

# ساخت و مشخصه‌یابی غشای پلی‌کاپرولاکتون فومارات - ژلاتین الکترورسی شده برای کاربرد بازسازی هدایت شده‌ی بافت پرودنتال

تهمینه احمدی<sup>۱\*</sup>، احمد منشی<sup>۲</sup>، وجیه السادات مرتضوی<sup>۳</sup>، محمد حسین فتحی<sup>۴</sup>، بتول هاشمی بنی<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی دکتری بیومواد، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده مواد، گروه پژوهشی بیومواد، اصفهان، ایران

۲- استاد، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده مواد، اصفهان، ایران

۳- استاد، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده ی دندان پزشکی، مرکز تحقیقات پرفسور ترابی نژاد، گروه دندان پزشکی ترمیمی، اصفهان، ایران

اصفهان، ایران

۴- استاد، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده مواد، گروه پژوهشی بیومواد، اصفهان، ایران

۵- دانشیار، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده ی پزشکی، گروه آناتومی و زیست شناسی مولکولی، اصفهان، ایران

\*Tahmadi56@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۷/۱۲، تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۲۱)

## چکیده

غشاهای مسدود کننده به منظور بازسازی بافت هدایت شده پرودنتال در دندان پزشکی، استفاده می‌شوند. هدف از این پژوهش، ساخت و مشخصه‌یابی غشای پلی‌کاپرولاکتون فومارات - ژلاتین به روش الکترورسی برای کاربرد بازسازی بافت پرودنتال بود. ابتدا پلی‌کاپرولاکتون دی‌ال و پلی-کاپرولاکتون فومارات ساخته شد و به وسیله ی آزمایشات طیف سنجی تشدید مغناطیسی هسته (HNMR)، طیف سنجی فرسرخ فوریه (FTIR) و کروماتوگرافی ژل تراوایی (GPC) مشخصه‌یابی شد. غشای پلی‌کاپرولاکتون فومارات - ژلاتین به روش الکترورسی با موفقیت ساخته شد. در واقع، مخلوط کردن این پلیمر با ژلاتین امکان الکترورسی و تهیه غشاء از این ماده را به روش الکترورسی فراهم نمود. محلول ژلاتین در استیک اسید هدایت الکتریکی و ویسکوزیته‌ی بیش تری نسبت به محلول پلی‌کاپرولاکتون فومارات در استیک اسید دارد، که به پلی‌کاپرولاکتون فومارات توانایی الکترورسی شدن می‌دهد. محلول ۳۰ درصد وزنی پلی‌کاپرولاکتون فومارات در استیک اسید دارای هدایت الکتریکی ۱۴۶ میکروزیمنس بر سانتیمتر در ۲۳ درجه سانتیگراد و ویسکوزیته ی ۵۵،۲۶ میلی پاسکال در ثانیه در نرخ برش ۶۹۲،۴۸ ثانیه به توان منفی یک است. این اعداد برای محلول ۳۰ درصد وزنی ژلاتین در استیک اسید به ترتیب عبارت از ۱۰۱۵ میکروزیمنس بر سانتیمتر در ۲۳ درجه سانتیگراد برای هدایت الکتریکی و ویسکوزیته ی ۲۶۵،۵۱ میلی پاسکال در ثانیه در نرخ برش ۶۹۲،۴۸ ثانیه به توان منفی یک می‌باشند. مشاهدات میکروسکوپی الکترونی روبشی (SEM) و همچنین FTIR ساخت این غشا را اثبات کرد.

## واژه‌های کلیدی:

مهندسی بافت هدایت شده، غشای مسدود کننده، پلی‌کاپرولاکتون فومارات، الکترورسی.

## ۱- مقدمه

وسیله ی عفونت های باکتریایی در بافت های همجوار دندان ایجاد می‌شوند. هنگامی که التهاب پیشرفت می‌کند، کیسه ها و شکاف دندان، باعث تغییر شکل پرودنشیوم و جذب استخوان آلوئولار می‌شوند و باعث شل شدن دندان ها و در نهایت از

پرودنشیوم مشتمل بر بافت های نرم و سخت دهانی ای است که نگهدارنده و حمایت کننده ی دندان ها هستند [۱]. بیماری های پرودنتال مثل التهاب لثه و پرودنتیت، مشکلات التهابی هستند که بافت های محافظ دندان را تحت تاثیر قرار می دهند و به

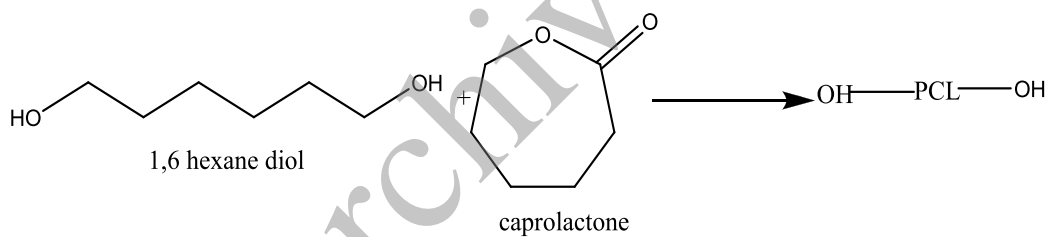
انواع قابل جذب این است که نیاز به عمل جراحی مجدد به منظور خارج کردن غشا پس از بهبودی وجود ندارد. اما اشکال انواع غشاهای قابل جذب تجاری مثل کلاژن این است که قبل از ترمیم بافت، تخریب می‌شوند. بنابراین، نیاز به غشاهایی وجود دارد که زمان تخریب طولانی‌تری داشته باشند. به این منظور در این مطالعه از ماده‌ای به نام پلی‌کاپرولاکتون فومارات با توانایی تخریب کنترل شده، برای بازسازی بافت هدایت شده در درمان بیماری‌های پریدونتال استفاده می‌شود. پلی‌کاپرولاکتون فومارات یکی از مشتقات پلی‌کاپرولاکتون با قابلیت اتصال عرضی است، که برای کاربردهای مهندسی بافت مورد استفاده است. خواص مکانیکی، حرارتی و رئولوژیکی به وسیله‌ی طراحی پلیمر پلی‌کاپرولاکتون فومارات قابل کنترل است. برای مثال، ضریب کشسانی این ماده از ۰/۸۷ تا ۱۳۸ مگاپاسکال می‌تواند تغییر کند که این امر مربوط به وزن مولکولی پلی-کاپرولاکتون اولیه است. محدوده‌ی وسیع خواص مکانیکی و فیزیکی، می‌تواند کاربردهای وسیعی برای این ماده ایجاد کند. مقاومت به فشار یا فروپاشی، قابلیت نخ‌بخیه داشتن، انعطاف-پذیری و نرخ تخریب مناسب از جمله‌ی این خواص است [۶]. ژلاتین ماده‌ی جامدی است که از هیدرولیز کلاژن بافت پیوندی یا استخوان حیوانات به دست می‌آید و به طور گسترده‌ای در مصارف خوراکی، دارویی و آرایشی استفاده می‌گردد [۷]. تخریب ژلاتین به وسیله‌ی انواع سلول‌ها، بعد از فاگوسیتوز می‌تواند اتفاق بیافتد و یا به وسیله‌ی پروتئاز خارج سلولی، هم در محیط خنثی و هم در محیط اسیدی می‌تواند انجام شود. در محیط خنثی فقط کلاژنازهای مخصوص، به آسانی به Gly-X-Y حمله می‌کنند [۸]. به منظور ساخت غشا در این تحقیق از روش الکترورسی استفاده شده است. این روش، روشی ارزان و سریع برای ایجاد الیاف پلیمری با قطرهای در حد نانو تا چند میکرون از میان جت شارژ شده الکتریکی محلول پلیمری یا مذاب پلیمر است. بالا بودن سطح ویژه، سطح تخلخل‌های بالا و حضور حفرات در الیاف از ویژگیهای الیاف تولیدی از الکترورسی است. ویژگی‌های این الیاف خواص ماتریس خارج سلولی را به

