Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 24, No. 3, Autumn 2024, Pages: 333-348

Original article

Synthesis and Characterization of Polycaprolactone Scaffolds Containing Carbon Quantum Dots Nanoparticles for Tissue Engineering Applications

Faranak Hasanpour¹, Saber Zahri¹*, Arash Abdolmaleki², Asadolah Asadi¹

 Department of Biology, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
Department of Biophysics, Faculty of Advanced Technologies, University of Mohaghegh Ardabili, Namin, Iran.

* Corresponding author. Tel +984531505190, Fax: +984531505187, E-mail: zahri@uma.ac.ir

Article info	ABSTRACT
Article info Article history: Received: Oct 26, 2024 Accepted: Jan 6, 2025 Keywords: Antioxidant Biocompatibility Synthetic Scaffold Tissue Engineering	ABSTRACT Background: Tissue engineering, by designing biological scaffolds and imitating the extracellular environment, helps the growth and proliferation of cells and plays a key role in replacing and repairing damaged tissues. In recent years, the addition of nanoparticles, such as carbon quantum dots, to biological scaffolds has received attention. In this research, the synthesis of polycaprolactone scaffolds containing carbon quantum dots and the investigation of biocompatibility effects and their protection have been discussed. Methods: Carbon quantum dots were synthesized using the pyrolysis method, and polymer scaffolds containing carbon quantum dots were prepared by the electrospinning method. The physical and chemical properties of the scaffold were evaluated by scanning electron microscopy and FTIR spectroscopy. The scaffolds' biocompatibility and antioxidant properties were measured by the MTT method. Results: Examination of the morphology and chemical showed the appropriate porosity of the scaffold containing carbon quantum dots. The MTT assay significantly enhanced stem cell viability on scaffolds incorporating carbon quantum dots. Furthermore, these scaffolds exhibited a significant protective effect against oxidative stress. Conclusion: This study showed that the polycaprolactone scaffold containing carbon quantum dots, with high biocompatibility and suitable antioxidant
	properties, provides an effective substrate for tissue engineering and cell protection under oxidative stress conditions.

How to cite this article: Hasanpour F, Zahri S, Abdolmaleki A, Asadi A. Synthesis and Characterization of Polycaprolactone Scaffolds Containing Carbon Quantum Dots Nanoparticles for Tissue Engineering Application. J Ardabil Univ Med Sci. 2024;24(3):333-348.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License.

Extended Abstract

Background: engineering Tissue relies that mimic heavily on scaffolds the extracellular matrix. Designing a scaffold with appropriate mechanical properties is a fundamental criterion in tissue engineering applications because cell adhesion, proliferation, and differentiation depend highly on the scaffold's mechanical properties. A scaffold designed for perfect cell-scaffold interaction should have characteristics such as (1) high porosity with an interconnected pore structure, (2) a large surface area, (3) suitable mechanical strength, (4)high biocompatibility, and (5) biodegradability. Electrospinning is a versatile technique to fabricate nanofibrous scaffolds that mimic the extracellular matrix and increase the available surface area to support cellular attachment. synthetic polymers Although such as polycaprolactone are biocompatible and biodegradable, they cannot fully support cell adhesion because thev are usually hydrophobic and lack the necessary cell recognition sites. Adding nanoparticles to the structure of synthetic polymers increases cell adhesion and viability and has the least toxicity. Among various nanoparticles, CQDs have unique properties such as excellent biocompatibility, tunable optical properties, and antioxidant activity. They are considered one of the most efficient nanoparticles to add to scaffolds. CQDs can provide additional functional groups. Increase the available surface and potentially release bioactive molecules; as a result, they are favorable nanoparticles for cell growth and tissue regeneration.

Methods: Carbon quantum dots were synthesized using the pyrolysis method in a 900W microwave. After synthesis, the resulting solution was centrifuged and filtered to obtain a pure CQD solution. Nanoparticles obtained with polycaprolactone dissolved in ultrasound. The resulting solution was then subjected to electrospinning, which involves applying high voltage to the polymer solution to produce nanofibers. Scaffold morphology, pore size distribution, and functional group analysis were characterized using scanning electron microscopy (SEM) with ImageJ analysis and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), respectively. Cell viability and biocompatibility of the scaffolds were assessed using the Dimethyl sulfoxide (DMSO), 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl) - 2, 5diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay at specific time intervals after cell seeding. Oxidative stress factors such as highconcentration glucose, hydrogen peroxide, and X-rays were used to measure CQDcontaining scaffolds' protective and antioxidant ability compared to polycaprolactone scaffolds and cell control samples without scaffolds. Cell viability under oxidative stress conditions was evaluated using MTT analysis.

Results: The chemical composition and morphology of the scaffolds were investigated in the following way .The shape and structure of the pores of the electrospun scaffolds were investigated using a scanning electron microscope (SEM). A distinct nanofibrous structure with associated pores was visible in SEM images, which is essential for nutrient exchange and cell penetration. Using ImageJ software, the pore size distribution was analyzed and found suitable for cell development and proliferation. The chemical composition of the scaffolds was characterized using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. Functional groups of dots carbon quantum (CQD) and polycaprolactone (PCL) were shown by distinct peaks in the FTIR spectrum. The successful incorporation of CQDs into the PCL matrix was demonstrated by confirming the presence of carboxyl (COOH) groups. These functional groups are essential for the antioxidant quality of the scaffold.

The biocompatibility of scaffolds was evaluated using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) method. This colorimetric method measures cell viability by quantifying the metabolic activity of cells. Cells cultured on PCL scaffolds containing CQDs showed higher viability than those cultured on pure PCL scaffolds or without scaffolds. This increase

in cell proliferation and survival can be attributed to the improvement of surface properties, increase in cell adhesion, and better attachment of cells on the scaffold due to the presence of quantum dot carbon nanoparticles. Cells cultured on different scaffolds were exposed to oxidative stress caused by various substances, such as high concentrations of glucose, hydrogen peroxide, X-ray radiation, to evaluate the and antioxidant quality of the scaffolds. Once again, the MTT assay assessed cell viability under these oxidative conditions. Compared with the control group, the results showed that scaffolds containing CQDs significantly protect cells against oxidative stress. The antioxidant properties of CQDs, which effectively scavenge reactive oxygen species (ROS) produced during oxidative stress, are responsible for this protective effect.

Conclusion: Carbon quantum dots (CQDs) have emerged as promising nanomaterials for various biomedical applications, including tissue engineering. CQDs can be added to synthetic scaffolds to improve their functional characteristics and biocompatibility.

