



Journal of Applied Research of Chemical-Polymer Engineering

journal homepage: www.arcpe.modares.ac.ir

Research Paper

Designing a Teriflunomide slow-release system based on a biodegradable composite scaffold poly (glycerin sebacic acid)-co-poly(ϵ -caprolactone-diol)

Hajar Ahmadi¹, Gita Bagheri^{2,*}

¹ Department of Pharmaceutical Chemistry, Shahr.C., Islamic Azad University, Shahrriar, Iran.

² Department of Chemical Engineering, Shahr.C., Islamic Azad University, Shahrriar, Iran.

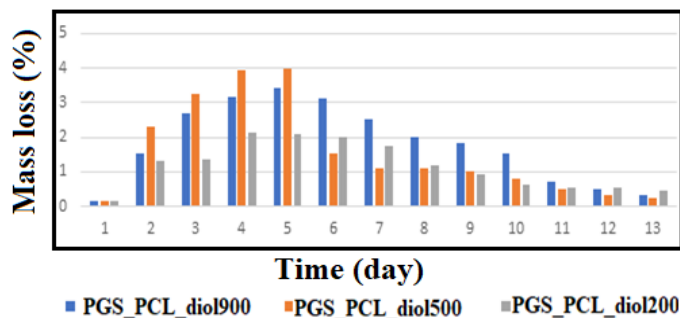
ARTICLE INFO

Received 2024-11-23
Accepted 2024-12-12
Available online 2025-04-20
ISSN: 2588-5316
Online ISSN: 2588-5324

Keywords:

Scaffold
Drug release
Polyglycerin sebacic acid
Polycaprolactone diol
Teriflunomide

GRAPHICAL ABSTRACT



ABSTRACT

Research Subject: The purpose of this research is to prepare three types of biodegradable scaffolds composed of polyglycerin, sebacic acid, and polycaprolactone diol, synthesized with varying molecular weights and polymer concentrations.

Research Approach: Polycaprolactone diol (PCL-diol) with different molecular weights was synthesized via ring-opening polymerization. It was then reacted with sebacic acid and glycerol to enhance the hydrophilicity of the resulting polymers. The drug Teriflunomide was loaded into the system, and its release rate was investigated by immersion in a simulated body environment (phosphate buffer, pH = 7.4) using the dialysis bag method.

Main Results: FTIR analysis confirmed the presence of ester, ether, and hydroxyl peaks in the structures of all three scaffolds: PGS-PCL-diol 200, PGS-PCL-diol 500, and PGS-PCL-diol 900. The thermal behavior of the scaffolds was characterized using TGA and DSC methods. Results indicated that the PGS-PCL-diol 900 scaffold experienced 15% more weight loss than the other two. The DMTA test showed that the glass transition temperature of PGS-PCL-diol 900 is higher than that of the other scaffolds, and it also demonstrated the highest network density. Degradability analysis revealed that the PGS-PCL-diol 500 scaffold exhibited the highest degradation rate, with 3.9% greater and faster degradation than the other two samples on the second day. SEM images showed that cells effectively penetrated the scaffolds, forming a well-structured three-dimensional network. The MTT test confirmed good cell attachment and scaffold adhesion. In this study, a composite scaffold with a three-dimensional structure was designed and produced in film form. It was cross-linked without any additives, and each analysis was conducted based on variations in polymer chain length and scaffold molecular weight.

* Corresponding author: bagheri.gita@iau.ac.ir



نشریه پژوهش‌های کاربردی مهندسی شیمی-پلیمر

آدرس صفحه: www.arcpe.modares.ac.ir

مقاله تحقیقاتی

طراحی سامانه آهسته‌رهش تری‌فلونوماید بر پایه داربست کامپوزیتی زیست‌تخریب‌پذیر پلی (گلیسرین سباسیک اسید) - کوپلی (ε-کاپرولاکتون-دیول)

هاجر احمدی^۱، گیتا باقری^{۲*}

^۱ گروه شیمی دارویی، واحد شهریار، دانشگاه آزاد اسلامی، شهریار، ایران.

^۲ گروه مهندسی شیمی، واحد شهریار، دانشگاه آزاد اسلامی، شهریار، ایران.

چکیده

موضوع تحقیق: موضوع این پژوهش تهیه سه نوع داربست زیست‌تخریب‌پذیر از جنس پلی‌گلیسرین سباسیک‌اسید- پلی‌کاپرولاکتون-دی‌آل با جرم‌های مولکولی و غلظت‌های متفاوت پلیمر به‌عنوان سامانه‌های آهسته‌رهش است.

روش تحقیق: وزن‌های مولکولی مختلف PCL-diol طی فرایند پلیمری‌شدن حلقه‌گشا سنتز شدند. سپس با سباسیک‌اسید و گلیسرول واکنش داده شدند تا آب‌دوستی سامانه‌ها افزایش یابد. داروی تری‌فلونوماید در سامانه‌ها بارگذاری شد. سپس میزان رهش دارو با غوطه‌وری در محیط شبیه‌سازی‌شده بدن (بافر فسفات pH = ۷/۴) به روش کیسه دیالیز مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج اصلی: تحلیل FTIR، حضور قله‌های استری، اتری و هیدروکسی در ساختار هر سه داربست PGS-PCL-diol 200، PGS-PCL-diol 500 و PGS-PCL-diol 900 را تأیید کرد. رفتار گرمایی داربست‌ها با روش TGA و DSC مورد شناسایی قرار گرفت و نتایج آن بیانگر این بود که داربست PGS-PCL-diol 900 نسبت به دو داربست دیگر ۱۵ درصد کاهش وزن بیشتری داشته است. آزمون DMTA نشان داد که دمای انتقال شیشه‌ای PGS-PCL-diol 900 از دو داربست دیگر بیشتر بوده و بیشترین چگالی شبکه‌ای‌شدن نیز مربوط به همین داربست است. نتایج تحلیل تخریب‌پذیری نشان داد بالاترین درصد تخریب‌پذیری مربوط به داربست PGS-PCL-diol 500 است که در روز دوم به میزان ۳/۹ درصد سریع‌تر از دو نمونه دیگر و با درصد بالاتری تجزیه شده است. تصاویر SEM بیانگر آن است که سلول‌ها به‌خوبی در میان داربست‌ها نفوذ کرده و شبکه سه‌بعدی مناسبی از سلول‌ها ایجاد شده است. آزمون MTT نشان داد سلول روی داربست چسبیده و داربست دارای چسبندگی مناسبی است. در این تحقیق، داربست کامپوزیتی با ساختار سه‌بعدی به‌صورت فیلم طراحی و تولید شد و بدون کوچک‌ترین افزودنی شبکه‌ای شد و در نهایت هریک از آزمون‌ها بر اساس تغییرات طول زنجیر پلیمری و جرم مولکولی داربست بررسی شد.

کلیدواژه‌ها

داربست

رهش دارو

پلی‌گلیسرین سباسیک‌اسید

پلی‌کاپرولاکتون-دی‌آل

تری‌فلونوماید

اطلاعات مقاله

دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۰۳

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۲۲

دسترس آنلاین: ۱۴۰۴/۰۱/۳۱

ISSN: 2588-5316

Online ISSN: 2588-5324

* نویسنده مسئول: bagheri.gita@iau.ac.ir

۱ مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس (Multiple Sclerosis (MS گونه‌ای بیماری التهابی است که در آن غلاف‌های میلین سلول‌های عصبی در مغز و نخاع آسیب می‌بینند. غلاف میلین لایه پروتئینی روی رشته‌های عصبی است و ابتلا به MS باعث افزایش سرعت هدایت پیام‌های الکتریکی در طول تار عصبی می‌شود. میلین افزون بر افزایش سرعت انتقال پیام‌های عصبی، وظیفه نگه‌داری از سلول‌های عصبی را نیز به عهده دارد. این آسیب‌دیدگی می‌تواند در توانایی بخش‌هایی از سامانه عصبی که مسئول ارتباط هستند، اختلال ایجاد کند و باعث به وجود آمدن علائم و نشانه‌های ناتوانی جسمی شود. داروی تری‌فلونوماید در درمان MS کاربرد دارد و با مهار آنزیم میتوکندریایی دی‌هیدرواوروات دهمیدروناز موجب جلوگیری از سنتز پیریمیدین می‌شود و از این طریق سامانه ایمنی را در MS تعدیل می‌کند. اگر تحویل دارو به‌صورت کنترل‌شده و هدفمند انجام شود، سلول‌های سالم از خطرات داروها محافظت می‌شوند و تنها سلول‌های بیمار در معرض دارورسانی هدفمند قرار می‌گیرند [۱-۳]. به‌منظور رهایش کنترل‌شده و تنظیم سرعت رهاسازی و حفظ غلظت دارو در سطحی معین، از سامانه‌های جدید که در حال گسترش و پیشرفت هستند، استفاده می‌شود. مهندسی بافت یکی از روش‌های مهم در رهاسازی کنترل‌شده داروهاست که مرز مشترکی با علم دارورسانی، زیست‌شناسی، مهندسی پلیمر و غیره دارد و در سال‌های اخیر، مورد توجه محققان قرار گرفته است [۴-۶].

