



## اثر دز استریل کننده پرتو گاما بر خواص سطح فیلم پلی یورتان

نسرین شیخ\*

مرکز تابش گاما، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۳۴۸۶-۱۱۳۶۵، تهران - ایران

**چکیده:** در این کار پژوهشی اثر روش استریل کردن با پرتو گامای تابنده از رادیوایزوتوپ کبالت ۶۰ بر روی ساختار سطح فیلم پلی یورتان و مسمومیت سلولی آن بررسی شده است. برای این منظور، ابتدا نوعی پیش پلیمر یورتان از واکنش بین تولوئن دی ایزوسیانات و مخلوط پلی ال شامل پلی اتیلن گلایکول/کستراویل (۵۰/۵۰ وزنی) تهیه شد. سپس در اثر واکنش پیش پلیمر سنتز شده با رطوبت محیط، فیلمهای جامدی ساخته شد. این فیلمها به وسیله پرتو گاما با دز ۲۵ کیلوگری استریل شدند. ساختار فیزیکی سطح نمونه فیلم پلی یورتان استریل شده به وسیله میکروسکوپ الکترونی پوششی (SEM) واریسی و با نمونه استریل نشده مقایسه گردید. همچنین مسمومیت سلولی احتمالی فیلمهای استریل شده به روش کشت سلولهای فیبروبلاست L929 مورد بررسی قرار گرفت و هیچ نشانه‌ای از مسمومیت در آنها مشاهده نشد.

**واژه‌های کلیدی:** استریل کردن، پرتو گاما، فیلم پلی یورتان، مسمومیت سلولی، سلول فیبروبلاست

## The Effect of Radiosterilization on Surface Properties of Polyurethane Film

N. Sheikh\*

Gamma Irradiation Center, AEOI, P. O. Box : 11365-3486, Tehran - Iran

**Abstract:** In this paper the effect of sterilization method by gamma-ray on structure and cytotoxicity of polyurethane film surface has been investigated. For this purpose reactive urethane prepolymer was synthesized by the reaction between TDI with a mixture of PEG and Castor oil (50/50, w/w). The cured prepolymer films were prepared due to the reaction of reactive prepolymer with air moisture under ambient conditions. The polyurethane films were sterilized by gamma-ray (25 kGy). The surface structure of sterilized polyurethane film was observed by SEM and compared to that of the unsterilized film. Also, the in vitro interaction of fibroblast L929 cells and sterilized polyurethane film was evaluated. Results showed no signs of cell toxicity.

**Keywords:** sterilization, gamma-ray, polyurethane film, cytotoxicity, fibroblast cell

## ۱- مقدمه

لایه، آنها را توسط تریسین برداشته و امولسیون سلولی با غلظت  $4 \times 10^6$  cells/mL تهیه شده است.

## ۲-۲- سنتز

سنتز یورتان بر اساس روش پیش پلیمری انجام گرفت. ابتدا دستگاه واکنشگر آماده سازی شد. سپس با توجه به روش محاسبه هم ارزی وزنی برای مخلوط پلی آل و تولوئن دی ایزوسیانات [۴] و [۵]، مقدار ۰/۲ هم ارز وزنی پلی- آل آبگیری شده (حاوی ۵۰ درصد وزنی پلی اتیلن گلیکول و ۵۰ درصد وزنی کستر اویل) به واکنشگر وارد و در حالیکه جریان ملایم گاز از آن می گذشت همزنی و حرارت دهی شد. سپس مقدار ۰/۴ هم ارز وزنی تولوئن دی ایزوسیانات به مخلوط پلی آل مذاب در حال همزدن افزوده شد. بدین ترتیب، واکنش بین گروه های هیدروکسیل و مقدار اضافی گروه های ایزوسیانات در واکنشگر، منجر به تشکیل پیش پلیمر یورتان با گروه های ایزوسیانات آزاد شد [۶]. به دلیل حساسیت عمل سنتز پیش پلیمر به حرارت، در مدت پیشرفت واکنش مراقبت شد تا دما تحت کنترل دقیق قرار گیرد. در پایان واکنش، مایعی غلیظ محتوی درصد گروه های ایزوسیانات آزاد، محاسبه شده بر مبنای هم ارزی با NCO آزاد، بدست آمد [۴]. سپس پیش پلیمر سنتز شده تحت فرایند تخلیص قرار گرفت، به این منظور که تولوئن دی ایزوسیانات واکنش نکرده به روش تبخیر لایه نازک از آن خارج شود.

