

بررسی خواص داربست پلی کاپرولاکتون/ژلاتین/کیتوسان تولید شده به روش الکتروریسی دو طرفه

مینا پرنیان، سید مجتبی زبرجد^۱
دانشکده مهندسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

چکیده:

در مطالعه‌ی حاضر، طرح جدیدی برای ساخت داربست‌های پلی-کاپرولاکتون(PCL)/ژلاتین(GEL)/کیتوسان(CS) به منظور افزایش عملکرد در مهندسی بافت عروق پیشنهاد شده است. از پلیمر مصنوعی PCL جهت بالا بردن خواص مکانیکی داربست و همچنین از دو پلیمر طبیعی GEL و CS به عنوان عوامل موثر در تحریک و تکثیر سلول‌ها استفاده شده است. کامپوزیت‌های سه‌تایی پلی کاپرولاکتون-ژلاتین-کیتوسان با نسبت‌های مختلف وزنی پلی کاپرولاکتون (۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰) به روش الکتروریسی دو طرفه ساخته شدند. نمونه‌ها در معرض بخار گلوکار آلدهید با غلظت ۲۵ درصد وزنی اتصال عرضی داده شدند. ارزیابی میکروسکوپی نشانگر تشکیل مناسب کامپوزیت مذکور می‌باشد. آنالیز FTIR پیوند بین اجزاء در نمونه‌های کامپوزیتی را تایید کرد. همچنین نتایج حاصل از آزمون زاویه تماس آب نشان از آبدوست شدن داربست زمینه PCL با افزودن ژلاتین و کیتوسان می‌باشد. به‌طوریکه زاویه تماس PCL خالص از ۹۸ درجه به حدود ۲۲ درجه با حضور ژلاتین و کیتوسان می‌رسد. ارزیابی تخریب-پذیری در محلول فسفات بافر سالین نشان داد که کاهش وزن داربست‌های ساخته شده با گذشت زمان از ۱ تا ۲۸ روز برای همه‌ی داربست‌ها اتفاق می‌افتد. با توجه به اینکه ماهیت پلی کاپرولاکتون آب‌گریز و ماهیت ژلاتین-کیتوسان آبدوست می‌باشد، بیشترین میزان تخریب در الیاف ژلاتین-کیتوسان با بیش از ۵۰ درصد تخریب پس از ۲۸ روز و کمترین میزان تخریب مربوط به نمونه حاوی ۷۰ درصد وزنی PCL با کمتر از ۲۳ درصد تخریب پس از ۲۸ روز می‌باشد.

واژگان کلیدی: پلی کاپرولاکتون، ژلاتین، کیتوسان، داربست، الکتروریسی

^۱ نویسنده مسئول : Mojtabazabarjad@shirazu.ac.ir

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر، استفاده از پلیمرهای زیستی در مهندسی بافت مورد توجه قرار گرفته است. از جمله مزایای پلیمرهای زیستی می‌توان به زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری آنها اشاره کرد [1]. پلی‌کاپرولاکتون، پلیمر مصنوعی زیست‌تخریب‌پذیر، غیر سمی، ارزان و مقاوم در برابر آب است. این پلیمر به دلیل داشتن خواص مکانیکی عالی و همچنین سهولت در تولید توجه بسیاری را در زمینه زیست پزشکی به خود جلب کرده است. اما به دلیل ماهیت آب‌گریز بودن، فاقد چسبندگی سلولی مناسب است [2]. ژلاتین نیز پلیمر طبیعی است که از کلاژن مشتق شده است. این پلیمر بسیار زیست‌سازگار، نسبتاً ارزان، تجزیه‌پذیر و غیر سمی است. صنایع غذایی و دارویی، اصلی‌ترین مصرف‌کنندگان ژلاتین هستند. بیشترین کاربرد ژلاتین در زمینه زیست پزشکی تولید کپسول‌های سخت و نرم، پانسمان زخم و همچنین بازسازی سه بعدی بافت است. این پلیمر مانند اغلب پلیمرهای طبیعی خواص مکانیکی ضعیفی دارد [3]. کیتوسان، پلیمر کاتیونی طبیعی، زیست‌تخریب‌پذیر، زیست‌سازگار و غیر سمی می‌باشد و به علت خصوصیات ذاتی مفید، توجه بسیاری را در کاربردهای مختلف زیست دارویی به خود جلب کرده است. اگرچه خواص مکانیکی آن نیز ضعیف است [2].

به منظور استفاده‌ی هم‌زمان از مزایای هر دو گروه از پلیمرهای طبیعی و مصنوعی، تولید کامپوزیت‌های متشکل از این دو، کارآمد خواهد بود. علاوه بر ترکیب کامپوزیت، ساختار و مورفولوژی آن نیز در خواص و عملکرد نهایی آن بسیار اهمیت دارد [3-1]. از مهمترین مورفولوژی‌های مطلوب در مهندسی بافت، به ویژه در ساخت داربست‌ها می‌توان به الیاف اشاره کرد. فرایند الکتروروسی از شناخته‌ترین روش‌ها برای ساخت الیاف با قطر نانو و میکرومتری است که نسبت سطح به حجم بالایی دارند. پارامترهای مهمی مانند غلظت، نرخ تغذیه، ولتاژ و ... بر مورفولوژی محصول ناشی از فرایند الکتروروسی نقش دارند. بر اساس مطالعات صورت گرفته برخی از محققین تحقیقاتی را در رابطه با مورفولوژی و پارامترهای الکتروروسی پلی‌کاپرولاکتون، ژلاتین و کیتوسان انجام داده‌اند. به طور مثال همایونی و همکاران [4] الکتروروسی کیتوسان خالص را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان می‌دهد که کیتوسان به دلیل داشتن ویسکوزیته‌ی بالا به سختی الکتروروسی می‌شود. با استفاده از روش قلیایی می‌توان هیدرولیز زنجیره‌های کیتوسان را کاهش داده و در نتیجه ساختاری نانوالیافی با کیفیت و ثبات مناسب تولید کرد. [4]. جعفری و همکاران [5] محلول‌های کیتوسان/ژلاتین را با درصدهای وزنی مختلف تولید و نشان دادند که یکنواختی الیاف تولیدی و تشکیل مهره وابسته به ولتاژ با و نرخ جریان می‌باشد. گوتام و همکاران [6] داربست نانوکامپوزیتی سه فازی از PCL/ژلاتین/کیتوسان را به روش الکتروروسی تولید کردند. آنها از کلروفورم/متانول به عنوان حلال مناسب برای PCL و از اسید استیک برای