دست رفتن دندان‌ها می‌شوند. بارهای باکتریایی خاص و گستره وسیعی از میکروفلورا در پاکت‌های پریدونتال یافت شده‌اند. اولین راه غیر جراحی کنترل و مراقبت از این بیماری، خارج کردن پلاک دندانی و نمک‌های معدنی سخت و رهائش موضعی آنتی‌بیوتیک به مایع موجود در شکاف لثه، به وسیله‌ی محلول‌های شست و شو یا ژل‌ها، الیاف و ایمپلنت‌های رهائش کنترل شده، می‌باشد [۲]. فاکتور اصلی که از بازسازی بافت پریدونتال بعد از معالجات متداول، جلوگیری می‌کند، مهاجرت سلول‌های اپیتلیال به منطقه‌ی نقص قبل از سلول‌های مزانشیمی است [۳]. در بیماری‌های پیشرفته‌تر، جراحی صورت می‌گیرد. روش‌هایی مثل دبریدمان فلپ و یا کورتاژ فلپ و درمان‌های بازسازی پریدونتال استفاده می‌شود [۴]. بازسازی هدایت شده‌ی بافت، روشی است که در آن یک غشای مسدود کننده به وسیله-ی جراحی بین دندان و بافت همبند لثه قرار می‌گیرد و به سطح ریشه‌ی جدا شده اجازه می‌دهد تا مجدداً به وسیله‌ی سلول‌های بازسازی کننده‌ی مثل استئوبلاست‌ها و سلول‌های الیاف پریدونتال بازسازی شود. لایه نازک یا غشاء به عنوان سد مکانیکی عمل می‌کند و باعث ترمیم هدایت شده‌ی بافت و استخوان می‌شود [۲]. هدف از بازسازی این بافت جلوگیری از مهاجرت اپیکال اپیتلیال لثه و سلول‌های بافت همبند است و فضای زخم طوری حفظ می‌شود که جمعیت مشخصی از سلول‌ها بتوانند مهاجرت کنند و اتصال پریدونتال جدید را تشکیل دهند. بازسازی موفق پریدونتال، باعث تشکیل رباط‌های پریدونتال، از بین بافت‌های لثه و ریشه‌ی مجدد بافت اپیتلیال می‌شود، این روش رسوب سمتموم رشته‌ای خارجی فاقد سلول جدید را سبب می‌شود، رشته‌های بافت همبند جهت‌دار را به سطح ریشه وصل می‌کند و ارتفاع استخوان آلوئولار را به حالت اول بر می‌گرداند. بازسازی هدایت شده‌ی استخوان (GBR) نیز در بازسازی بافت پریدونتال مطرح است. استفاده‌ی همزمان GTR/GBR مورد توجه بسیاری از محققان برای بازسازی بافت پریدونتال بوده است [۵]. دو نوع غشای غیر قابل جذب و قابل جذب، در درمان بیماری‌های پریدونتال به کار می‌روند. حسن

ماده و بافت پرپودنتال شبیه است. غشاهای پرپودنتال باید دارای حفرات مناسب برای عبور دادن مواد غذایی و ضایعات باشند و همچنین استحکام و انعطاف پذیری مناسبی داشته باشند. به نظر می رسد روش الکترورسی با تولید الیاف با ابعاد زیر میکرون و حفرات مناسب روش کارآمدی برای تولید این نوع غشا باشد.

## ۲- روش تحقیق

به منظور ساخت پلی کاپرولاکتون دی ال از مواد ۶و۱ هگزان دی ال (۰/۱۲۸ مول)، اپسیلون کاپرولاکتون (۲/۴۳ مول) و Tin-2 ethylhexanoate (۰/۰۰۵ مول) استفاده شد. تمام مواد سیگما و مرک می باشند. اپسیلون کاپرولاکتون قبل از استفاده تحت خلا تقطیر شد. پلی کاپرولاکتون دی ال به روش پلیمریزاسیون حلقه باز تولید شد. به این منظور ۶و۱ هگزان دی ال با کاپرولاکتون در حضور کاتالیزور Tin 2-ethylhexanoate در دمای ۱۴۰ درجه ی سانتیگراد و در اتمسفر نیتروژن واکنش داده شد: فرمول (۱).



تقطیر در مجاورت کلسیم هیدرید آگیری شد. فوماریل کلراید قبل از استفاده در دمای ۱۶۱ درجه سانتیگراد و تحت خلا تقطیر شد. پتاسیم کربنات نیز به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد خشک و سپس در خلاء خنک گردید. ابتدا ۱۸ گرم یا ۰/۱۳ مول پتاسیم کربنات خشک آسیاب شده در یک راکتور شیشه ای یک لیتری ورودی و خروجی گاز نیتروژن، قیف چکاننده و مبرد ریخته شد. ۲۲۵ گرم یا ۰/۱۱ مول پلی کاپرولاکتون دی ال در ۶۰۰ میلی لیتر دی کلرومتان حل شد و سپس به فلاسک اضافه شد. FuCl تازه تقطیر شده به مقدار ۱۷/۲

خوبی تقلید می کند. تقریباً تمام پلیمرهای قابل حل با وزن مولکولی های بالا می توانند الکترورسی شوند. اندازه های میکرومتری الیاف با سرعت ۷۰ متر بر دقیقه با آرایش های مختلف قابل تولید است. نانوالیاف پلیمرهای طبیعی، مخلوط های پلیمری، پلیمرهای حاوی نانوذرات مثل داروها و حتی سرامیک ها نیز از این روش قابل تولید هستند [۹]. غشاهای پرپودنتال که در حال حاضر استفاده می شوند اغلب از جنس کولاژن هستند و دارای زمان تخریب کوتاه هستند به همین منظور در این تحقیق از پلی کاپرولاکتون فومارات که دارای زمان تخریب طولانی تری است استفاده شد. در این تحقیق پلی کاپرولاکتون فومارات ابتدا ساخته، ارزیابی شد. پلی کاپرولاکتون فومارات به کمک ژلاتین الکترورسی شد و پارامترهای فرایند الکترورسی بهینه شد. محلول ژلاتین در استیک اسید دارای هدایت الکتریکی و ویسکوزیته ی بیش تری نسبت به محلول پلی کاپرولاکتون فومارات در استیک اسید است که قابلیت الکترورسی به پلی کاپرولاکتون فومارات می دهد. در ضمن ژلاتین از کلاژن به دست می آید و بسیار به این

مواد اولیه مورد نیاز در ساخت پلی کاپرولاکتون فومارات (PCLF) عبارتند از: پلی کاپرولاکتون دی ال (PCL diol)، فوماریل کلراید (FuCl)، پتاسیم کربنات ( $k_2CO_3$ ) و دی کلرومتان (DCM)، همه ی مواد سیگما و مرک می باشند.

خشک بودن مواد اولیه مورد استفاده در ساخت پلی استر بسیار حائز اهمیت است، بنابراین مواد باید به روش های مختلف عاری از رطوبت گردند. پلی کاپرولاکتون دی ال اولیه قبل از استفاده به مدت ۲۴ ساعت در آون خلاء در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد قرار داده شده، آگیری شد. دی کلرومتان (DCM) نیز توسط

میلی لیتری ریخته شد. سپس محلول با اختلاف پتانسیل ۲۱ کیلوولت و فاصله بین دو الکترود ۱۵ سانتیمتر رسیده شد. به منظور ایجاد اتصالات عرضی در پلی کاپرولاکتون فومارات از آغاز گر نور<sup>۴</sup> UVA استفاده شد. به این منظور ایرگاکور<sup>۵</sup> و ان وینیل پیرولیدون به کار برده شد. قطعه ی حاصل به مدت ۸ ساعت در محلول ۷۵ میلی مولار از EDC به منظور ایجاد اتصالات عرضی در ژلاتین قرار داده شد و سپس توسط PBS<sup>۶</sup> شست و شو داده شد. هدایت الکتریکی محلول های ساخته شده به وسیله ی هدایت سنج (conductivity meter JENWAY (4310) ارزیابی شد. ویسکوزیته ی محلول ها به وسیله ی دستگاه HAAK RV12 اندازه گیری شد. ساختار غشاء تهیه شده به وسیله ی میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM, Philips XL30) (مطالعه و بررسی شد. مشخصه یابی غشا به وسیله ی تکنیک تبدیل فرسرخ فوریه (FTIR) انجام شد.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- ساخت و مشخصه یابی پلی کاپرولاکتون دی ال و پلی کاپرولاکتون فومارات

۳-۱-۱- ساخت و مشخصه یابی پلی کاپرولاکتون دی ال  
برای ساخت پلیمر پلی کاپرولاکتون فومارات (PCLF)، نیاز به پلی کاپرولاکتون دی ال (PCL diol) وجود دارد. پلی کاپرولاکتون دی ال به صورت تجاری با وزن مولکولی های مختلف در دسترس است. در این تحقیق علاوه بر اینکه از پلی کاپرولاکتون تجاری با وزن مولکولی ۲۰۰۰ استفاده شد، پلی کاپرولاکتون دی ال با استفاده از ۱۶۰ هگزان دی ال نیز ساخته شد. مطابق گزارش برت رانگ و همکارانش، برای ساخت پلی کاپرولاکتون دی ال تجاری از دی اتیلن گلیکول به عنوان آغاز کننده واکنش استفاده می شود. هنگام تخریب پلی کاپرولاکتون دی ال تجاری، مقدار کمی دی اتیلن گلیکول آزاد می شود که سمی است. در تحقیق مذکور از پروپیلن گلیکول و گلیسرول برای ساخت پلی کاپرولاکتون دی ال استفاده شده است [۶]. در این تحقیق، ابتدا پلی کاپرولاکتون دی ال به روش پلیمریزاسیون حلقه باز تولید شد. برای اثبات ساخته شدن پلی کاپرولاکتون دی-

