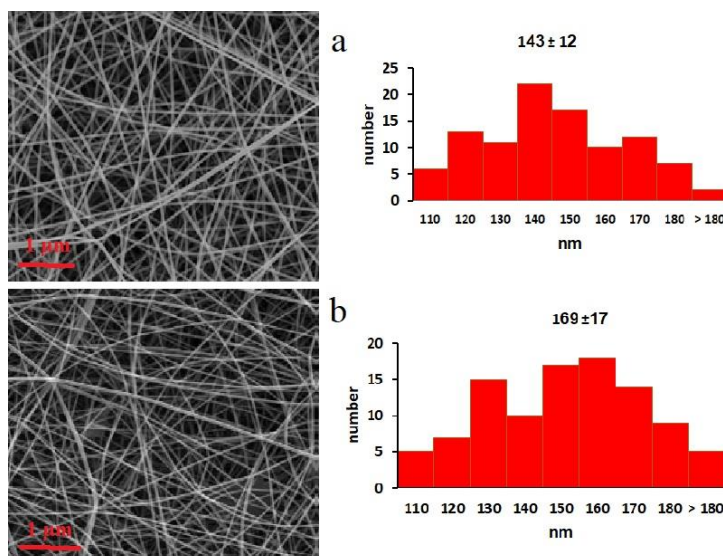
۳. نتایج

۱-۳ بررسی مورفولوژی نانوالیاف

مورفولوژی و ساختار سطحی داربست‌های نانوالیافی تهیه‌شده به وسیله SEM مورد بررسی قرار گرفت. جزئیات تصاویر در شکل ۱ نشان داده شده است. تصاویر نشان دادند که نانوالیاف تولیدشده دارای ساختاری پیوسته، نسبتاً یکنواخت و متخلخل هستند و در اغلب نواحی، الیاف بدون شکستگی و با آرایش درهم‌تنیده مشاهده شدند. بررسی تصاویر نشان داد که الیاف دارای حداقل میزان بید بوده و ساختار آن‌ها عمدتاً یکنواخت است.

برای تحلیل کمی مورفولوژی، قطر الیاف از روی تصاویر SEM با استفاده از نرم‌افزار ImageJ اندازه‌گیری شد. نتایج (شکل

(۱) نشان داد قطر الیاف در محدوده نانومتری قرار دارد و توزیع نسبتاً یکنواختی دارد. میانگین قطر الیاف در نمونه فاقد کورکومین 143 ± 12 نانومتر و در نمونه دارای کورکومین 169 ± 17 نانومتر می باشد.

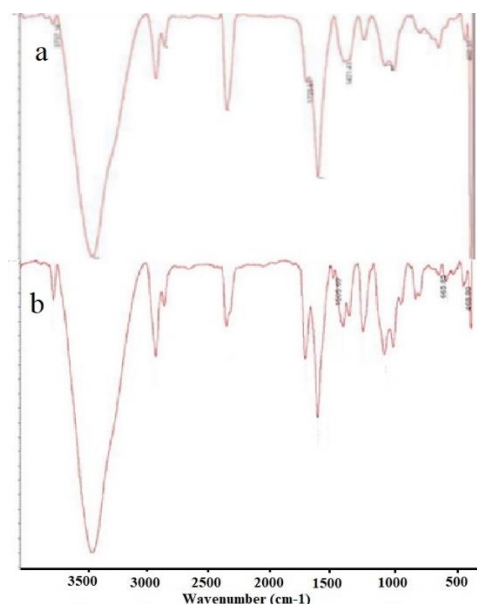


شکل ۱. تصویر SEM و توزیع اندازه قطر نانوفیبرها. قسمت a نمونه PVA/SA و قسمت b نمونه PVA/SA/CC