## ۲-۳- تهیه فیلم

برای تهیه فیلم از پیش پلیمر سنتز شده، ابتدا پیش پلیمر مایع روی سطح شیشه گسترده شد تا به صورت لایه نازک درآید. این لایه ها به مدت معین ۲۰ روز در شرایط آزمایشگاهی (دمای  $24^{\circ}\text{C}$  و رطوبت ۵۳٪) نگهداری شدند تا لایه پیش پلیمر، در اثر واکنش گروه های ایزوسیانات آزاد با رطوبت هوا، جامد و به فیلم تبدیل شود. برای تعیین مدت لازم واکنش بین تمام گروه های ایزوسیانات آزاد در پیش پلیمر و رطوبت هوا، از طیف سنج فروسرخ استفاده شد؛ بدین ترتیب که لایه نازکی از پیش پلیمر بر روی قرص پتاسیوم برماید گسترده و در شرایط آزمایشگاهی (دمای  $24^{\circ}\text{C}$  و رطوبت ۵۳٪) نگهداشته شد. در بازه های زمانی

استریل کردن وسایل و مواد پزشکی به وسیله پرتو دهی، امروزه به عنوان روشی مطمئن و صنعتی شناخته شده است که نسبت به روش های دیگر مزایایی دارد [۱ و ۲]. از جمله می توان به سادگی عمل، که فقط با متغیر زمان کنترل می شود، و به نفوذ زیاد پرتو گاما در ماده که آلودگی میکروبی محصولات پزشکی را درون بسته بندی ها از بین برده و محصول بسته بندی شده نهایی را استریل می کند، اشاره نمود.

در مورد موادی که کاربرد پزشکی دارند، چون خروج اجزای مضر و سمی از درون آنها تحت شرایط کاربرد نباید صورت گیرد، انجام آزمون مسمومیت سلولی بر روی وسایل و مواد استریل شده، به منظور بررسی تأثیر احتمالی روش استریل کردن، ضروری است.

از میان مواد سنتزی، پلی یورتان به سبب دارا بودن خواص فیزیکی و مکانیکی مطلوب و زیست - سازگاری مناسب، رایج ترین ماده در کاربردهای مختلف پزشکی بوده و هست [۳]. در هر صورت، اغلب تحقیقاتی که تا بحال روی این ماده به انجام رسیده اند بیشتر جنبه بررسی اثر پرتو روی خواص مکانیکی این ماده را داشته اند. به همین جهت، در این کار پژوهشی، اثر پرتو گاما با دز استریل کننده " بر مسمومیت سلولی فیلم یورتان مورد بررسی قرار گرفته است.

## ۲- مواد و روشها

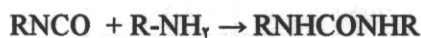
## ۲-۱- مواد شیمیایی و محیط کشت

کستر اویل و پلی اتیلن گلیکول ۱۰۰۰ (سیگما-آلد ریچ) به عنوان پلی آل بکار رفته اند. این پلی آل ها قبل از بکارگیری، به منظور آبگیری کامل، در دمای  $80^{\circ}\text{C}$  و در خلاء قرار داده شدند. ۲ و ۴ تولوئن دی ایزوسیانات (Riedel de Haen) به همان صورت دریافت شده مورد استفاده قرار گرفت.

سلول های فیرو بلاست تیره سلولی ۹۲۹-L، که از بافت همبند موش تهیه شده بود، از بانک سلول انسیتو پاستور ایران دریافت شد. محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاو (FCS)، ۱۰۰ units/mL پنسیلین و  $100 \mu\text{g/mL}$  استرپتومایسین (Gibco BRL Lab.) بود. پس از رشد سلولها به صورت تک

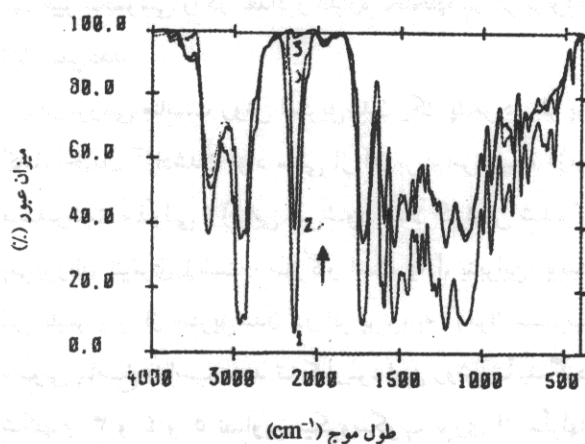


با جرم مولکولی کم، به مرور زمان از درون پلیمر مهاجرت کرده و باعث کاهش خاصیت زیست-سازگاری آن شوند [۷]. علاوه بر این، پیش پلیمر یورتانی سنتز شده به سبب دارا بودن گروههای NCO آزاد قادر به واکنش با رطوبت هوا می‌باشد و محصول واکنش آن، فیلم متخلخل پلی‌یورتان است. تشکیل تخلخل‌ها به علت ایجاد گاز CO<sub>2</sub> و خروج آن از درون پلیمر است:



