

Polymerization
Quarterly, 2023
Volume 13, Number 2
Pages 17-27
ISSN: 2252-0449

Post-Modification of Electrospun Nanofibers with Bioactive Species through Click Reactions

Mehdi Sheikhi, Firoozeh Kavosh Tehrani, and Fatemeh Rafiemanzelat*

Polymer Chemistry Research Laboratory, Department of Chemistry, University of Isfahan,
P.O. Box 81746-73441, Isfahan, Iran

Received: 31 December 2021, Accepted: 26 April 2022

Abstract

The regeneration process is not only affected by interactions between cells but also the surfaces chemistry of biomaterials. For this reason, modifying the surface of electrospun fibers with biomolecules is a suitable method to increase adhesion and cellular organization. There are two general approaches to modify electrospun nanofibers, which are performed in different ways. Loading biological agents in a polymer solution is a common method for trapping biomolecules in the scaffold structure, in which the molecule is located in the fibrous labyrinth and plays its role. However, due to the limitations of this method, post-modification methods have been considered as an alternative path. This type of modification can be achieved by physical adsorption of biomolecules on the fiber surface or by chemical bonding. Due to the capabilities of click chemistry, clickable electrospun structures provide a promising path for linking different biomolecules, that are suitable for different purposes of tissue engineering. In this article, the latest research performed on the functionalization and modification of electrospun structures with different types of click reactions are reviewed. Obviously, achieving smart systems that stimulate and control the cellular activities requires familiarity with the latest research in this field, which is the main goal of this review article.

Key Words

electrospinning,
nanofiber functionalization,
click chemistry,
biomaterial,
tissue engineering

(*) To whom correspondence should be addressed.
E-mail: frafiemanzelat@chem.ui.ac.ir

بسپارش
فصلنامه علمی
سال سیزدهم، شماره ۲،
صفحه ۲۷-۳، ۱۴۰۲
ISSN: 2252-0449

پس اصلاح نانوالیاف الکتروریسی شده با گونه های زیست فعال از طریق واکنش های کلیک

مهدی شیخی، فیروزه کاوش طهرانی، فاطمه رفیع منزلت*

اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده شیمی، گروه شیمی پلیمر، صندوق پستی ۷۳۴۴۱-۸۱۷۴۶

دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۰، پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۶

فرایند بازسازی، نه تنها تحت تأثیر برهم کنش های میان یاخته ها قرار دارد، بلکه شیمی سطح زیست مواد نیز بر آن اثرگذار است. بدین دلیل، اصلاح سطح الیاف الکتروریسی شده با زیست مولکول ها، روش مناسبی برای افزایش چسبندگی و سازمان دهی یاخته ای است. دو رویکرد کلی برای اصلاح داربست های الکتروریسی شده وجود دارد که با روش های مختلف انجام می گیرد. بارگذاری عوامل زیستی در محلول پلیمری، روش متداولی برای تله اندازی زیست مولکول ها در ساختار داربست است که طی آن مولکول در پیچال الیافی قرار می گیرد و به ایفای نقش می پردازد. اما به دلیل محدودیت های این روش، روش های پس اصلاح به عنوان مسیر جایگزین برای اصلاح نانوالیاف مورد توجه قرار گرفته اند. این نوع اصلاح می تواند با جذب سطحی فیزیکی زیست مولکول ها روی سطح الیاف یا با پیوند شیمیایی عامل مدنظر روی الیاف حاصل می شود. به دلیل قابلیت های شیمی کلیک، سازه های الکتروریسی شده کلیک پذیر، مسیر نویدبخشی را برای پیوند زیست مولکول های مختلف فراهم می کند که برای اهداف متفاوت مهندسی بافت مناسب باشند. در این مقاله، پژوهش های انجام شده در زمینه عامل دار کردن سازه های الکتروریسی به تفکیک انواع واکنش های کلیک مرور می شود. بدیهی است، دستیابی به سامانه های هوشمند که فعالیت های یاخته ای را تحریک و کنترل می کنند، نیازمند آشنایی با آخرین پژوهش ها در این زمینه بوده که هدف اصلی این مقاله مروری است.

چکیده



مهدی شیخی



فیروزه کاوش طهرانی



فاطمه رفیع منزلت

واژگان کلیدی

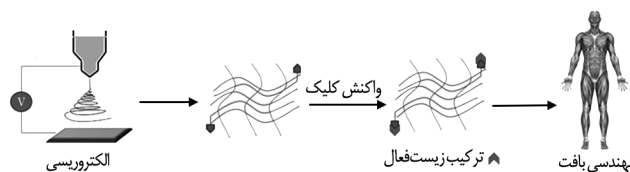
الکتروریسی،
عامل دار کردن نانوالیاف،
شیمی کلیک،
زیست مواد،
مهندسی بافت

* مسئول مکاتبات، پیام نگار:
frafemanzelat@chem.ui.ac.ir

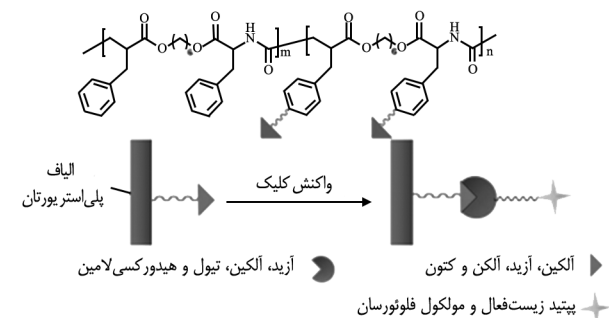
مقدمه

با پیشرفت مهندسی بافت، طراحی داربست‌های هوشمند تشکیل شده از مواد پلیمری و زیست‌مولکول‌ها به دلیل قابلیت بیان سیگنال‌های زیستی، کنترل فعالیت‌های یاخته‌ای و ترویج بازسازی بافت به‌عنوان جایگزین داربست‌های ساده مورد توجه قرار گرفته است. زیست‌مولکول‌ها، گستره وسیعی از خانواده عامل‌های رشد، پروتئین‌ها، پپتیدهای کوتاه، ژن‌ها و آنزیم‌ها را شامل می‌شوند که داربست‌های الکتروروسی شده را می‌توان برحسب کاربرد با چند مورد از آن‌ها عامل‌دار کرد. روش ساده برای زیست‌فعال‌سازی سازه‌ها، ترکیب زیست‌مولکول‌ها با محلول پلیمری مدنظر پیش از فرایند الکتروروسی است. بدین ترتیب، اجزای زیست‌فعال در داربست‌های الکتروروسی شده، پخش شده و می‌توانند رهایش پیوسته یا کنترل‌شده‌ای را برای بازسازی بافت فراهم کنند (شکل ۱). ایراد این روش، عدم کنترل سرعت رهایش و ازدست‌دادن یا تغییر بالقوه در زیست‌فعالیت مولکول‌های مزبور است که به دلیل اعمال ولتاژ یا برهم‌کنش با محلول پلیمری رخ می‌دهد [۱].