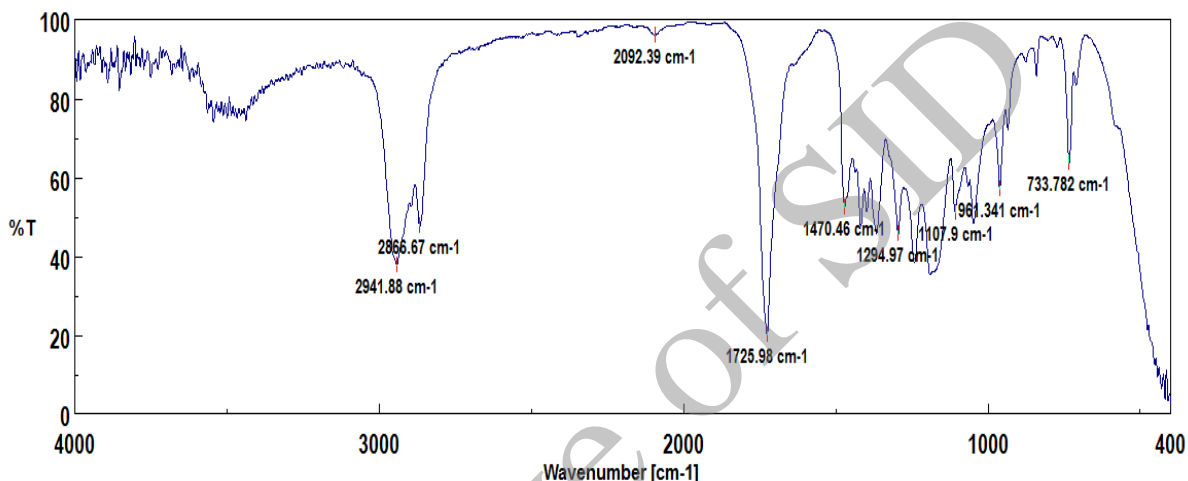
گرم یا ۰/۱۱ مول در ۲۰ میلی لیتر دی کلرومتان حل شد و در قیف چکاننده ریخته شد. راکتور در حمام روغن ۴۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و بعد از رسیدن به تعادل دمایی، محلول FuCl از طریق قیف چکاننده قطره قطره ظرف نیم ساعت به آن اضافه شد. واکنش تا ۱۲ ساعت در همین دما ادامه یافت. بعد از تکمیل واکنش، محلول در دمای ۴ درجه سانتیگراد و دور ۴۰۰۰ به مدت یک ساعت سانتریفوژ شده، فاز غیر آلی (پتاسیم کربنات) از محلول جدا شد. بعد از سانتریفوژ، محصول چندین بار با آب شستشو داده شد و بعد در تبخیر کننده چرخشی با دمای ۵۵°C و فشار ۱۰ میلیمتر جیوه قرار داده شد تا حلال آن جدا شود. ماکرومر PCLF به دست آمده سپس به مدت ۲۴ ساعت در آن خلاء با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد گذاشته شد، سپس در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد برای آزمایش های بعدی نگه داشته شد.

ژلاتین مصرفی در این تحقیق از نوع A (سیگما) می باشد. برای ایجاد اتصال عرضی در ژلاتین از ماده ی زیر (سیگما) استفاده شد: Ethyl - 3 - (dimethyl - aminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC) شناسایی و مشخصه یابی پلیمرهای ساخته شده به وسیله ی تکنیک تبدیل فرسرخ فوریه (FTIR<sup>۷</sup>, Bomem MB 100) انجام شد. طیف ها در طول موج بین ۴۰۰-۴۰۰۰ cm<sup>-1</sup> با قدرت تفکیک ۱ cm<sup>-1</sup> به دست آمد. وزن مولکولی پلیمر تهیه شده نیز به وسیله ی کروماتوگرافی ژل تراوایی (GPC, agilent (1100) اندازه گیری شد. آزمون H NMR (BRUKER, 400MHz, Germany) نیز برای شناسایی پلیمر هابه کار برده شد.

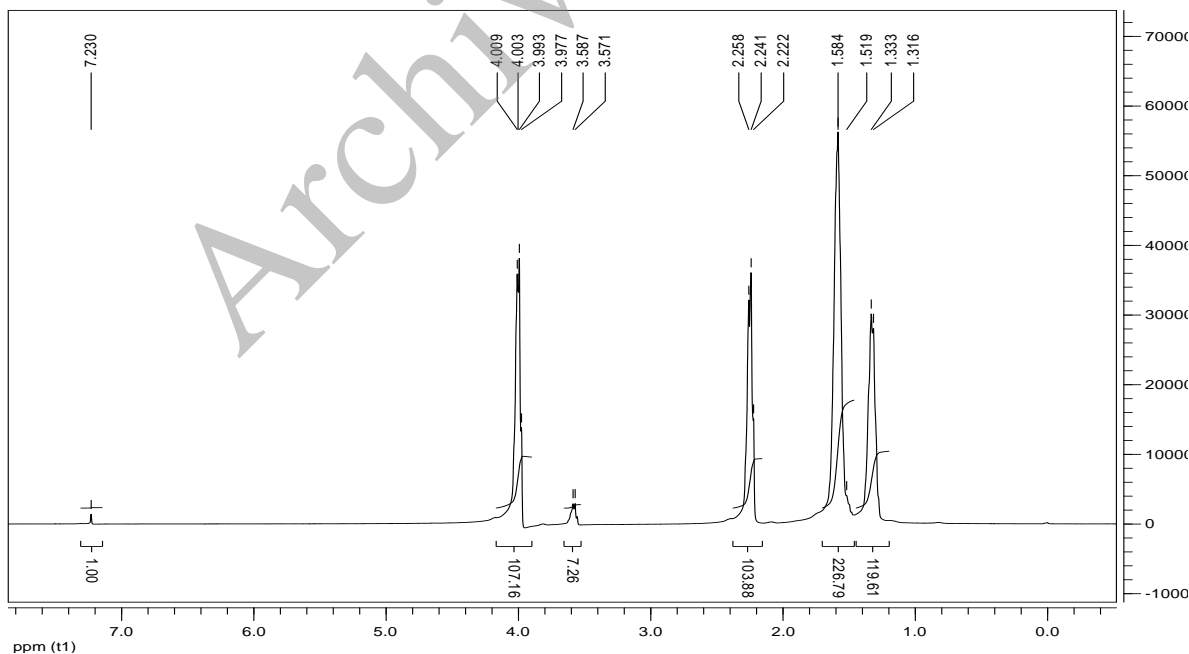
برای ساخت غشا از روش الکتروریسی استفاده شد. محلول پلیمری ۲۲/۵ درصد وزنی از ژلاتین، پلی کاپرولاکتون فومارات- ۲ ژلاتین و ۲ پلی کاپرولاکتون فومارات- ژلاتین و همچنین محلول های ۳۰ و ۴۰ درصد وزنی از ۲ پلی کاپرولاکتون فومارات- ژلاتین و محلول های ۳۰ و ۲۲/۵ درصد وزنی از پلی کاپرولاکتون فومارات- ژلاتین در استیک اسید ساخته شد. محلول به مدت یک شبانه روز همزده شد و درون سرنگ های ۱

دی ال است [۱۰]. شکل ۲ نشان دهنده ی طیف H NMR پلی کاپرولاکتون دی ال است. پیک های با شیفیت شیمیایی ۱/۳، ۱/۵، ۲/۱ و ۲/۴ مربوط به پروتون های متیلن پلی کاپرولاکتون دی ال هستند. پیک کوچک حدود ۷/۲ ناخالصی است، با این آزمون نیز تولید پلی کاپرولاکتون دی ال اثبات می شود [۱۰].

ال، ساده ترین روش، شناسایی گروه های عاملی با تکنیک تبدیل فرسوخ فوریه است. همان طور که در شکل ۱ دیده می- شود، حرکت کششی گروه عاملی کربونیل استری C=O تقریباً در  $1726\text{ cm}^{-1}$  ظاهر شده است که اثبات کننده ی تولید پلی استر است. حرکت کششی C-H متیلنی پلی کاپرولاکتون در  $2942\text{ cm}^{-1}$  ظاهر شده است. حرکت کششی نامتقارن C-O-C در  $1108\text{ cm}^{-1}$  دیده می شود که اثبات کننده ی تولید پلی کاپرولاکتون



شکل (۱): طیف FTIR مربوط به پلی کاپرولاکتون دی ال ساخته شده با ۶ و ۱ هگزان دی ال



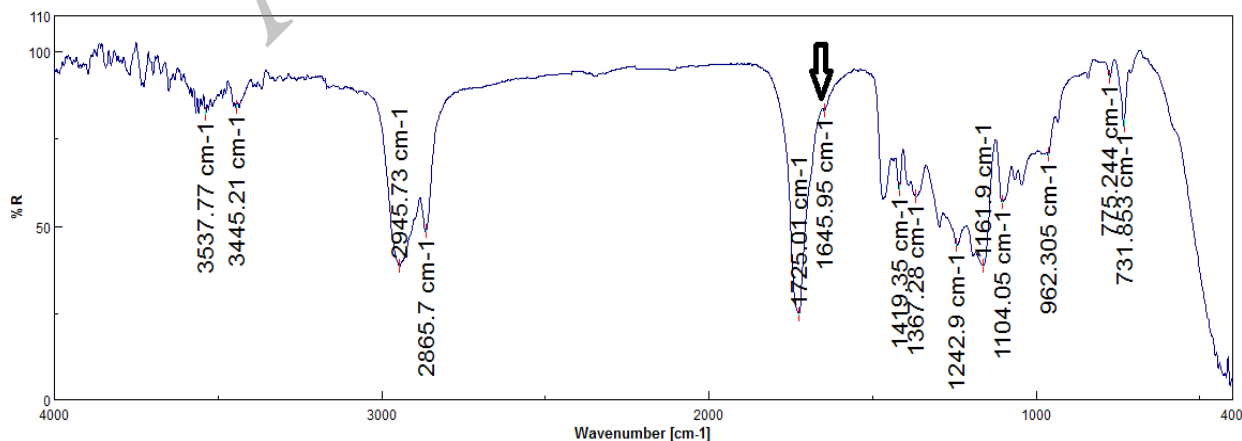
شکل (۲): طیف NMR مربوط به پلی کاپرولاکتون دی ال ساخته شده با ۶ و ۱ هگزان دی ال