(ساز و کار سخت شدن پیش پلیمر یورتان با رطوبت)

شکل ۱ سه طیف فروسرخ نمونه را به ترتیب در جهت فلش، مربوط به پیش پلیمر اولیه، فیلم جامد پس از ۲ روز و فیلم جامد پس از ۱۷ روز نگهداری در شرایط آزمایشگاهی نشان می‌دهد و مؤید کاهش گروه NCO آزاد با گذشت زمان است. در جدول ۱ نیز ضریب جذب گروه ایزوسیانات در زمانهای مختلف بر طبق نتایج آزمون طیف‌سنجی فروسرخ داده شده است. مقدار صفر برای ضریب جذب ایزوسیانات نشان‌دهنده عدم حضور گروه ایزوسیانات آزاد در فیلم تشکیل شده است. این بررسی نشان داد که پیش پلیمر پس از گذشت ۲ روز سخت و جامد شد ولی چون ضریب جذب گروه ایزوسیانات نسبتاً بزرگ بود (۰/۸۹)، نمونه مدت طولانی‌تری در شرایط آزمایشگاهی (دمای ۲۴°C و رطوبت ۵۳٪) نگهداشته شد و اندازه‌گیری ادامه یافت تا این که علاوه بر جامد شدن فیلم، واکنش گروههای ایزوسیانات آزاد



شکل ۱- طیف فروسرخ لایه پیش پلیمر نگهداری شده در شرایط آزمایشگاهی  
۱- پیش پلیمر اولیه ۲- فیلم جامد یورتان پس از ۲ روز ۳- فیلم جامد یورتان پس از ۱۷ روز

مشخص، طیف فروسرخ نمونه تهیه و مقدار تغییرات حاصل در شدت جذب گروه NCO (۲۲۷۲ cm<sup>-1</sup>) نسبت به گروه CH<sub>2</sub> (۲۹۲۱ cm<sup>-1</sup>) پیگیری شد. ضریب جذب ایزوسیانات از رابطه زیر بدست آمد:

$$\text{Isocyanate index} = A(2272 \text{ cm}^{-1}) / A(2921 \text{ cm}^{-1})$$

پس از پایان یافتن مدت نگهداری صفحات شیشه‌ای آغشته با پیش پلیمر در شرایط آزمایشگاهی، فیلم بدست آمده از سطح شیشه جدا شد و از آن قرصهایی به قطر ۱۵ mm بریده شدند و تحت پرتو دهی گاما با دز ۲۵ کیلوگری قرار گرفته و استریل گردیدند.

### ۲-۴- بررسی ساختار فیزیکی سطح

به منظور بررسی ساختار میکروسکوپی، سطح نمونه‌های فیلم اولیه و استریل شده توسط یک پوشش‌دهنده پراکنشی با طلا پوشش داده شد، سپس به وسیله میکروسکوپ الکترونی (Phillips-XL30) مشاهده و تصویربرداری صورت گرفت.

### ۲-۵- بررسی مسمومیت سلولی

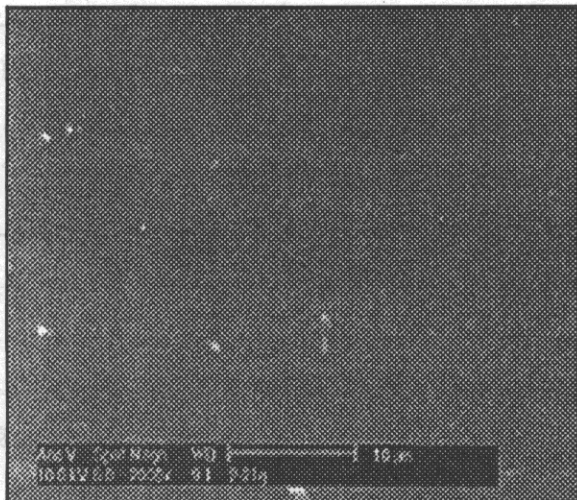
برای بررسی سمی شدن نمونه فیلم یورتان استریل شده، آزمون کشت سلول بر طبق استاندارد ASTM-F813 انجام گرفت. فیلم یورتان به شکل قرص درون ظرف مشبک قرار گرفت و ۵ mL از امولسیون سلولی روی سطح آن ریخته و به مدت ۵ روز در انکوباتور نگهداری شد. علاوه بر نمونه یورتان، نمونه‌هایی از جنس پلی‌استایرن ظروف کشت (TCPS-Nunc) و لاتکس به ترتیب به عنوان کنترل منفی و کنترل مثبت نیز بکار برده شدند. پس از خارج کردن نمونه‌ها از انکوباتور، سلولهای چسبیده به سطوح پلیمری، به وسیله محلول اتانول تثبیت شدند و رنگ آمیزی آنها با محلولهای کریستال ویولت و گیمسا صورت گرفت. برای مشاهده سلولهای چسبیده به سطح و چگونگی رشد آنها از نمونه‌های آماده شده، توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۲۰۰ تصویربرداری شد.