کیتوسان و ژلاتین استفاده کردند. آنها سه پلیمر را در نسبت‌های حجمی مختلف ترکیب کردند و نسبت ۱۰:۱۰:۸۰ را با ولتاژ بالای ۲۲ کیلوولت و نرخ جریان $1 \frac{ml}{h}$ ، و فاصله‌ی ۱۰ سانتی‌متر به عنوان شرایط مطلوب گزارش شد.

ژانگو همکاران [7] الیاف ژلاتین و ترکیب ژلاتین- پلی‌کاپرولاکتون را تولید کرده و از تری-فلوئورواتان (TFE) به عنوان حلال استفاده کردند. نتایج ارزیابی آنها نشان داد که داربست‌های ترکیب ژلاتین- پلی‌کاپرولاکتون خواص مطلوبتری نسبت به ژلاتین و پلی‌کاپرولاکتون خالص دارند. تصاویر میکروسکوپی الکترونی نیز نشان داد که سلول‌ها علاوه بر اینکه چسبندگی خوبی را بر سطح داربست‌ها داشتند قادر به مهاجرت در داخل داربست نیز هستند. یانگ و همکاران [8]، با استفاده از الکتروریسی، داربست‌های عروقی Cs/PCL را تولید و نشان دادند که داربست‌ها دارای تخلخل سطحی بالا و قابلیت تغییر شکل الاستیک مناسب و رشد و تکثیر سلولی خوبی هستند. دانداتاپانی و همکارانش [9] ترکیب تری‌فلوئورواستیک‌اسید دی‌کلرومتان با نسبت‌های حجمی (۷:۳) را به عنوان حلال مشترک برای کیتوسان و ژلاتین به کار برده و نمونه‌های الکتروریسی شده را مورد ارزیابی ساختاری قرار دادند. نتایج آزمون کشش هم حاکی از آن بود که کامپوزیت دوتایی، استحکام کششی بیشتری نسبت به هر کدام از مواد خالص دارد. براساس تحقیقات انجام شده به نظر می‌رسد اثر پارامترهای الکتروریسی روی کامپوزیت‌های سه‌گانه کمتر مورد توجه قرار گرفته است. بدین منظور در این پژوهش سعی شده است که با استفاده از پلیمرهای طبیعی و مصنوعی و بهره‌گیری از خواص هر یک و همچنین با استفاده از روش الکتروریسی، داربست‌هایی از جنس نانوالیاف کامپوزیتی ژلاتین-کیتوسان-پلی‌کاپرولاکتون تهیه و مورفولوژی و زیست تخریب پذیری آن‌ها مورد ارزیابی قرار گیرد.

۲- مواد و روش تحقیق

۲-۱ مواد

در جدول ۱ مشخصات مواد اولیه موردنیاز به منظور تولید داربست‌ها به روش الکتروریسی ارائه شده است.

جدول ۱ مشخصات مواد و تجهیزات مورد استفاده در پژوهش

ردیف	نام ماده	ترکیب شیمیایی	شرکت سازنده	کاربرد
۱	پلی کاپرولاکتون	(C6H10O2) _n	Sigma Aldrich	ساخت داربست
۲	کلروفرم	CHCl ₃	merck	ساخت محلول
۳	ژلاتین	-	Merck	ساخت داربست
۴	استیک اسید	CH ₃ COOH	Merck	ساخت محلول
۵	کیتوسان	C ₈ H ₁₃ NO ₅	Sigma Aldrich	ساخت
۶	گلو تار آلدهید	C ₅ H ₈ O ₂	Merck	ایجاد اتصال عرضی
۷	PBS	-	زیست فناوری طیبا	زیست تخریب پذیری

۲-۲ الکتروریسی

جهت تهیه الیاف کامپوزیت سه تایی، غلظت محلول های پلی کاپرولاکتون، ژلاتین و کیتوسان به ترتیب ۱۵، ۲۵ و ۳ درصدوزنی در نظر گرفته شد. فرایند الکتروریسی با استفاده از دستگاه الکتروریسی ساخت شرکت نانوآرما انجام شد. محلول پلی کاپرولاکتون در سرنگ ۵ میلی لیتر و ترکیب محلول های ژلاتین-کیتوسان در سرنگی مجزا درون پمپ های مختلفی از دستگاه تعبیه شدند. نرخ خروج محلول برای محلول ژلاتین/کیتوسان ۰/۲ ml/h و برای پلی کاپرولاکتون با توجه به نسبت های مختلف ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ و ۱/۵ میلی لیتر بر ساعت و سرعت چرخش استوانه rpm ۱۰۰ و ولتاژ ۱۵ kv انتخاب شد. از فویل آلومینیومی جهت جمع آوری داربست ها بر روی جمع کننده استفاده شد. جزئیات نمونه های تولید شده در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲ جزئیات نمونه های سه تایی پلی کاپرولاکتون-ژلاتین-کیتوسان