داربست‌ها ساختارهای سه‌بعدی هستند که توسط مواد زیستی مختلف مانند پلیمرهای زیستی تولید می‌شوند [۷]. انتشار دارو توسط پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر یکی از جالب‌ترین کاربردهای پزشکی پلیمرها است. ابتدا مولکول‌های دارو در پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر کپسوله شده و سپس در شرایط آزمایشگاهی، دیواره کپسول‌های حاوی دارو به مرور زمان تجزیه شده و دارو آزاد می‌شود [۸]. پلیمرهای پلی‌استر زیست‌تخریب‌پذیر مانند پلی (ε-کاپرولاکتون) PCL و کوپلیمرهای آن نمونه‌هایی از این پلیمرها هستند و به‌طور گسترده به‌عنوان جایگزین‌های مصنوعی [۹]، سامانه‌های دارورسانی [۱۰] و داربست‌های مهندسی بافت [۱۱] استفاده می‌شوند. این پلیمرها ممکن است متخلخل، غیرمتخلخل، متورم، غیرمتورم، نیمه‌تراوا، چسبنده زیستی، فرسایش‌پذیر و تجزیه‌شونده باشند [۱۲]. پلیمرهای چندشاخه‌ای دوگانه‌دوست، با داشتن انعطاف‌پذیری در طراحی، نقطه شروع جذابی برای توسعه سامانه‌های رهایش کنترل‌شده داروهای جدید به‌دلیل افزایش خواص فیزیکی و شیمیایی آن‌ها در مقایسه با موارد مشابه خطی خود هستند [۱۳ و ۱۴].

پلی‌کاپرولاکتون پلیمری خطی و آب‌گریز و پلی‌استری آلیفاتیک و نیمه‌بلوری است [۱۵]. این پلیمر به‌دلیل خواص فیزیکی عالی، در دسترس بودن و زیست‌سازگاری ذاتی به‌طور گسترده در دارورسانی استفاده می‌شود [۱۶]. یکی از معایب مهم پلی‌کاپرولاکتون عدم وجود گروه‌های عاملی در سطح زنجیره‌های پلیمری است که آن را به پلیمری آب‌گریز تبدیل کرده است [۱۰]. در طراحی سامانه‌های آهسته‌رهش خواص آب‌گریز PCL را می‌توان با ترکیباتی حاوی گروه‌های هیدروکسیل بهبود بخشید [۱۷]. بدین منظور این داربست‌ها را با دیگر پلیمرها و نانوذرات ترکیب می‌کنند تا خواص

سطحی و مکانیکی، زیست‌فعالی و عملکرد کلی آن‌ها را بهبود بخشند [۱۸-۲۰]. پلی‌گلیسرول سیکات (PGS) پلیمر الاستومری زیست‌تخریب‌پذیر با پتانسیل بالا در دارورسانی کنترل‌شده است [۲۱]. اختلاط PGS با PCL به‌طور خاص امکانی مفید است؛ زیرا هر دو پلیمر در یک مرحله در حلالی واحد حل می‌شوند و می‌توان داربستی کامپوزیتی تولید کرد که نیازی به عملیات پس از فراورش ندارند و خواص مکانیکی آن‌ها را می‌توان با تغییر نسبت PCL به PGS تنظیم کرد. افزایش غلظت PGS به بهبود آب‌دوستی و تخریب PCL کمک کرده و موجب سنتز داربست با استحکام کششی نهایی و مدول ینگ مناسب می‌شود که ویژگی‌هایی حیاتی در طراحی سامانه‌های کنترل‌شده دارو است.

در این مطالعه، داربست‌های ریزالیاف الاستومری زیست‌تخریب‌پذیر با کوپلیمر کردن پیش‌پلیمر PGS با پلی (ε-کاپرولاکتون) زیست‌تخریب‌پذیر تهیه شد. کوپلیمر PGS-co-PCL با استفاده از ε-کاپرولاکتون، گلیسرول و سباسیک‌اسید به‌عنوان مونومر تهیه شد [۲۲]. در این تحقیق، با تغییراتی در سامانه PCL این قسمت به ساختاری دوشاخه‌ای با جرم‌های مولکولی متفاوت تبدیل شد. ابتدا پلیمر PCL-diol سنتز شد، سپس با گلیسرین و سباسیک‌اسید واکنش داده شد و کوپلیمرهای آب‌دوست زیست‌تخریب‌پذیر PGS-PCL-diol 200، PGS-PCL-diol 500 و PGS-PCL-diol 900 ساخته شد. پس از ساخت سامانه دارورسانی پلیمری در راستای پیشرفت و بهینه‌سازی در زمینه مهندسی بافت و رهایش کنترل‌شده، داروی تری‌فلونوماید در سامانه بارگذاری شد. ریختار (Morphology) و تحلیل عنصری، خصوصیات ساختاری، خواص مکانیکی، رفتار گرمایی و تخریب آبکافتی نمونه‌های حاصل با میکروسکوپی الکترونی پویشی، طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوری، تحلیل دینامیکی-مکانیکی-گرمایی و گرماسنجی پویشی تفاضلی مورد بررسی قرار گرفت.

۲ بخش نظری

۲-۱ مواد

در این تحقیق، از مواد لازم بدون تصفیه استفاده شد. قلع 2 (II)-اتیل‌هگزانات (Sn(Oct)2)، ε-کاپرولاکتون، ۱،۴-بوتان‌دی‌آل، پنتا‌تری‌تول، سباسیک‌اسید از شرکت Merck و پروپان-۱،۲،۳-تری‌آل، سالین بافر فسفات ۷/۴ (pH) از شرکت سیگما آلد ریچ و داروی تری‌فلونوماید از شرکت نوآوران دارویی کیمیا خریداری شده است.

۲-۲ ساخت پلیمر زیست‌تخریب‌پذیر پلی‌کاپرولاکتون دوشاخه‌ای PCL-diol

در این تحقیق، جرم‌های مولکولی متفاوتی از ترکیب PCL-diol سنتز شد (شکل ۱) [۲۳]. ابتدا مقدار مشخصی از مونومر کاپرولاکتون و بوتان‌دی‌آل (آغازگر) در راکتور شیمیایی ریخته و سپس مقدار ۲ قطره کاتالیزور قلع (Tin(II) 2-ethylhexanoate) به محتوای راکتور اضافه شد. نمونه بر همزن مغناطیسی گذاشته و دما روی ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۷ ساعت تنظیم شد. سپس ماده به‌دست‌آمده در آن‌هگزان رسوب داده شد تا مونومرهای واکنش‌نداده از آن خارج شود و محصول تحت خلأ خشک شد. برای تهیه PCL-diol-900، PCL-diol-500، PCL-diol-200 نسبت مولی

کاپرولاکتون به بوتان‌دی‌آل به ترتیب ۲، ۴، ۸ در نظر گرفته شد.

۲-۳ ساخت داربست کامپوزیتی PGS-PCL-diol

ترکیبات PCL-diol200، PCL-diol500، PCL-diol900، سباسبیک‌اسید و گلیسرین طبق جدول ۱ درون راکتور واکنش ریخته و بر همزن مغناطیسی قرار داده و دما روی ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه تنظیم شد تا کل مواد ذوب شوند. سپس دور همزن مغناطیسی روی ۳۰۰ دور بر دقیقه قرار داده و با ایجاد حباب در نمونه مشخص شد که واکنش در حال انجام است. سپس به مدت ۲ ساعت نمونه‌ها در شرایط خلأ قرار داده و در نهایت واکنش در ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت کامل شد. رزین به‌دست‌آمده با گرانیوی مناسب درون ظرف نگهداری شد. برای ساخت نمونه‌های فیلمی مقدار مشخصی از رزین (PCL-diol200، PCL-diol500، PCL-diol900) در قالب‌های سیلیکونی ریخته و در آن خلأ با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد.