### ۳- نتایج و بحث

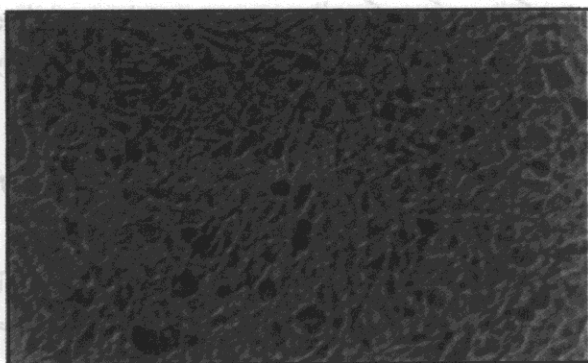
در این بررسی، به هنگام سنتز بجز تکپارها (مونومرها) افزودنی دیگری بکار برده نشد زیرا محتمل بود که مواد افزودنی

جدول ۱- تغییرات ضریب جذب گروه ایزوسیانات با زمان برای پیش پلیمر در شرایط آزمایشگاهی (۲۴ °C و رطوبت ۵۳٪)

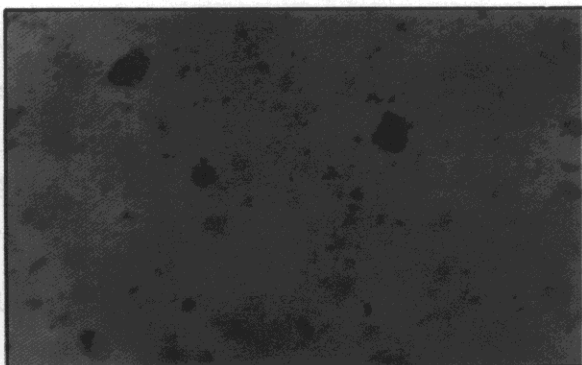
ضریب جذب گروه ایزوسیانات ANCO//A(CH <sub>2</sub> )	زمان (روز)
۱/۱۷	۰
۰/۸۹	۲
۰/۷۲	۳
۰/۲۰۰	۷
۰/۰۸۷	۱۰
۰/۰۳۳	۱۵
۰/۰۲	۱۷
≈۰	۲۰



شکل ۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی- سطح فیلم پلی یورتان



شکل ۳- تصویر میکروسکوپ نوری- پاسخ سلولهای فیبروبلاست به سطح نمونه کنترل منفی



شکل ۴- تصویر میکروسکوپ نوری- پاسخ سلولهای فیبروبلاست به سطح نمونه کنترل مثبت

باقیمانده در آن نیز با رطوبت هوا تکمیل شود و فیلم غیرفعال از نظر شیمیایی بدست آید. بنابراین برای تهیه فیلمی عاری از ایزوسیانات آزاد، با توجه به نتایج بدست آمده، قراردادن لایه نازکی از پیش پلیمر در دمای ۲۴°C و رطوبت ۵۳٪ به مدت ۲۰ روز مناسب تشخیص داده شد.

سرعت واکنش جامدشدن پیش پلیمر به نوع مواد اولیه، رطوبت محیط، حضور یا عدم حضور کاتالیزور و ضخامت لایه پیش پلیمر بستگی دارد. در این بررسی به دلیل عدم حضور کاتالیزور، همچنین انجام واکنش در مجاورت رطوبت، به طوری که در تصویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی (شکل ۲) مشاهده می شود، تخلخلهای سطح فیلم به تعداد اندک و اندازه کوچکند. تصویر میکروسکوپ الکترونی از سطح نمونه پرتودیده نیز تغییر محسوسی را در تعداد و اندازه تخلخلها در اثر پرتودهی نشان نمی دهد.