هدف روش‌های نوین‌تر زیست‌فعال‌سازی، تثبیت زیست‌مولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، پپتیدها و پلی‌ساکاریدها یا داروهای زیست‌فعال روی سطح الیاف الکتروروسی شده است تا بتوان برهم‌کنش سطوح زیست‌مواد و سامانه زیستی را تعدیل کرد. به‌منظور ایجاد و ارتقای برهم‌کنش زیست‌مولکول‌ها و پلیمرهای داربست، اغلب لازم است تا فعال‌سازی سطح الیاف انجام شده و گروه‌های عاملی خاص روی سطح آن‌ها ایجاد شود. استفاده از پلاسما و حکاکی شیمیایی مرطوب، دو روش مرسوم برای تعبیه گروه‌های مورد نیاز روی سطح است [۲]. با این حال، فرایند زیست‌فعال‌سازی سطحی ایده‌آل باید دارای شرایط واکنش آسان بوده و احتمال تخریب مولکول به حداقل کاهش یابد. همچنین، آزادسازی زیست‌مولکول‌ها باید با سرعت کنترل‌شده و بدون کاهش فعالیت آن‌ها انجام شود. در این راستا، واکنش‌های کلیک به دلیل واکنش‌پذیری زیاد، شرایط آسان انجام واکنش (عدم نیاز به تجهیزات)، گزینش‌پذیری و شرایط واکنش ملایم توجه زیادی



شکل ۱- فرایند تولید داربست‌های حاوی زیست‌مولکول‌ها در مهندسی بافت [۱].



شکل ۲- سنتز و اصلاح نانوالیاف پلی‌(استر-اوره) [۴].

را جلب کرده‌اند. در این مقاله، رویکردهای فعلی برای ساخت داربست‌های الکتروروسی شده زیست‌فعال با تمرکز بر برقراری اتصالات شیمیایی با واکنش کلیک مرور می‌شود. واکنش حلقه‌زایی کاتالیز شده با مس (CuAAC)، واکنش تیول-ان و تیول-این، افزایش مایکل تیول-ان و واکنش دیلز-آلدر و دیلز-آلدر معکوس از مهم‌ترین واکنش‌های کلیک هستند که برای اصلاح پلیمرها استفاده می‌شوند. سازوکار و جزئیات این واکنش‌ها در منابع گردآوری شده، از این رو از ذکر مباحث اولیه واکنش‌های کلیک صرف‌نظر شده است [۳].

اصلاح سطح الیاف الکتروروسی شده با زیست‌مولکول‌ها به‌وسیله شیمی کلیک را می‌توان از طریق الکتروروسی مستقیم پلیمرهای حاوی گروه‌های عاملی مستعد واکنش کلیک انجام داد. به‌عنوان مثال، Lin و همکاران، الیاف پلی‌(استر-اوره) (PEU) را تهیه کردند که حاوی گروه‌های کلیک‌پذیر آلکین، آزید، آلکن، تیروزین-فنول و کتون بودند. برحسب گروه عاملی موجود در آن‌ها، می‌توان پپتیدها و مولکول‌های فلونورسان را روی سازه متصل کرد (شکل ۲) [۴]. مطالعات زیادی درباره عامل‌دار کردن نانوالیاف پس از واکنش الکتروروسی انجام شده است. بیشترین مطالعه به واکنش‌های حلقه‌زایی آزید-آلکین به دلیل آسانی واکنش و تعبیه کردن گروه‌های فعال روی اجزا، اختصاص یافته است. در ادامه، شیمی واکنش‌های کلیک به‌طور اجمالی بررسی شده و سپس به پژوهش‌های انجام‌شده درباره عامل‌دار کردن سطح الیاف به تفکیک واکنش‌های کلیک پرداخته می‌شود.

واکنش‌های کلیک

شیمی کلیک واکنش خاص نیست، بلکه به تعریف واکنش‌هایی می‌پردازد که طی آن محصولات با بازده و گزینش‌پذیری زیاد تولید شده و در شرایط ملایم انجام می‌شود. از ویژگی‌های این واکنش می‌توان به آسانی، عدم حساسیت به اکسیژن و آب، استفاده از مواد اولیه و واکنشگرهای در دسترس و همچنین استفاده از حداقل حلال

سمیت مس است، ظهور واکنش حلقه‌زایی بدون فلز، فرصت‌های استفاده در شرایط فیزیولوژیکی عمومی را گسترش می‌دهد. واکنش SPAAC که توسط Bertozzi و همکاران توسعه داده شد، در دهه اخیر مورد توجه قرار گرفت. حلقه اکتین و آزیدها، ترکیبات درگیر در واکنش بوده که محصول ۳،۲،۱-تری‌آزول با ساختار پایداری را به وجود می‌آورد. این واکنش کلیک در اصلاح پروتئین و اولیگونوکلئوتیدها کاربرد گسترده‌ای یافته است [۷].

تیول-X

واکنش تیول-X نوعی واکنش هیدروتیول‌دار کردن است که از طریق افزودن گروه‌های تیول (SH) به پیوندهای دوگانه کربن-کربن (C=C) انجام می‌شود. به طور کلی، این واکنش به دو روش افزایش رادیکالی و افزایش مایکل انجام‌پذیر است. تاکنون واکنش تیول-X، در اصلاح شیمیایی پلیمرها با زیست‌مولکول‌ها و همچنین سنتز هیدروژل‌ها، تهیه شبکه‌های پلیمری، پوشش‌ها و فیلم‌ها مورد توجه بوده است [۶].

دیلز-آلدر (Diels-Alder)

واکنش دیلز-آلدر نوعی واکنش افزایشی مزدوج بین دی‌ان و دی‌ان‌دوست (dienophile) بوده که به دلیل تشکیل پیوندهای σ جدید از نظر ترمودینامیکی مطلوب است. همچنین، واکنش دیلز-آلدر در دمای ۵۰-۱۵۰ °C در جهت معکوس انجام شده و از این رو مسیر ساده‌ای برای طراحی مواد خودترمیم به‌شمار می‌رود [۸].

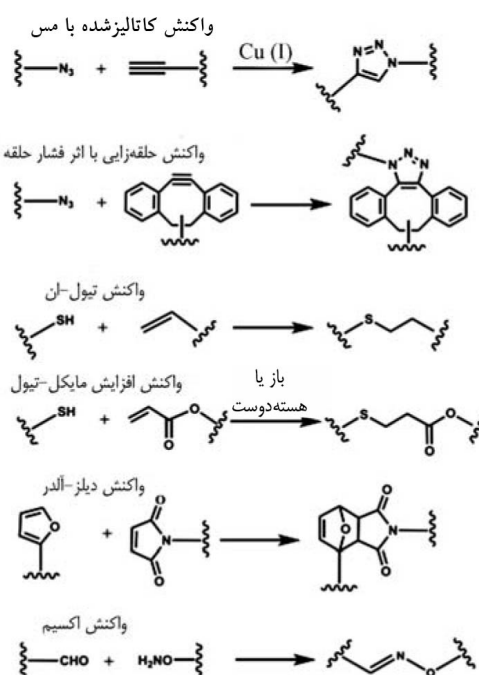
اکسیم

واکنش اکسیم نوعی واکنش تراکمی بین گروه‌های کتون-آلدئید و هسته‌دوست‌های پایداری مانند هیدرازین و آلکوکسی آمین است. پیوندهای هیدرازون و اکسیم تشکیل‌شده طی واکنش، پایداری مناسبی در شرایط فیزیولوژیکی بدن دارند. در این واکنش، آب به‌عنوان محصول جانبی تولید می‌شود. شتاب‌دهی به واکنش، نیازمند شرایط اسیدی ضعیف است که کاربرد آن را در محیط‌های زیستی محدود می‌سازد. از این رو، توسعه سامانه‌های کاتالیزگر در این زمینه بسیار مورد توجه است [۶].

پس اصلاح نانوالیاف با واکنش‌های کلیک

حلقه‌زایی آزید-آلکن کاتالیز شده با مس (CuAAC)

واکنش‌های آزیدها و آلکین‌های آلی که به‌وسیله گونه‌های مس کاتالیز می‌شوند، نمونه‌های اولیه شیمی کلیک هستند. واکنش یادشده که در



شکل ۳- انواع واکنش‌های کلیک و سازوکار آن‌ها.