شماره نمونه	محلول	درصدوزنی	درصد محلول	ولتاژ (kv)	نرخ تغذیه (ml/h)	فاصله (cm)
PGC1	PCL-GEL-CS	۳-۴۰-۱۵	۹۰-(۱۰-۹۰)	۱۵	۰/۲-۱/۵	۱۰
PGC2	PCL-GEL-CS	۳-۴۰-۱۵	۸۰-(۱۰-۹۰)	۱۵	۰/۲-۰/۶	۱۰
PGC3	PCL-GEL-CS	۳-۴۰-۱۵	۷۰-(۱۰-۹۰)	۱۵	۰/۲-۰/۴	۱۰
PGC4	PCL-GEL-CS	۳-۴۰-۱۵	۶۰-(۱۰-۹۰)	۱۵	۰/۲-۰/۲	۱۰

۲-۳ ایجاد اتصال عرضی

ماهیت آبدوستی و حلالیت بالای دو پلیمر ژلاتین و کیتوسان در محیط اسیدی رقیق و محیط های آبی، ویژگی نامطلوب برای داربست ها می باشد. بنابراین افزایش پایداری داربست ها با ایجاد اتصال عرضی یک امر ضروری می باشد. در این تحقیق و به منظور ایجاد اتصال عرضی بخار

گلو تار آلدهید به عنوان یک عامل ایجاد اتصال عرضی انتخاب شد. بدین منظور ۵ml محلول آبی گلو تار آلدهید ۲۵٪ در یک پتری دیش ریخته و در قسمت پایین دسیکاتور قرار داده شد. سپس نمونه ها درون دسیکاتور قرار گرفته و به مدت ۲ ساعت در دمای محیط درون دسیکاتور در معرض بخار گلو تار آلدهید قرار گرفتند.

۴-۲ آنالیز طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)

مشخصه یابی فرورسرخ روشی برای شناسایی و ارزیابی ترکیبات آلی و معدنی و گروه عاملی آن‌هاست. جهت مطالعه‌ی پیوند بین اجزای کامپوزیت‌ها و همچنین اطمینان از ایجاد اتصال عرضی در نمونه‌ها، قبل و بعد از اضافه کردن کیتوسان به ژلاتین و همچنین بعد از در معرض قرار دادن با بخار گلو تار آلدهید آزمون FTIR به وسیله‌ی دستگاه Thermo Scientific ساخت کشور آمریکا انجام و عدد موج پرتوی تابیده شده در محدوده‌ی $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ در نظر گرفته شد.

۵-۲ ارزیابی میکروسکوپی

ساختار و مورفولوژی داربست‌های تولید شده به وسیله‌ی میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل Cambridge-s320 ساخت انگلستان با ولتاژ شتاب‌دهنده‌ی ۲۰ kV و فاصله‌ی کاری ۹-۱۲ mm مورد ارزیابی قرار گرفت. به دلیل نارسا بودن سطح نمونه‌ها، نمونه‌ها قبل از تصویربرداری با لایه‌ی نازک طلا به وسیله‌ی دستگاه Palaron SC7640 پوشش داده شدند. سپس با استفاده از نرم‌افزار ImageJ و با انتخاب ۳۰ لیف در تصاویر و اندازه‌گیری قطر آنها، تصاویر SEM آنالیز و بررسی شدند و قطر میانگین نمونه‌ها بدست آمد.

۶-۲ آزمون آبدوستی

برای تعیین میزان آبدوستی داربست‌ها، آزمون زاویه تماس آب انجام شد. حجم قطره در این آزمون $8 \mu\text{l}$ و دستگاه اندازه‌گیری زاویه تماس Jikan CAG-10 بود. دمای انجام آزمون ۲۵ درجه سانتیگراد و زوایا به وسیله‌ی نرم‌افزار ImageJ به دست آمدند.

۷-۲ بررسی زیست تخریب‌پذیری

ارزیابی زیست تخریب‌پذیری نمونه‌ها با استفاده از غوطه‌وری آنها در محلول فسفات‌بافر سالین (PBS) انجام شد. پس از تهیه‌ی PBS، مقدار سه میلی‌لیتر از محلول را درون فالكون‌های جداگانه ریخته و نمونه‌های مورد نظر در ابتدا وزن و درون هر فالكون قرار داده شدند. سپس تمامی فالكون‌ها در انکوباتور و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱، ۳، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸ روز قرار

داده شدند. پس از آن نمونه‌ها از فالكون خارج و پس از چندین بار شست و شو در دمای اتاق، خشک و سپس مجدداً وزن شدند. با استفاده از رابطه‌ی (۱) درصد زیست تخریب‌پذیری نمونه‌ها حساب شدند.

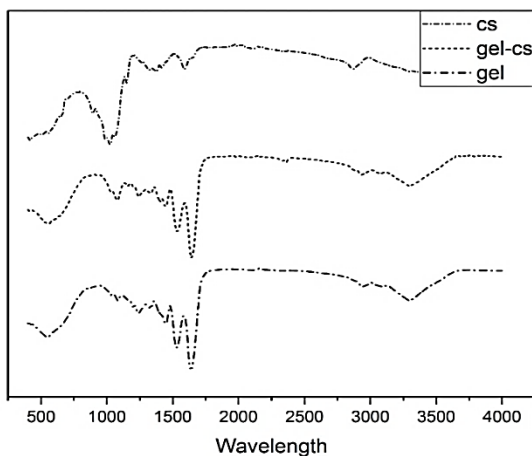
$$\text{Weight loss} = \frac{w_o - w_d}{w_o} \times 100 \quad (1)$$

که در این معادله W_o وزن اولیه نمونه‌ها و W_d وزن نهایی نمونه‌ها پس از خشک شدن می‌باشند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱ آنالیز طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)