است. گروه هیدروکسیل انتهایی PCLF در  $3537.77 \text{ cm}^{-1}$  و حرکت خمشی C-H باند فومارات در  $2945.73 \text{ cm}^{-1}$  مشخص است. سیگنال پیوند هیدروکسیل در PCLF خیلی ضعیف تر از PCL diol است، که به دلیل حضور گروه های انتهایی هیدروکسیل کم تر یا وزن مولکولی بیش تر PCLF تولیدی در مقایسه با ماده ی اولیه است [۱۰]. شیف های شیمیایی با موقعیت پیک های  $67 \text{ ppm}$  و  $413$  که در شکل ۴ (PCLF) دیده می شوند ولی در طیف NMR مربوط به PCL diol (شکل ۲) دیده نمی شوند، مربوط به پروتون های گروه فومارات در اسکلت PCLF و در همسایگی پیوند استری جدید هستند، این آزمایش نیز دلیلی بر تولید PCLF است [۱۰]. از مقایسه ی وزن مولکولی های PCL diol و PCLF مشاهده می شود، وزن مولکولی PCLF بیش تر است (جدول ۱). در این جدول اعداد مربوط به وزن مولکولی پلی کاپرولاکتون دی ال تجاری، پلی کاپرولاکتون دی ال ساخته شده در این تحقیق و پلی کاپرولاکتون فومارات، آورده شده است. افزایش وزن مولکولی پلی کاپرولاکتون فومارات نسبت به پلی کاپرولاکتون دی ال نشان می دهد پلیمریزاسیون در ساخت پلی کاپرولاکتون فومارات به خوبی انجام شده است. نتایج حاصل از آزمون شناسایی گروه های عاملی با تکنیک تبدیل فروسرخ فوریه (FTIR) و HNMR مربوط به PCLF2 شباهت زیادی با PCLF1 نشان می دهد (نتایج نشان داده نشده است).

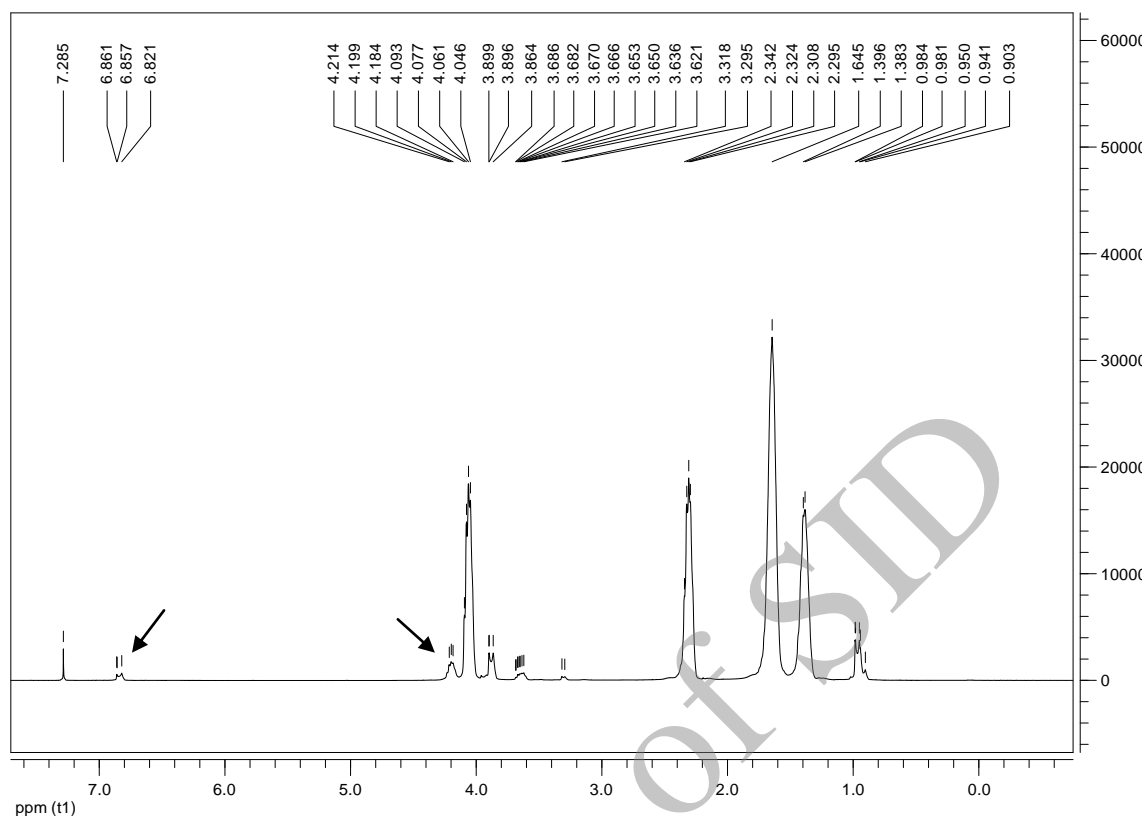
به منظور اندازه گیری وزن مولکولی پلی کاپرولاکتون دی ال ساخته شده با ۶ و ۱ هگزان دی ال آزمون GPC انجام شد. مطابق این آزمون وزن مولکولی عددی این ماده  $3800 \text{ g/mol}$  است.

### ۳-۱-۲- ساخت و مشخصه یابی پلی کاپرولاکتون فومارات

۱- در این تحقیق، دو پلی کاپرولاکتون فومارات ساخته شد: پلی کاپرولاکتون فومارات با استفاده از پلی کاپرولاکتون دی ال تجاری (PCLF 1) و پلی کاپرولاکتون فومارات با استفاده از پلی کاپرولاکتون دی ال ساخته شده با ۶ و ۱ هگزان دی ال (PCLF 2). به منظور اثبات ساخته شدن پلی کاپرولاکتون فومارات، آزمون شناسایی گروه های عاملی با تکنیک تبدیل فروسرخ فوریه انجام شد. شکل ۳ طیف تبدیل فروسرخ فوریه مربوط به پلی کاپرولاکتون فومارات ۱ را نشان می دهد. حرکت کششی گروه عاملی کربونیل استری  $\text{C}=\text{O}$  در  $1725 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر شده است که اثبات کننده ی تولید پلی استر است. حرکت کششی C-H متیلنی پلی کاپرولاکتون در  $2945 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر شده است. حرکت کششی نامتقارن C-O-C در  $1104 \text{ cm}^{-1}$  دیده شد. حرکت کششی پیوند C=C واحدهای فومارات در  $1646 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر شد که اثبات کننده ی وارد شدن فومارات در زنجیره ی پلی کاپرولاکتون است. حرکت قیچی وار متیلن و حرکت خمشی نامتقارن آن در  $1419 \text{ cm}^{-1}$  و  $1367 \text{ cm}^{-1}$  دیده می شود. حرکت کششی C-O در  $1242 \text{ cm}^{-1}$  و حرکت خمشی متقارن متیلن در  $1104 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر شده



شکل (۳): طیف FTIR مربوط به PCLF 1



شکل (۴): طیف HNMR مربوط به PCLF1

جدول (۱): مقایسه ی وزن مولکولی

PCL diol (DEG), PCL diol(1,6 hexan diol), PCLF1

نمونه	Mw(g/mol)	Mn(g/mol)	PDI
PCL diol (DEG)	۶۳۳۹	۳۸۰۰	۱٫۷
PCL diol(1,6 hexan diol)	۵۴۸۲	۳۸۲۰	۱٫۴
PCLF1	۱۰۶۸۱	۷۸۲۴	۱٫۳

خواص برجسته باعث می شود که الیاف نانو انتخاب مناسبی برای بسیاری از کاربردهای مهم در فناوری های پیشرفته باشند [۱۱]. وزن مولکولی پلی کاپرولاکتون فومارات ساخته شده کم است و ریسندگی آن دشوار است. در ضمن این پلیمر مصنوعی است و چسبندگی سلولی آن کم است. برای رفع مشکلات فوق از ژلاتین استفاده شد. محلول های ژلاتین نسبت به محلول پلی- کاپرولاکتون فومارات هدایت الکتریکی و ویسکوزیته ی بیش-تری دارند که این پارامترها از عوامل بسیار مهم بر فرآیند الکترورسی است. ژلاتین قابلیت الکترورسی به پلی-

### ۳-۲- ساخت و مشخصه یابی غشای کامپوزیتی پلی-

#### کاپرولاکتون فومارات- ژلاتین

به منظور ساخت غشا، روش الکترورسی انتخاب شد. به وسیله ی این روش می توان نانوالیاف تولید کرد. نانو الیاف یکی از مهمترین انواع نانو ساختارها می باشند. هنگامی که قطر الیاف از مقیاس میکرومتر (برای مثال ۱۰-۱۰۰ میکرومتر) به مقیاس نانومتر (برای مثال یک صدم تا یک دهم میکرومتر) کاهش یابد، خواص شگفت انگیزی نظیر سطح مخصوص فوق العاده زیاد (نسبت سطح به حجم)، انعطاف پذیری و کارآیی بسیار بالا (برای مثال سختی و استحکام کششی) مشاهده می گردد. این

قطری وسیع را ایجاد می‌کنند که مخصوصاً در ولتاژهای بالا مشهود است [۱۳].