۲-۳ بررسی ساختار شیمیایی به وسیله FTIR

به منظور شناسایی گروه‌های عاملی و بررسی برهم‌کنش‌های شیمیایی احتمالی بین اجزای تشکیل‌دهنده، آزمون طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) انجام شد که نتایج آن در شکل ۲ نشان داده شده است. در طیف مربوط به PVA/SA، (شکل ۲ قسمت a) یک باند پهن و قوی در محدوده $3500-3200 \text{ cm}^{-1}$ مشاهده شد که به ارتعاشات کششی گروه‌های هیدروکسیل (O-H) نسبت داده می‌شود. همچنین پیک‌های مشاهده‌شده در محدوده $2910-2850 \text{ cm}^{-1}$ و ناحیه حدود 1100 cm^{-1} به ترتیب مربوط به ارتعاشات کششی C-H و C-O بوده و با ساختار شیمیایی شناخته‌شده PVA کاملاً همخوانی دارند. باندهای مشخصه در حدود 1630 cm^{-1} و $1430-1410 \text{ cm}^{-1}$ به ترتیب به ارتعاشات نامتقارن و متقارن گروه‌های کربوکسیلات (COO^-) نسبت داده می‌شوند که حضور موفق پلی‌ساکارید آلرینات در ساختار هیدروژل را تأیید می‌کند. علاوه بر این، باندهای مشاهده‌شده در ناحیه $1100-1000 \text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی C-O و C-O-C در ساختار حلقوی پلی‌ساکاریدی هستند که مربوط به آلرینات سدیم می باشند.

در نمونه‌های حاوی کورکومین (شکل ۲ قسمت b)، تغییراتی در شدت و موقعیت برخی باندها نسبت به نمونه فاقد کورکومین مشاهده شد. به طور مشخص، ظهور یا تقویت باند در حدود $1720-1730 \text{ cm}^{-1}$ به ارتعاش کششی گروه کربونیل (C=O) نسبت داده می‌شود که می‌تواند ناشی از حضور ساختار β -diketone در کورکومین یا باقی‌مانده گروه‌های استاتی در PVA باشد. همچنین تغییرات مشاهده‌شده در نواحی $1600-1500 \text{ cm}^{-1}$ و $1300-1200 \text{ cm}^{-1}$ می‌تواند ناشی از هم‌پوشانی ارتعاشات حلقه‌های آروماتیک و گروه‌های فنولی کورکومین با باندهای موجود در ماتریس پلیمری باشد. این تغییرات نشان‌دهنده برهم‌کنش‌های فیزیکی احتمالی (مانند پیوندهای هیدروژنی) بین کورکومین و شبکه پلیمرها است.

