



گواهی نامه ثبت اختراع

سازمان ثبت اسناد و املاک کشور



۰۱۰۳۵۱ الف/۸۹

مشخصات مالک: پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، ، نشانی: کیلومتر ۱۵ اتوبان تهران-کرج، شهرک پژوهش و فناوری، بلوار پژوهش، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، کد پستی: ۱۴۹۷۷۱۳۱۱۵، تابعیت جمهوری اسلامی ایران

مشخصات مخترع: فاطمه شکراللهی، پروین شکراللهی، حمید یگانه اولادآدم، شیده شانه
مشخصات کامل مخترعین ظهر گواهی ثبت ...

عنوان اختراع: افزایش دانسیته زیست-مولکول-های تثبیت شده روی سطح پلی-یورتان-اوره با کنترل شرایط سنتز

طبقه بندی بین المللی: G01;C08;B01;A61

حق تقدم:

شماره و تاریخ اظهارنامه اصلی: محل ثبت:

مدت حمایت: ۲۰ سال از تاریخ ۱۳۹۳/۰۴/۲۲ تا ۱۴۱۳/۰۴/۲۲	شماره و تاریخ ثبت اظهارنامه: ۱۳۹۳/۰۴/۲۲ - ۱۳۹۳۰۱۴۰۰۳۰۰۴۱۶۲	شماره و تاریخ ثبت اختراع: ۱۳۹۳/۱۰/۱۷ - ۸۴۷۳۷
اداره کل مالکیت صنعتی رئیس اداره ثبت اختراعات	مهرداد الیاسی	تایخ: ۹۴۴۰۳۰

مدت حمایت اختراع ۲۰ سال از تاریخ تسلیم اظهارنامه می باشد منوط به اینکه اقساط سالانه اختراع در مواعد مقرر توسط متقاضی پرداخت شود

* تمام گواهی نامه، توصیف ادعا، خلاصه توصیف و نشر

* در صورت تعدد مخترعین، مالکین و یا تغییرات مراتب شرح مذکور در گواهی نامه می باشد.

عنوان اختراع :

افزایش دانسیته زیست مولکول های تثبیت شده روی سطح پلی یورتان اوره با کنترل شرایط سنتز

زمینه فنی اختراع :

اختراع مورد نظر در زمینه علم زیست مواد و تهیه پلیمر زیست تخریب پذیر اصلاح شده توسط عوامل آبدوست نظیر زیست ماکرومولکول ها در مهندسی بافت استخوان است. پایه اصلی این پلیمر زیست سازگار و زیست تخریب پذیر، پلی یورتان اوره است که به علت ساختار مولکولی ویژه قابلیت اصلاح سطح توسط زیست ماکرومولکول ها را با بازده بالا دارد. از اینرو با ایجاد دانسیته بالای زیست- ماکرومولکول ها روی سطح پلیمر زیست سازگار، چسبندگی و تکثیر سلولهای بنیادی مشتق از چربی بطور موثری ارتقا می یابد.

مشکل فنی و هدف اختراع :

امروزه مشکلات و نواقص استخوانی بصورت مادرزادی یا در اثر حادثه از جمله عواملی است که نیاز روزافزون به ترمیم و یا جایگزینی بافت آسیب دیده را افزایش می دهد. پیوند بافت از خود شخص یا فرد اهدا کننده نیز از جمله راهکارهایی است که می تواند این نیاز ضروری را برطرف سازد. اما عوارض پس از اهدا برای هر دو فرد اهداکننده و پذیرنده همواره محققین را برآن داشته تا به راهکارهای جایگزین بیندیشند. ترمیم بافت به کمک یک ماتریس زیست سازگار، زیست تخریب پذیر و هدایت کننده فرایندهای سلولی، از جمله راهکاری است که اخیرا مورد توجه محققین قرار گرفته است.