ویسکوزیته‌ی محلول ۳۰ درصد وزنی پلی‌کاپرولاکتون فومارات در استیک اسید ۵۵/۲۶ میلی پاسکال در ثانیه در نرخ برش ۶۹۲/۴۸ ثانیه به توان منفی یک است. ویسکوزیته‌ی محلول ۳۰ درصد وزنی ژلاتین در استیک اسید در همین شرایط ۲۶۵/۵۱ میلی پاسکال در ثانیه و ویسکوزیته‌ی محلول ۳۰ درصد وزنی ژلاتین-پلی‌کاپرولاکتون فومارات در همین شرایط ۱۶۱/۹۲ میلی پاسکال در ثانیه است. این اعداد به خوبی نشان می‌دهد هدایت الکتریکی و ویسکوزیته‌ی محلول ژلاتین به مراتب بیش‌تر از محلول پلی‌کاپرولاکتون فومارات است به همین دلیل پلی-کاپرولاکتون فومارات به کمک ژلاتین توانایی الکترورسی پیدا کرد. به منظور ساخت غشایی مناسب ابتدا ژلاتین خالص الکترورسی شد.

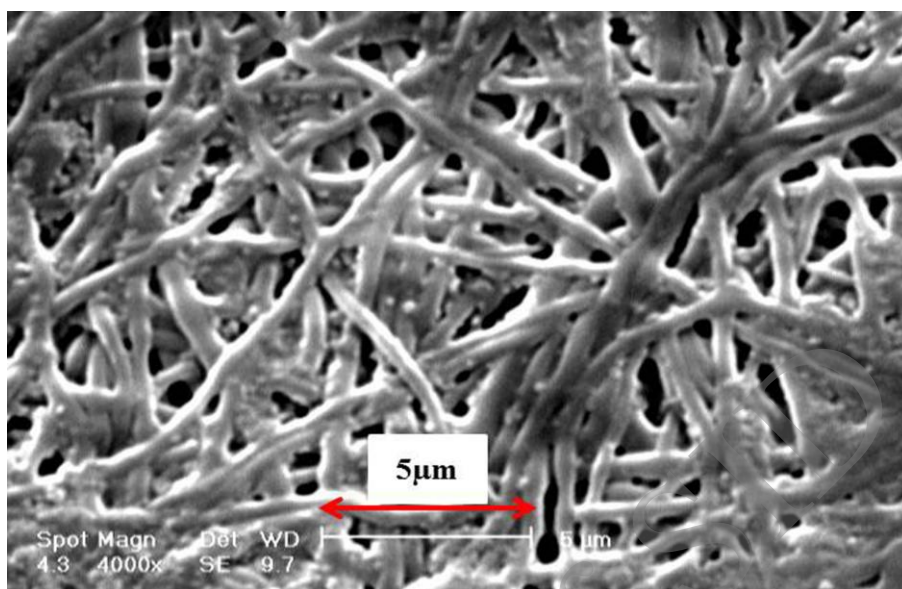
شکل ۵ تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی این قطعه را پس از انجام اتصالات عرضی نشان می‌دهد. همانطور که در شکل ۵ دیده می‌شود، در اثر اتصال عرضی، الیاف پهن شده‌به هم نزدیک می‌شوند. EDC که برای ایجاد اتصال عرضی در ژلاتین استفاده شده است دارای سمیت بسیار کمی است. کربودی ایمید این ماده می‌تواند با مولکول ژلاتین اتصال عرضی پیدا کند یا اتصال عرضی بین دو مولکول ژلاتین هم‌جوار ایجاد کند. واکنش بین گروه آمینو اسیلون و گروه‌های کربوکسیلیک اسید به وسیله ی کربودی ایمید protonation را ضعیف می‌کند. بنابراین، توانایی جذب آب غشای ژلاتینی بعد از عملیات اتصال عرضی، کاهش می‌یابد و استحکام این ماده افزایش می‌یابد [۱۴]. شکل ۶ آزمون شناسایی گروه‌های عاملی با تکنیک تبدیل فروسرخ فوریه (FTIR) مربوط به ژلاتین اتصال عرضی شده، را نشان می‌دهد. پیوندهای معمول پروتئین‌ها تقریباً در (amide 1)  $1638\text{ cm}^{-1}$  و (amide 2)  $1542\text{ cm}^{-1}$  ظاهر می‌شوند. این پیک‌های جذب مربوط به ارتعاشات کششی پیوند C=O و کوپل شدن خمشی پیوند N-H و کششی پیوندهای C-N به ترتیب است [۱۵].

کاپرولاکتون فومارات داد. محلول ۳۰ درصدوزنی ژلاتین در استیک اسید دارای هدایت الکتریکی ۱۰۱۵ میکروزیمنس بر سانتیمتر در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد است، در حالی که محلول ۳۰ درصد وزنی پلی‌کاپرولاکتون فومارات در استیک اسید دارای هدایت الکتریکی ۱۴۶ میکروزیمنس بر سانتیمتر در همین دما است. همانطور که ملاحظه می‌شود هدایت الکتریکی محلول پلی‌کاپرولاکتون فومارات نسبت به محلول ژلاتین در استیک اسید بسیار کم‌تر است. مخلوط کردن این دو پلیمر و ساخت محلول پلی‌کاپرولاکتون فومارات-ژلاتین، هدایت الکتریکی را به ۶۳۹ میکروزیمنس بر سانتیمتر در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد می‌رساند، با توجه به اینکه هدایت الکتریکی محلول نقش بسیار مهمی در فرآیند الکترورسی دارد، توانایی الکترورسی شدن محلول فوق دلیل مهمی پیدا می‌کند [۱۲].

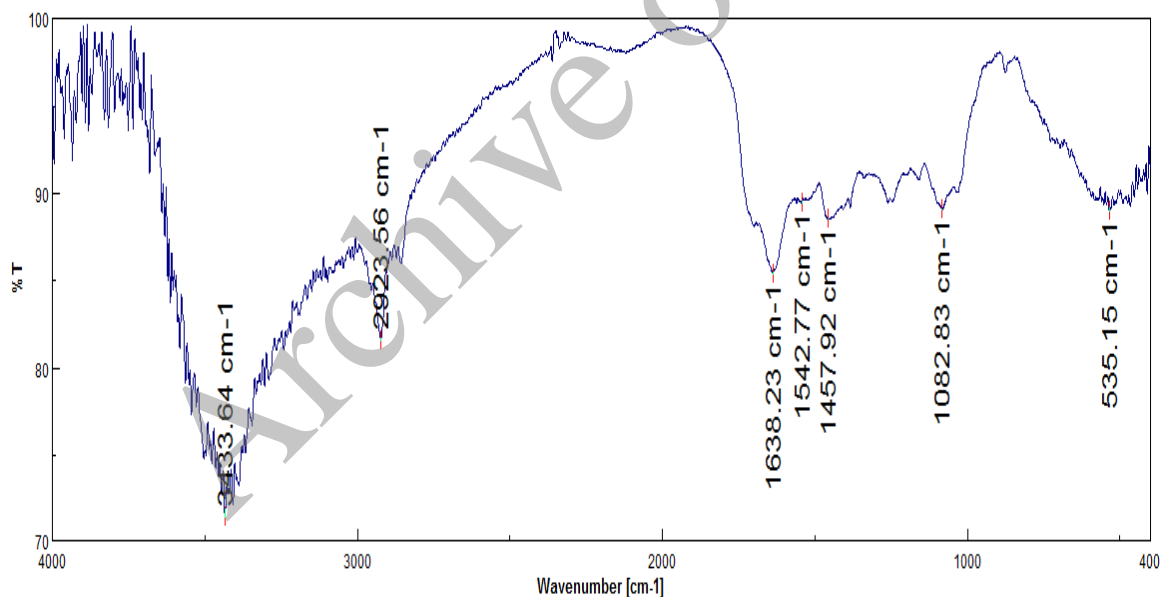
طبق تحقیقات انجام شده، ویسکوزیته در محلول، یکی از فاکتورهای بسیار مؤثر بر ساختار و قطر نانوالیاف الکترورسی شده می‌باشد. در غلظت کم پلیمر، محلول دارای مقدار ماده کافی برای تشکیل لیف نیست و تنها قطره‌های اسپری شده به دست می‌آید. در حالی که در غلظت‌های پلیمری بسیار بالا به دلیل ویسکوزیته زیاد محلول و افزایش نیروی ویسکوالاستیک وارد شده بر جت الکترورسی، امکان ایجاد و حفظ جریان پایدار و ثابت سیال پلیمری و در نتیجه الکترورسی محلول وجود ندارد. در محدوده بین این دو غلظت، الکترورسی محلول پلیمری به طور مناسب امکان پذیر است.