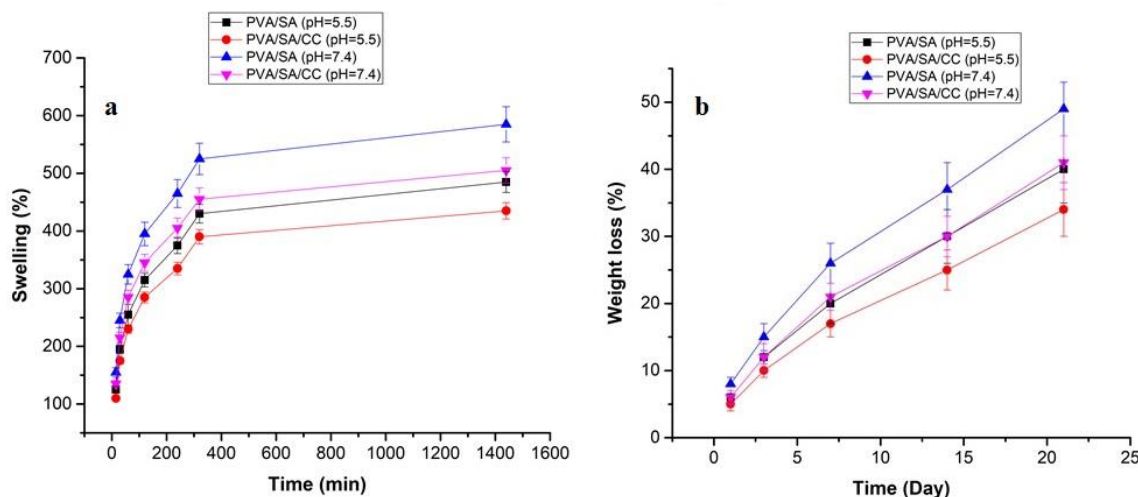


شکل ۲. طیف FTIR نانوفیبرها. قسمت a نمونه PVA/SA و قسمت b نمونه PVA/SA/CC

۳-۳ رفتار تورم و تخریب نانوالیاف

رفتار تورم و تخریب نانوالیاف PVA/SA و PVA/SA/CC در محیط‌های با pH برابر ۵/۵ و ۷/۴ و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. نتایج این بررسی در شکل ۳ نشان داده شده است. قسمت a شکل ۳ نشان می‌دهد تمامی نمونه‌ها رفتار تورم وابسته به زمان را از خود نشان می‌دهند، به‌طوری‌که میزان جذب آب در هر دو سیستم با افزایش زمان به‌صورت پیوسته افزایش یافت. در هر دو pH مورد بررسی، روند تورم از همان مراحل اولیه (۱۵ دقیقه) آغاز شده و تا ۲۴ ساعت ادامه پیدا کرد. در بازه زمانی اولیه، مقدار تورم در تمامی نمونه‌ها کمتر بوده و با گذشت زمان افزایش قابل توجهی مشاهده شد. در نهایت، بیشترین میزان تورم در ۲۴ ساعت به‌دست آمد که مربوط به نمونه PVA/SA در محیط pH=7.4 بود، در حالی که کمترین مقدار تورم مربوط به نمونه PVA/SA/CC در pH=5.5 گزارش شد. همچنین نتایج نشان داد که در تمامی زمان‌ها، میزان تورم در pH خنثی بیشتر از pH اسیدی بوده است. علاوه بر این، حضور کورکومین در ساختار نانوالیاف موجب کاهش نسبی میزان تورم در مقایسه با نمونه فاقد دارو شد.

رفتار تخریب وزنی نمونه‌ها در بازه زمانی ۱ تا ۲۱ روز در دو محیط با pH برابر ۵/۵ و ۷/۴ بررسی شد. نتایج (شکل ۳ قسمت b) نشان داد که کاهش وزن نمونه‌ها به‌صورت تدریجی و وابسته به زمان رخ داده و در تمامی گروه‌ها با افزایش زمان، میزان تخریب افزایش یافت. در روزهای ابتدایی (روز ۱ و ۳)، میزان تخریب در تمامی نمونه‌ها کم و در محدوده پایین قرار داشت. با افزایش زمان تا روز ۷ و ۱۴، روند تخریب به‌صورت قابل توجهی افزایش یافت و در روز ۲۱ به بیشترین مقدار خود رسید. نتایج همچنین نشان داد که میزان تخریب در pH خنثی در تمامی زمان‌ها بیشتر از pH اسیدی بوده است. علاوه بر این، نمونه‌های حاوی کورکومین (PVA/SA/CC) در مقایسه با نمونه‌های فاقد دارو (PVA/SA) نرخ تخریب کمتری را در تمامی زمان‌ها نشان دادند.



شکل ۳. بررسی اثر pH و بارگذاری دارو بر رفتار فیزیکوشیمیایی داربست‌های نانوفیبری؛ (a) پروفایل تورم وابسته به زمان و (b) نمودار تخریب نانوالیاف در بازه ۲۱ روزه.

۴-۳ خواص مکانیکی

نتایج آزمون کشش (جدول ۱) نشان داد که داربست‌های نانوالیافی دارای خواص مکانیکی قابل قبول برای کاربردهای دارورسانی موضعی هستند. استحکام کششی نمونه PVA/SA برابر $5/8 \pm 0/6$ مگاپاسکال بود که پس از بارگذاری کورکومین به $4/9 \pm 0/5$ مگاپاسکال کاهش یافت. همچنین درصد ازدیاد طول در نقطه شکست از 61 ± 5 درصد در نمونه فاقد دارو به 49 ± 4 درصد در نمونه حاوی کورکومین کاهش پیدا کرد. در مقابل، مدول یانگ از 72 ± 8 مگاپاسکال به 81 ± 7 مگاپاسکال افزایش یافت که نشان‌دهنده افزایش سختی و کاهش انعطاف‌پذیری نسبی ساختار پس از بارگذاری دارو است.

جدول ۱. خواص مکانیکی داربست‌های نانوالیافی PVA/SA و PVA/SA/CC شامل استحکام کششی، ازدیاد طول در شکست و مدول یانگ (میانگین $\pm$ انحراف معیار).