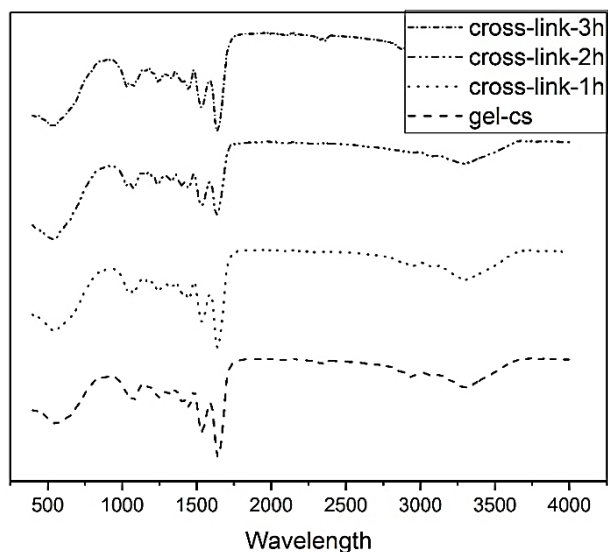
شکل (۱) نتایج آنالیز FTIR نمونه‌های ژلاتین، کیتوسان و کامپوزیت اتصال عرضی نشده ژلاتین/کایتوسان را نمایش می‌دهد. با توجه به شکل ۴-۱۳، پیک ظاهر شده در محدوده‌ی cm^{-1} ۳۲۹۰ در نمونه‌ی ژلاتین-کیتوسان مربوط به حرکات کششی گروه هیدروکسیل (-OH)، پیک ضعیف در محدوده‌ی cm^{-1} ۲۹۰۰ مربوط به حرکات کششی (-CH₂) بوده و همچنین در محدوده‌ی cm^{-1} ۱۴۰۰ نمایانگر حرکات خمشی (-CH₂-) می‌باشد پیک موجود در محدوده‌ی cm^{-1} ۲۲۵۰ مربوط به یک اتصال پپتایدی (-N-C=O) مربوط به پروتئین‌ها دیده می‌شود. پیک موجود در محدوده‌ی cm^{-1} ۱۵۰۰ مربوط به حرکت کششی کربونیل می‌باشد. تغییر در پیوندهای کربنیل و آمید در طیف‌های ژلاتین و کیتوسان نشان می‌دهد که این دو یک پیوند هیدروژنی را در محدوده‌ی cm^{-1} ۱۵۳۸ (پیک موجود در این محدوده شیفت پیدا کرده و کوچکتر شده) ایجاد می‌کنند. گروه‌های (-OH) و گروه‌های خمشی (-NH₂) و گروه‌های کششی (-C=O) در ژلاتین قادر به ایجاد پیوندهای هیدروژنی با گروه‌های کششی (-OH) و خمشی (-NH₂) در کیتوسان هستند [5, 9, 10, 11].



شکل (۱): نتایج حاصل از آنالیز FTIR داربست‌های ژلاتین-کیتوسان قبل از اتصال عرضی.

برای افزایش استحکام ساختاری ژلاتین و کیتوسان در محیط‌های آبی یا محیط‌های رطوبت بالا ایجاد اتصال عرضی یک امر الزامی می‌باشد. داربست‌ها معمولاً با بخار گلوکارآلدئید اشباع می‌شوند. در نتیجه‌ی واکنش اتصال عرضی، نمونه‌ها تغییر رنگ داده و به رنگ زرد تغییر رنگ می‌دهند.

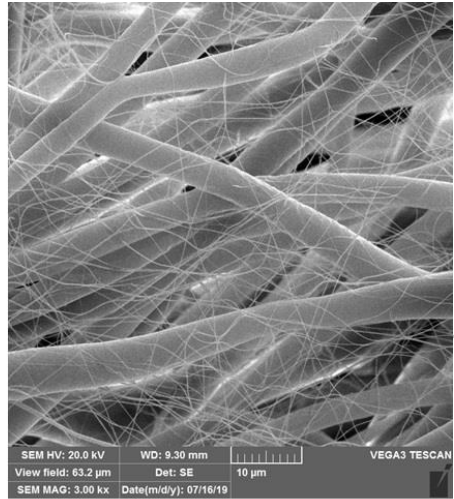
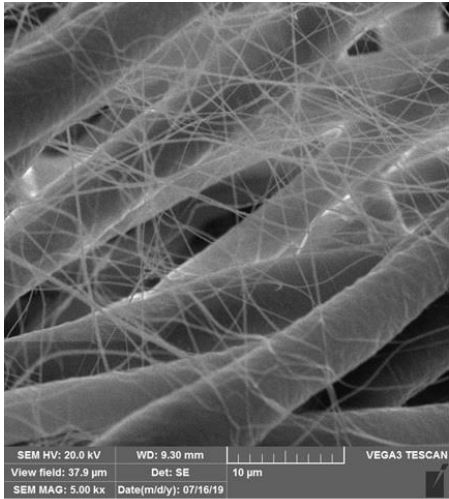
شکل (۲) اثر زمان اتصال عرضی روی عدد موج و شدت پیک‌های طیف GEL-CS را نمایش می‌دهد. در حقیقت اتصال عرضی کیتوسان و مواد کلاژنی مانند ژلاتین با گلوکارآلدئید، سبب واکنش بین گروه‌های آمینوی آزاد این پلیمرها می‌شود. محدوده‌ی 1000 cm^{-1} تا 1200 cm^{-1} چهار پیک جذبی وجود دارد. یک پیک جدید، بعد از ایجاد اتصال عرضی در 1030 cm^{-1} اضافه شده که نشان‌دهنده‌ی واکنش استالیزاسیون بین گروه هیدروکسیل (-OH) در کیتوسان و کربنیل (CO) در گلوکارآلدئید و ایجاد ساختار (C-O-C-O-C) می‌باشد [11].