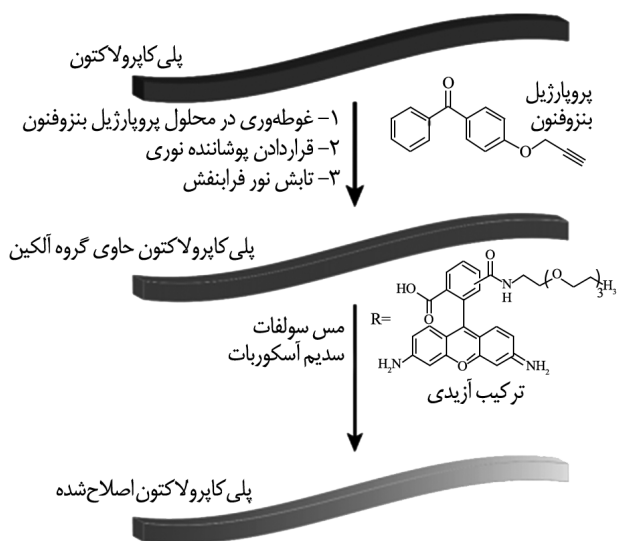
اشاره کرد. از واکنش‌های معروف کلیک می‌توان به واکنش‌های حلقه‌زایی آزید-آلکن کاتالیز شده با مس (Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, CuAAC) اشاره کرد. این واکنش به دلیل سهولت انجام و سازوکار آسان آن، از این رو برای زیست‌مولکول‌ها مضر است. در آغاز قرن بیستم، Meldal و Sharpless به‌طور مستقل حلقه‌زایی آزید-آلکن کاتالیز شده با مس را گزارش کردند که به‌عنوان اولین واکنش کلیک معرفی شد. از مزایای این واکنش می‌توان به امکان انجام آن در محیط آبی و گزینش‌پذیری زیاد اشاره کرد. این ویژگی‌ها، سبب کاربرد گسترده واکنش CuAAC در اصلاح زیست‌مولکول‌هایی چون پلی‌پپتیدها، نوکلئیک اسیدها و پلی‌ساکاریدها شده است [۶].

حلقه‌زایی آزید-آلکن کاتالیز شده با مس (CuAAC)

واکنش حلقه‌زایی اولیه که به حلقه‌زایی Huisgen معروف است، میان گروه‌های آزید و آلکین انجام شده و ترکیب ۳،۲،۱-تری‌آزول را ایجاد می‌کند. این واکنش به دمای زیاد نیاز دارد و از این رو برای زیست‌مولکول‌ها مضر است. در آغاز قرن بیستم، Meldal و Sharpless به‌طور مستقل حلقه‌زایی آزید-آلکن کاتالیز شده با مس را گزارش کردند که به‌عنوان اولین واکنش کلیک معرفی شد. از مزایای این واکنش می‌توان به امکان انجام آن در محیط آبی و گزینش‌پذیری زیاد اشاره کرد. این ویژگی‌ها، سبب کاربرد گسترده واکنش CuAAC در اصلاح زیست‌مولکول‌هایی چون پلی‌پپتیدها، نوکلئیک اسیدها و پلی‌ساکاریدها شده است [۶].

حلقه‌زایی آزید-آلکن پیش‌برده با کشیدگی (SPAAC)

با توجه به محدودیت‌های واکنش CuAAC که از مهم‌ترین آن‌ها

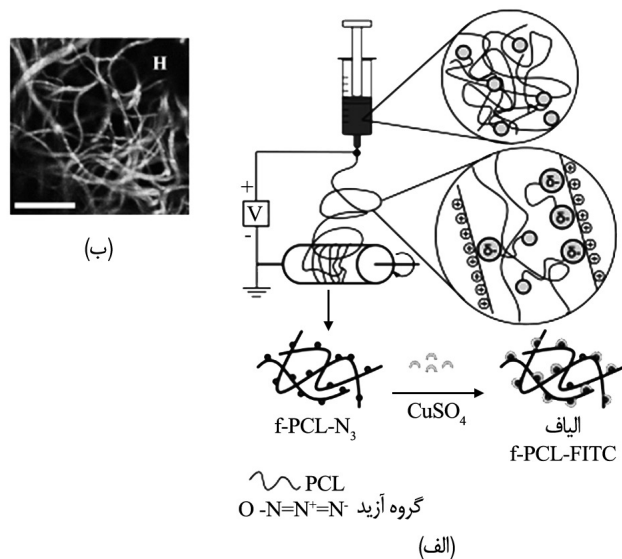


شکل ۵- طرح واکنش اصلاح الیاف PCL برای اتصال پپتید IKVAV [۱۲].

جدیدی را برای تثبیت آهن فتالوسیانین‌ها بر الیاف پلیمری گزارش کردند. در این راستا، اصلاح الیاف پلی‌ایمید با ترکیب فتالوسیانین آلکین‌دار شده با استفاده از واکنش کلیک گزارش شد. آماده‌سازی نانوالیاف برای تثبیت با کلرومتیل‌دار کردن الیاف و سپس جانیشینی کلر با گروه آزید انجام شد [۱۱].

لامینین و پپتیدهای مشتق از لامینین، مانند ایزولوسیل-لیزیل-والیل-آلانیل-والین (IKVAV) ترکیبات شناخته‌شده‌ای برای تقویت چسبندگی یاخته‌ای و القای رشد یاخته‌های پیش‌ساز عصبی هستند. Kim و همکاران با استفاده از واکنش‌های کلیک تثبیت گرادایانی پپتیدهای IKVAV را روی الیاف کوآکستروده شده گزارش کردند. تثبیت گرادایانی به‌وسیله یک پوشاننده نوری (photomask) انجام شد که عامل مؤثری در هم‌ردیف‌سازی یاخته‌ای (cellular alignment) یاخته‌های عصبی است. برای اصلاح سطح الیاف، ترکیب پروپارژیل بنزوفنون روی PCL جذب شده و در نتیجه امکان اتصال پپتید حاوی گروه آزید فراهم شد. سرانجام، الیاف برای رنگ‌زدایی و حذف پپتیدهای واکنش‌نداده در محلول دی‌متیل سولفوکسید-آب قرار گرفت. واکنش با وجود کاتالیزگر مس و با بازدهی عالی انجام‌پذیر است (شکل ۵) [۱۲].

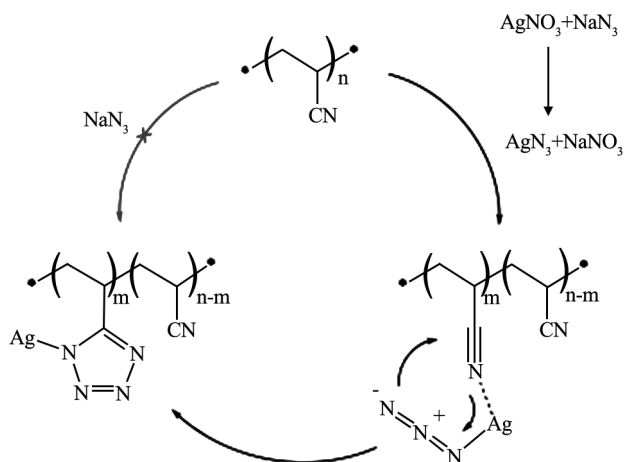
در گزارش دیگری Huang و همکاران، الیاف کوپلیمر پلی(وینیل الکل) و پلی‌اتیلن را با سیانوریک اسید اصلاح کردند. آن‌ها توانستند طی یک واکنش جانیشینی گروه‌های آزید و آلکین را روی آن تعبیه کنند که متعاقباً قابلیت اتصال گونه‌های دیگر را پیدا کرد. بررسی‌ها نشان داد، برای تثبیت سولفوبتائین‌ها روی الیاف کوپلیمر، آلکین‌دار کردن



شکل ۴- (الف) طرحی از فرایند پس‌اصلاح الیاف PCL با گروه‌های فلئوئورسان و (ب) تصویر فلئوئورسان [۹].