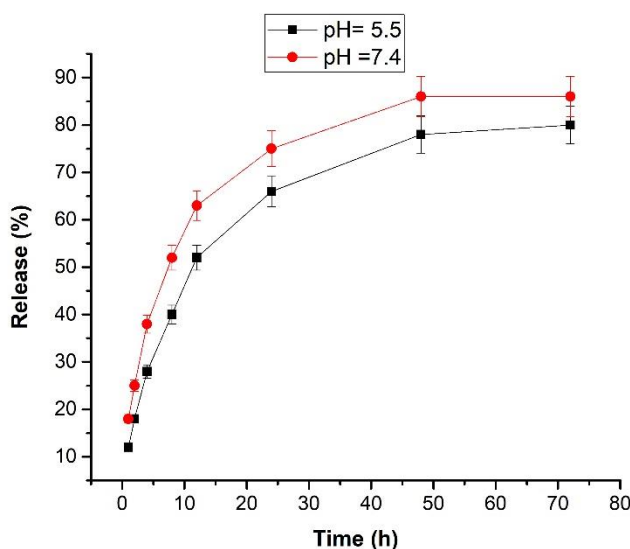
مدول یانگ (MPa)	ازدیاد طول در شکست (%)	استحکام کششی (MPa)	نمونه
72 ± 8	61 ± 5	5.8 ± 0.6	PVA/SA
81 ± 7	49 ± 4	4.9 ± 0.5	PVA/SA/CC

۵-۳ راندمان بارگذاری، انکپسولاسیون و رهش کورکومین

میزان بارگذاری و راندمان انکپسولاسیون کورکومین با استخراج دارو از ماتریس نانوالیافی و اندازه‌گیری آن به روش UV-Vis در طول موج ۴۲۵ نانومتر تعیین شد. راندمان انکپسولاسیون برابر 82 ± 4 درصد و میزان بارگذاری دارو $6/8$ درصد بدست آمد.

رفتار رهش کورکومین از نانوالیاف PVA/SA/CC در دو محیط با pH های ۵/۵ و ۷/۴ در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد طی ۷۲ ساعت در شکل ۴ نشان داده شده است. در ۱ ساعت اولیه، میزان رهش در pH خنثی برابر با 18 ± 2 درصد و در pH

اسیدی برابر با 2 ± 12 درصد بود. در ۲ ساعت این مقدار به 3 ± 25 درصد pH خنثی و 2 ± 18 درصد در pH اسیدی رسید.

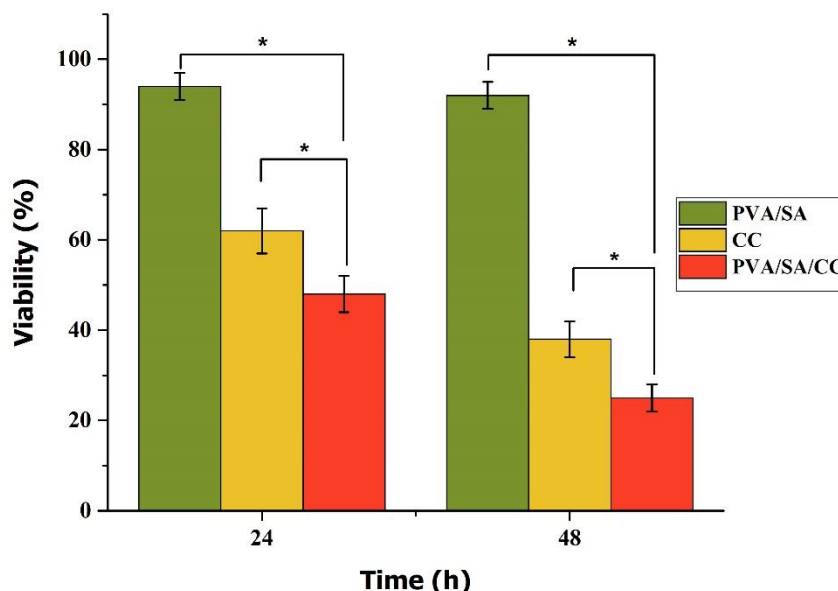


شکل ۴. میزان رهایش تجمعی دارو بر حسب زمان برای داربست نانوالیافی حاوی کورکومین در pH های ۵/۵ و ۷/۴.