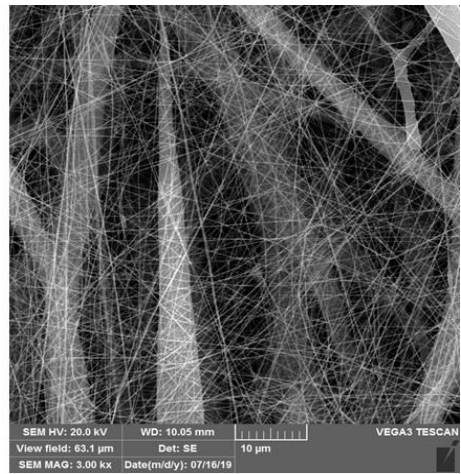
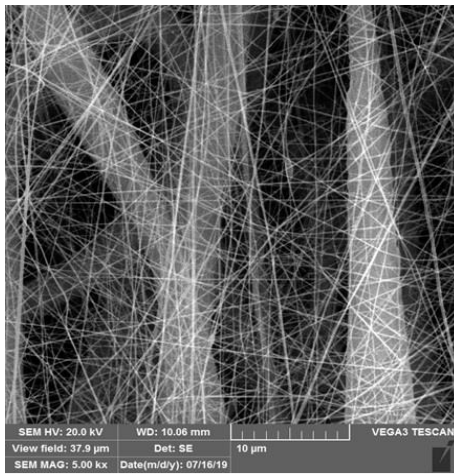
شکل (۲): اثر زمان اتصال عرضی بر روی عدد موج و شدت پیک‌های طیف GEL-CS.

۲-۳ ارزیابی میکروسکوپی

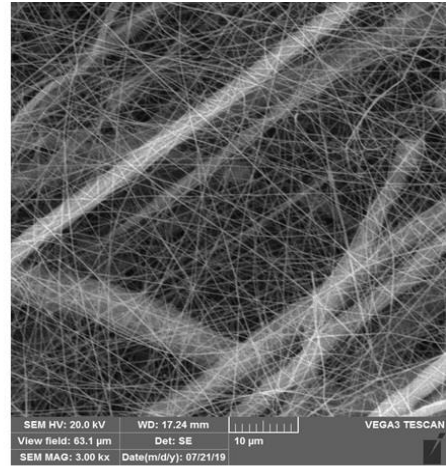
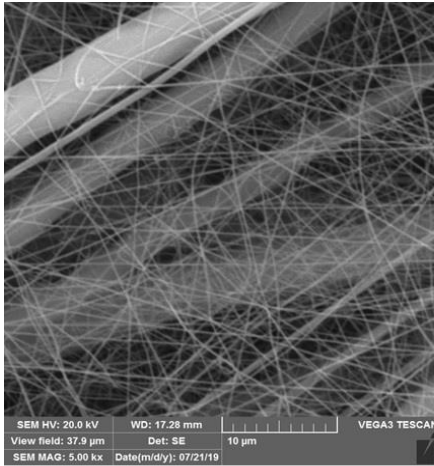
در این تحقیق کامپوزیت سه‌تایی پلی‌کاپرولاکتون-ژلاتین-کیتوسان در نسبت‌های پلی-کاپرولاکتون به ژلاتین-کیتوسان ۹۰-۱۰، ۸۰-۲۰، ۷۰-۳۰ و ۶۰-۴۰ ساخته شد. نتایج حاصل از تصاویر میکروسکوپی روبشی SEM در شکل (۳-الف) تا (۳-پ) آورده شده است. لازم بذکر است، الیاف با قطر بیشتر مربوط به پلی‌کاپرولاکتون و الیاف با قطر کمتر نیز مربوط به ژلاتین-کیتوسان می‌باشد.



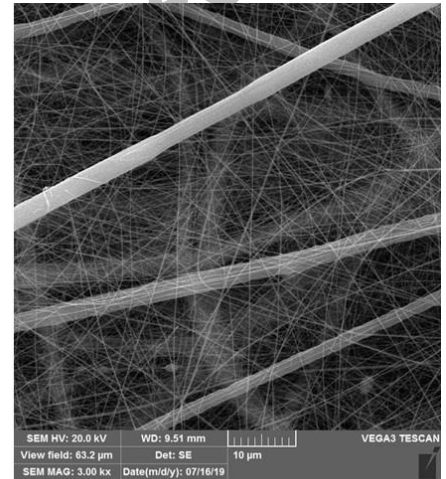
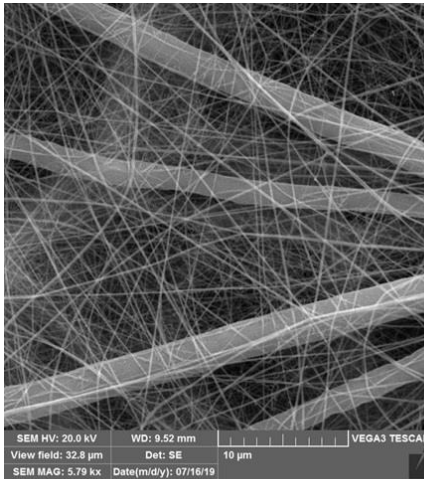
(الف)



(ب)



(پ)



(ت)

شکل (۳) تصویر SEM الکترونیسی شده از نمونه‌های پلی کاپرولاکتون-ژلاتین-کیتوسان در بزرگنمایی‌های مختلف

الف) PGC1 ب) PGC2 پ) PGC3 ت) PGC4

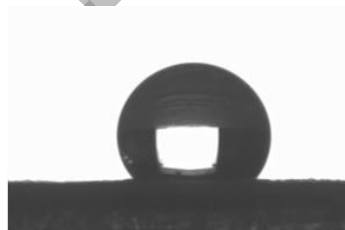
۳-۳ ارزیابی زاویه تماس آب

یکی از مشکلاتی که کاربرد پلی کاپرولاکتون را در مهندسی بافت و خصوصا داربست‌ها محدود کرده است، آب‌گریز بودن این پلیمر می‌باشد. یک پلیمر برای کاربرد در محیط بیولوژیکی بدن بایستی قابلیت جذب آب و تر شدن را داشته باشد، که تمایل به خیس شدن باعث چسبندگی و تکثیر بهتر سلول‌ها بر سطح الیاف پلیمری خواهد شد. تلاش‌های بسیاری برای رفع این مشکل