سال ۲۰۰۲ کشف شد، از آن زمان گسترش یافته و امروزه به واکنشی پرکاربرد در سنتز آلی تبدیل شده است. تعبیه کردن گروه‌های مستعد واکنش کلیک با روش‌های مختلف گزارش شده است. Lancuški و همکاران، داربست‌های نانوالیافی کلیک‌پذیر را از مخلوط پلی(کاپرولاکتون) (PCL) با وزن مولکولی ۸۰ و ۲۰۰۰ g/mol اصلاح‌شده با گروه‌های آزید (PCL-N₃) تهیه کردند [۹]. بدین منظور، PCL که دارای گروه‌های انتهایی هیدروکسیل است با گروه آزید با در مجاورت مس اصلاح شد که قابلیت انجام واکنش کلیک را خواهد داشت. آن‌ها برای ارزیابی واکنش‌پذیری الیاف با گروه‌های آلکین، ماده فلئوئورسان پروپارژیل فلئوئورسین ایزوتیوسیانان (FITC) را سنتز کردند و روی الیاف قرار دادند. حذف ذرات مس و سایر ترکیبات با شست‌وشوی الیاف با اتانول انجام شد. تصاویر میکروسکوپی حاصل، انجام واکنش کلیک را تأیید می‌کنند (شکل ۴). این گروه در پژوهش مشابهی، اثر اصلاح سطح نانوالیاف PCL به‌وسیله کربوهیدرات را نسبت به عامل‌دار کردن توده مقایسه کردند. نتایج حاصل از چسبندگی پروتئین لکتین نشان داد، در نانوالیاف حاوی گروه آزید زمانی که پس از فرایند الکتروریسی با ترکیب پروپارژیل- α -D-مانوزید اصلاح می‌شوند، زیست‌فراهمی کربوهیدرات نسبت به حالتی که پیش از فرایند ریسیده شدن با روش دیگری به PCL متصل شده باشد، افزایش چشمگیر می‌یابد که نقش پس‌اصلاح الیاف را نشان می‌دهد [۱۰].

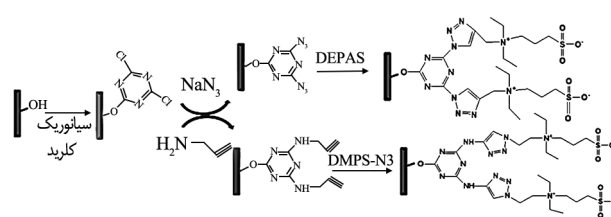
فتالوسیانین‌ها ترکیبات حساس به نوری هستند که در نوردرمانی بیماری سرطان استفاده می‌شوند. Chang و همکاران، روش



شکل ۷- سازوکار پیشنهادی برای اصلاح الیاف پلی (آکریلونیتریل) با یون نقره. با استفاده از سدیم آزید در نبود نقره، محصول به دست می آید [۱۵].

در حالی که گزارش‌های زیادی از حلقه‌زایی کاتالیز شده با مس برای عامل‌دار کردن نانوالیاف ارائه شده است، رویکردهای جایگزین با استفاده از راهکارهای بدون فلز نیز رو به گسترش است. از آنجا که کمترین مقدار فلزات ممکن است در سامانه زیستی و کاربرد نهایی سازه اثر سوء داشته باشد، این روش‌ها بسیار مطلوب به‌شمار می‌روند. واکنش حلقه‌زایی آزید-آلکن پیش‌برده با کشیدگی (SPAAC) به‌عنوان جایگزین مناسب بدون فلز برای واکنش کلاسیک CuAAC ارائه شده است. Becker و همکاران، عامل‌دار کردن الیاف الکتروزیستی شده را براساس SPAAC گزارش کردند. در این کار، پلیمرهای پلی (۷-بنزیل-L-گلوتامات) (PBLG) که حاوی یک گروه عاملی سیکلوآکتین در انتهای زنجیر هستند، الکتروزیستی شده و سپس به دلیل فشار حلقه به‌راحتی وارد واکنش می‌شوند. از پلیمر شدن حلقه‌گشای ۷-بنزیل-L-گلوتامات-N-کربوکسی‌انیدرید برای سنتز پلیمر واکنش‌دهنده به آزید استفاده شد (شکل ۹). نانوذرات حاوی گروه آزید نیز می‌توانند در سطح الیاف تثبیت شوند که در زمینه تشخیص و درمان بیماری، تصویربرداری و انتقال دارو و ژن می‌توانند استفاده شوند [۱۷]. گروه Becker در گزارش دیگری اصلاح نانوالیاف PCL را منتشر کردند که با استفاده از واکنش SPAAC انجام شده بود. پلیمر شدن PCL با آغازگر ۴-دی‌بنزوسیکلوکتینول (DIBO) با وجود اکتوات قلع انجام شد. امکان اتصال گروه‌های آزید بر الیاف با اتصال رنگ‌دانه حاوی آزید با تصاویر فلوروسان تأیید شد (شکل ۱۰) [۱۸].

Philip و همکاران با روش مشابهی، الیاف PCL را با



شکل ۶- اصلاح سطح نانوالیاف کوپلیمر پلی اتیلن-پلی (وینیل الکل) با سولفوبتائین [۱۳].

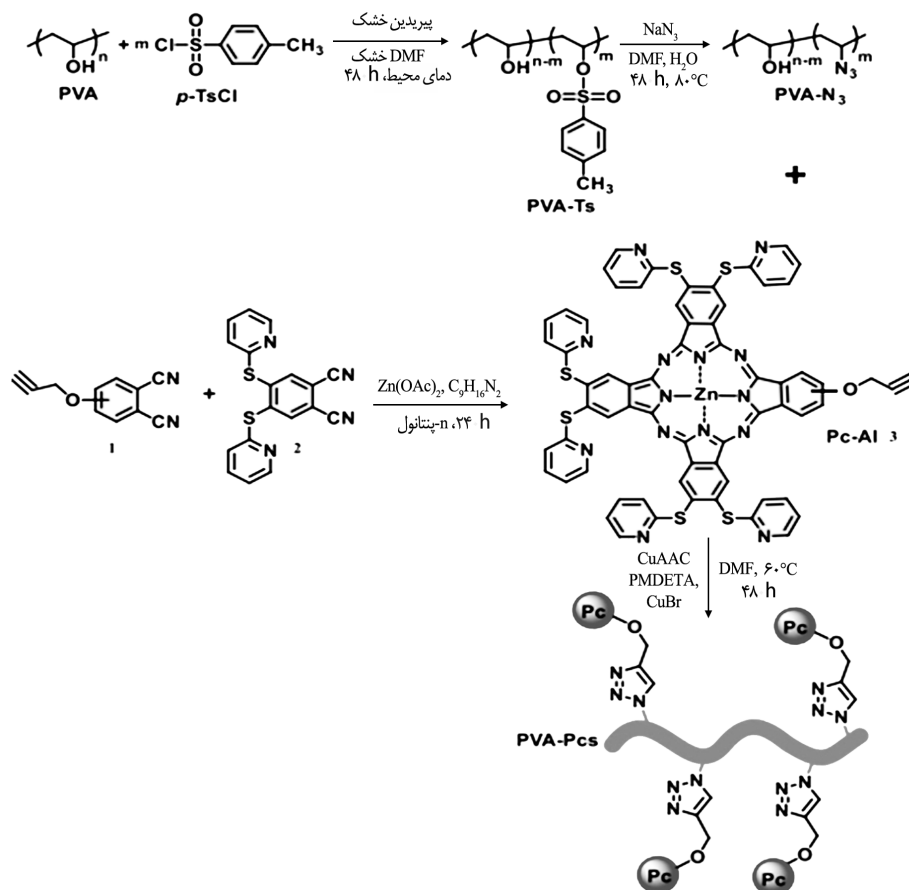
الیاف به دلیل بازدهی واکنش بعدی تثبیت، بهتر از آزیدی کردن آن‌هاست. سولفوبتائین‌ها یون‌های دوقطبی (zwitterion) هستند که خاصیت ضدخزه را در نمونه ایجاد می‌کنند (شکل ۶) [۱۳].