بررسی مشخصات رهایش کورکومین از نانوالیاف طراحی شده، حاکی از یک فرآیند کنترل شده دو مرحله‌ای شامل رهایش سریع اولیه در ۲۴ ساعت نخست و متعاقباً یک فاز رهایش آهسته و پیوسته تا رسیدن به حالت پایدار در ساعت ۴۸ است (شکل ۴). بیشینه میزان رهایش تجمعی در ساعت ۴۸ برای محیط‌های با $pH=7.4$ و $pH=5.5$ به ترتیب برابر با 86 ± 5 درصد و 78 ± 5 درصد ثبت گردید و پس از آن (تا ساعت ۷۲) تغییرات جزئی نشان داد. در کل طول دوره آزمون، سرعت و درصد رهایش کورکومین در pH خنثی همواره فراتر از pH اسیدی ارزیابی شد.

۳-۶ ارزیابی سمیت سلولی و اثر ضدتکثیری بر سلول‌های ملانوما

ارزیابی سمیت سلولی و فعالیت ضدتکثیری داربست‌ها علیه رده سلولی ملانومای انسانی (A375) به روش MTT در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت در شکل ۵ ارائه شده است. نتایج حاصل از نمونه شاهد (PVA/SA) نشان‌دهنده زیست‌سازگاری مطلوب بستر پلیمری با میزان زنده‌مانی بالای ۹۲٪ در طول ۴۸ ساعت است. در مقابل، بارگذاری کورکومین در نانوالیاف منجر به کاهش معنادار ($P < 0.05$) بقای سلولی گردید؛ به‌طوری که میزان زنده‌مانی در نمونه PVA/SA/CC در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب به ۴۸٪ و ۲۵٪ کاهش یافت. شایان ذکر است که نانوالیاف حاوی دارو در مقایسه با کورکومین آزاد (با میزان بقای ۶۲٪ و ۳۸٪)، کارایی ضدسرطانی به مراتب بالاتری را نشان دادند که می‌تواند ناشی از رهایش کنترل شده و بهبود فراهمی زیستی دارو توسط سیستم نانوفیبری باشد.



شکل ۵. بررسی سمیت سلولی داربست‌های نانوالیافی بر روی سلول‌های ملانومای انسانی A375 در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت. (علامت * نشان‌دهنده تفاوت معنادار آماری در سطح $P < 0.05$ است).

۴. بحث

در این مطالعه، یک داربست نانوالیافی متخلخل مبتنی بر پلی‌وینیل‌الکل و سدیم آلژینات حاوی کورکومین (PVA/SA/CC) به روش الکتروریسی طراحی و به‌عنوان یک سامانه دارورسانی موضعی هوشمند برای مدیریت سلول‌های سرطان پوست ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که ترکیب یک پلیمر سنتزی با قابلیت انعطاف بالا (PVA) و یک پلی‌ساکارید طبیعی با پاسخ‌گویی به محیط (SA)، منجر به تشکیل یک ماتریس نانوساختار پایدار با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و زیستی بهبود یافته شده است [۵، ۷].

بررسی‌های مورفولوژیکی تایید کرد که نانوالیاف تولید شده دارای ساختاری یکنواخت، بدون بید (bead-free) و با قطری در محدوده ۱۵۰ تا ۲۵۰ نانومتر هستند. این ابعاد نانومتری نه تنها منجر به افزایش چشمگیر نسبت سطح به حجم می‌شود، بلکه با تقلید از ساختار ماتریس خارج سلولی (ECM)، بستر مناسبی را برای اتصال سلولی و نفوذ بهینه دارو فراهم می‌کند [۶، ۱۵]. برهم‌کنش‌های هیدروژنی میان زنجیره‌های PVA و SA نقش کلیدی در پایداری فرآیند الکتروریسی و جلوگیری از پدیده قطره‌گذاری ایفا کرده است [۱۹].