افزایش غلظت پلیمر در محلول منجر به افزایش ویسکوزیته و در نتیجه افزایش نیروهای ویسکوالاستیک می‌شود. در ولتاژ ثابت نیروهای الکترواستاتیک و کلمب اعمال شده بر جت، به طور قابل توجهی به دانسیته بار حمل شده توسط جت وابسته خواهد بود. با افزایش غلظت محلول نیروی ویسکوالاستیک افزایش می‌یابد و مانع کشیده شدن جت توسط نیروی کلمب می‌شود و در نتیجه الیافی با قطر بزرگتر به دست می‌آید از طرف دیگر با افزایش غلظت، مقدار بار حمل شده زیاد شده و نیروی کلمب زیاد می‌شود، این دو تأثیر متفاوت مخلوطی از الیاف با توزیع





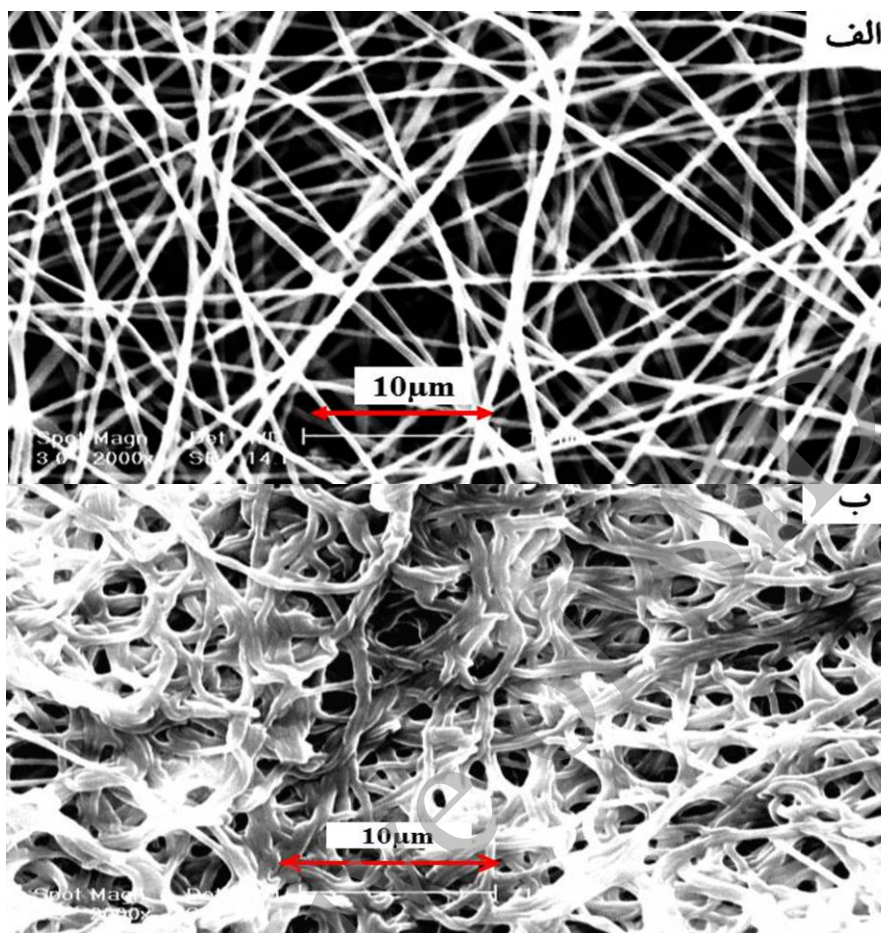
شکل (۵): تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی مربوط به ژلاتین اتصال عرضی شده



شکل (۶): طیف تبدیل فروسرخ فوریه (FTIR) مربوط به ژلاتین اتصال عرضی شده

الیاف  $153 \pm 432$  نانومتر و قطر حفرات  $1648 \pm 3363$  میکرومتر به دست آمد. همانطور که ملاحظه می شود اثری از بید در این ساختار وجود ندارد و ساختاری یکنواخت دیده می شود.

در مرحله ی بعد محلول ۲۲/۵ درصد وزنی ژلاتین - پلی - کاپرولاکتون فومارات الکتروریسی شد. شکل ۷ (الف) تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی این قطعه را قبل از اتصال عرضی ژلاتین نشان می دهد. با استفاده از نرم افزار Image J قطر متوسط



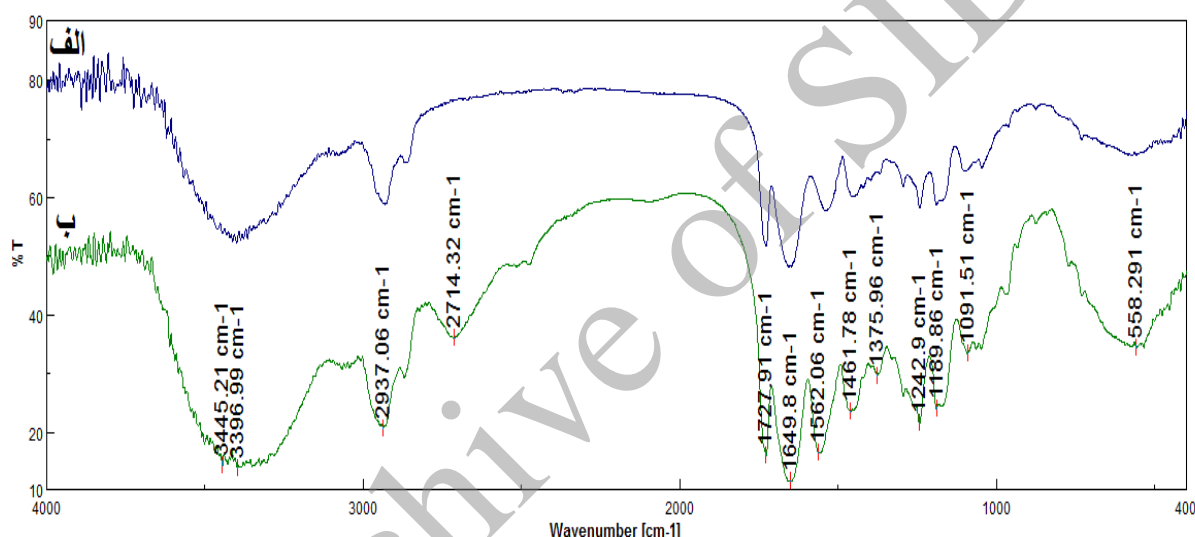
شکل (۷): تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی مربوط به ۲ژلاتین- پلی کاپرولاکتون فومارات (الف): بدون اتصال عرضی ژلاتین، (ب): همراه با اتصال عرضی ژلاتین

استری C=O در  $1728 \text{ cm}^{-1}$  ظاهر شده است که اثبات کننده‌ی حضور پلی استر است. حرکت کششی C-H متیلنی پلی کاپرولاکتون در  $2932 \text{ cm}^{-1}$  به خوبی دیده می‌شود. بقیه‌ی پیک های مربوط به پلی کاپرولاکتون فومارات نیز با شدت کم تر حضور دارند. در مرحله‌ی بعد مقدار پلی کاپرولاکتون فومارات محلول اضافه شد و محلول ۲۲/۵ درصد وزنی ژلاتین- ۲ پلی- کاپرولاکتون فومارات الکترورسی شد. تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی این نمونه قبل و بعد از انجام اتصالات عرضی در شکل ۹ نشان داده شده است. همانطور که در شکل مذکور ملاحظه می‌شود قطعه با شرایط کاری ساخته شده حاوی بید است. قطر متوسط الیاف قبل از ایجاد اتصالات عرضی در ژلاتین