In this study, we successfully synthesized CQDs and incorporated them into polycaprolactone (PCL) scaffolds using the

electrospinning technique. The obtained scaffolds show a nanofibrous structure with interconnected pores, which provides an ideal environment for cell growth and proliferation. Cells were cultured on CQDs containing PCL and pure PCL scaffolds to evaluate the scaffolds' biocompatibility. The results showed that CQDs significantly increased cell viability and proliferation. This improvement can be attributed to the synergistic effect of nanofibrous structure the and COD bioactivity. In addition, CQDs protect cells against oxidative stress caused by various environmental factors due to their antioxidant properties. The antioxidant effect is caused by the presence of functional groups, such as carboxyl groups, on the CQD surface.

The results of this study show how PCL scaffolds combined with CQDs can be used in tissue engineering applications. These scaffolds, which combine the advantages of nanofibrous scaffolds with the unique properties of CQDs, provide a promising basis for tissue regeneration and repair. Further research is needed to determine the exact processes for enhancing these scaffolds' biocompatibility and antioxidant quality for specific tissue engineering applications.

مجله دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دوره بیست و چهارم، شماره سوم، پاییز ۱٤۰۳

مقاله اصيل

سنتز و ارزیابی داربستهای پلی کاپرولاکتون حاوی نانوذرات نقاط کوانتومی کربن برای کاربردهای مهندسی بافت

فرانک حسن پور'، صابر زهری'*، آرش عبدالملکی'، اسداله اسدی'

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه محقق اردبیل، اردبیل، ایران ۲. گروه بیوفیزیک، دانشکده فناوری های نوین، دانشگاه محقق اردبیلی، نمین، ایران. * نویسنده مسئول. تلفن: ۲۵۵٬۱۵۰۵۱۹۰ فاکس: ۲۵۵٬۱۵۰۱۸۲ پست الکترونیک: Zahri@uma.ac.ir

چکیدہ

زمینه و هدف: مهندسی بافت، با طراحی داربستهای زیستی و با تقلید از محیط خارج سلولی، به *ر*شد و تکثیر سـلولهـا کمـک کرده و نقش کلیدی در جایگزینی و ترمیم بافتهای آسیبدیده دارد. در سالهای اخیر، افزودن نانوذرات همانند نقاط کوانتومی کربن به داربستهای زیستی مورد توجه قرار گرفته است. در ایـن پـژوهش بـه سـنتز داربسـت پلـیکـاپرولاکتون حـاوی نقـاط کوانتومی کربن و بررسی اثرات زیستسا*ز*گاری و محافظتی آن در شرایط تنش اکسیداتیو پرداخته شده است.

روش کار: نقاط کوانتومی کربن با استفاده از روش پیرو لیز سنتز شده و داربستهای پلیمری حاوی نقاط کوانتـومی کـربن بـه روش الکتروریسی تهیه شدند. ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی داربست بـا میکروسـکوپ الکترونـی روبشـی و طیـفسـنجی FTIR ارزیابی شد. زیست سازگاری داربستها و خواص آنتیاکسیدانی آنها با روش MTT سنجیده شد.

یافتهها: بررسی مورفولوژی و ساختار شیمیایی داربست، تخلخل مناسب داربسـت حـاوی نقـاط کوانتـومی کـربن را نشـان داد. آزمون MTT بهصورت قابلتوجهی قابلیت زنده ماندن سلولهای بنیادی *ر*ا بر روی دا*ر*بستهای حاوی نقاط کوانتـومی کربنـی نشان داد. علاوه بر این، این داربستها اثر محافظتی قابلتوجهی در برابر استرس اکسیداتیو از خود نشان دادند.

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد که داربست پلی کاپرولاکتون حاوی نقاط کوانتومی کربن، با ویژ گیهای زیست ساز گاری بـالا و خواص آنتیاکسیدانی مناسب، بستر مؤثری برای مهندسی بافت و محافظت سلولی در شرایط تنش اکسیداتیو فراهم میآورد. **واژههای کلیدی:** آنتیاکسیدان، زیست ساز گا*ر*ی، داربست سنتزی ، مهندسی بافت

دریافت: ۱٤۰۳/۸/۵ پذیرش: ۱٤۰۳/۱۰/۱۷

مقدمه

مهندسی بافت علم طراحی داربست برای جایگزینی، تحویل دارو و بهبود عملکرد بافتهای آسیبدیده است [۱]. داربست نقش حیاتی در تبدیل سلولها به بافت ایفا میکند و به عنوان الگویی برای تنظیم عملکرد سلولی (چسبندگی، رشد، تکثیر، تمایز) و رسوب

ماتریکس خارج سلولی عمل میکند. داربستها قابلیت انتقال و حذف مواد مغذی و مواد زائـد تولیـدی را از داخل به خارج و یا بالعکس را دارد [۲]. از ویژگـیهـای منحصر به فرد داربسـتهـا مـیتـوان تخلخـل بـالا بـا منافذی در ابعاد مختلـف کـه بـهصـورت یکنواخـت در طول داربست پراکنده شدهاند و محیط مناسبی بـرای

این مقاله تحت شرایط Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License قابل بازنشر است.

اتصال بهتر سلولها ایجاد میکند اشاره کرد. از دیگر خصوصیات قابلتوجه داربستها میتوان استحکام مکانیکی مناسب، زیست ساز گاری بالا ، توانایی رهایش انواع داروها و مواد همراه را نام برد [۳-۵]. خواص فیزیکی و شیمیایی، استحکام مکانیکی و زیست ساز گاری داربست به معماری سهبعدی و ترکیب شیمیایی آن بستگی دارد [۶-۸].

در سنتز داربست هایی با مینزان تخلخیل مناسب روشهای مختلفی نظیر الکتروریسی [۱۰،۹]، پرینتر سه بعدی [۱۱]، فروشویی ذرهای [۱۲] و فوم گازی [۱۳] مورد استفاده قرار می گیرد. در این بین الکتروریسی یکی از انعطاف پذیرترین و سادهترین تکنیکهایی است که امکان تولید الیاف با قطرهای مختلف از دهها نانومتر تا چند میکرومتر را دارد [۱۵،۱٤].