از منظر خواص مکانیکی، نتایج نشان داد که داربست‌ها علی‌رغم ماهیت متخلخل، استحکام لازم برای کاربردهای پوستی را دارا هستند. با بارگذاری کورکومین، اگرچه استحکام کششی و انعطاف‌پذیری (Elongation) کاهش یافت، اما افزایش مدول یانگ از ۷۲ به ۸۱ مگاپاسکال نشان‌دهنده افزایش صلبیت ساختار است. این پدیده را می‌توان به برهم‌کنش‌های بین‌مولکولی دارو-پلیمر نسبت داد که با محدود کردن تحرک زنجیره‌های پلیمری، منجر به تشکیل یک شبکه متراکم‌تر و صلب‌تر شده است [۱۷، ۱۸، ۲۳].

رفتار تورمی و تخریب داربست‌ها وابستگی مستقیمی به pH محیط نشان داد. میزان تورم در محیط خنثی (pH 7.4) به‌طور معناداری بیشتر از محیط اسیدی (pH 5.5) بود. این رفتار ناشی از دیپروتونه شدن گروه‌های کربوکسیل در زنجیره‌های

سدیم آلزینات در pH بالاتر از pKa است که با ایجاد دافعه الکترواستاتیک بین زنجیره‌ای، فضای آزاد برای ورود مولکول‌های آب را افزایش می‌دهد [۹، ۲۱]. در مقابل، پایداری مناسب ساختار در برابر تخریب، به‌ویژه در محیط اسیدی، به اثربخشی فرآیند کراس‌لینکینگ با گلوکارآلدئید نسبت داده می‌شود که منجر به تشکیل شبکه‌های عرضی پایدار شده است [۸، ۲۲]. فرآیند بارگذاری دارو با راندمان بالای ۸۲٪ نشان‌دهنده ظرفیت بالای ماتریس PVA/SA در تثبیت مولکول‌های هیدروفوب کورکومین است. پروفایل رهایش دارو الگوی دوفازی را نشان داد؛ یک رهایش سریع اولیه (Burst release) در ۲۴ ساعت نخست که مربوط به آزادسازی داروهای مستقر در سطح الیاف است، و متعاقباً یک فاز رهایش کنترل‌شده و زمان‌وابسته که توسط نفوذ مولکول‌های دارو از عمق شبکه پلیمری هدایت می‌شود [۱۵، ۲۵]. شایان ذکر است که برخلاف گزارش‌های پیشین که اختلاف رهایش را ناچیز می‌دانستند، در این مطالعه میزان رهایش در pH 7.4 به‌طور مشخصی بالاتر از pH 5.5 (۸۶٪ در مقابل ۷۸٪ در ساعت ۴۸) ثبت شد. این افزایش رهایش کاملاً با نتایج تورم مطابقت دارد؛ چراکه تورم بیشتر شبکه در pH خنثی، مسیرهای نفوذ (Diffusion paths) وسیع‌تری را برای خروج دارو فراهم می‌کند [۱۸، ۲۴]. در نهایت، نتایج آزمون MTT کارایی بیولوژیک سامانه را تایید کرد. عدم سمیت معنادار نمونه PVA/SA (بقای ۹۲-۹۴٪) گویای زیست‌سازگاری مطلوب بستر پلیمری است. با این حال، نمونه PVA/SA/CC با کاهش بقای سلول‌های ملانوما A375 به ۲۵٪ در ۴۸ ساعت، اثر ضدتکثیری به‌مراتب قوی‌تری نسبت به کورکومین آزاد نشان داد. این تقویت اثر درمانی را می‌توان به سه عامل نسبت داد: ۱) افزایش حلالیت و فراهمی زیستی کورکومین در فرم نانوالیاف، ۲) رهایش پیوسته که منجر به حفظ غلظت مؤثر دارو در مجاورت سلول‌ها می‌شود، و ۳) تماس مستقیم و مؤثرتر نانوالیاف با غشای سلول‌های سرطانی [۱۷، ۲۴]. این اثرات ضدسرطانی احتمالاً از طریق مهار مسیرهای سیگنالینگ آپوپتوز و توقف چرخه سلولی اعمال می‌شود که در مطالعات پیشین نیز به آن اشاره شده است [۱۱، ۲۶].

به‌طور کلی، نانوالیاف PVA/SA/CC تولید شده در این تحقیق با دارا بودن خواص مکانیکی مطلوب، رهایش کنترل‌شده و حساس به pH و قدرت مهار بالای سلول‌های سرطانی، کاندیدای مناسبی برای درمان‌های موضعی ملانوما محسوب می‌شوند [۱۸، ۲۵].