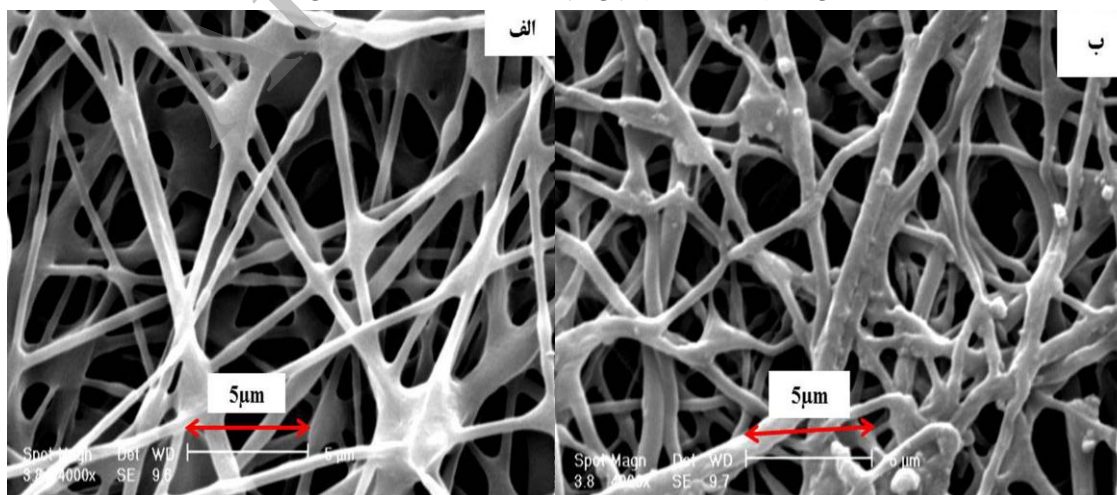
پس از اتصال عرضی شیمیایی ژلاتین قطعه ی فوق، تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی این قطعه به صورت شکل ۷ (ب) شده است. قطر متوسط الیاف در این حالت  $615 \pm 224$  نانومتر و قطر حفرات  $10735 \pm 1538$  میکرومتر می باشد. همان طور که ملاحظه می‌شود در اثر ایجاد اتصالات عرضی در ژلاتین قطر الیاف افزایش یافته است و قطر حفرات کاهش یافته است. شکل ۸، طیف های تبدیل فروسرخ فوریه FTIR مربوط به ۲ژلاتین- پلی کاپرولاکتون فومارات بدون اتصال عرضی ژلاتین و همراه با اتصال عرضی ژلاتین و مقایسه ی آن ها را نشان می‌دهد. پیک های اصلی مربوط به آمیدهای ژلاتین در  $1655$  و  $1542 \text{ cm}^{-1}$  به خوبی دیده می‌شود. حرکت کششی گروه عاملی کربونیل

ساختار حاوی میکرو حفرات باقی می ماند که اهمیت بسیاری در رساندن مواد غذایی به بافت و خارج کردن مواد زائد از آن دارد [۱۶]. طیف های تبدیل فروسرخ فوریه مربوط به نمونه ی ژلاتین- ۲ پلی کاپرولاکتون فومارات بدون ایجاد اتصال عرضی ژلاتین و همراه با اتصال عرضی ژلاتین به منظور مقایسه در شکل ۱۰ نشان داده شده است، به خوبی کاهش شدت پیک ها پس از ایجاد اتصال عرضی و شیفت پیک ها به سمت اعداد موجی کم تر ملاحظه می شود که در تطابق با یافته های دیگران است [۱۷].

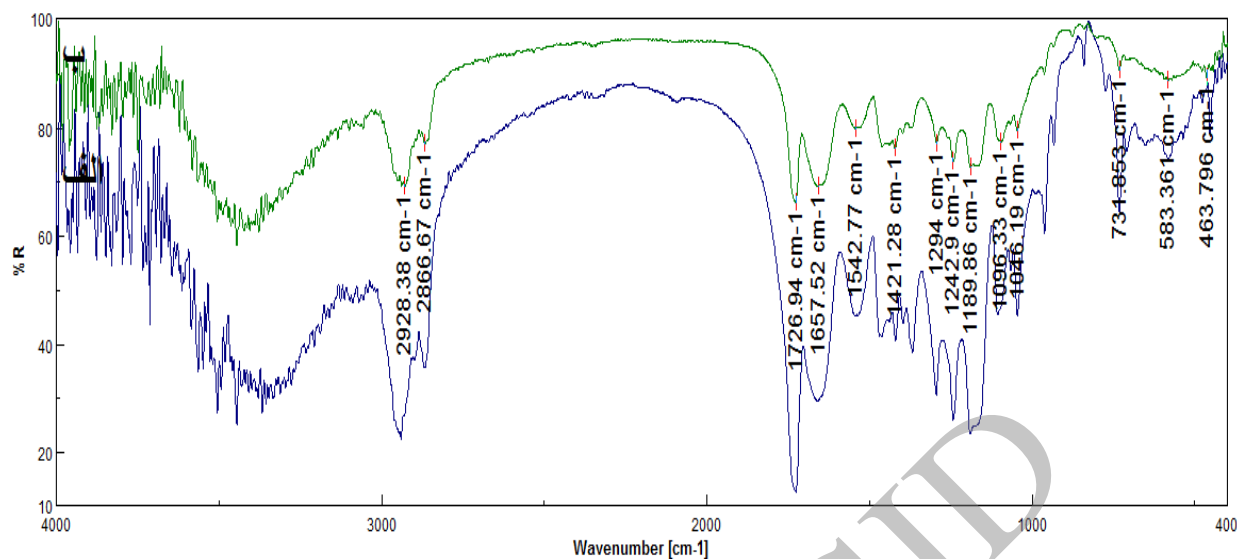
۱۲۱ ± ۳۷۹ نانومتر و اندازه ی حفرات  $279 \pm 3.803$  میکرون است. بعد از انجام اتصالات عرضی قطر متوسط الیاف  $195 \pm 495$  نانومتر و قطر حفرات  $195 \pm 0.727$  میکرون می باشد. در مورد تمام غشاهای ساخته شده ملاحظه می شود پس از انجام عملیات اتصال عرضی بر روی ژلاتین، مقدار فضای خالی غشا به طور قابل توجهی نسبت به نمونه ی اتصال عرضی نشده کاهش می یابد. تحقیقات قبلی نشان داده است، که ساختار فشرده تر داربست الکترورسی شده، باعث ایجاد سد مناسب تری در برابر سلول های بافت نرم همبند می شود، در حالی که



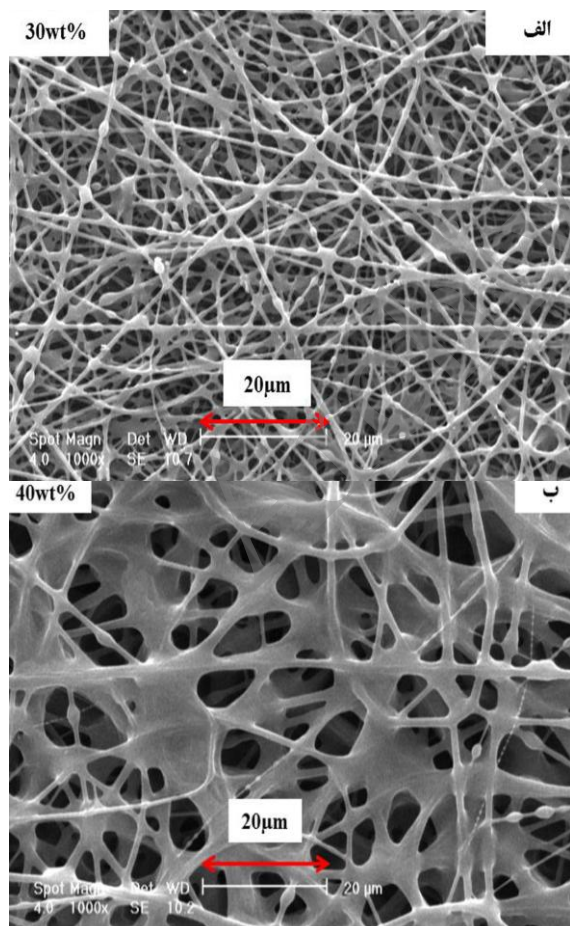
شکل (۸): طیف های تبدیل فروسرخ فوریه (FTIR) مربوط به ۲ ژلاتین- پلی کاپرولاکتون فومارات، (الف): ۲ ژلاتین- پلی کاپرولاکتون فومارات بدون اتصال عرضی ژلاتین، (ب): ۲ ژلاتین- پلی کاپرولاکتون فومارات اتصال عرضی شده



شکل (۹): تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی محلول ۲۲٫۵ درصد وزنی (الف): ۲ ژلاتین- پلی کاپرولاکتون فومارات بدون اتصال عرضی ژلاتین، (ب): همان نمونه در حالت اتصال عرضی ژلاتین



شکل (۱۰): طیف تبدیل فرسوخ فوریه FTIR مربوط به نمونه ی ۲۲/۵ درصد وزنی ژلاتین-۲ پلی کاپرولاکتون فومارات، (الف): بدون ایجاد اتصال عرضی ژلاتین، (ب): همراه با اتصال عرضی ژلاتین



شکل (۱۱): تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی محلول های ۳۰ درصد وزنی (الف): و ۴۰ درصد وزنی (ب): از ژلاتین-۲ پلی کاپرولاکتون فومارات

در مرحله ی بعدی پژوهش تلاش شد تا بیدهای موجود در نمونه حذف شود. به این منظور محلول های ۳۰ و ۴۰ درصد وزنی ژلاتین-۲ پلی کاپرولاکتون فومارات ساخته شد. شکل ۱۱ تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی از داریست های الکتروروسی شده یا غشاهای تهیه شده را نشان می دهد. همانطور که در شکل مذکور مشاهده می شود این ساختارها نیز حاوی بید است. بنابراین، چنین نتیجه گیری شد که ساخت غشای الکتروروسی مطلوب (بدون بید و یکنواخت) از ژلاتین-۲ پلی کاپرولاکتون فومارات احتمالاً امکان پذیر نیست. در ادامه ی بررسی ها، غشای ژلاتین- پلی کاپرولاکتون فومارات ساخته شد. همانطور که در شکل ۱۲ مشاهده می شود، غشای ژلاتین- پلی کاپرولاکتون فومارات ساخته شده با محلول ۲۲/۵ درصد وزنی نیز دارای بید است و ساختاری غیر یکنواخت دارد. به همین دلیل محلول ۳۰ درصد وزنی این ماده ساخته شد و ساختار آن بررسی شد. همانطور که در شکل ۱۲ مشاهده می شود، اثری از بید در این ساختار دیده نمی شود. بنابراین محلول ۳۰ درصد وزنی ژلاتین- پلی کاپرولاکتون فومارات به عنوان محلول نهایی انتخاب شد.