افزودن مواد مختلف طبیعی و مصنوعی بـهصـورت متـداول در جهـت تغییـرات مثبـت و کـارایی بهتـر داربستهای زیستی مورداستفاده قرار مـی گیـرد. بـر همین اساس نقاط کربن در داربست های مختلف طبیعی و مصنوعی مبتنی بر پلیمر ادغام میشوند تا کاربردهای مهندسی بافت را افزایش دهند [۱۶]. نقاط کوانتومی کربن (CQD)، یک کلاس جدید از نقاط کوانتومی هستند که به دلیل خواص نوری جذابشان توجه روزافزونی را به خود جلب کرده است. بـرخلاف نقاط کوانتومی نیمـههـادی و عوامـل فلورسـنت آلـی سنتی، نقاط کوانتومی کربنها مزایای قابلتوجهی مانند سمیت سلولی کم، پایداری شیمیایی، زیست ساز گاری عالی و فوتولومینسانس پایدا(PL)، وزن سبک، ساخت آسان، انعطافیـذیری مکانیکی مناسـب، پایـداری بـالا، رسانایی الکتریکی و همگنی ذرات را از خود نشان مــیدهنــد. در نتیجــه طیـف وسـیعی از کاربردهـا را میتوان با این ترکیبات طراحی کرد [۱۷-۲۰]. نقاط کوانتومی نانو کریستالهای نیمـهرسـانا بـا انـدازههـای تقریباً ۲-۱۰ نانومتر هستند [۲۱]. از روشهای سنتز نقاط کوانتـومی کـربنهـا مـیتـوان بـه کـربن سـازی حرارتی [۲۲]، ماکروویو [۲۳]، لیزر [۲٤]، هیـدروترمال

[۲۵]، حل گرمایی [۲۶]، روشهای الکتروشیمیایی [۲۷] و شیمیایی [۲۸] اشاره کرد. مطالعــه حاضـر در نظـر دارد اثــر محـافظتی و آنتیاکسیدانی داربست پلی کاپرولاکتون، غنیشـده با نقاط کوانتومی کربن (CQD) را در حضور میزان بالای تقاط کوانتومی کربن (CQD) را در حضور میزان بالای نقاط کوانتومی کربن (AD-MSC) ما در روی داربسـت حاوی موردبررسی قرار دهد.

روش کار ملاحظات اخلاقی

این مطالعه آزمایشگاهی در آزمایشگاه تحقیقاتی سلولی و مولکولی دانشگاه محقق اردبیلی از دیماه سال ۱٤۰۲ تا فروردین ۱٤۰۳ در قالب قسمتی از رساله دکتری انجام شــــد. این مطالعه دارای کد اخلاقی به شماره (IR.UMA.REC.1402.017) است.

سنتز نانوذره نقاط كوانتومى كربن

جبت سنتز کربن کوانتوم دات ۱/۱ گرم اسیدسیتریک (شرکت مرک، آلمان) و ۳۵۰ میکرولیتر دیمتیل آمین (شرکت مرک، آلمان) در ۱۰ میلیلیتر آب مقطـر بـه مدت ۲۰ دقیقه حل شد. با استفاده از روش پیـرو لیـز محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در مـاکرویو باقـدرت ۹۰۰ وات قرار داده شد تـا مـاده قهـوهای تیـرهای بـه دست آید. حجم ماده سنتزی مجدداً به ۱۰ میلیلیتر رسانده شد تا نانو ذرات سنتز شده بهطـور یکنواخـت در آن پراکنده شوند. در مرحله بعد جبت جداسـازی ناخالصیها محلول از کاغذ صافی عبور داده شـد و در سانتریفیوژ ۱۲۰۰۰ ۲pm بـه مـدت ۱۵ دقیقـه قـرار گرفت، در مرحلـه آخـر محـیط رویـی از فیلتـر سـر سـرنگی بـا انـدازه ۲/۰ نـانومتر عبـور داده شـد و در یخچال با دمای ٤ درجه سانتی گراد نگهداری شد [۲۹].

برای ساخت این داربست دوقسمتی از پلیکاپرولاکتون (شرکت مرک، آلمان) و نقاط کوانتـومی کـربن سـنتز شده استفاده شد. پلـیکـاپرولاکتون wt ۱۲٪ در اسـید

استیک (سیگما آلدریچ، امریکا) به مدت ۵ ساعت بر روی همزن مغناطیسی حل شد. سپس نقاط کوانتـومی کربن محلول در آب با غلظت wt ۶٪ در سه مرحله و تحت فراصوت به پلی کاپرولاکتون اضافه شد تا محلولی شفاف و با غلظت مناسب جہت قرار گرفتن در دستگاه الکتروریسی به دسـت آیـد[۳۰]. نـانو الیـاف در بـازه زمـانی ۵ سـاعت جمع آوری شـدند کـه سـرعت جمع آوری نمونهها ۱ میلیلیتر در ساعت و با چرخش جمع آوری نمونهها ۱ میلیلیتر در ساعت و با چرخش ۱۵ سانتیمتر و در ولتاژ ۸ kV این فر آیند انجام شـد، سپس داربستها در یک آون خلاً در دمـای ۳۷ درجـه سانتی گراد به مدت ۲۲ ساعت خشک شدند [۳۱].

بررسی مورفولوژی و فراساختار نانو داربست بهمنظور بررسی خواص سطحی و انـدازه گیـری قطـر نانوداربسـت از میکروسـکوپ الکترونـی روبشـی -FE SEM ساخت کشور چک استفاده شد. ابتدا نمونههـای SEM ساخت تهیـهشـده در ابعـاد ۳۰ ۳۰×۳۰ بـا طـلا پوششدهی شده و تصویربرداری انجام شد. **بررسی اندازه نانو ذرات**

اندازه نانو ذرات سنتز شده توسط دستگاه DLS اندازه گیری شد. اساس کار این دستگاه پراکندگی نور در همه جهات با الگوی شدت وابسته به اندازه ذرات است. در این تجزیه و تحلیل، ۳ میلیلیتر محلول آبی حاوی CQD در دستگاه پراکندگی نور دینامیک ساخت کشور ژاپن قرار داده شد و اندازه نانو ذرات در طیف نانومتر اندازه گیری شد.

قطر و اندازه منافذ داربست

تعداد و قطر منافذ داربست و قطر رشـتههـای تنیـده شده توسط Image J مورد ا*ر*زیابی قرار گرفت.

بررسی ویژ گیهای شیمیایی نانو داربستها

جهت تشخیص ساختار شیمیایی و گروهای عاملی داربست تهیهشده با نقاط کوانتومی کربن، از طیفسنجی تبدیل فوریه فروسرخ استفاده شد. بدین منظور داربستی در ابعاد ۲۰×۲۰ میلیمتر در محدوده طول موج¹⁻Cm Cm در دستگاه طیفسنجی

تبدیل فوریـه فروسـرخ سـاخت کشـور امریکـا مـورد سنجش قرار گرفت.