۵. نتیجه‌گیری

در این پژوهش، یک داربست نانوالیافی هوشمند مبتنی بر پلی‌وینیل‌الکل/سدیم آلزینات حاوی کورکومین (PVA/SA/CC) با موفقیت طراحی و سنتز شد. تصاویر SEM تاییدکننده تشکیل نانوالیافی یکنواخت، بدون گره و با تخلخل‌های بین‌رشته‌ای متراکم بود که بستری ایده‌آل برای بارگذاری بالای دارو فراهم می‌کرد. نتایج طیف‌سنجی FTIR، تشکیل پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش‌های پایدار میان کورکومین و بستر پلیمری را تایید نمود. ارزیابی‌های فیزیکوشیمیایی نشان داد که رفتار تورم و تخریب داربست به‌طور معناداری تابع pH محیط است، به‌طوری که بیشینه تورم و رهایش در pH فیزیولوژیک (۷.۴) مشاهده شد. از نظر خواص مکانیکی، داربست‌ها پایداری ساختاری مناسبی را نشان دادند و بارگذاری کورکومین اگرچه منجر به کاهش نسبی استحکام کششی شد، اما صلبیت و مدول یانگ سامانه را ارتقا بخشید. راندمان انکپسولاسیون بالای ۸۲٪ در کنار الگوی رهایش دوفازی (آزادسازی سریع اولیه و متعاقباً رهایش پایدار)، پتانسیل بالای این سامانه را برای ایجاد دوز درمانی مؤثر در محل زخم‌های سرطانی نشان داد. در نهایت، آزمون‌های بیولوژیک بر روی رده سلولی A375 تایید کرد که نانوالیاف حاوی دارو با مهار ۷۵ درصدی رشد سلول‌ها در ۴۸ ساعت، کارایی به‌مراتب بالاتری نسبت به داروی آزاد دارند، در حالی که بستر پلیمری به‌تنهایی کاملاً زیست‌سازگار است. به‌طور کلی، نانوالیاف PVA/SA/CC به‌عنوان یک کاندیدای امیدوارکننده برای درمان موضعی ملانوما معرفی می‌شوند؛ هرچند برای تایید نهایی، انجام مطالعات درون‌تنی (in vivo) و

بررسی مسیرهای سیگنالینگ مولکولی در گام‌های بعدی ضروری است.

۶. قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مراتب قدردانی و سپاس خود را از پرسنل محترم آزمایشگاه‌های دانشکده علوم و فناوریهای پزشکی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی اعلام می‌دارند که با فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی و همکاری‌های فنی ارزشمند، نقش مؤثری در انجام مراحل مختلف این پژوهش ایفا نمودند. همراهی و حمایت ایشان سهم بسزایی در پیشبرد و تکمیل این مطالعه داشته است.

۷. مراجع:

1. Proksch, E., Brandner, J.M. and Jensen, J.M. (2018), "The Skin: An Indispensable Barrier," *Experimental Dermatology*, **27** (4), pp 348–357.
2. Rogers, H.W., Weinstock, M.A., Feldman, S.R. and Coldiron, B.M. (2019), "Incidence Estimate of Nonmelanoma Skin Cancer in the United States," *JAMA Dermatology*, **155** (10), pp 1081–1086.
3. Schadendorf, D., van Akkooi, A.C.J., Berking, C., et al. (2018), "Melanoma," *The Lancet*, **392** (10151), pp 971–984.
4. Prausnitz, M.R. and Langer, R. (2018), "Transdermal Drug Delivery," *Nature Biotechnology*, **26**, pp 1261–1268.
5. Xue, J., Wu, T., Dai, Y. and Xia, Y. (2019), "Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications," *Chemical Reviews*, **119** (8), pp 5298–5415.
6. Bhardwaj, N. and Kundu, S.C. (2019), "Electrospinning: A Fascinating Fiber Fabrication Technique," *Biotechnology Advances*, **28** (3), pp 325–347.
7. Jiang, S., Chen, Y., Duan, G., Mei, C., Greiner, A. and Agarwal, S. (2018), "Electrospun Nanofiber Reinforced Composites: A Review," *Polymer Chemistry*, **9**, pp 2685–2720.
8. Kamoun, E.A., Chen, X., Mohy Eldin, M.S. and Kenawy, E.R. (2019), "Crosslinked Poly(Vinyl Alcohol) Hydrogels for Wound Dressing Applications," *Pharmaceutics*, **7** (3), pp 70–89.
9. Lee, K.Y. and Mooney, D.J. (2018), "Alginate: Properties and Biomedical Applications," *Progress in Polymer Science*, **37** (1), pp 106–126.
10. Boateng, J., Matthews, K., Stevens, H. and Eccleston, G. (2018), "Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **97** (8), pp 2892–2923.
11. Hewlings, S.J. and Kalman, D.S. (2019), "Curcumin: A Review of Its Effects on Human Health," *Foods*, **6** (10), pp 92.