شده است و محققان روش‌های مختلفی در این زمینه بکار گرفته‌اند. انتظار می‌رود که افزودن پلیمرهای آبدوست ژلاتین و کیتوسان به پلی‌کاپرولاکتون باعث بهبود خواص آبدوستی کامپوزیت حاصل از آن شود. با توجه به نتایج حاصل از آزمون زاویه تماس دیده می‌شود که با افزایش بیشتر ژلاتین-کیتوسان به الیاف پلی‌کاپرولاکتون سبب کوچکتر شدن زاویه‌ی تماس آب با سطح داربست شده است. شکل‌های (۴) و (۵) نتایج آزمون آبدوستی نمونه‌های الیاف پلی‌کاپرولاکتون، الیاف ژلاتین-کیتوسان، PGC1، PGC2، PGC3، PGC4 را ارایه می‌دهند. مطابق شکل با افزایش درصد ژلاتین-کیتوسان به پلی‌کاپرولاکتون، میزان آبدوستی نمونه‌ها افزایش یافته است. درحقیقت این نتایج بیانگر وابستگی آبدوستی PCL به حضور ژلاتین و کیتوسان می‌باشد. به-طوریکه زاویه تماس داربست ساخته شده از جنس PCL حدود ۹۸ درجه درحالی‌که افزودن ژلاتین و کیتوسان باعث کاهش چشمگیر آن به حدود ۲۲ درجه می‌گردد. به بیان دیگر بالا بودن زاویه تماس پلی‌کاپرولاکتون به دلیل حضور گروه‌های CH_2 در زنجیره‌ی اصلی آن می‌باشد. زاویه تماس آب در نمونه‌های کامپوزیتی با افزایش میزان الیاف ژلاتین-کیتوسان، کاهش یافته که نشان از آبدوست شدن نمونه‌های کامپوزیتی دارد. ژلاتین و کیتوسان دارای بسیاری از گروه‌های آبدوست آمین و کریوکسیل می‌باشند [12].



(ب)



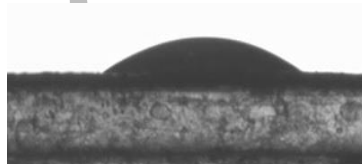
(الف)



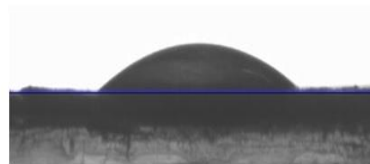
(ت)



(پ)

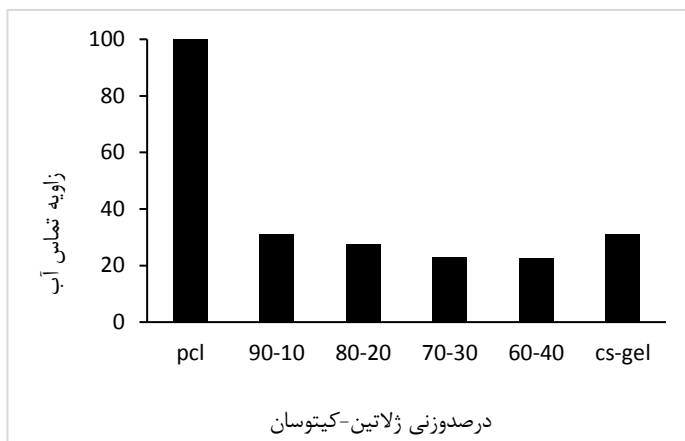


(ج)



(ث)

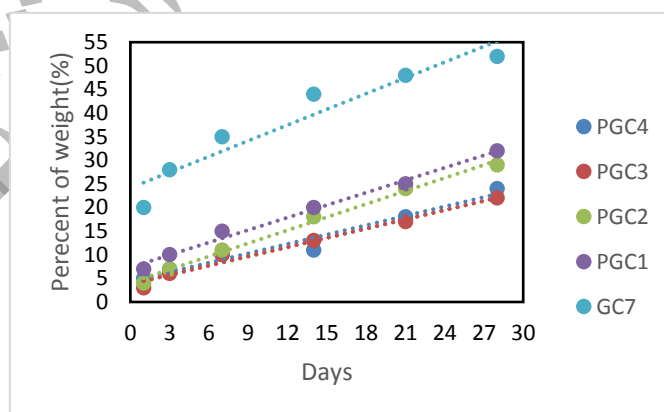
شکل (۴): نتیجه آزمون زاویه تماس الف) الیاف پلی‌کاپرولاکتون و ب) الیاف ژلاتین-کیتوسان (پ) PGC1، ت) PGC2، ث) PGC3 و ج) PGC4.



شکل (۵) تغییرات زاویه تماس آب در نمونه‌های کامپوزیتی بر حسب درصدوزنی ژلاتین-کیتوسان.

۳-۴ ارزیابی زیست تخریب پذیری

به منظور بررسی اثر الیاف ژلاتین-کیتوسان بر تخریب پذیری داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون-ژلاتین-کیتوسان، ارزیابی تخریب پذیری در محلول فسفات بافر سالین انجام شد. کاهش وزن داربست‌های ساخته شده با گذشت زمان در شکل (۶) نشان داده شده است. همگی داربست‌ها دچار کاهش وزن شده‌اند، که با توجه به اینکه ماهیت پلی‌کاپرولاکتون آب‌گریز و ماهیت ژلاتین-کیتوسان آب‌دوست می‌باشد، بیشترین میزان تخریب در الیاف ژلاتین-کیتوسان می‌باشد، چراکه جذب آب در این الیاف بیشتر می‌باشد.