آمادهسازی و استریل نمودن داربست

جهت آمادهسازی داربستها به قطعات (۲۰۰۳×۱۰) تقسیم شدند و در چاهکهای پلیت ۹۶ خانه قـرار داده شـد و بـا PBS حـاوی آنتـیبیوتیـک پنـیسـیلین/ استرپتوماسین بهسرعت شسته، سپس در دو نوبت ۲۰ دقیقهای تحت تابش اشـعه UV اسـتریل شـد و تعـداد ۲۰^۳ ک**شت سلول**

سلولهای بنیادی بافت چربی (AD-MSC) از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. سلولها در محیط DMEM (محصول شرکت گیبکو، انگلستان) حاوی ۲۰٪ سرم جنین گاوی (محصول شرکت گیبکو، انگلستان) و آنتی بیوتیک ۱٪ (محصول شرکت گیبکو، انگلستان) در انکوباتوری با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵٪ CO₂ کشت داده شد. محیط رویی سلولها خارج و برای حذف هر گونه آلودگی با PBS شسته شده و با Trypsin-EDTA

تثبیت سلول بر روی داربست

تعداد ۲۰۲× ۵ سلول بر روی داربستها کشت داده شد و برای ٤٨ ساعت انکوبه شد. بهمنظور تثبیت سلولها بر روی سطح داربست برای مطالعه اتصال سلولی پس از شستشو با PBS، گلوتار آلدئید (۳٪) (سیگما آلدریچ، امریکا) اضافه شد و به مدت ٤-۲ ساعت نگهداری شد. در مرحله بعد، فر آیند آبگیری با ساعت نگهداری شد. در مرحله بعد، فر آیند آبگیری با استفاده از اتانول ۵۰ تا ۱۰۰ درصد وزنی انجام شد و درنهایت داربستها برای ارزیابی FE-SEM آماده شدند[۳۲].

زیست ساز گاری نانو داربست

جبت بررسی میزان زندهمانی سلولها از تست MTT (methyl-thiazol-tetrazolium) استفاده شـد. رنـگ زرد MTT بـهوسـیله آنـزیم ردوکتـاز موجـود در میتوکندری سلولهای زنده به رنگ بنفش فورمـازون احیا میشود؛ بنابراین شدت رنگ بنفش را میتـوان بـا

تعـداد سـلولهـای زنـده هـمراسـتا دانسـت [۳۳]. داربستها در ابعاد ² mm² بانچ شـده و پـس از استریل کـردن داربسـتهـا تعـداد ^۳ ۲۰× ۵ سـلول در پلیت ۹۶ خانه کشت و بـه مـدت ۲٤، ٤٨ و ۷۲ سـاعت انکوبه شد. پس از آن محیط رویی خارج و سلولهـا بـا PBS شستشـو شـده و بـه هـر چاهـک میـزان ٤٠ میکرولیتر محلول (MTT (۰/۵ mg/mL و ۶۰ میکـرو لیتر محیط MTT اضافه شده و بـه مـدت ۶ سـاعت انکوبه شد. سپس محیط رویی خارج و ۲۰۰ میکرو لیتـر انکوبه شد سپس محیط رویی خارج و ۲۰۰ میکرو لیتـر مونهها در ۵۲۰ نانومتر بهوسـیله دسـتگاه الایزاریـدر ساخت کشور امریکا خوانده شد. شـدت جـذب ارتبـاط مستقیم با میزان زندهمانی سلولها دارد [۳٤].

تنشهای اکسیداتیو

بـرای ایـن منظـور سـه گـروه سـلول شـاهد (فاقـد دا*ر*بست)، داربستهای پلیکاپرولاکتون و داربستهای پلیکاپرولاکتون به همراه نـانو ذرات نقـاط کوانتـومی کربن تعریف شدند.

همه گروهها در سه تکرار برای سنجش تأثیرات حفاظتی و آنتیاکسیدانی تحت تنش با گلوکز در غلظتهای ۸۰ mg/ml و ۱۰۰ (به مدت ۲۶ ساعت)، پراکسید هیدروژن (H2O2) در غلظتهای ۵۰µl و

۱۰۰ (بــه مــدت ۲٤ سـاعت) و اشــعه X بــا دوز 50KV/100mA (در مـدتزمـان ۳۰ دقیقـه) قـرار گرفتند. در این آزمایش ابتدا داربسـتهـا و سـلولهـا همان طور که قبلاً ذکر شد آمـادهشـده و ۲۶ سـاعت بعد مورد تنش قرار گرفتند، سپس زندهمانی سلولها

فرانک حسن پور و همکاران ۳۳۹

با روش MTT مورد بررسی قرار گرفت[۳۵]. **آنالیز آماری**

تمام آزمایشها در سه تکرار انجام شد. آنالیز آماری به کمک نرمافزار SPSS-29 انجام شد و دادهها به صورت میانگین±انحاراف استاندارد بیان شدند. از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شده است. نمودارها با استفاده از نرمافزار اکسل ورژن ۲۰۱۳ رسم شد. مقدار ۰/۰۵ ازنظار آماری معنیدار در نظر گرفته شد.

يافتهها

بررسی مورفولوژی سلول AD-MSC

سلولهای کشتشده در محیط DMEM توسط میکروسکوپ فازمعکوس موردبررسی قرار گرفت که در آن رشد کافی و مورفولوژی دو کیشکل قابلمشاهده است (شکل ۱).



شکل ۱. سلولهای AD-MSC کشت داده شده در محیط کشت DMEM بزرگنمایی ۲۰۰∗

بررسی اندازہ نانو ذرات

نتیجه اندازه گیری انـدازه هیـدرودینامیکی نـانو ذرات سنتز شده با استفاده از دستگاه DLS در شکل ۲ نشـان دادهشده است. اندازه ذرات ۸/۱ نانومتر است. وجـود تک پیک پراکندگی منفرد را نشان میدهد.



شکل ۲. اندازه نانوذره CQD با استفاده از دستگاه DLS

بررسی مورفولوژی و فراساختار نانو داربست

ساختار، تخلخل و تغییرات داربستهای تهیهشده بهوسیله میکروسکوپ SEM موردبررسی قرار گرفت نتایج حاصل نشان داد که داربست در سطح نانو سنتز شده است و سطح داربست حاوی منافذ و قطر مناسب جهت اتصال و رشد سلولها است (شکل ۳).



شکل ۳. تصاویرمیکروسکوپ FE-SEM داربست PCL/CQD به همراه سلول

بررسى اندازه منافذ داربستها

میزان تخلخل و زاویهبندی داربست با نرمافزار J Image موردبررسی قرار گرفت که اندازه بزرگترین منفذ ۳۹۰۰ نانومتر مربع و اندازه کوچکترین منفذ ۱٤۸ نانومتر مربع بود که نشاندهنده تخلخل مناسب داربست برای رشد وزندهمانی سلولها است (شکل ٤) (نمودار ۱).