بیوتین از مولکول‌هایی است که با تثبیت روی نانوالیاف، کارایی زیستی آن‌ها را بسیار افزایش می‌دهد. Goodge و همکاران، توانستند با استفاده از واکنش آزید-آلکن، مولکول‌های بیوتین را روی نانوالیاف سلولوز استات تثبیت کنند. بدین منظور، الیاف سلولوز استات تهیه شده و سپس گروه‌های آلکین طی واکنش با پروپارژیل برومید روی نانوالیاف ایجاد شد. در ادامه، امکان تثبیت مولکول‌های بیوتین با وجود کاتالیزگر مس سولفات میسر و برای خالص‌سازی، الیاف حاصل به مدت سه روز در آب غوطه‌ور شدند. میزان ماندگاری بیوتین روی سطح تحت زمان و محیط نگهداری الیاف است [۱۴].

افزون بر ترکیبات مس، ترکیبات دیگری نیز به‌عنوان کاتالیزگر واکنش آزید-آلکین استفاده شده که برخی در زمینه اصلاح پلیمرها نیز به‌کار برده شده است. Wang و همکاران، از ذرات نقره بدین منظور استفاده کردند که می‌توانند ضمن آسان‌سازی واکنش حلقه‌زایی به‌عنوان عامل‌های شبکه‌ای‌کننده و ضدباکتری نیز در الیاف پلی (آکریلونیتریل) وجود داشته باشند. بدین منظور لازم است، ابتدا نقره آزید از واکنش نیترات و سدیم آزید تشکیل شده تا بتواند به‌عنوان کاتالیزگر موجب اتصال گروه آزید به گروه کربونیل و تشکیل گروه تترازول شود (شکل ۷) [۱۵]. این روش مسیر مناسبی را برای اصلاح الیاف پلی آکریلونیتریل فراهم می‌کند. ترکیبات ضدباکتری برپایه روی نیز در بستر کمپلکس‌های فتالوسیانین روی الیاف تثبیت می‌شوند و خاصیت ضدباکتری زیادی را نشان می‌دهند. در پژوهشی که در این زمینه انجام شده است، پلیمر پلی (وینیل الکل) طبق شکل ۸ با گروه‌های آزید اصلاح شده و قابلیت اتصال به کمپلکس روی فتالوسیانین را دارد. نتایج حاصل، حاکی از کاهش میزان آب‌دوستی و افزایش خاصیت ضدباکتری با افزایش درجه اصلاح است [۱۶].

پس اصلاح نانوالیاف الکتروزیستی شده با گونه‌های زیست‌فعال ...

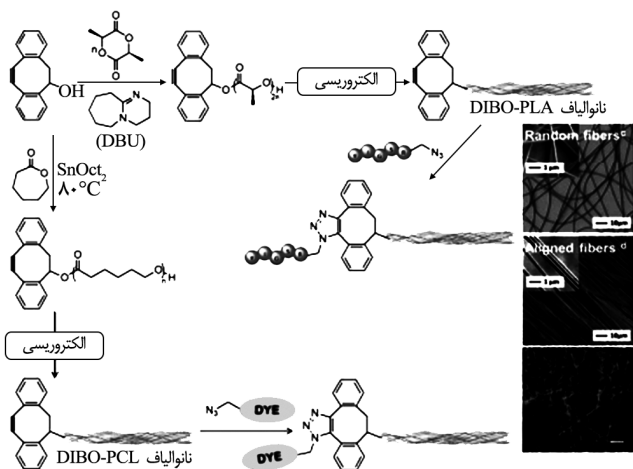
فصلنامه علمی، سال سیزدهم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲



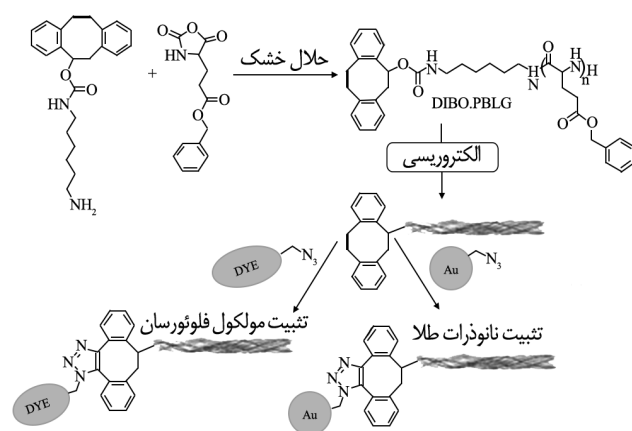
شکل ۸- مسیر کلی تهیه پلی (وینیل الکل) حاوی فتالوسیانین از طریق شیمی کلیک CuAAC [۱۶].

[۱۹]. وجود گروه‌های متنوع کلیک‌پذیر بر نانویالیف، امکان اتصال زیست مولکول‌های مختلف را فراهم می‌کند. Zheng و همکاران، پلیمر PCL را به دو صورت اصلاح کردند تا آماده واکنش‌های SPAAC و اکسیم باشد. در نتیجه، پپتیدهای گلیسیل-آرژنیل-گلیسیل-آسپارتیل-سرین (Gly-Arg-Gly-Asp-Ser, GRGDS) و