۲-۴ رهاش تری‌فلونوماید از داربست کامپوزیتی PGS-PCL-diol

بررسی میزان رهاش تری‌فلونوماید به‌وسیله روش کیسه دیالیز مورد بررسی گرفت. بدین منظور مقدار مشخصی از داربست PGS-PCL-diol بارگذاری شده با تری‌فلونوماید داخل کیسه دیالیز قرار داده و در ۵۰ میلی‌لیتر محیط بافر فسفات‌سالین (PBS، pH=۷/۴) غوطه‌ور شد. سپس روی گرم‌خانه لرزان در ۳۷ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۰۰ rpm قرار داده شد. در زمان‌های مشخص ۱۰ دقیقه، ۱، ۲۴ و ۴۸ ساعت از محلول بافر فسفات داخل بشر، حدود ۲ میلی‌لیتر نمونه برداشته و با ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات تازه جایگزین شد تا حجم محلول تغییر نکند. میزان جذب نمونه‌ها و داروی رهاشده در محیط با استفاده از طیف‌سنج نوری در حداکثر طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. داده‌های جذب به‌دست‌آمده در معادله حاصل از کالیبره شدن قرار داده شد و غلظت داروی آزادشده به دست آمد.

۲-۵ بررسی خصوصیات شیمی‌فیزیکی داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol

۲-۵-۱ ارزیابی طیف‌سنج فروسرخ Fourier Transform Infrared

۲-۵-۲ Spectroscopy (FTIR) داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol

آزمون FTIR (Thermo Avatar) برای شناسایی گروه‌های عاملی ترکیبات نمونه‌ها انجام شد تا ساختار و پیوند شیمیایی و قله‌های حاصل در محدوده طیف cm^{-1} (۴۰۰ تا ۴۰۰۰) مورد بررسی قرار گیرند. برای انجام این آزمایش قسمت کم‌ضخامت داربست انتخاب شد تا نور را از خود عبور دهد و قله‌های موجود را نمایش دهد. همچنین برای تهیه قرص از پودر KBr استفاده شد.

۲-۵-۲ Thermal Gravimetric Analysis (TGA) ارزیابی گرما وزن‌سنجی

داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol

آزمون TGA (Q600-TA) در فشار اتمسفر در بازه دمایی ۲۵ تا ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد با نرخ گرمایش $10^{\circ}C/min$ برای بررسی تغییرات رفتار شیمیایی و فیزیکی مواد تحت تغییر دما مورد استفاده قرار گرفت. در آزمون TGA داربست‌ها در بوت‌های از جنس آلومینا یا پلاتین قرار داده می‌شود. این بوت‌ها درون کوره قرار دارد و بوت‌ها به ترازوی حساس متصل است. کوره می‌تواند با

نرخ مشخصی نمونه را گرم کند یا آن را در دمای معینی نگه دارد یا نمونه گرم‌شده را با سرعت مشخصی تا دمای محیط سرد کند. با این روش تغییرات وزن داربست بر اثر تغییر دما محاسبه می‌شود.

۲-۵-۳ ارزیابی گرماسنجی پویشی تفاضلی (Differential scanning calorimetry (DSC))

داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol

آزمون DSC (Q600-TA) در فشار اتمسفر در بازه دمایی ۲۵ تا ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد با نرخ گرمایش $10^{\circ}C/min$ برای مشخص کردن رفتار فیزیکی-گرمایی داربست است و با آن می‌توان مشخصات فیزیکی داربست مانند دمای ذوب، دمای تبخیر و دیگر تغییرات فازی مانند دمای تغییر ساختار بلوری را به دست آورد و یا به‌عنوان تحلیل شیمیایی-گرمایی، دمای تجزیه یا اکسایش داربست را ارزیابی کرد.

۲-۵-۴ تحلیل دینامیکی- مکانیکی- گرمایی (Dynamic Mechanical Thermal Analysis (DMTA))

داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol

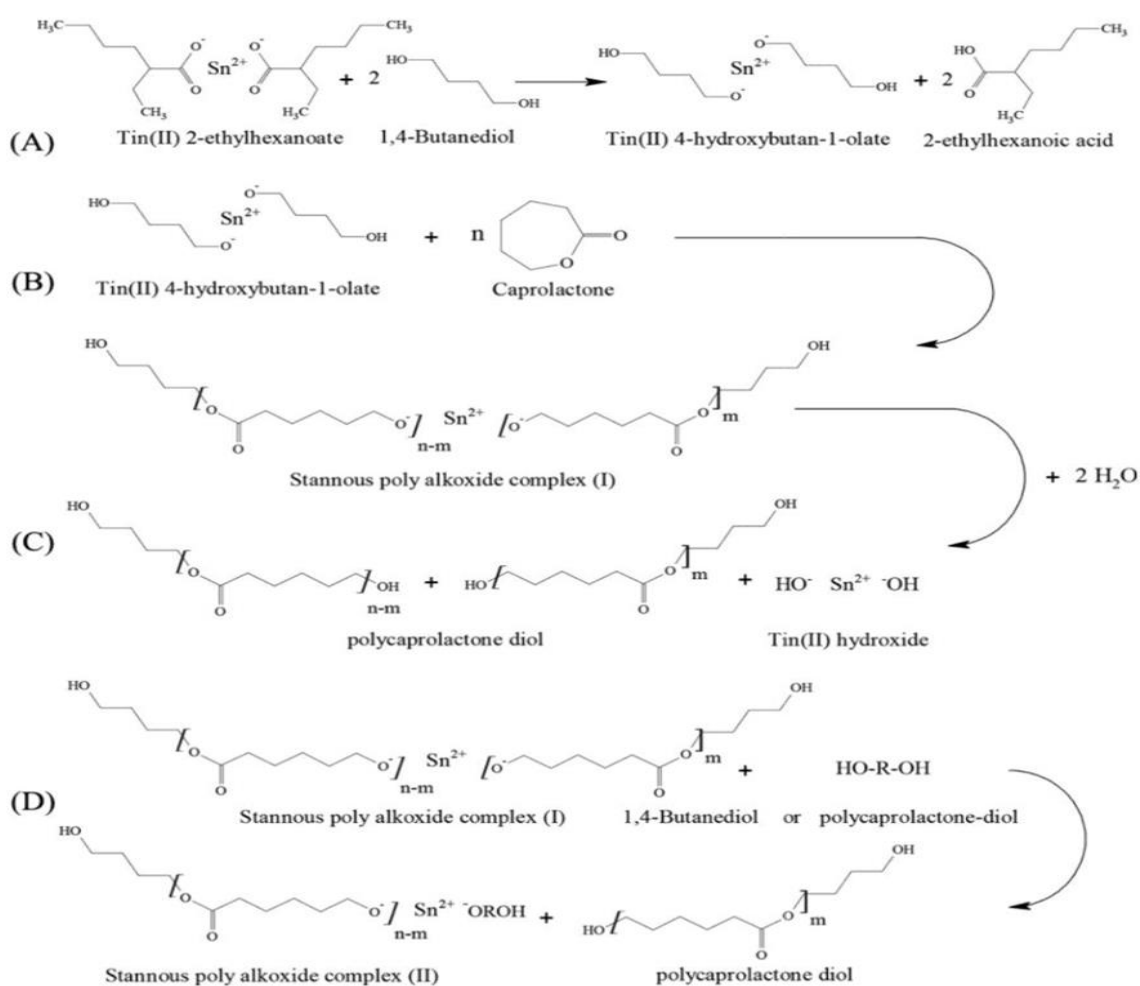
آزمون DMTA در بازه دمایی ۸۰ تا ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد با نرخ گرمایش $5^{\circ}C/min$ برای شناسایی مواد به خصوص پلیمرها استفاده می‌شود. DMTA را به‌سادگی می‌توان به‌صورت اعمال نیروی نوسانی بر نمونه و تجزیه و تحلیل پاسخ ماده به آن نیرو تعریف کرد. در این روش نمونه در دستگاه قرار می‌گیرد و بسامد، دامنه و محدوده دمایی مناسب به‌عنوان داده‌های ورودی به دستگاه داده می‌شود. سپس دستگاه در محدوده دمایی انتخاب شده به نمونه تنش سینوسی وارد می‌کند و پاسخ مکانیکی مواد در محیط دمایی تنظیم‌شده اندازه‌گیری می‌شود. نتایج معمولاً به‌صورت نمودارهای G' ، G'' و $\tan \delta$ به‌عنوان تابعی از دما ارائه می‌شوند. DMTA مناطق انتقال در پلاستیک‌ها، از قبیل دمای انتقال شیشه‌ای را گزارش می‌کند.