شکل٤. تصویر FE-SEM از موقعیت منافذ داربست A) چگونگی توزیع منافذ داربست PCL/CQD. B) تصویر گرافیکی از موقعیت منافذ



نمودار ۱. گراف توزیع منافذ داربست PCL / CQD

بررسی ساختار شیمیایی نانو داربستها توسط طیفسنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR) در این نمودار پیکهای مشخصه هار جازء داربست نمایش دادهشده است. پیکهای ۲۸۶۶ و ۲۹۳۶ به ترتیب مربوط به کشش متقارن و نامتقارن cH2 در پلی کاپرولاکتون هستند. پیک ۱۷۳۰ نشاندهنده پیوناد C=O است که در هر دو جزء پلی کاپرولاکتون و نقاط کوانتومی کربن وجود دارد. پیکهای ۱۶۳۶ و ۱۲۱۷ به

تربیت نشان دهنده پیونـدهای N-H و C-N هسـتند و همچنین پیک ۱٤۰۰ نشان دهنده حلقه آروماتیک است. پیک مشخصه ۳۸۷۳ نشان دهنده OH کششی است. در محدوده ۲۹۰۰ تا ۳۵۰۰ پیکهای مربـوط به پیونـد کششـی C-H و O-H مربـوط بـه کربو کسـیلیک اسـید دیده می شود (شکل ۵).



شکل ۵. گراف FTIR حاصل از نانوداربست PCL / CQD

زیست ساز گاری نانو داربست

نتایج حاصل از رشد و تکثیر سلولهای AD-MSC بر روی نانو داربست در بازههای زمانی ۸۸:۲۶ و ۲۷ ساعت پس از کشت سلولها نشان داد که زندهمانی سلولها بر روی داربست پلیکاپرولاکتون حاوی نانو ذرات نقاط کوانتومی کربن در مقایسه با گروه کنترل به صورت معنیداری افزایشیافته است (نمودار ۲). داربستهای دارای نانوذره در هر سه دوره زمانی مورد آزمایش افزایش جذب را نسبت به نمونههای شاهد (فاقد داربست) و داربستهای پلیکاپرولاکتون

خوانده شده پس از ۲۲ ساعت به ترتیب ۲/۰۱-±۲/٤۶ برای داربستهای حاوی نقاط کوانتومی کربن و ۲۰/۰±۲۸۹- برای نمونه شاهد (بدون داربست) است. نتایج نشان میدهد که داربست حاوی نقاط کوانتومی کربن بستر بسیار خوبی برای تکثیر سلولها ایجاد کرده است و افزایش زندهمانی تا دو برابر گروه ایجاد کرده است و افزایش زندهمانی تا دو برابر گروه کنترل در ۲۲ ساعت دیده میشود که نشاندهنده عدم سمیت و ایمن بودن داربست برای سلولها است





بررسی اثر آنتیاکسیدانی و محافظتی داربست حـاوی نقاط کوانتومی کربن

نتایج زندهمانی سلولهای تحت تنش آنتیاکسیدانی به روش MTT انجام شد و در نمودارهای ۳، ۶ و ۵ به تصویر در آمده است. داربست حاوی نقاط کوانتومی کربن در غلظت ۸۰mg شدت جذب ۲۰/۰±۱/۰ را از خود نشان داد که بیشترین میزان جذب در این غلظت بود (نمودار ۳) و تفاوت معناداری (۵۰/۰۰) را نسبت به نمونه شاهد نشان داد. غلظت ۱۰۰ mg/ml گلوکز میرزان شدت جذب ۲۰/۰±۱۰/۰ را نشان داد که

نسبت بــه نمونــه شـاهد معنـادار بـوده و افــزایش محافظت را نشان میدهـد. مقایسـه نتـایج دو غلظـت بهکاررفته حاکی از آن است که داربستهای حاوی نانو ذرات در غلظت کمتـر محافظـت بیشـتری را از خـود نشان میدهند.

نمونـههـای شـاهد در سـنجش آنتـیاکسـیدانی پراکسـیدهیـدروژن در غلظـت الم ۱۰۰ جـذب ۱۰/۰±/۳۳۸ را نشان داد که در مقایسه با نمونههای داربست پلیکاپرولاکتون با جـذب ۰/۰±/۵۳۲ و داربست پلیکاپرولاکتون حاوی نقاط کوانتومی کربن با

قبل از تـنش بـا اشـعه X بیشـترین میـزان جـذب (در مقایسه با نمونه شاهد و داربست پلی کـاپرولاکتون) در داربستهای پلی کـاپرولاکتون حـاوی نقـاط کوانتـومی کربن (۱۰/۰±۱/۰۹) دیـده شـد. پـس از تـنش نمونـه داربستهای پلی کاپرولاکتون/نقاط کوانتومی کربن در

مقایســه بـا دو نمونــه دیگـر بیشـترین میـزان جــذب ۰/۰tه/۰/۰۱ را از خود نشان دادند (نمودار ۵).

در هر سه تست نتایج بیانگر این است که داربست پلیکاپرولاکتون حاوی نقاط کوانتومی کربن در برابر انواع تنشها اعم از گلوکز، پر اکسید هیدروژن و اشعه X اثر آنتیاکسیدانی و محافظتی خوب و معناداری را بر روی سلولها در مقایسه با سلولهای شاهد (بدون داربست) و داربست پلیکاپرولاکتون از خود نشان میدهد (۵/۰۰گ).



نمودار ۳. نمودار حاصل از تست MTT میزان زندهمانی سلولها بر روی داربست PCL / CQD و داربست PCL و گروه شاهد که تحت تنش اکسیداتیو گلوکز (غلظت ۸۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) قرار گرفت. مقدار (p<0.05) در مقایسه با گروه کنترل معنی دار در نظر گرفته شد.



نمودار £ نمودار حاصل از تست MTT میزان زندهمانی سلولی ها بر روی داربست PCL / CQD و داربست PCL و گروه شاهد (سلول خالص) که تحت تنش اکسیداتیو H2O2 (غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرو لیتر) قرار گرفت. مقدار (p<0.05) در مقایسه با گروه کنترل معنی دار در نظر گرفته شد.



نمودار ۵. نمودار حاصل از تست MTT میزان زندهمانی سلولی ها بر روی داربست PCL / CQD و داربست PCL و گروه شاهد قبل و پس از پرتو دهی با اشعه X به مدت ۳۰ دقیقه (با توانایی KV/100mA 50) قرار گرفت. مقدار (p<0.05) در مقایسه با گروه کنترل معنی دار در نظر گرفته شد. (نمونه ها قبل و پس از پرتو دهی به ترتیب به صورت (Cell 1/ PCL/ / PCL/2 / PCL/2 / PCL/2 / PCL/2) نمایش داده شده است.)