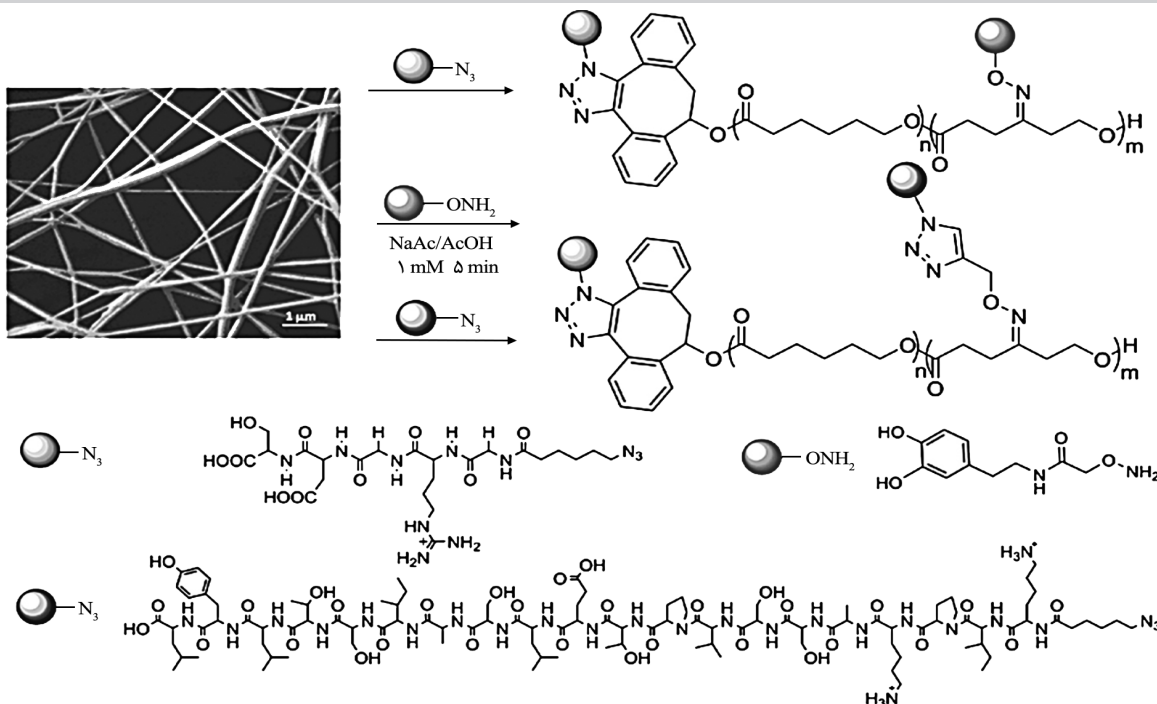
گروه‌های RGD اصلاح کردند که میزان بیان ژن و پروتئین‌ها برابر با نمونه‌های خالص RGD بود. سطح زیاد پروتئین اسیدی رشته‌ای گلیال در مراحل اولیه حاکی از پیش‌سازهای عصبی (neural progenitors) بوده که نسبت به نمونه کنترل و گزارش‌های موجود در منابع علمی بسیار سریع‌تر رخ داده بود



شکل ۱۰- تهیه و اصلاح یالیف پلیمر PLA و PCL از طریق واکنش‌های SPAAC بدون فلز [۱۸].



شکل ۹- تهیه و اصلاح یالیف از طریق واکنش‌های حلقه‌زایی آزید-آلکین در نبود کاتالیزگر فلزی [۱۷].



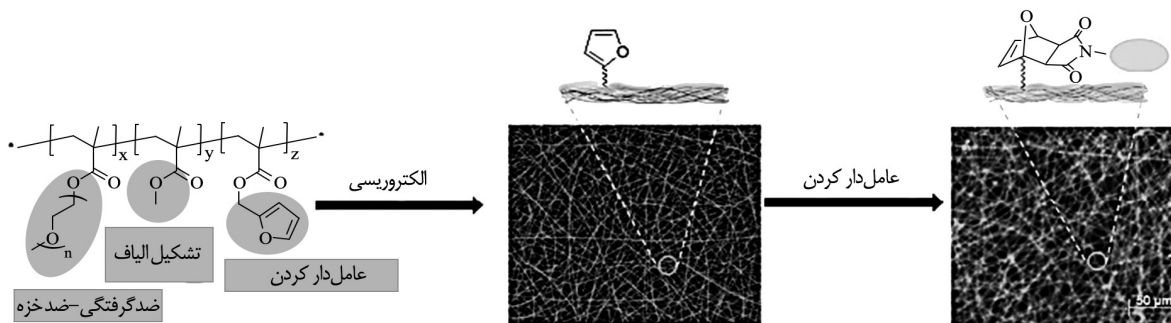
شکل ۱۱- اصلاح نانوالیاف تهیه شده از کوپلیمر پلی (کاپرولاکتون) و تری اکسایپرو [۶.۴]-۹-آن دکانون به سه طریق مختلف [۲۱].

واکنش دهنده نیروی محرکه واکنش کلیک بود و نیازی به استفاده از کاتالیزگر مس نبود. یاخته‌های بنیادی جنینی موش (mESC) روی نمونه‌های اصلاح شده و اصلاح نشده با پپتید کشت داده شدند. نتایج نشان داد، در حالت اصلاح شده، میزان بیان بتاتولومبین (TUJ1)، رشد یاخته‌های عصبی بیان ژن نشانگرهای عصبی بیش از حالت اصلاح نشده بوده است [۲۲].

دیلز-آلدر

واکنش‌های دیلز-آلدر را می‌توان به دلیل سادگی و بازده زیاد به‌عنوان واکنش‌های کلیک طبقه‌بندی کرد. پژوهش‌های زیادی درباره این واکنش‌ها به دلیل گستره وسیع مواد اولیه، هم در زمینه ترکیبات آلی کوچک مولکول و هم پلیمری انجام شده‌اند. Altan

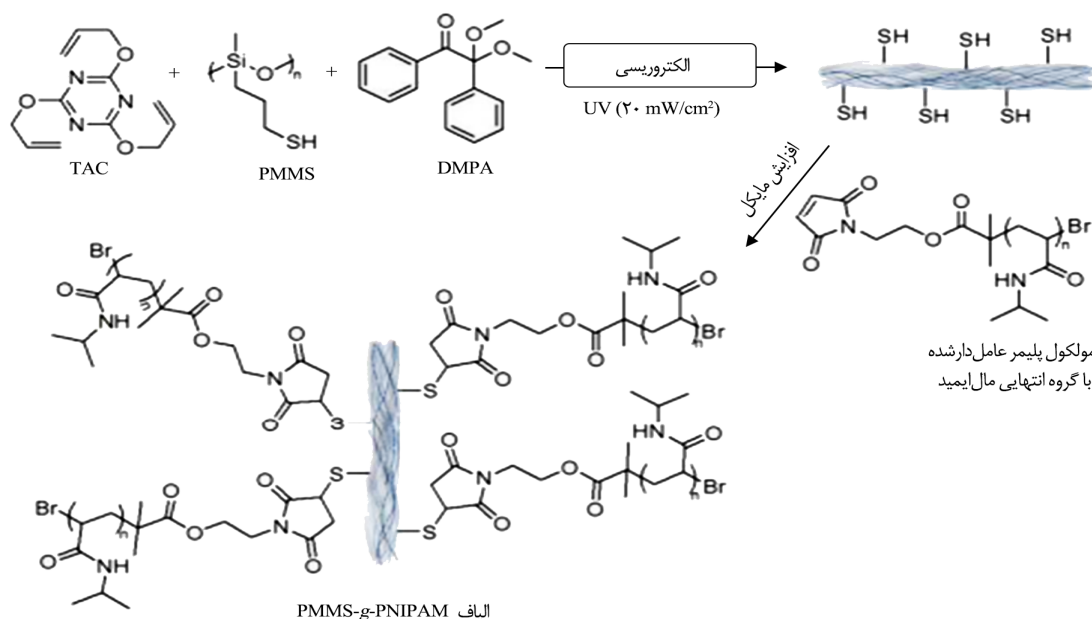
تیروزیل-ایزولوسیل-گلیسیل-سریل-آرژینین (Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg) قابلیت اتصال روی الیاف PCL را داشتند که موجب آسان شدن تکثیر یاخته‌های شوآن (Schwann) شده و سازه‌های نویدبخشی در بازسازی اعصاب محیطی محسوب می‌شوند [۲۰]. در پژوهش مشابهی، سه ترکیب GRGDS، دوپامین و پپتید BMP-2 با سه نوع واکنش کلیک اکسیم، حلقه‌زایی CuAAC و SPAAC بر کوپلیمری از کاپرولاکتون و ۸،۴،۱-تری اکسایپرو [۶.۴]-۹-آن دکانون تثبیت شدند (شکل ۱۱). با این روش، اتصال مستقیم گستره وسیعی از زیست مولکول‌ها بر سطح نانوالیاف آسان می‌شود [۲۱]. در پژوهش دیگری، الیاف پلی (L-لاکتیک اسید) که از دو سر با گروه‌های دی‌بنزوسیکلوکتینول اصلاح شده بودند با واکنش کلیک با پپتید Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg متصل شدند. فشار حلقه در ترکیب



شکل ۱۲- طرح ساخت و عامل دار کردن نانوالیاف از طریق واکنش دیلز-آلدر [۲۳].