۲-۵-۵ ارزیابی زاویه تماس داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol

آزمون زاویه تماس (Jikan-CAG10) بررسی خاصیت ترشوندگی و تمایل سیال به پخش شدن روی سطح جامد یا چسبیدن به آن در حضور دیگر سیالات امتزاج‌ناپذیر با آن است. تمایل سیال به پخش شدن روی سطح یک جامد خصوصیات ترشوندگی سیال را نسبت به سطح جامد مشخص می‌کند. معمولاً این تمایل به پخش شدن با اندازه‌گیری زاویه تماس جامد-مایع بیان می‌شود که زاویه تماس نامیده و از قسمت مایع به جامد اندازه‌گیری می‌شود.

۲-۵-۶ ارزیابی زیست‌تخریب‌پذیری داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol

برای آزمون تخریب داربست کامپوزیتی ابتدا نمونه‌های داربست برش‌خورده، توسط ترازوی دیجیتالی با دقت $0.001g$ گرم اندازه‌گیری شد. سپس کیسه‌هایی که به‌منظور نگهداری نمونه‌ها تهیه شد، به‌صورت جداگانه با همان ترازو وزن شد. نمونه‌های برش‌زده درون کیسه قرار داده و وزن هر دو اندازه‌گیری شد. سپس بشرها روی دستگاه تکان‌دهنده قرار داده شد. داخل بشرها ۳۰ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات سالین ریخته، سپس نمونه‌های داخل کیسه به‌صورت مجزا داخل بشر مختص خود غوطه‌ور شد.



شکل ۱ طرح‌واره سنتز PCL-diol

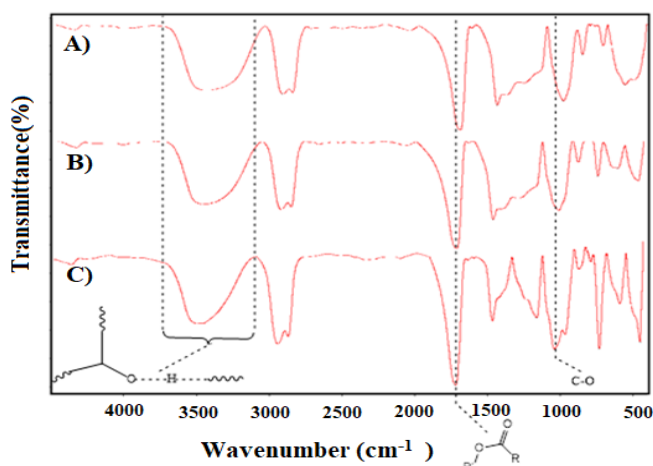
Figure 1 Schematic of PCL-diol synthesis

جدول ۱ مواد مورد استفاده در ساخت داربست کامپوزیتی PGS-PCL-diol

Table 1 Materials used in the construction of PGS-PCL-diol composite scaffold

No.	Sample code	PCL- diol (g)	Glycerol (g)	Sebacic acid (g)
1	PGS	7.6	2.3	—
2	PGS-PCL-diol 200	3.98	1.11	4.9
3	PGS-PCL- diol 500	10.55	1.76	7.69
4	PGS-PCL- diol 900	13.4	1.24	5.36

مشابه است. به‌طور کلی در پلی‌گلیسرول سباسبیک گروه‌های CH_2 وجود دارد که قله مربوط به آن در 2940 cm^{-1} ظاهر شده است. حضور گروه کربونیل در ناحیه 1727 cm^{-1} به وضوح در هر سه طیف مشاهده می‌شود، همچنین پیوندهای هیدروژنی گروه‌های هیدروکسید در ناحیه 3600 cm^{-1} در هر سه طیف نشانگر آب‌دوست بودن هر سه ساختار است. زمانی که واکنش‌های تراکمی و استری شدن حین تشکیل پلیمر صورت می‌گیرد، گروه‌های کربونیل ($\text{O}=\text{C}-\text{O}$) در رزونانس بوده و به‌واسطه پیوند هیدروژنی با رطوبت محیط، میزان رزونانس کاهش خواهد یافت. ارتعاش کششی پیوند $\text{H}-\text{O}$ در شکل (۲C) نسبت به ارتعاش کششی $\text{H}-\text{O}$ در شکل‌های (۲A)، (۲B) در بسامدی بالاتر قرار گرفته است. احتمالاً گروه‌های $\text{H}-\text{O}$ در شکل (۲C) بیشتر در مجاور گروه الکترون‌کشنده در فضا قرار گرفته است. ارتعاش کششی گروه کربونیل در شکل (۲C) در بسامدی بالاتر نسبت به شکل‌های (۲A)، (۲B) قرار گرفته است. علت این امر کاهش رزونانس بین گروه کربونیل و گروه $\text{O}-\text{C}$ در ساختار داربست است. هر چه رزونانس در ساختاری کمتر صورت گیرد، میزان الکترون چرخشی بین پیوندها کاهش یافته، طول پیوند نسبت به حالتی که رزونانس بیشتر باشد، کوتاه‌تر شده، در نتیجه، در بسامدی بالاتر قرار خواهد گرفت. در مقایسه طیف FTIR هر سه نمونه می‌توان گفت، داربست کامپوزیتی PGS-PCL-diol با جرم‌های مولکولی مختلف با موفقیت سنتز شده است.



شکل ۱ طیف FTIR مربوط به داربست‌های (A) PGS-PCL-diol 200، (B) PGS-PCL-diol 500، (C) PGS-PCL-diol 900
Figure 2 FTIR spectrum related to scaffolds PGS-PCL-diol 200 (A, (B, PGS-PCL-diol 500 C) PGS-PCL-diol 900

۳-۲ تحلیل TGA داربست کامپوزیتی PGS-PCL-diol

شکل (۳) تحلیل TGA درصد کاهش وزن داربست کامپوزیتی PGS-PCL-diol را بر حسب دما نشان می‌دهد. هر سه نمونه، حدوداً تا دمای 230°C درجه سانتی‌گراد کاهش وزن نشان داده و با افزایش دما تا 280°C درجه سانتی‌گراد، کاهش وزن با شیب ناچیزی مشاهده شد. نمونه اول PGS-PCL-diol 200 با افزایش دما از 280°C درجه سانتی‌گراد به 340°C درجه سانتی‌گراد 33% کاهش وزن داشته و در دمای 430°C درجه سانتی‌گراد 75% از دمای 430°C تا 480°C درجه سانتی‌گراد، 95% کاهش وزن نشان داده است. 5% وزن

برای محاسبه تخریب نمونه‌ها در بازه‌های زمانی 24°C ، 48°C ، 72°C و 96°C و 120°C ساعت تا 28°C روز، نمونه‌ها از محلول PBS خارج و آب سطحی آن‌ها خشک شد. سپس در دمای 37°C سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه آویزان شدند تا به‌طور کامل خشک شوند. پس از رسیدن به حالت تعادل، نمونه‌ها توزین شدند. میزان جذب آب یا نرخ تورم نمونه‌ها از طریق رابطه (۱) محاسبه شد.

$$\text{Swelling rate (\%)} = \frac{W - W_0}{W_0} \times 100 \quad (1)$$

که در آن W_0 وزن نمونه‌ها در حالت خشک و W وزن نمونه‌ها در حالت تر پس از جذب آب است.

۳-۵-۲ میکروسکوپی الکترونی پویشی (Scanning electron microscopy (SEM)) داربست کامپوزیتی PGS-PCL-diol

آزمون SEM با میکروسکوپ TESCAN- MIRA برای تعیین اندازه و ریختار داربست تهیه‌شده استفاده شد. در این آزمون، دسته پرتوی الکترونی به نمونه تابیده می‌شود. منبع الکترونی از نوع انتشار ترمودینامیکی رشته تنگستنی است. معمولاً الکترون‌ها بین $1-30 \text{ keV}$ شتاب می‌یابند. سپس پرتوی الکترونی با دو یا سه عدسی متمرکز، تا حدی کوچک می‌شود که هنگام برخورد با نمونه، قطر آن حدوداً بین 1 تا 2 نانومتر شود.