بحث

در این مطالعه، ویژ گـیهـای داربسـت سـنتز شـده از پلیکاپرولاکتون و نقاط کوانتومی کـربن موردبررسـی قرار گرفت و سنجشهای آنتیاکسیدانی و زیست ساز گاری سلولی بر روی این داربسـتهـا انجـام شـد. اندازه نانو ذرات در محدوده زیر ۱۰ قـرار دارد، ایـن اندازه نشاندهنده تشکیل صحیح نانوذره سانتز شده است [۳۱٬۳۶]. بر اساس نتایج حاصل از FE-SEM و همچنین Image J میتوان بیان کرد که اتصال و چسبندگی سلولها بر روی داربست حاوی نقاط کوانتـومی کـربن توزیـع یکنواخـت داشـته و بـه دلیـل تخلخل مناسب دیدهشده در داربست سلولها کاملاً به منافـــذ داربســـت متصــل شــده و بـــر روی آن گسترشیافتهاند که این موضوع تصدیق ریسیده شدن کامل داربست است. از سوی دیگر دادههای MTT نشاندهنده افزایش زندهمانی سلولها و عدم سمیت داربست پلی کاپرولاکتون حاوی نقاط کوانتـومی کـربن نسبت به داربست یلی کاپرولاکتون خالص و نمونه شاهد است. هماهنگی دادههای بهدست آمده از MTT و FE-SEM توانایی داربست های پلی کاپرولاکتون حاوی نقاط کوانتومی کربن را بـرای اتصـال، نگهـداری،

توسعه و تکثیر سلولی تأیید میکند [۳۷،۳۸]. یلی کاپرولاکتون پلیمری آبگریز است و انحـلال کمـی در آب دارد به همین جهت افزودن نانوذره نقاط کوانتـومی کـربن کـه محلـول در آب هسـتند باعـث افزایش حلالیت آنها میشود. مـیتـوان اتصـال بهتـر سلولها به دا*ر*بست حاوی نقاط کوانتومی کـربن *ر*ا بـا ایجاد پیوندهای هیدروژنی و درنتیجه افـزایش میـزان زندهمانی سلولها بر روی داربست مرتبط دانست. نانو ذرات میتوانند زبری سطح نانو داربستها را افزایش دهند و لنگر انداختن سلولها را بهبود بخشـند[۱۰, ۳۱, ۴۹, ٤٠]. بر اساس دادههای FTIR بر روی سطح نقاط کوانتومی کربنها گروههـای کربوکسـیل وجـود دا*ر*د، این گروهها توانایی به دام انـداختن رادیکـالهـای آزاد موجود در تنشهای اکسیداتیو محیطی را از خود نشان میدهد که وجود این نانوذره در برابر عدم وجود آن در داربست ساختار حفاظت سلولی بہتـری را از خـود نشان میدهد[٤١،٤٢]. نتایج حاصل از MTT سـلولهـا بر روی داربست قبل و بعد از تنش اکسیداتیو نشـان از توانایی بالای داربست پلی کاپرولاکتون حاوی نقاط کوانتومی کربن در زندهمانی سلولهای تحـت تـنش اکسیداتیو دا*ر*د که همراستایی این موضوع با گروههای

عاملی (COOH) بر روی سطح نقاط کوانتـومی کـربن قابل توجه است [٩،٤٣]. افزایش غلظت گلوکز و پر اکسید هیدروژن باعث کاهش زندهمانی سلولها شده است اما میں توان اثر محافظتی داربست پلی کاپرولاکتون حاوی نقاط کوانتومی کـربن را نسـبت به داربست پلی کاپرولاکتون خالص و نمونه شاهد مشاهده کرد که افزایش زندهمانی بین گروه کنترل و داربست دارای نقاط کوانتومی کربن معنادار است. از سوی دیگر دادههای MTT حاصل از اشعه X نشان میدهد کمترین میزان جذب که به معنای کمترین میـزان زنـدهمـانی اسـت در گـروه شـاهد مشـاهده می شود و بیشترین میزان جذب مربوط به گروه داربست دارای نقاط کوانتومی کربن است که معنـادار بوده و اثر محافظتی دا*ر*بست *ر*ا تائید می کند [٤٤،٤٥]. فرایندهایی که در مهندسی بافت صورت می گیـرد بـه سـه قسـمت اصـلی، فنـاوری سـلول، فنـاوری سـاخت داربست و فناوری کاشت و ترکیب در محیط برون تنی دستهبندی میشوند. درایـن بـین انتخـاب روش و مواد سنتزی داربست از اصلیترین نکات جہت رسیدن به اهداف اصلی مهندسی بافت است. روش الکتروریسی به دلیل ایجاد منافذ اتصالی مناسب، تراوایی بالا و سطح وسیع در دسترس میتواند افزایش تماس سلول با داربست و درنتیجه بهبـود تبـادل مـواد

مغذی و متابولیسم را در پی داشته باشد [٤٠،٤١]. از پلیمرهای معمول مورداستفاده در سنتز داربستها پلی کاپرولاکتون را میتوان نام برد که پلیمری خطی و آب گریز است، تخریب پذیری بسیار کند و قابلیت ترکیب شدن با مواد گوناگون ازجمله ویژگیهای جالب آن است [۲۲]. امروزه افزودن نانو ذرات کربنی با خواص مکانیکی، الکتریکی و نوری منحصربهفرد به پلیمرهایی مانند پلی کاپرولاکتون، کینوزان، پلیمرهایی مانند و غیره در مطالعات مهندسی بافت و پزشکی بازساختی بسیار موردتوجه قرار گرفته است [۲۳]. گزارشهای متعدد حاکی از آن است که

باعث انسجام داربست و کاهش قطر الیاف، بهبود خواص مکانیکی، ایجاد سیگنال هـای الکتریکـی مـیشـود [۶،٤۱،٤۶]. در گـزارشهـا آمـده اسـت کـه غلظـت مورداســتفاده از نقــاط کوانتــومی کــربن در ســنتز دا*ر*بست و میزان کارایی آن بسیار بااهمیـت اسـت بـه همین دلیل غلظت ۵/۰ از نقاط کوانتومی کـربن بـرای سنتز داربست مورداستفاده قرار گرفت [۳۱]. از سوی دیگر گزارشها حاکی از آن است که این نقاط کربنیها نــهتنهـا ســمیت سـایر نـانو ذرات را نداشــته بلکــه فعالیت های آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی و تکثیری از خود نشان میدهد. جانوس و همکاران در مطالعهای انواع مختلفی از نقـاط کوانتـومی کـربن را سـنتز کـرده و سـمیت سـلولی، فعالیـت آنتـیاکسـیدانی و عملکـرد فلورسانس آنها را بررسی کردند و نشان دادنـد کـه استفاده از این نانو ذرات حذف ۹۰٪ رادیکالهای آزاد را بـه همـراه داشـته اسـت [٤٧]. داس و همكـاران در گزا*ر*ش دیگری بیان کردند که نقاط کوانتومی کربن با سطح اصلاح شده توانایی بالایی از حذف رادیکال های سوپر اکسید و هیدروکسیل را در شرایط درون تنی از خود نشان دادند [٤٨]. نقاط کوانتومی کربن به دلیـل خواص منحصربهفرد خود ازجمله اثر آنتیاکسیدانی و زیست ساز گاری بالا، میتواند بهعنـوان یکـی از اجـزای اصلی داربست های مهندسی بافت در نظر گرفته شود.با توجه به این موضوع که مشخصشده است که شرایط سخت در محل آسیبدیدگی، مانند استرس اکسیداتیو شدید و التہاب، منجـر بـه مـرگ سـلولی گسترده سلولهای بنیادی میشود و اثربخشی د*ر*مـان با سلولهای بنیادی را تا حد زیادی کاهش میدهـد میتوان از ادغام این نقاط در داربستها،در جهت بهبود فر آیند ترمیم زخم ، بافت و افزایش موفقیت پیوندهای بافت مهندسیشده استفاده کرد.