12. Kunnumakkara, A.B., Bordoloi, D., Padmavathi, G., et al. (2018), "Curcumin, the Golden Nutraceutical: Multitargeting for Multiple Chronic Diseases," *British Journal of Pharmacology*, **174** (11), pp 1325–1344.
13. Akbik, D., Ghadiri, M., Chrzanowski, W. and Rohanizadeh, R. (2019), "Curcumin as a Wound Healing Agent," *International Journal of Molecular Sciences*, **15** (6), pp 9809–9824.
14. Nelson, K.M., Dahlin, J.L., Bisson, J., Graham, J., Pauli, G.F. and Walters, M.A. (2018), "The Essential Medicinal Chemistry of Curcumin," *Journal of Medicinal Chemistry*, **60** (5), pp 1620–1637.
15. Ghosal, K., Agatemor, C. and Thomas, S. (2019), "Electrospun Nanofibers for Tissue Engineering and Drug Delivery Applications," *Materials Science and Engineering C*, **97**, pp 912–931.
16. Ranjbar Moghaddam, A., et al. (2020), "Electrospun Nanofibrous Scaffolds for Skin Tissue Engineering," *International Journal of Biological Macromolecules*, **164**, pp 1124–1139.
17. Augustine, R., Zahid, A.A., Hasan, A., Dalvi, Y.B. and Varghese, R. (2020), "Electrospun Polycaprolactone/Curcumin Nanofibers for Wound Healing Applications," *Materials Science and Engineering C*, **109**, pp 110–116.
18. Zhao, R., Li, X., Sun, B., et al. (2021), "Curcumin Loaded Electrospun Nanofibers for Biomedical Applications," *Carbohydrate Polymers*, **257**, pp 117613.
19. Li, X., Xie, J., Lipner, J., et al. (2014), "Nanofibers for Tissue Engineering and Drug Delivery Applications," *Materials Today*, **17** (9), pp 448–459.
20. Wang, X., Ding, B. and Li, B. (2012), "Electrospun Nanofiber-Based Drug Delivery Systems," *Biomaterials*, **33** (32), pp 8877–8890.
21. Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R.M. and Chiellini, E. (2011), "Chitosan—A Versatile Semi-Synthetic Polymer in Biomedical Applications," *Progress in Polymer Science*, **36** (8), pp 981–1014.
22. Hennink, W.E. and van Nostrum, C.F. (2012), "Novel Crosslinking Methods to Design Hydrogels," *Advanced Drug Delivery Reviews*, **64**, pp 223–236.
23. Szentivanyi, A.L., et al. (2011), "Electrospun Cellular Microenvironments for Tissue Engineering," *Tissue Engineering Part B*, **17** (2), pp 109–117.
24. Zhang, Y., et al. (2021), "Curcumin-Loaded Electrospun Nanofibers for Cancer Therapy," *Carbohydrate Polymers*, **267**, pp 118159.
25. Kenawy, E.R., Abdel-Hay, F.I., El-Newehy, M.H. and Wnek, G.E. (2007), "Controlled Release of Therapeutics from Electrospun Nanofibers," *Materials Science and Engineering A*, **459** (1–2), pp 390–396.
26. Gupta, S.C., Patchva, S. and Aggarwal, B.B. (2013), "Therapeutic Roles of Curcumin," *AAPS Journal*, **15** (1), pp 195–218.