پس اصلاح نانوالیاف الکتروزیستی شده با گونه‌های زیست فعال ...

فصلنامه علمی، سال سیزدهم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲



شکل ۱۳- تهیه و اصلاح الیا ف از طریق واکنش رادیکالی و هسته‌دوستی تیول-ان [۲۵].

واکنش از طریق افزایش مایکل-مال‌ایمید انجام شد [۲۵].
 An و همکاران، اصلاح نانویالیف سلولوز با گروه‌های تیول را گزارش کردند. بدین منظور، الیا ف سلولوز استات تهیه شده و پس از استیل‌زدایی، طی واکنش با ۳،۳-دی‌تیودی‌پروپیونیک اسید، الیا ف سلولوز تیول‌دار شده به دست آمد که با سه طریق اصلاح‌پذیر بودند:
 الف- جذب نانوذرات نقره با کاهش نقره در سطح؛
 ب- واکنش ترکیبات آمینی با افزایش مایکل و
 پ- واکنش با ترکیبات آلکن از طریق واکنش رادیکالی تیول-ان.
 با این واکنش، نسل جدیدی از مواد برپایه الیا ف کربوهیدرات برای کاربردهای مختلف معرفی شد [۲۶].

سایر روش‌ها

نانویالیف سلولوز توجه زیادی را در زمینه مهندسی بافت به خود معطوف ساخته‌اند. با این حال، اصلاح با کاتالیزگر مس مشکل‌های زیادی را به دنبال دارد. Dong و همکاران، نانویالیف سلولوز استات و پلی(۳-فلوئوروسولفونیل) پروپیل متاکریلات (PFPM) را با واکنش جدید کلیک با عنوان تبادل سولفور (IV)-فلوئورید (SuFEx) عامل‌دار کردند که درجه اصلاح آن با نسبت پلیمرها کنترل‌پذیر بود. SuFEx واکنش سولفونیل کلرید ($-SO_2F$) یا فلوئوروسولفات ($-OSO_2F$) با سیلیل‌تر بوده که با سرعت و بازدهی زیاد انجام‌پذیر است و الیا ف حاوی سولفونیل فلوئورید را با زیست‌مولکول‌های سیلیل‌تر عامل‌دار ایجاد می‌کند (شکل ۱۴) [۲۷].

همکاران، نانویالیفی برپایه کوپلیمرها را طراحی کردند که در شرایط ملایم قابلیت انجام واکنش دیلز-آلدر را دارند (شکل ۱۲). این کوپلیمرها، نه تنها به دلیل وجود گروه‌های جانبی فوران مستعد واکنش‌های کلیک هستند، بلکه پایداری نمونه به دلیل برقراری تعادل بین بخش‌های آب‌دوست و آب‌گریز در محیط آبی افزایش می‌یابد. عامل‌دار کردن الیا ف حاصل به وسیله لیگاندها و مولکول‌های حاوی مال‌ایمید مانند بیوتین اصلاح‌شده با مال‌ایمید می‌تواند انجام شود. نانویالیف بیوتین‌دار شده، قابلیت جذب و تسهیل تثبیت پروتئین استرپتاویدین و نقاط کوانتومی پوشش‌یافته با استرپتاویدین را دارند [۲۳].
 در گزارش اخیر، کوپلیمرهای برپایه پلی‌لاکتید (PLA) حاوی گروه‌های فوران و تری‌اتیلن گلیکول (TEG) نیز سنتز شده و برای تولید نانویالیف الکتروریسی شدند. الیا ف با واکنش دیلز-آلدر قابلیت اتصال شیمیایی به پپتید حلقوی cRGDFK را دارند. نتایج حاکی از آن بود که وجود این پپتیدها موجب افزایش زیست‌سازگاری، ارتقای چسبندگی یاخته‌ای و تکثیر یاخته‌های L929 می‌شود [۲۴].

تیول-X

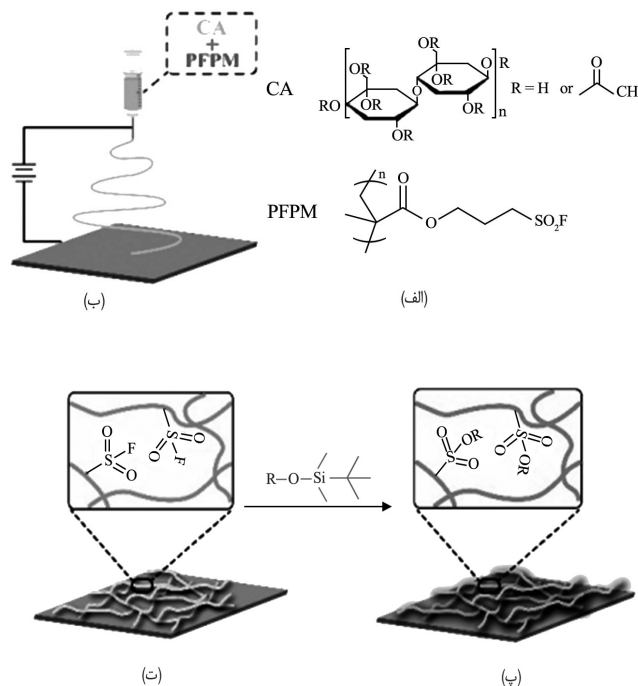
Guo و همکاران، اصلاح الیا ف شبکه‌ای شده پلی(۳-مرکاپتوپروپیل) متیل سیلوکسان (PMMS) را از طریق واکنش رادیکال تیول-ان گزارش کردند (شکل ۱۳). در فرایند رسیدن، الیا ف PMMS شبکه‌ای شده و تیول‌های آزاد باقی‌مانده را می‌توان برای اتصال زنجیرهای اصلاح‌شده با مال‌ایمید PNIPAM استفاده کرد. بدین منظور، الیا ف PMMS در محلول آبی PNIPAM غوطه‌ور شده و

نتیجه گیری

الکتروریسی روش ساده و تطبیق پذیری برای تولید داربست‌های الیاف پلیمری بوده که قابلیت تقلید از ساختار ماتریس طبیعی برون‌یاخته‌ای (ECM) برای طیف گسترده‌ای از کاربردهای مهندسی بافت را داراست. در سال‌های اخیر، سازه‌های الکتروریسی شده به‌عنوان بستر مناسب و نویدبخشی برای ساخت داربست‌های زیستی بوده است. در این راستا، عملکرد زیستی الیاف الکتروریسی شده، رویکردی نوین برای طراحی ساختارهای هوشمند و کارآمد است. زیست‌فعالی داربست‌های الکتروریسی شده را می‌توان با تثبیت کووالانسی زیست‌مولکول‌ها از طریق واکنش کلیک و با هدف آسان‌سازی چسبندگی و فعالیت‌های یاخته‌ای انجام داد. ترکیبی از فرایند الکتروریسی و واکنش‌های کلیک نشانگر راهبرد امیدبخشی در طراحی و توسعه سامانه‌های زیستی پیشرو و هوشمند برای کاربردهای مهندسی بافت است. این راهکار می‌تواند نقطه شروع معتبری برای دستیابی به سامانه‌های زیستی تنظیم‌پذیر و هوشمند باشد که قابلیت تحریک و هدایت فرایند بازسازی بافت را دارند.