نتيجهگيرى

بــهطــورکلی، نتــایج پــژوهش نشــان داد کــه ســنتز دا*ر*بستهای پلیکـاپرولاکتون حـاوی نــانو ذرات نقـاط نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از دانشگاه

محقق اردبیلی به دلیل حمایت مـالی و فـراهم آوردن

تشكر و قدرداني

تعارض منافع

تجهیزات اعلام میدا*ر*ند.

مقاله فاقد هر گونه تعارض منافع است.

کوانتـومی کـربن بیبـود زیسـت سـاز گاری و خـواص آنتیاکسیدانی ایـن داربسـتهـا را در پـی داشـت کـه میتواند نمونه ایده آلی در کاربردهای میندسی بافت باشد. نانو داربستها میتوانند بهعنوان بستر مناسبی در تـرمیم بافـتهـای آسیبدیـده و کـاهش اثـرات آنتیاکسیدانی ناشی از شرایط بیبود زخم مورداستفاده قـرار گیرنـد. پیشـنهاد مـیشـود ویژ گـیهـای نقـاط کوانتومی کربن سـنتز شـده بـر روی دیگـر ردههـای سـلولی و در شـرایط درون تنـی بـر تـرمیم زخـم موردبررسی بیشتر قرار گیرد.

References

1- Tanner KE. Bioactive composites for bone tissue engineering. Proc Inst Mech Eng H. 2010; 224(12):1359-1372.

2- Ort C, Dayekh K, Xing M, Mequanint K. Emerging strategies for stem cell lineage commitment in tissue engineering and regenerative medicine. ACS Biomater Sci Eng. 2018; 4(11):3644-57.

3- Babbar A, Jain V, Gupta D, Singh S, Prakash C, Pruncu C. Biomaterials and Fabrication Methods of Scaffolds for Tissue Engineering Applications. In: Singh S, Prakash C, Singh R. (eds) 3D Printing in Biomedical Engineering. Materials Horizons: From Nature to Nanomaterials. Singapore, Springer. 2020;3:167-86.

4- Raja IS, Fathima NN. Gelatin-Cerium Oxide nanocomposite for enhanced excisional wound healing. ACS Appl Bio Mater. 2018; 1(2):487-95.

5- Nidhin M, Vedhanayagam M, Sangeetha S, Kiran M, Nazeer S, Jayasree R, et al. Fluorescent nanonetworks: a novel bioalley for collagen scaffolds and tissue engineering. Sci Rep. 2014; 4(8):59-68.

6- Vedhanayagam M, Nidhin M, Duraipandy N, Naresh N, Jaganathan G, Ranganathan M, et al. Role of nanoparticle size in self-assemble processes of collagen for tissue engineering application. Int J Biol Macromol. 2017;99: 655-64.

7- Kang MS, Lee SH, Park WJ, Lee JE, Kim B, Han DW. Advanced techniques for skeletal muscle tissue engineering and regeneration. Bioengineering (Basel). 2020;7(3):99-114.

8- Vedhanayagam M, Unni Nair B, Sreeram KJ. Collagen-ZnO scaffolds for wound healing applications: role of dendrimer functionalization and nanoparticle morphology. ACS Appl Bio Mater. 2018;1(6):42-1958.

9- Najafi R, Asadi A, Zahri S, Abdolmaleki A. Comparison of biocompatibility and morphology of PC12 cell line on a Polycaprolactane/Silymarin scaffold and a Polycaprolactane/Tragacanth scaffold. Gene Cell Tissue. 2023;10(4):31-35.

10-Gautam S, Sharma C, Purohit SD, Singh H, Dinda A, Potdar P, et al. Gelatin-Polycaprolactonenanohydroxyapatite electrospun nanocomposite scaffold for bone tissue engineering. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2021;119:111588-111600.

11-Cho Y, Quan M, Kang N, Jeong H, Hong M, Kim Y, et al. Strategy for enhancing mechanical properties and bone regeneration of 3D polycaprolactone kagome scaffold: Nano hydroxyapatite composite and its exposure. Eur Poly J. 2020; 134(5):109814-109825.

12-Taherkhani S, Moztarzadeh F. Fabrication of a poly (ε-Caprolactone)/starch nanocomposite scaffold with a solvent-casting/salt-leaching technique for bone tissue engineering applications. J Appl Polym Sci. 2016;133(23):1-7.

13-Song P, Zhou C, Fan H, Zhang B, Pei X, Fan Y, et al. Novel 3D porous biocomposite scaffolds fabricated by fused deposition modeling and gas foaming combined technology. Compos B Eng. 2018; 152:151-9.

14-Nawalakhe R, Hudson S, Seyam A, Waly A, Abou-Zeid N, Ibrahim H. Development of electrospun iminochitosan for improved wound healing application. J Eng Fiber Fabr. 2012; 7(2):47-55.

15-Han X, Xing Z, Si S, Yao Y, Zhang Q. Electrospun grape seed Polyphenols/Gelatin composite fibers contained Silver nanoparticles as biomaterials. Fibers Polym. 2014; 15:2572-80.

16-Shafiei S, Omidi M, Nasehi F, Golzar H, Mohammadrezaei, D, Rezai Rad, et al. Egg shell-derived Calcium phosphate/Carbon dot nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering: Fabrication and characterization. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2019;100:564-575.

17-Baker S, Baker G. Luminescent Carbon nanodots: emergent nanolights. Angew Chem Int Ed Engl. 2010;49(38):6726-44.

18-Ray S, Saha A, Jana N, Sarkar R. Fluorescent Carbon nanoparticles: synthesis, characterization, and bioimaging application. J Phys Chem A. 2009; 113(43):18546-51.

19-Li H, Liu R, Liu Y, Huang H, Yu H, Ming H, et al. Carbon quantum dots/Cu 2 O composites with protruding nanostructures and their highly efficient (near) infrared photocatalytic behavior. J Mater Chem. 2012;22(34):17470-5.

20- Yan L, Li Y, Yang Y, Liu X, Chen Y, Xu B. P3HT/Dodecylamine functioned Carbon microspheres composite films for polymer solar cells. Int J Mol Sci. 2015; 23(6):549-56.

21-Ning Z, Gong X, Comin R, Walters G, Fan F, Voznyy O, et al. Quantum-dot-in-perovskite solids. Nature. 2015;523(7560):324-328.