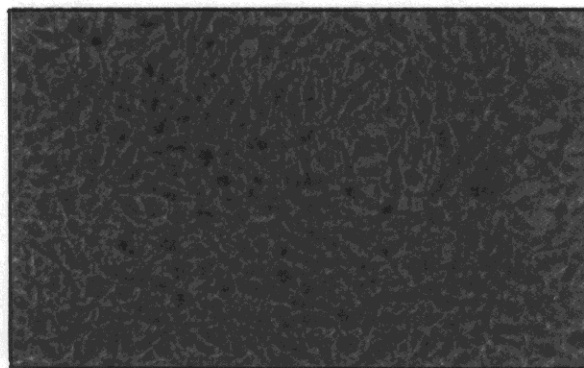
در بررسی مناسب روش استریل شدن یک پلیمر در اثر پرتو گاما، احتمال آزادشدن مواد سمی از آن بر اساس نتیجه آزمون مسمومیت سلولی ارزیابی می شود. قبلاً گزارش شده که پلی یورتان پلیمری زیست- سازگار است [۸]، بنابراین، بایستی این پلیمر پس از استریل شدن در اثر پرتو، به آزمون مسمومیت سلولی پاسخ مناسب دهد تا کاربرد این روش تأیید گردد. شکل های ۳ و ۴ و ۵ تصاویر میکروسکوپ نوری از سلولهای فیبروبلاست را پس از ۵ روز رشد روی سطح نمونه های کنترل و یورتانی پرتودیده نشان می دهند. این سلولها روی کنترل منفی که



فیبروبلاست رشد یافته روی سطح فیلم یورتان استریل شده با پرتو گاما را نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که رفتار سلولها روی سطح یورتان بسیار شبیه به رفتار آنها روی سطح کنترل منفی است به طوری که سلولها روی این سطح چسبیده و رشد یافته‌اند و کیفیت ریخت‌شناسی طبیعی خود را حفظ کرده‌اند. این پاسخ نشاندهنده "سلول-سازگاری" سطح پلی یورتان پرتو دیده است.

#### ۴- نتیجه گیری

در این بررسی مشخص شد که تابش پرتو گاما با دز ۲۵ کیلوگری بر فیلم پلی یورتان، تأثیری بر ساختار فیزیکی سطح فیلم نداشته و باعث مسمومیت سلولی آن نمی‌شود. بر اساس نتایج حاصل، از جنبه مسمومیت سلولی، استریل کردن به وسیله پرتو دهی گاما با این دز روشی مطمئن و مناسب برای اینگونه فیلمها است.



شکل ۵- تصویر میکروسکوپ نوری- پاسخ سلولهای فیبروبلاست به سطح نمونه پلی یورتان پرتو دیده

نمونه‌ای کاملاً سازگار و غیرسمی است به خوبی چسبیده و رشد و تکثیر یافته‌اند، به طوری که لایه‌های سلولی به هم پیوسته ایجاد کرده‌اند (شکل ۳). در حالیکه روی سطح کنترل مثبت فقط تعداد اندکی سلول پوسه شده وجود دارد (شکل ۴) که نشانه مسمومیت سلولی سطح لاتکس است. شکل ۵ سلولهای

#### References:

1. R. M. Streicher, "Sterilization and long-term aging of medical grade UHMWPE," *Radiat. Phys. Chem.*, **46**, 4-6, 893 (1995).
2. *Plastics design library*, "The effect of sterilization methods on plastics and elastomers," New York, p. IV (1994).
3. S. Corneillie, P. Lan, E. Schacht, M. Davies, "Polyethylene glycol-containing polyurethanes for biomedical applications," *Polymer International*, **46**, 251-259 (1998).
4. E. L. McCaffery, "Laboratory preparation for macromolecular chemistry," McGraw Hill Inc., New York (1970).
5. D. J. David And H. B. Staley, "Analytical chemistry of the polyurethanes," Wiley interscience, New York, V. XVI, part III (1969).
6. N. Szycher, "Szycher's handbook of polyurethanes," CRC Press, New York (1999).
7. N. Hasirci and A. Burke, "A novel polyurethane film for biomedical use," *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, **2**, 131 (1987).
8. D. R. Owen and R. M. Zone, in "Encyclopedia of materials science and engineering," edited by M. Bever, Pergamon Press, Oxford, **5**, 3799 (1986).