۳-۵-۲ ارزیابی رفتار زیستی - (3-(4,5dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)) داربست کامپوزیتی PGS-PCL-diol

آزمون MTT سند رنگ‌سنجی برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی است که به‌عنوان معیاری برای سنجش زنده‌مانی سلول‌ها استفاده می‌شود. MTT نمک زرد رنگ ترازولیوم محلول در آب است که توسط سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری‌های سلول‌های زنده و فعال احیا و به ترکیب رنگی فورمازان نامحلول تبدیل می‌شود که این رنگ با حلال آلی حل شده و شدت رنگ در طول موج 570 nm نانومتر متناسب با میزان سلول‌های زنده است. در این تحقیق، مطالعه سمیت سلولی نمونه‌ها با روش MTT با رده‌های سلولی MG-63، انجام شد. ابتدا سلول‌ها با تراکم 1×10^4 سلول در هر چاهک کاشته شدند و نمونه‌ها به مدت 3 و 7 روز انکوبه شدند. پس از انکوبه شدن محیط حاوی 10% درصد محلول MTT به آن اضافه شد. سپس صفحات در دمای 37°C درجه سانتی‌گراد به مدت 4 ساعت انکوبه شدند. در ادامه، محیط حذف شد و بلورهای فورمازان تولیدشده توسط فعالیت آنزیم میتوکندری با 100 میکرولیتر بافر انحلال‌سازی (Triton-X 100, 0.1 HCl) حل شدند. میزان جذب این محلول به‌وسیله طیف‌سنجی نوری در طول موج 260 nm نانومتر با صفحه‌خوان اندازه‌گیری شد.

۳ نتایج و بحث

۳-۱ تحلیل FTIR داربست کامپوزیتی PGS-PCL-diol

با توجه به شکل ۲ می‌توان نتیجه گرفت که هر سه طیف مربوط به ساختاری

قیاس با سایر فرایندهای گرماگیر در این نمونه بیشتر بوده است. در دمای ۴۲۵ سانتی‌گراد نیز واکنش گرماگیر به‌منظور تجزیه جزء پلیمری رخ داده است که میزان جذب انرژی نسبت به واکنش گرماگیر در دمای ۴۷۰ سانتی‌گراد کمتر است.

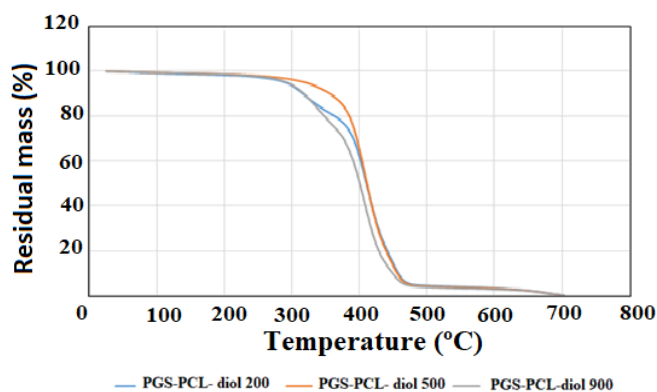
۴-۳ تحلیل DMTA داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol

دمای انتقال شیشه‌ای (T_g)، مدول ذخیره در ناحیه شیشه‌ای و مدول ذخیره در ناحیه لاستیکی برای همه نمونه‌ها در جدول ۲ گزارش شده است. مطابق نتایج جدول مشاهده می‌شود که دمای انتقال شیشه‌ای برای نمونه PGS-PCL-diol 200 کمتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد و برای نمونه‌های PGS-PCL-diol 500 و PGS-PCL-diol 900 کمتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد است. دمای انتقال شیشه‌ای و بلوری در نمونه PGS-PCL-diol 900 به‌دلیل وجود خلل‌و‌فرج بیشتر در ساختار داربست نسبت به دو نمونه دیگر بیشتر است. مقدار مدول ذخیره در داربست PGS-PCL-diol 200 از دو نمونه دیگر بیشتر است. مقدار مدول ذخیره در این ناحیه به حفرات و مناطق آزاد موجود در ساختار داربست وابسته است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در نمونه PGS-PCL-diol 200 خلل‌و‌فرج کمتری در ساختار داربست پدید آمده است که این کمتر بودن حفرات باعث کاهش تمرکز تنش شده و مدول ذخیره در این نمونه را افزایش داده است. با وجود نزدیک بودن مقدار مدول ذخیره در ناحیه شیشه‌ای دو نمونه PGS-PCL-diol 500 و PGS-PCL-diol 900 به یکدیگر، نمونه PGS-PCL-diol 500 مقدار نسبتاً بالاتری را داشته است. نتایج آزمون DMTA در شکل (۵) نشان داده شده است. چگالی شبکه‌ای شدن از نقطه بیشینه منحنی $\tan \delta$ بر حسب دما به‌دست می‌آید و عمدتاً به تحرک زنجیرهای پلیمری وابسته است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تحرک زنجیرها در نمونه PGS-PCL-diol 900 نسبت به دو نمونه دیگر بالاتر است. مدول ذخیره در ناحیه لاستیکی (رابری) با چگالی شبکه‌ای شدن رابطه مستقیم دارد. بنابراین از مقادیر گزارش‌شده در جدول ۲ می‌توان نتیجه گرفت که بیشترین چگالی شبکه‌ای شدن نیز مربوط به نمونه PGS-PCL-diol 900 است. این عامل نیز در دو نمونه PGS-PCL-diol 500 و PGS-PCL-diol 900 به یکدیگر نزدیک بوده ولی در نمونه PGS-PCL-diol 900 چگالی شبکه‌ای شدن بالاتر به‌دست آمده است.

۵-۳ تحلیل زاویه تماس داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol

تحلیل زاویه تماس سه نمونه PGS-PCL-diol 200, 500, 900 در شکل ۶ آورده شده است. از هر سه نمونه عکس‌برداری حین جذب آب در ساختار با فواصل زمانی مختلف انجام شد. این تحلیل برای هر نمونه ۳ مرتبه تکرار شده است. زاویه تماس قطره با داربست ساخته‌شده آب‌دوستی و آب‌گریزی را مشخص می‌کند. سطحی را که دارای زاویه تماس کوچک‌تر از ۹۰ درجه باشد، آب‌دوست و سطحی را که دارای زاویه تماس بزرگ‌تر از ۹۰ درجه باشد، آب‌گریز می‌نامند. هنگامی که زاویه تماس سطح کوچک‌تر از ۱۰ درجه باشد، سطح را آبرآب‌دوست و در صورتی که این زاویه بالای ۱۵۰ درجه و زاویه پسماند آن کوچک‌تر از ۱۰ درجه باشد، آن را آبرآب‌گریز می‌نامند.