الکتروسی شده بدون بید و یکنواخت برای کاربرد به عنوان غشاء فراهم شد.

## ۵- مراجع

[۱] ا. دیوانت، سی. ام. رابرسون، تی. ام. هیمن، اچ. ا. ا. دیوانت، جی. آر، ک. ارسطوپور، علم و هنر دندان پزشکی ترمیمی، جلد اول، انتشارات شایان نمودار، ۱۳۷۸.

[2] M. Chakraborti, J. K. Jackson, D. Plackett, D. M. Brunette & H. M. Burt. "Drug intercalation in layered double hydroxide clay: Application in the development of a nanocomposite film for guided tissue regeneration", *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 416, pp. 305-313, 2011.

[3] C. C. Villar & L. L. Cochran, "Regeneration of Periodontal Tissues: Guided Tissue Regeneration", *Dent Clin N Am. Elsevier*, Vol. 54, pp. 73-92, 2010.

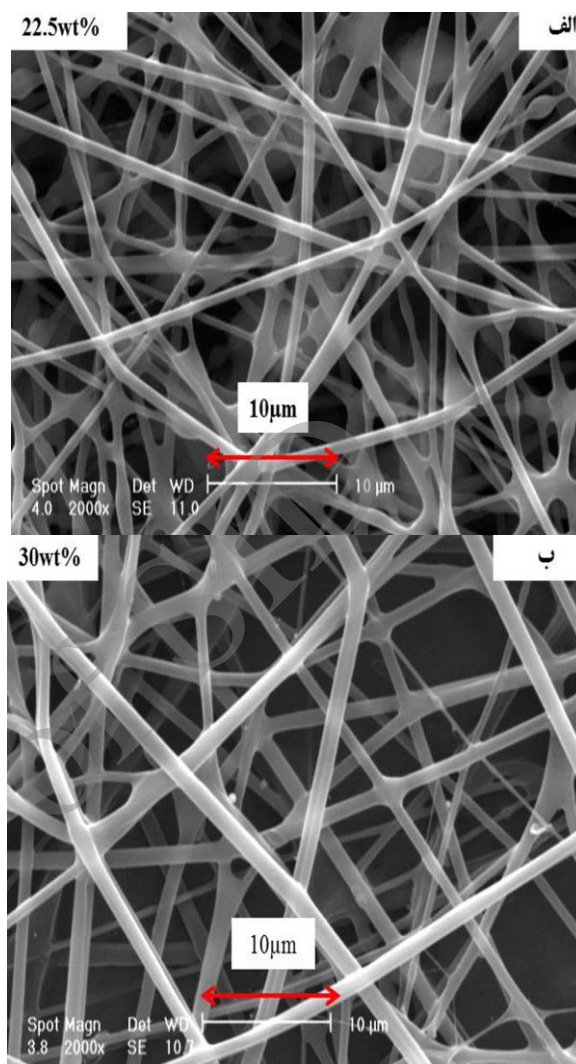
[4] M. C. Bottino, V. J. Thomas & G. M. Janowski, "A novel spatially designed and functionally graded electrospun membrane for periodontal regeneration", *Acta Biomaterialia*, Elsevier Ltd., Vol. 7, pp. 216-224, 2011.

[5] Y. Shirotsaki, K. Tsuru, S. Hayakawa, A. Osaka, M. A. Lopes, J. D. Santos, M. A. Costa & M. H. Fernandes, "Physical, chemical and in vitro biological profile of chitosan hybrid membrane as a function of organosiloxane concentration", *Acta Biomaterialia*, Elsevier Ltd, Vol. 5, pp. 346-355, 2009.

[6] M. Brett Runge, H. Wang, R. J. Spinner, A. J. Windebank & M. J. Yaszemski, "Reformulating polycaprolactone fumarate to eliminate toxic diethyleneglycol: Effects of polymeric branching and autoclave sterilization on material properties", *Acta Biomaterialia*, Elsevier Ltd, Vol. 8, pp. 133-143, 2012.

[۷] م. ربیعی، م. اعظمی، ش. بنکدار، کاربرد پلیمرها در پزشکی، انتشارات دانشگاه صنعتی امیرکبیر، ۱۳۸۷.

[8] K. Mladenovska, E. F. Kumbaradzi, G. M. Dodov, L. Makraduli, K. Goracinova, "Biodegradation and drug release studies of BSA loaded gelatin microspheres", *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 242, pp. 247-249, 2002.



شکل (۱۲): تصویر میکروسکوپی الکترونی روبشی از غشاهای ژلاتین- پلی کاپرولاکتون فومارات ساخته شده با محلول های ۲۲/۵ و ۳۰ درصد وزنی

## ۴- نتیجه گیری

پلیمر پلی کاپرولاکتون فومارات به کمک ژلاتین الکتروسی شده. محلول ژلاتین در استیک اسید دارای هدایت الکتریکی و ویسکوزیته‌ی بیشتری نسبت به محلول پلی کاپرولاکتون فومارات در استیک اسید است. با استفاده از محلول ۳۰ درصد وزنی پلی کاپرولاکتون فومارات- ژلاتین در شرایط اعمال اختلاف پتانسیل ۲۱ کیلو ولت و فاصله‌ی سرنگ تا صفحه‌ی جمع کننده‌ی ۱۵ سانتی متر در دستگاه، امکان تهیه داربست

Khademhosseini, "PGS: Gelatin nanofibrous scaffolds with tunable mechanical and structural properties for engineering cardiac tissues", *Biomaterials*, Vol. 34, pp. 6355-6366, 2013.

#### ۶- پی نوشت

- [1] Guided Bone Regeneration (GBR)
- [2] Guided Tissue Regeneration (GTR)/ Guided Bone Regeneration(GBR)
- [3] Fourier Transformed Infrared Spectroscopy
- [4] Ultra violet A
- [5] Irgacure
- [6] Phosphate Buffered Saline
- [9] S. Ramakrishna, K. Fujihara, W. E. Teo & T. Yong, Z. R. Ma, "Electrospun nanofibres: solving global issues", *Material Today*, Vol.9, No. 3, 2006.
- [10] Sh. Sharifi, H. Mirzadeh, M. Imani, F. Ziaee, M. Tajabadi, A. Jamshidi & M. Atai, "Synthesis, photocrosslinking characteristics, and biocompatibility evaluation of N-vinyl pyrrolidone/polycaprolactone fumarate biomaterials using a new proton scavenger", *Polymers for Advanced Technologies*. Vol. 19, pp. 1828-1838, 2006.
- [11] Z. M. Huang, Y. Z. Zhang, M. Kotaki & S. Ramakrishna, "A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites", *Composites Science and Technology*, Vol. 63, pp. 2223-2253, 2003.
- [12] R. Inai, M. Kotaki & S. Ramakrishna, "Structure and properties of electrospun PLLA single nanofibers". *Nanotechnology*. Vol. 16, pp. 208-213, 2005.
- [13] J. M. Deitzel, J. Kleinmeyer, D. Harris & N. C. B. Tan, "The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles," Vol. 42, pp. 261-272, 2001.
- [14] Sh. Zhang, Y. Huang, X. Yang, F. Mei, Q. Ma, G. Chen, S. Ryu & X. Deng, "Gelatin nanofibrous membrane fabricated by electrospinning of aqueous gelatin solution for guided tissue regeneration", *Journal of Biomedical Materials Research A*, pp. 671-679, 2008.
- [15] H. Hajiali, Sh. Shahgasempour, R. Naimi-Jamal & H. Peirovi, "Electrospun PGA/gelatin nanofibrous scaffolds and their potential application in vascular tissue engineering", *International Journal of Nanomedicine*. Vol. 6, pp. 2133-2141, 2011.
- [16] Sh. Zhang, Y. Huang, X. Yang, F. Mei, Q. Ma, G. Chen, S. Ryu & X. Deng, "Gelatin nanofibrous membrane fabricated by electrospinning of aqueous gelatin solution for guided tissue regeneration", *Journal of Biomedical Materials Research A*, pp. 671-679, 2008.
- [17] M. Kharaziha, M. Nikkhah, S. Su-ryon, Annabi, N. Masoumi, A. Gaharwar, G. Camci-Unal & A.