مراجع

- Politi S., Carotenuto F., Rinaldi A., Di Nardo P., Manzari V., Albertini M.C. et al., Smart ECM-Based Electrospun Biomaterials for Skeletal Muscle Regeneration, *Nanomaterials*, **10**, 1781-1800, 2020.
- Klein K.L., Melechko A.V., McKnight T.E., Retterer S.T., Rack P.D., Fowlkes J.D. et al., Surface Characterization and Functionalization of Carbon Nanofibers, *J. Appl. Phys.*, **103**, 3-30, 2008.
- Binder W.H. and Sachsenhofer R., 'Click' Chemistry in Polymer and Material Science: An Update, *Macromol. Rapid Commun.*, **29**, 952-981, 2008.
- Zou Y., Zhang L., Yang L., Zhu F., Ding M., Lin F. et al., "Click" Chemistry in Polymeric Scaffolds: Bioactive Materials for Tissue Engineering, *J. Control Release*, **273**, 160-179, 2018.
- Yet L., Five-Membered Ring Systems: With More than One N Atom, *Prog. Heterocycl. Chem.*, **21**, 224-260, 2009.
- Geng Z., Shin J.J., Xi Y., Hawker C. J., Click Chemistry Strategies for the Accelerated Synthesis of Functional Macromolecules, *J. Polym. Sci.*, **11**, 963-1042, 2021.
- Mbua N.E., Guo J., Wolfert M.A., Steet R., and Boons G.J., Strain-Promoted Alkyne-Azide Cycloadditions (SPAAC) Reveal new Features of Glycoconjugate Biosynthesis, *Chem. Bio. Chem.*, **12**, 1912-1921, 2011.
- Huang C.J. and Chang F.C., Using Click Chemistry to Fabricate Ultrathin Thermoresponsive Microcapsules through Direct Covalent Layer-by-layer Assembly, *Macromolecules*, **42**, 5155-5166, 2009.
- Lancuški A., Fort S., and Bossard F., Electrospun Azido-PCL Nanofibers for Enhanced Surface Functionalization by Click Chemistry, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **4**, 6499-6504, 2012.
- Lancuški A., Bossard F., and Fort S., Carbohydrate-Decorated PCL Fibers for Specific Protein Adhesion, *Biomacromolecules*, **14**, 1877-1884, 2013.
- Chang Z., Fang Y., Zhang Q., and Chen D., "Click" Chemistry for Facile Immobilization of Iron Phthalocyanines onto Electrospun Nanofiber Surface, *Chem. Lett.*, **38**, 1144-1145, 2009.
- Kim S.E., Harker E.C., De Leon A.C., Advincula R.C., and Pokorski J.K., Coextruded, Aligned, and Gradient-Modified Poly(ϵ -caprolactone) Fibers as Platforms for Neural Growth, *Biomacromolecules*, **16**, 860-867, 2015.
- Huang J., Wang D., Lu Y., Li M., and Xu W., Surface Zwitterionically Functionalized PVA-co-PE Nanofiber Materials by Click Chemistry, *RSC Adv.*, **3**, 20922-20929, 2013.



شکل ۱۴- (الف) ساختار شیمیایی CA و PFPM، (ب) طرح فرایند الکتروریسی، (پ) و (ت) طرح الیاف پیش و پس از عامل دار شدن با واکنش SuFEx [۲۷].

14. Goodge K. and Frey M., Biotin-Conjugated Cellulose Nanofibers Prepared via Copper-Catalyzed Alkyne-Azide Cycloaddition (CuAAC) "Click" Chemistry, *Nanomaterials*, **10**, 1172-1187, 2020.
15. Wang W.X., Liu Y., Wang Y.X., Chen H., and Bai L.J., A Novel and Convenient Preparation of Antibacterial Polyacrylonitrile Nanofibers via Post-Modification Using Nitrile Click Chemistry and Electrospinning, *Chem. Pap.*, **72**, 191-200, 2018.
16. Gurol I., Altinkok C., Agel E., Tasaltin C., Durmuş M., and Acik G., Phthalocyanine Functionalized Poly(vinyl alcohol)s via CuAAC Click Chemistry and their Antibacterial Properties, *J. Coat. Technol. Res.*, **17**, 1587-1596, 2020.
17. Zheng J., Liu K., Reneker D.H., and Becker M.L., Post-assembly Derivatization of Electrospun Nanofibers via Strain-Promoted Azide Alkyne Cycloaddition, *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 17274-17277, 2012.
18. Zheng J., Xie S., Lin F., Hua G., Yu T., Reneker D.H. et al., 4-Dibenzocyclooctynol (DIBO) as an Initiator for Poly(ϵ -Caprolactone): Copper-Free Clickable Polymer and Nanofiber-Based Scaffolds, *Polym. Chem.*, **4**, 2215-2218, 2013.
19. Philip D.L., Silantjeva E.A., Becker M.L., and Willits R.K., RGD-Functionalized Nanofibers Increase Early GFAP Expression During Neural Differentiation of Mouse Embryonic Stem Cells, *Biomacromolecules*, **20**, 1443-1454, 2019.
20. Zheng J., Kontoveros D., Lin F., Hua G., Reneker D.H., Becker M.L. et al., Enhanced Schwann Cell Attachment and Alignment Using One-Pot "Dual Click" GRGDS and YIGSR Derivatized Nanofibers, *Biomacromolecules*, **16**, 357-363, 2015.
21. Zheng J., Hua G., Yu J., Lin F., Wade M.B., Reneker D.H. et al., Post-electrospinning "Triclick" Functionalization of Degradable Polymer Nanofibers, *ACS Macro Lett.*, **4**, 207-213, 2015.
22. Callahan L.A.S., Xie S., Barker I.A., Zheng J., Reneker D.H., Dove A.P., and Becker M.L., Directed Differentiation and Neurite Extension of Mouse Embryonic Stem Cell on Aligned Poly(lactide) Nanofibers Functionalized with YIGSR Peptide, *Biomaterials*, **34**, 9089-9095, 2013.
23. Kalaoglu-Altan O.I., Sanyal R., and Sanyal A., "Clickable" Polymeric Nanofibers through Hydrophilic-Hydrophobic Balance: Fabrication of Robust Biomolecular Immobilization Platforms, *Biomacromolecules*, **16**, 1590-1597, 2015.
24. Kalaoglu-Altan O.I., Kirac-Aydin A., Sumer Bolu B., Sanyal R., and Sanyal A., Diels-Alder "Clickable" Biodegradable Nanofibers: Benign Tailoring of Scaffolds for Biomolecular Immobilization and Cell Growth, *Bioconjug. Chem.*, **28**, 2420-2428, 2017.
25. Yang H., Zhang Q., Lin B., Fu G., Zhang X., and Guo L., Thermo-Sensitive Electrospun Fibers Prepared by a Sequential Thiol-Ene Click Chemistry Approach, *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.*, **50**, 4182-4190, 2012.
26. An S., Jeon B., Bae J.H., Kim I.S., Paeng K., Kim M. et al., Thiol-Based Chemistry as Versatile Routes for the Effective Functionalization of Cellulose Nanofibers, *Carbohydr. Polym.*, **226**, 115259-115287, 2019.
27. Dong Y., Lu X., Wang P., Liu W., Zhang S., Wu Z., and Chen H., "Click-Chemical" Modification of Cellulose Acetate Nanofibers: A Versatile Platform for Biofunctionalization, *J. Mater. Chem. B*, **6**, 4579-4582, 2018.