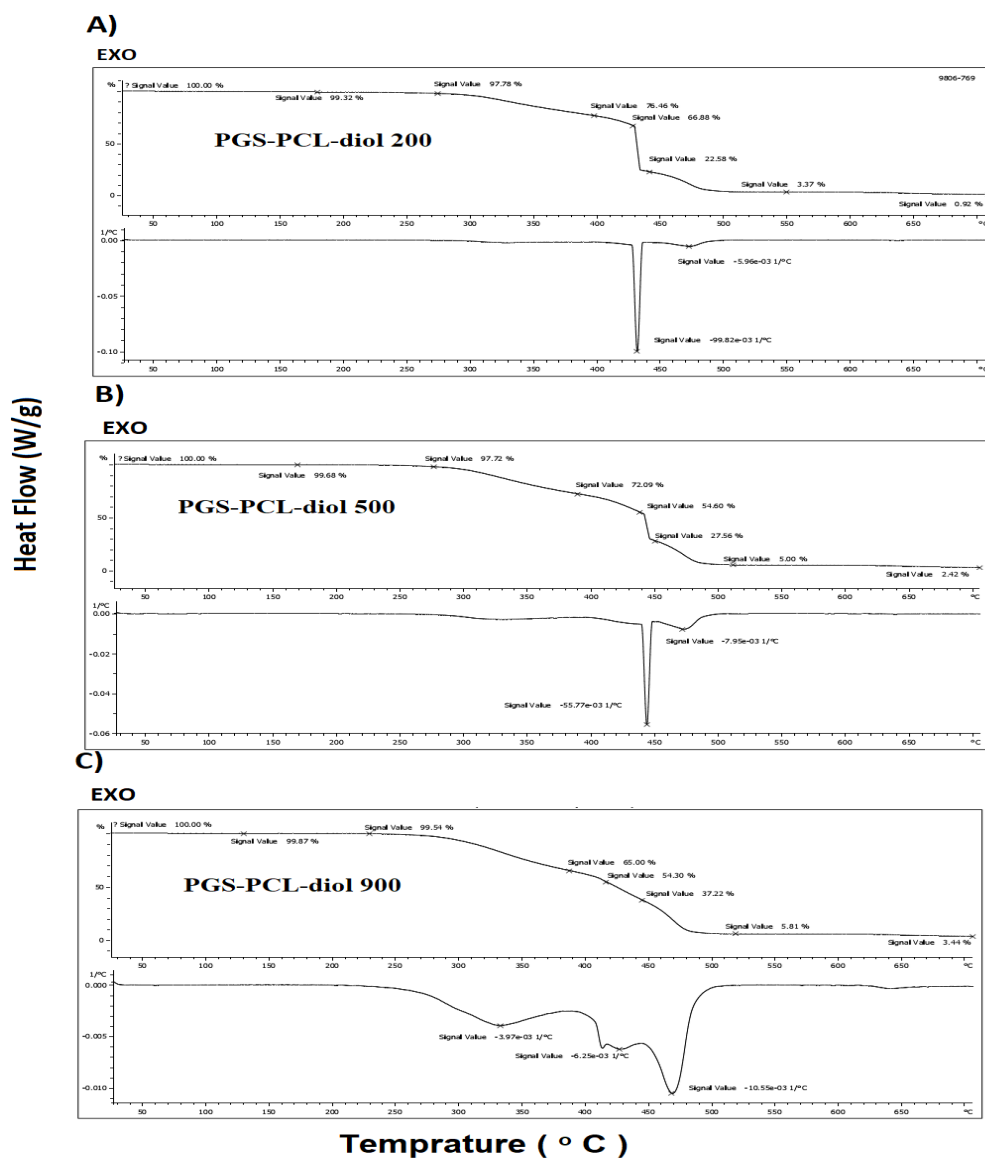
باقی‌مانده از دمای ۴۸۰ تا ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد کاهش یافته است. نمونه دوم PGS-PCL-diol 500، با افزایش دما از ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد به ۳۴۰ درجه سانتی‌گراد ۴۳٪ کاهش وزن داشته و در دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد، ۷۰٪ و از دمای ۴۰۰ تا ۴۸۰ درجه سانتی‌گراد، ۹۵٪ کاهش وزن نشان داده است. ۵٪ وزن باقی‌مانده از دمای ۴۸۰ تا ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد کاهش یافته است. نمونه سوم PGS-PCL-diol 900، با افزایش دما از ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد تا ۴۸۵ درجه سانتی‌گراد، ۹۳/۵٪ کاهش وزن نشان داده است. ۷/۵٪ وزن باقی‌مانده از دمای ۴۸۵ تا ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد کاهش یافته است. با توجه به طیف می‌توان نتیجه گرفت هر سه نمونه مقاومت دمایی بالایی دارند.



شکل ۲ نمودار TGA سه نمونه PGS-PCL-diol 200, 500, 900
Figure 3 TGA diagram of three samples of PGS-PCL-diol 200, 500, 900

۳-۳ تحلیل DSC داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol

شکل (۴ا) نمودار DSC داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol 200 را نمایش می‌دهد. نمونه در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد ۰/۶۸٪ کاهش وزن داشته که احتمالاً به‌دلیل حضور رطوبت در نمونه بوده است. در دمای ۴۳۰ درجه سانتی‌گراد، واکنش گرماگیر با قله تیزی رخ داده است؛ به همین دلیل کاهش وزن در این دما در یک لحظه صورت گرفته است. در دمای ۴۷۵ درجه سانتی‌گراد نیز قله متوسط و پهنی دیده می‌شود که نشان‌دهنده گرماگیر بودن فرایند است. شکل (۴ب) نمودار DSC داربست PGS-PCL-diol 500 را نشان داده و در دمای ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد، ۰/۳۲٪ کاهش وزن داشته که احتمالاً به‌دلیل حضور رطوبت در نمونه بوده است. در دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد، واکنش گرماگیر رخ داده است. به همین دلیل کاهش وزن در این دما در یک لحظه صورت گرفته است. در دمای ۴۷۵ درجه سانتی‌گراد نیز قله متوسط و پهنی دیده می‌شود که نشان‌دهنده گرماگیر بودن فرایند است. شکل (۴ج) نمودار DSC داربست PGS-PCL-diol 900 را نمایش می‌دهد. نمونه در دمای ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد، ۰/۱۳٪ کاهش وزن داشته که احتمالاً به‌دلیل حضور رطوبت در نمونه بوده است. در دمای ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد ۰/۳۳٪ کاهش وزن داشته که احتمالاً حلالی با دمای جوش بالا یا مقدار ناچیز ماده آلی دیگری در بافت ساختار نمونه حضور داشته است. در دمای ۴۷۰ درجه سانتی‌گراد، واکنش گرماگیر رخ داده است، میزان جذب انرژی گرمایی برای فرایند تجزیه جزء پلیمری در این دما در



شکل ۴ تصویر تحلیل DSC نمونه داربست‌های (A PGS-PCL-diol 200، B PGS-PCL-diol 500، C PGS-PCL-diol 900) **Figure 4** DSC analysis image of PGS-PCL-diol 200 scaffolds (A, B, PGS-PCL-diol 500, C) PGS-PCL-diol 900

جدول ۲ نتایج آزمون DMTA داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol-200-500-900
Table 2 DMTA test results of PGS-PCL-diol-200-500-900 composite scaffolds

Sample	Storage modulus in the glassy region (MPa)	Storage modulus in the rubbery region (MPa)	Glass transition temperature (°C)
PGS-PCL-diol 200	1550	20.5	-10.4
PGS-PCL-diol 500	1010	3.16	-29.5
PGS-PCL-diol 900	1050	2.07	-38.0

است. شبکه سلولی ایجادشده بیانگر حفظ ریخت سلول طی فرایند کاشت است و نقاط سفید موجود در تصاویر میکروسکوپی مربوط به سلول‌هاست که به داربست به خوبی چسبیده‌اند. توزیع یکنواخت پلیمر در داربست‌ها با کمترین کلوخگی مشاهده شد. ریختار حاوی منافذ با ظاهر نامنظم و در داخل برخی از مناطق حفره‌های به هم پیوسته قابل مشاهده است و سطوح با دیواره‌های منافذ ناهمگن و درصد تخلخل بالا هستند.

۳-۸ تحلیل رفتار زیستی داربست کامپوزیتی PGS-PCL-diol

نتایج آزمون MTT و میزان زنده ماندن سلول‌ها پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت برای سه داربست کامپوزیتی PGS-PCL-diol در جدول ۳ آورده شده است. پس از ۲۴ ساعت، بقای سلولی در همه گروه‌ها تقریباً در هر سه نمونه یکسان بود. پس از ۴۸ ساعت، درصد زنده ماندن سلولی در سلول‌ها تقریباً یکسان اما کمتر از ۲۴ ساعت بود. به عبارتی نتایج زنده ماندن سلولی آزمون MTT تفاوت معنی‌داری را بین نمونه‌های آزمایش نشان نداد؛ بنابراین می‌توان این داربست کامپوزیتی را داربست زیست‌پزشکی مناسبی دانست.

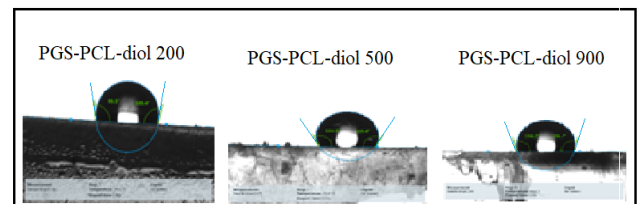
۳-۹ تحلیل رهایش داروی تری‌فلونوماید از داربست کامپوزیتی PGS-PCL-diol

با توجه به نتایج به دست آمده از رهایش داروی تری‌فلونوماید از هر سه نمونه بر حسب زمان (شکل ۹)، می‌توان دریافت که هر سه داربست قابلیت مناسبی برای بارگذاری داروی تری‌فلونوماید دارند. به طور کلی رهایش داروی تری‌فلونوماید را می‌توان به سه مرحله تقسیم کرد: در مرحله اول بخش بیشتر تری‌فلونوماید رهایش شده است. در این مرحله، این ماده از بین تخلخل‌ها و منافذ داربست عبور کرده، وارد محیط بافری می‌شود. مرحله دوم، مرحله رهایش داروهایی است که در لایه‌های داربست گیر افتاده‌اند. پدیده نفوذ در این مرحله نیز ادامه دارد و سرانجام در مرحله نهایی رهایش از غلظت ماده مؤثره کاسته می‌شود و سرعت رهایش خیلی کم است.