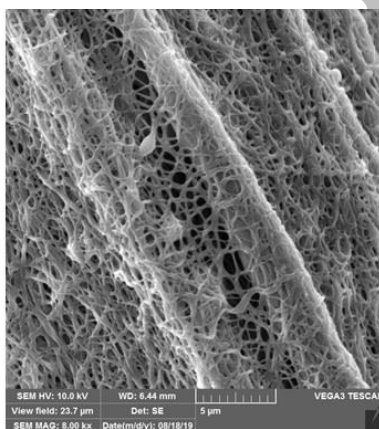


شکل (۶): ارزیابی کاهش وزن نمونه‌ها در اثر غوطه‌وری در محلول فسفات بافر سالین

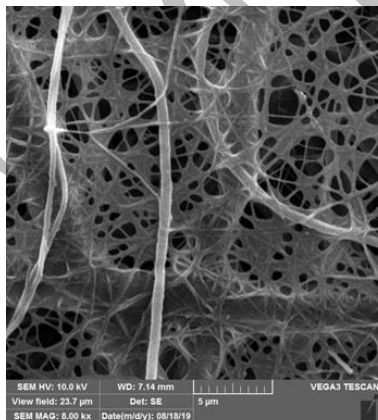
شکل (۷) تصاویر میکروسکوپ الکترونی از سطح داربست PGC4 بعد از غوطه‌وری در محلول فسفات بافر سالین به مدت ۱، ۳، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز را ارائه می‌دهد. مشاهده می‌شود که تعداد ریزحفره‌های موجود در بین الیاف افزایش یافته و همچنین ناهمواری سطح دچار افزایش شده است. جذب آب توسط الیاف ژلاتین-کیتوسان باعث تخریب زمینه‌ی پلیمری و به وجود آمدن حفره‌های بزرگتر گردیده است. همانطور که در تصاویر نیز مشخص است با گذشت زمان نیز تخریب بیشتر و همچنین زبری سطح نیز بیشتر شده است که این زبری سطح باعث چسبندگی بیشتر سلول‌ها در سطح داربست‌ها می‌شود.



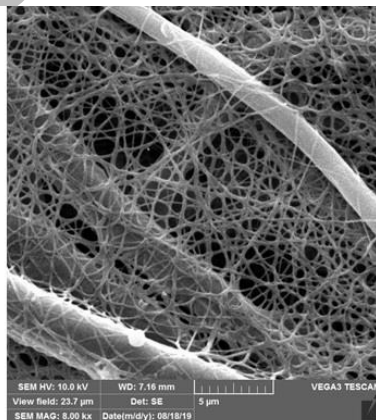
(ب)



(الف)



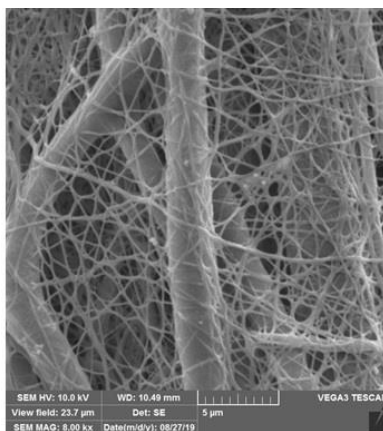
(ت)



(پ)



(ج)



(ث)

شکل (۷) تصاویر SEM مربوط به ارزیابی زیست تخریب پذیری برای نمونه PG4C، (الف ۱ روز، ب) ۳ روز، (پ) ۷ روز، (ت) ۱۴ روز، (ث) ۲۱ روز، (ج) ۲۸ روز.

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش سعی در ساخت و ارزیابی خواص داربست‌های کامپوزیت سه تایی، از سه پلیمر پلی کاپرولاکتون-ژلاتین-کیتوسان با روش الکترورسی شده است. نتیجه گیری حاصل از ارزیابی‌ها و آزمون‌های انجام شده در پژوهش حاضر در ادامه آمده است.

- در ارزیابی FTIR حضور کیتوسان و ژلاتین در نمونه‌های ژلاتین-کیتوسان اثبات و همچنین بعد از ایجاد اتصال عرضی در عدد موج 1030 cm^{-1} پیک جدیدی ظاهر گردید که بیانگر واکنش استالیزاسیون بین گروه هیدروکسیل (-OH) در کیتوسان و کربنیل (CO) در گلوکارآلدئید جهت تشکیل ساختار (C-O-C-O-C) می‌باشد.

- نتایج حاصل از آزمون زاویه تماس آب بیانگر وابستگی آبدوستی PCL به حضور ژلاتین و کیتوسان می‌باشد. به طوریکه زاویه تماس داربست ساخته شده از جنس PCL حدود ۹۸ درجه در حالیکه افزودن ژلاتین و کیتوسان باعث کاهش چشمگیر آن به حدود ۲۲ درجه می‌گردد.

- ارزیابی تخریب پذیری در محلول فسفات بافر سالین نشان داد که کاهش وزن داربست‌های ساخته شده با گذشت زمان از ۱ تا ۲۸ روز برای همه‌ی داربست‌ها اتفاق می‌افتد. با توجه به اینکه ماهیت پلی کاپرولاکتون آب‌گریز و ماهیت ژلاتین-کیتوسان آب‌دوست می‌باشد.

- بیشترین میزان تخریب در الیاف ژلاتین-کیتوسان با بیش از ۵۰ درصد تخریب پس از ۲۸ روز و کمترین میزان تخریب مربوط به نمونه حاوی ۷۰ درصد وزنی PCL با کمتر از ۲۳ درصد تخریب پس از ۲۸ روز می‌باشد.