22- Zhou J, Sheng Z, Han H, Zou M, Li C. Facile synthesis of fluorescent Carbon dots using watermelon peel as a Carbon source. Mater Lett. 2012; 66(1):222-4.

23-Doroodmand MM, Askari M. Synthesis of a novel Nitrogen-doped carbon dot by microwaveassisted carbonization method and its applications as selective probes for optical pH (acidity) sensing in aqueous/nonaqueous media, determination of Nitrate/Nitrite, and optical recognition of NOX gas. Anal Chim Acta. 2017;968:74-84.

24-Tarasenka N, Stupak A, Tarasenko N, Chakrabarti S, Mariotti D. Structure and optical properties of Carbon nanoparticles generated by laser treatment of Graphite in liquids. Chemphyschem. 2017;18(9):1074-1083.

25-Li X, Zhang S, Kulinich SA, Liu Y, Zeng H. Engineering surface states of carbon dots to achieve controllable luminescence for solid-luminescent composites and sensitive Be2+ detection. Sci Rep. 2014;4(1):4976.

26-Liu W, Diao H, Chang H, Wang H, Li T, Wei W. Green synthesis of carbon dots from rose-heart radish and application for Fe3+ detection and cell imaging. Sens Actuators B Chem. 2017;241:190-8.

27-Deng J, Lu Q, Mi N, Li H, Liu M, Xu M, et al. Electrochemical synthesis of Carbon nanodots directly from Alcohols. Chemistry. 2014;20(17):4993-9.

28-Wang F, Xie Z, Zhang H, Liu CY, Zhang YG. Highly luminescent organosilane-functionalized carbon dots. Adv Funct Mater.2011;21(6):1027-31.

29-Dager A, Uchida T, Maekawa T, Tachibana M. synthesis and characterization of mono-disperse Carbon quantum dots from fennel seeds: photoluminescence analysis using machine learning. sci rep. 2019;9(1):14004.

30-Martins AM, Eng G, Caridade SG, Mano JF, Reis RL, Vunjak-Novakovic G. Electrically conductive Chitosan/Carbon scaffolds for cardiac tissue engineering. Biomacromolecules. 2014;15(2):635-43.

31-Rastegar S, Mehdikhani M, Bigham A, Poorazizi E, Rafienia M. Poly Glycerol Sebacate/Polycaprolactone/Carbon quantum dots fibrous scaffold as a multifunctional platform for cardiac tissue engineering. Mater Chem Phys. 2021;266:124-135.

32-Abbaszadeh S, Asadi A, Zahri S, Abdolmaleki A, Mahmoudi F. Does phenytoin have neuroprotective role and affect biocompatibility of decellularized sciatic nerve scaffold. Gene, Cell and Tissue. 2020;8(1):1-7.

DOI: 10.61186/jarums.24.3.333

33-Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods. 1983;65(1-2):55-63.

34-Hasanpour F, Hamidi K, Zahri S, Latifi Navid S. Study of cell viability and JNK/SAPK level following abiotic stresses (heat & radiation) in Breast Cancer cells. J Educ Health Promot. 2017;17(2):154-63.

35-Najafi R, Asadi A, Zahri S, Abdolmaleki A. Polycaprolactan/tragacanth nanoscaffold enriched with sililymarin as a protector of neural progenitor cells under oxidative stress conditions. Cell Tissue J. 2023;14(1):66-79. [Full text in Persian]

36-Nallayagari AR, Sgreccia E, Pizzoferrato R, Cabibbo M, Kaciulis S, Bolli E, et al. Tuneable properties of carbon quantum dots by different synthetic methods. J Nanostructure Chem. 2021;30:1-6. 37-Sun Y, Liu X, George MN, Park S, Gaihre B, Terzic A, et al. Enhanced nerve cell proliferation and differentiation on electrically conductive scaffolds embedded with graphene and carbon nanotubes. J Biomed Mater Res A. 2021;109(2):193-206.

38-Saljoughi H, Khakbaz F, Mahani M. Synthesis of folic acid conjugated photoluminescent carbon quantum dots with ultrahigh quantum yield for targeted cancer cell fluorescence imaging. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2020;30:687-701.

39-Ghorghi M, Gharavi AM, Rafienia M. Evaluation of mg63 cells behavior with electrospun nanocomposite scaffolds of polycaprolactone and carbon quantum dot containing captopril for bone tissue engineering. J Knowl Health Basic Med Sci. 2020;15(1):10-8.

40-Yan C, Ren Y, Sun X, Jin L, Liu X, Chen H, et al. Photoluminescent functionalized carbon quantum dots loaded electroactive Silk fibroin/PLA nanofibrous bioactive scaffolds for cardiac tissue engineering. J Photochem Photobiol B. 2020;202:111680-34.

41-Ghorghi M, Rafienia M, Nasirian V, Bitaraf FS, Gharravi AM, Zarrabi A. Electrospun captopril-loaded PCL-carbon quantum dots nanocomposite scaffold: Fabrication, characterization, and in vitro studies. Polym Adv Technol. 2020;31(12):3302-15.

42-Nandiyanto AB, Oktiani R, Ragadhita R. How to read and interpret FTIR spectroscope of organic material. Indones J Sci Technol. 2019;4(1):97-118.

43-Rosenkrans ZT, Sun T, Jiang D, Chen W, Barnhart T, Zhang Z, et al. Selenium-doped Carbon quantum dots act as broad-spectrum antioxidants for acute kidney injury management. adv sci (weinh). 2020;7(12):2000420-2000433.

44-Sharma N, Das GS, Yun K. Green synthesis of multipurpose carbon quantum dots from red cabbage and estimation of their antioxidant potential and bio-labeling activity. Appl Microbiol Biotechnol. 2020;104(16):7187-200.

45-Son MH, Park SW, Jung YK. Antioxidant and anti-aging carbon quantum dots using tannic acid. Nanotechnology. 2021;32(41):10-20.

46-Abolghasemzade S, Pourmadadi M, Rashedi H, Yazdian F, Kianbakht S, Navaei-Nigjeh M. PVA based nanofiber containing CQDs modified with silica NPs and silk fibroin accelerates wound healing in a rat model. J Mater Chem B. 2021;9(3):658-676.

47-Janus Ł, Radwan-Pragłowska J, Piątkowski M, Bogdał D. Smart, tunable cqds with antioxidant properties for biomedical applications-ecofriendly synthesis and characterization. Molecules. 2020;25(3):736.

48-Das B, Pal P, Dadhich P, Dutta J, Dhara S. In vivo cell tracking, reactive Oxygen species scavenging, and antioxidative gene down regulation by long-term exposure of biomass-derived Carbon dots. Acs Biomater Sci Eng. 2019;5(1):346-356.