۴ نتیجه‌گیری

در بین عوامل مهم و مؤثر، روش تهیه داربست یکی از موارد تأثیرگذار در ارتقای مهندسی بافت است. تولید داربست‌های متخلخل زیست‌سازگار و زیست‌فعال در زمینه‌های مختلف پزشکی از جمله جراحی‌های ارتوپدی، آنکولوژی و جراحی فک و دهان و صورت و همچنین دارورسانی دارای اهمیت بسیاری است. طبق نتایج ذکرشده از مطالعات پیشین، ساخت داربست‌هایی بر پایه پلی‌کاپرولاکتون نشان می‌دهد که هدف آن‌ها افزایش میزان تخلخل و همچنین افزایش خواص مکانیکی داربست‌ها بوده است تا ویژگی‌های ساختاری و زیستی را تقویت کند. در این تحقیق، وزن‌های مولکولی مختلف PCL-diol با فرایند پلیمری شدن با باز کردن حلقه سنتز شدند. سپس با سباسبیک‌اسید و گلیسرول واکنش داده شد تا آب‌دوستی پلیمرها افزایش یابد. به منظور شناسایی ویژگی‌های ساختاری ترکیبات سنتز شده، از روش‌های FTIR، TGA-DSC و SEM استفاده شد.

آب‌گریزی داربست PCL خالص باعث شد موادی آب‌دوست مانند PGS به داربست اضافه شود تا داربست‌های ساخته‌شده به حالت آب‌دوستی نزدیک شوند. میانگین زاویه تماس داربست PGS-PCL-diol 200 برابر ۸۷/۹۳ درجه، داربست PGS-PCL-diol 500 برابر با ۱۰۰/۹۶ درجه و PGS-PCL-diol 900 برابر با ۹۳/۴ درجه است. در تجزیه و تحلیل زاویه تماس، هرچه نمونه آب‌دوست‌تر باشد، زمان جذب یک قطره آب کوتاه‌تر است. با مقایسه زاویه تماس هر سه نمونه، مشخص شد که PGS-PCL-diol-500 خاص آب‌دوستی بیشتری نسبت به نمونه‌های PGS-PCL-200 و PGS-PCL-900 دارد.

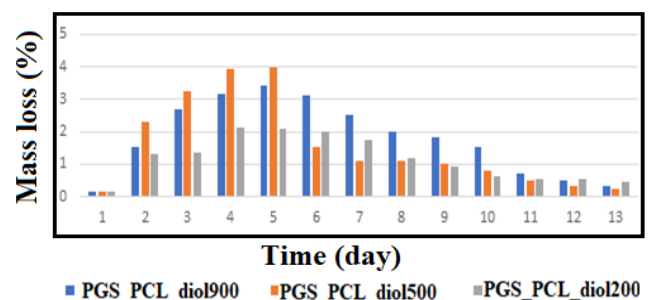


شکل ۶ تصاویر تحلیل زاویه تماس سه داربست PGS-PCL-diol 200,500,900

Figure 6 Contact angle analysis images of three scaffolds PGS-PCL-diol 200,500,900

۳-۶ تحلیل تخریب‌پذیری داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol

با توجه به نتایج حاصل از تحلیل تخریب‌پذیری (شکل ۷)، نمونه PGS-PCL-diol 500 در روزهای سوم تا چهارم نسبت به دو نمونه دیگر بالاترین میزان تخریب‌پذیری را نشان داده است. بالاترین درصد تخریب‌پذیری نمونه PGS-PCL-diol 500 در روز دهم به میزان ۷۰ درصد به دست آمده است. نمونه PGS-PCL-diol 200 و PGS-PCL-diol 900 نیز با گذشت زمان تجزیه شده‌اند که البته درصد تخریب‌پذیری این نمونه‌ها در روز ۲۵ به مقدار بیشینه رسیده است.

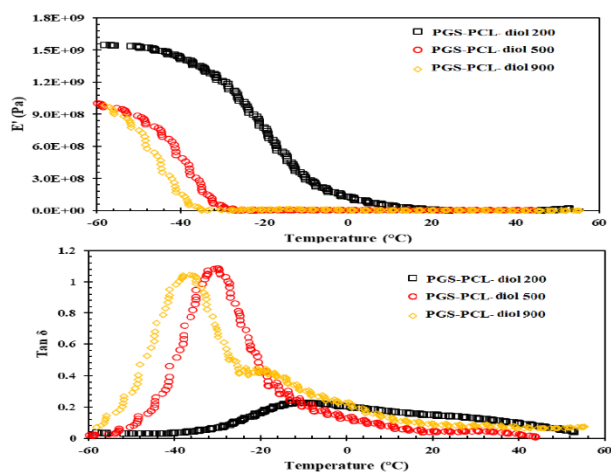


شکل ۷ نمودار تحلیل تخریب‌پذیری سه داربست PGS-PCL-diol 200,500,900

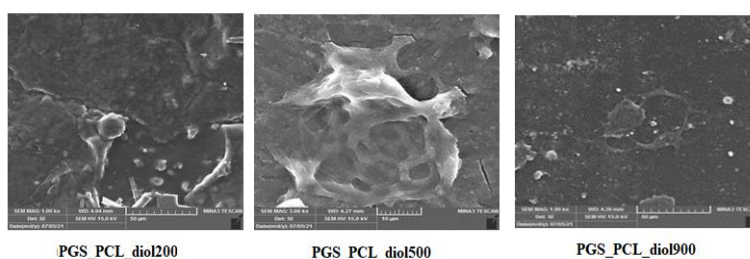
Figure 7 Degradability analysis diagram of three scaffolds PGS-PCL-diol 200,500,900

۳-۷ تحلیل SEM داربست‌های کامپوزیتی PGS-PCL-diol

تصاویر SEM سلول‌های رشد یافته روی داربست کامپوزیتی PGS-PCL-diol در شکل ۸ آورده شده است. نتایج بیانگر آن است که سلول‌ها به خوبی در میان داربست‌ها نفوذ کرده و شبکه سه‌بعدی مناسبی از سلول‌ها ایجاد شده



شکل ۵ مدول ذخیره و $\tan \delta$ بر حسب دما بدست آمده از آزمون DMTA
Figure 5 Storage modulus and $\tan \delta$ versus temperature obtained from the DMTA test



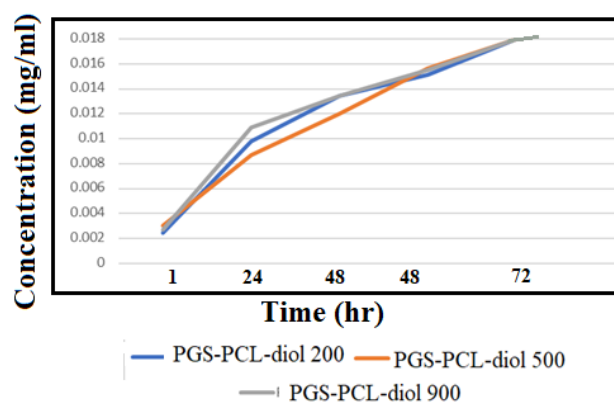
شکل ۸ تصاویر تحلیل SEM برای سه داربست PGS-PCL-diol 200,500,900

Figure 8 SEM analysis images for three scaffolds PGS-PCL-diol 200,500,900

جدول ۳ نتایج آزمون MTT برای سه داربست PGS-PCL-diol 200,500,900

Table 3 MTT test results for three scaffolds PGS-PCL-diol 200,500,900

24 Hours			48 Hours		
PGS-PCL-diol 200	PGS-PCL-diol500	PGS-PCL-diol900	PGS-PCL-diol200	PGS-PCL-diol500	PGS-PCL-dio900
0.105	0.101	0.089	0.225	0.239	0.218
0.112	0.105	0.102	0.312	0.221	0.224
0.118	0.109	0.110	0.282	0.238	0.249



شکل ۹ نمودار رهائش داروی تریفلونوماید از سه داربست PGS-PCL-diol 200,500,900

Figure 9 Release diagram of triflunomide drug from three scaffolds PGS-PCL-diol 200,500,900