- [1] R. Cheng, F. Chen, K. Chen, J. Xua, "Advances in the application of hydrogel-based scaffolds for tendon repair" *Genes & Diseases*, July (2023). <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2023.04.039>.
- [2] M. S. Baburaj, M. G. Veeran, D. Painuly, S. Sreelekshmi, R. J. Rajkumar, A. S. Aprem, " Fabrication and characterisation of polycaprolactone/gelatin/chitosan (PCL/GEL/CHI) electrospun nano-membranes for wastewater purification" *Desalination*, vol. 563, (2023). <https://doi.org/10.1016/j.desal.2023.116709>.
- [3] S. Gautam, S. D. Purohit, N. Chandra Mishra, "Surface modification of PCL-gelatin-chitosan electrospun scaffold by nano-hydroxyapatite for bone tissue engineering" *Materials Today Communications*, vol. 34, pp 105237, (2023). <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2022.105237>
- [4] H. Homayoni, S. A. H. Ravandi, and M. Valizadeh, "Electrospinning of chitosan nanofibers: Processing optimization," *Carbohydrate Polymers.*, vol. 73, no. 3, pp. 656-661, (2009). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.02.008>.
- [5] J. Jafari, S. H. Emami, A. Samadikuchaksaraei, M. A. Bahar, and F. Gorjipour, "Electrospun chitosan-gelatin nanofiberous scaffold: Fabrication and in vitro evaluation," *Bio-Medical Materials and Engineering*, vol. 21, no. 2, pp. 99-112, (2011). <https://doi.org/10.3233/BME-2011-0660>.
- [6] S. Gautam, C. F. Chou, A. K. Dinda, P. D. Potdar, and N. C. Mishra, "Fabrication and characterization of PCL/gelatin/chitosan ternary nanofibrous composite scaffold for tissue engineering applications," *Journal of Materials Science*, vol. 49, no. 3, pp. 1079-1089, (2014). <https://doi.org/10.1007/s10853-013-7785-8>.
- [7] Y. Zhang, H. Ouyang, T. L. Chwee, S. Ramakrishna, and Z. M. Huang, "Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds" *Journal of Biomedical Materials Research Part B*, vol. 72, no. 1, pp. 156-165, (2005). <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30128>.
- [8] W. Yang, J. Fu, D. Wang, T. Wang, H. Wang, S. Jin, N. He, "Study on chitosan/polycaprolactone blending vascular scaffolds by electrospinning," *Journal of Biomedical Nanotechnology*, vol. 6, no. 3, pp. 254-259, (2010). <https://doi.org/10.1166/jbn.2010.1123>.
- [9] B. Dhandayuthapani, U. M. Krishnan, and S. Sethuraman, "Fabrication and characterization of chitosan-gelatin blend nanofibers for skin tissue engineering," *Journal of Biomedical Materials Research Part B*, vol. 94, no. 1, pp. 264-272, (2010). <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31651>.
- [10] S. Haider, W. A. Al-Masry, N. Bukhari, and M. Javid, "Preparation of the chitosan containing nanofibers by electrospinning chitosan-gelatin complexes," *Polymer Engineering and Science*, vol. 50, no. 9, pp. 1887-1893, (2010). <https://doi.org/10.1002/pen.21721>.
- [11] Y. F. Qian, K. H. Zhang, F. Chen, Q. F. Ke, and X. M. Mo, "Cross-linking of gelatin and chitosan complex nanofibers for tissue-engineering scaffolds," *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition.*, vol. 22, no. 8, pp. 1099-1113, (2011). <https://doi.org/10.1163/092050610X499447>.
- [12] Y. Qian, Z. Zhang, L. Zheng, R. Song, and Y. Zhao, "Fabrication and characterization of electrospun polycaprolactone blended with chitosan-gelatin complex nanofibrous mats," *Journal of Nanomaterials*, vol. 2014, (2014). <https://doi.org/10.1155/2014/964621>.

Characterization of Polycaprolacton/ Gelatin/ Chitosan Scaffold fabricated by Dual Electrospinning Method

M. Parnian¹, S. M. Zebarjad^{1,*}

Abstract

In the present study, a design for the construction of poly-caprolactone (PCL)/gelatin (GEL)/chitosan (CS) scaffolds has been proposed in order to increase performance in tissue engineering. The artificial polymer PCL is used to increase the mechanical properties of the scaffold, and two natural polymers GEL and CS are used as factors in the proliferation of cells. Polycaprolactone-gelatin-chitosan ternary composites with different weight ratios of polycaprolactone (70, 80, 90 and 60) were made by double-sided electrospinning method. The samples were cross-linked in glutaraldehyde vapor with 25% by weight. Microscopic evaluation indicates the proper formation of the composite. FTIR analysis confirmed the bonding between the components in the composite samples. Also, the results of the water contact angle test showed promotion the hydrophilicity of the PCL scaffold by adding gelatin and chitosan. So that the contact angle of pure PCL reaches from 98 degrees to about 22 degrees with the presence of gelatin and chitosan. The evaluation of degradability in phosphate buffered saline solution showed that the weight loss of the fabricated scaffolds occurs with the passage of time from 1 to 28 days for all scaffolds. Because of the nature of poly-caprolactone and gelatin-chitosan, the highest degradation rate after 28 days in gelatin-chitosan fibers is more than 50% and the lowest degradation rate related to the sample containing 70 wt% PCL is less than 23%.

Keywords: Polycaprolacton, Gelatin, Chitosan, Electrospinnin, Scaffold

¹ Dept. of Engineering Materials, Engineering Faculty, Shiraz University, Shira, Iran

*Corresponding Author: Seyed Mojtaba Zebarjad (Email: Mojtabazebarjad@shirazu.ac.ir)