برای بررسی خواص فیزیکی و مکانیکی پلیمر از تحلیل DMTA و برای بررسی درجه ترشوندگی از تحلیل زاویه تماس استفاده شد. داروی تری‌فلونوماید در داربست‌های پلیمری بارگذاری شد و آزادسازی دارو نیز مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی سمیت داربست، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی (ADMSCs) بر روی داربست‌های پلیمری کشت شدند و سمیت داربست با آزمون‌های MTT ارزیابی شد. با توجه به تحلیل FTIR و حضور قله‌های استری، اتر و هیدروکسی در ساختار هر سه داربست PGS-PCL-diol 200 و PGS-PCL-diol 500 و PGS-PCL-diol 900 پلیمری شدن انجام شده است. در تحلیل TGA-DSC در دمای ۳۹۰ تا ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد PGS-PCL-diol 200 و PGS-PCL-diol 500 و PGS-PCL-diol 900 به ترتیب ۲۱ و ۲۵ و ۳۵ درصد کاهش وزن داشته است که نشان‌دهنده درصد حضور بیشتر از یک نوع مونومر در ساختار نمونه PGS-PCL-diol 900 است و هر سه پلیمر به خوبی سنتز شده‌اند. تحلیل DMTA نشان داد که دمای انتقال شیشه‌ای نمونه سوم PGS-PCL-diol 900 از دو نمونه دیگر بیشتر است و بیشترین چگالی شبکه‌ای شدن نیز مربوط به نمونه GS-PCL-diol 900 است. در بررسی میزان آب‌دوستی پلیمر به وسیله تحلیل زاویه تماس مشخص شد نمونه PGS-PCL-diol 500 دارای میزان آب‌دوستی بیشتری نسبت به دو نمونه دیگر است. نتایج تحلیل تخریب‌پذیری نشان داد، بالاترین درصد تخریب‌پذیری مربوط به نمونه PGS-PCL-diol 500 است که در روز دوم به میزان ۹/۳ درصد نسبت به دو نمونه دیگر سریع‌تر و با درصد بالاتری تجزیه شده است. در این تحقیق بررسی رهایش داروی تری‌فلونوماید بر پایه کالیراسیون مشخص شد، غلظت داروی بارگذاری‌شده با گذشت زمان افزایش یافته که نشان‌دهنده تخلخل، آب‌دوستی و حضور گروه‌های عاملی در داربست‌هاست. نمودار رهایش دارو بر حسب زمان برای داربست PGS-PCL-diol نشان داده شده است که بیش از ۸۸ درصد داروی تری‌فلونوماید در ۲۴ ساعت آزاد شد. تحلیل SEM نشان داد سلول‌ها به خوبی در میان داربست‌ها نفوذ کردند و شبکه سه‌بعدی مناسبی از سلول‌ها ایجاد شد و توزیع یکنواخت پلیمر را می‌توان در داربست‌ها با کمترین کلوخگی نیز مشاهده کرد. در بررسی آزادسازی داروی تری‌فلونوماید مشخص شد که غلظت داروی بارگذاری‌شده با گذشت زمان افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده تخلخل، آب‌دوستی و وجود گروه‌های عاملی در داربست است.

مراجع

1. Patra J. K., Das G., Fraceto L. F., Campos E. V. R., Rodriguez-Torres M. D. P., Acosta-Torres L. S. and Shin H. S., Nano Based Drug Delivery Systems: Recent Developments and Future Prospects, *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1), 1-33, 2018.
2. Bharti C., Nagaich U., Pal A. K., Gulati N. Mesoporous silica nanoparticles in target drug delivery system: A review. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 5(3), 124, 2015.
3. Park J. H., Saravanakumar G., Kim K., Kwon I. C. Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(1), 28-41, 2010.
4. Moradi A., Pakizeh M., Ghassemi, T. A review on bovine hydroxyapatite; extraction and characterization. *Biomedical*

5. Abazari M. F., Karizi S. Z., Samadian H., Nasiri N., Askari H., Asghari M., Mansouri V. Poly (glycerol sebacate) and polyhydroxybutyrate electrospun nanocomposite facilitates osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 66(1), 102796, 2021.
6. Zhang Y., Mu W., Zhang Y., He X., Wang Y., Ma H., Li H. Recent advances in cardiac patches: materials, preparations, and properties. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 8(9), 3659-3675, 2022.
7. Godinho B., Gama N., Ferreira A. Different methods of synthesizing poly (glycerol sebacate) (PGS): A review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 30(10), 1033827, 2022.
8. Guler S., Eichholz K., Chariyev-Prinz F., Pitacco P., Aydin H. M., Kelly D. J., Vargel İ. Biofabrication of poly (glycerol sebacate) scaffolds functionalized with a decellularized bone extracellular matrix for bone tissue engineering. *Bioengineering*, 10(1), 30, 2022.
9. Rezk A. I., Kim K. S., Kim C. S. Poly(ϵ -caprolactone)/poly (glycerol sebacate) composite nanofibers incorporating hydroxyapatite nanoparticles and simvastatin for bone tissue regeneration and drug delivery applications. *Polymers*, 12(11), 2667, 2020.
10. Singh M., Raorane C. J., Alka Shastri D., Raj V., Kim S. C., Tuteja, I. Recent progress on modified gum katira polysaccharides and their various potential applications. *Polymers*, 14(17), 3648, 2022.
11. Khayoon H. A., Ismael M., Al-nayili A., Alshamsi, H. A. Fabrication of LaFeO₃-nitrogen deficient g-C₃N₄ composite for enhanced the photocatalytic degradation of RhB under sunlight irradiation. *Inorganic Chemistry Communications*, 1(157), 111356, 2023.
12. Teymourinia H., Al-nayili A., Alshamsi H. A., Mohammadi R., Sohoul E., Gholami M. Development of CNOs/PANI-NTs/AuNPs nanocomposite as an electrochemical sensor and Z-scheme photocatalyst for determination and degradation of ciprofloxacin. *Surfaces Interfaces* 42(2), 103412, 2023.
13. Salman N. S., Alshamsi H. A. Synthesis of sulfonated polystyrene-based porous activated carbon for organic dyes removal from aqueous solutions. *Journal of Polymers and the Environment*, 30(12), 5100-5118, 2022.
14. Kadhemi A. A., Alshamsi H. A. Biosynthesis of Ag-ZnO/rGO nanocomposites mediated Ceratophyllum demersum L. leaf extract for photocatalytic degradation of Rhodamine B under visible light. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(19), 24655-24669, 2024.
15. Sadeghzadeh H., Dianat-Moghadam H., Del Bakhshayesh A. R., Mohammadnejad D., Mehdipour A. A review on the effect of nanocomposite scaffolds reinforced with magnetic nanoparticles in osteogenesis and healing of bone injuries. *Stem Cell Research & Therapy*, 14(1), 194, 2023.
16. Wei Z., Wang L., Zhang S., Chen T., Yang J., Long S., Wang X. Electrospun antibacterial nanofibers for wound dressings and tissue medicinal fields: a review. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*. 13(5), 2030012, 2020.
17. Farjaminejad S., Shojaei S., Goodarzi V., Khonakdar H. A., Abdouss M. Tuning properties of bio-rubbers and its nanocomposites with addition of succinic acid and ϵ -caprolactone monomers to poly (glycerol sebacic acid) as main platform for application in tissue engineering. *European Polymer Journal*, 159, 110711, 2021.
18. Sturm G., Karan K. R., Monzel A. S., Santhanam B., Taivassalo T., Bris C., Picard M. OxPhos defects cause Hypermetabolism and reduce lifespan in cells and in patients with mitochondrial diseases. *Communications Biology*, 6(1), 22, 2023.
19. Motiee E. S., Karbasi S., Bidram, E., Sheikholeslam M.

- Investigation of physical, mechanical and biological properties of polyhydroxybutyrate-chitosan/graphene oxide nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 247, 125593, 2023.
20. Christy P. N., Basha S. K., Kumari V. S., Bashir A. K. H., Maaza M., Kaviyarasu K., Ignacimuthu S. Biopolymeric nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering applications—a review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 55, 101452, 2020.
21. Pourhoseyni T., Naeimi F., Mehrazin M., Madadi, M., Khonakdar H. A. Biodegradable microfibrinous, electrospun hydroxyapatite nanoparticles/poly (glycerol sebacate)-co-poly (ϵ -caprolactone) nanocomposite scaffolds for tissue engineering applications. *Polymer Bulletin*, 1-17, 2024.
22. Iorio F., El Khatib M., Wöltinger N., Turriani M., Di Giacinto O., Mauro A., Boccaccini, A. R. Electrospun poly (ϵ -caprolactone)/poly (glycerol sebacate) aligned fibers fabricated with benign solvents for tendon tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part*, 2024.
23. Patra J. K., Das G., Fraceto L. F., Campos E. V. R., Rodriguez-Torres M. D. P., Acosta-Torres L. S., Shin H. S. Nano based drug delivery systems: recent developments and prospects. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1), 1-33, 2018.