مواد مورد استفاده در مهندسی بافت ضمن زیست سازگاری، خواص مکانیکی مناسب و زیست تخریب پذیری، باید زیست فعالی متناسب با کاربرد مورد نظر را دارا باشند. پلیمرهای سنتزی ضمن داشتن خواص مکانیکی خوب، تخریب قابل کنترل دارند. آنچه استفاده از مواد سنتزی را در کاربردهای پزشکی محدود کرده است، عدم وجود فاکتورهای زیستی روی سطح این مواد است. از آنجا که ساختار شیمیایی سطح این مواد کنترل کننده پاسخ بیولوژیکی آنهاست، تلاش های قابل توجهی برای اصلاح سطح پلیمرها به عمل آمده است. به عبارت دیگر، هدف روشهای اصلاح سطح زیست مواد (اصلاح سطح بیرونی)، بهبود برهم کنش های زیستی ضمن حفظ خواص فیزیکی- مکانیکی است. در صورت انجام صحیح اصلاح سطح، خواص مکانیکی و عملکرد پلیمر تحت تاثیر قرار نرفته و تنها زیست سازگاری مربوط به فصل مشترک با بافت ارتقا خواهد یافت.

محققین بسیاری سطح مواد پلیمری با اتصالات استری همچون پلی کاپرولاکتون (PCL) و پلی یورتان (PU) را از طریق تثبیت ماکرومولکول های طبیعی مانند ژلاتین، کلاژن و کیتوسان به کمک آمینولیز (آمینولیز در اثر حمله هسته دوست دی آمین به گروه کربونیل استر روی می دهد که این واکنش تحت شرایط بازی و در حضور حلال بی پروتون و قطبی بوده و منجر به تولید یک الکل و یک گروه آمیدی می شود)، اصلاح و نتایج موثر اصلاح را بر رفتار سلولی گزارش کرده اند، اما دانسیته

گروههای آمینی این پلیمرها پس از واکنش آمینولیز در حد بسیار محدودی (چند نانو مول) بوده است. از آنجا که ماکرومولکول های طبیعی مانند ژلاتین قابلیت شبیه سازی محیط طبیعی سلول را دارند، حضور این مواد روی سطح بر روند رشد، تکثیر و تمایز سلولی بسیار موثر بوده و با افزایش دانسیته ماکرومولکول طبیعی تثبیت شده روی سطح رشد و تکثیر سلول ها افزایش می یابد. به منظور افزایش دانسیته ماکرومولکول طبیعی بر سطح باید توانایی افزایش دانسیته گروههای عاملی اولیه ایجاد شده بر سطح پلیمر (که در این تحقیق، گروههای آمینی ایجاد شده از طریق واکنش آمینولیز است) وجود داشته باشد. دلیل این امر آن است که تنها توسط گروههای آمینی اولیه می-توان زیست ماکرومولکولهای بیشتری بر سطح تثبیت نمود. جهت افزایش بازده دانسیته گروههای آمینی راهکارهای ذیل وجود دارند:

۱. بهره گیری از مولکول های واکنشگر چندعاملی همچون پلی اتیلن ایمین،
۲. طراحی ساختار پلیمر جهت افزایش واکنش بین گروههای عاملی موجود در ساختار و جزء واکنشگر.

در این اختراع افزایش بازده دانسیته گروههای آمینی از طریق روش دوم مد نظر است. جهت نیل به این هدف نوع خاصی از پلی یورتان اوره مورد استفاده قرار گرفت. در سنتز این پلیمر، با ایجاد گروههای فعال ایزوسیاناتی در محل، ماکرومونومرهای نوع AB تشکیل شده و از واکنش آنها با یکدیگر، ساختاری منظم با حداکثر جدایی فازی و حداقل نیروهای جاذبه دوربرد مابین فاز نرم (پلی کاپرولاکتون (PCL)) و فاز سخت (گروههای یورتان و اوره) تشکیل می شود. چنین ساختاری، درجه آزادی سگمنت های فاز نرم را افزایش داده و لذا امکان واکنش گروههای استری موجود در پلی استر فاز نرم با واکنشگر دی آمینی بکار رفته برای عامل دار کردن پلیمر، افزایش می یابد.

شرح وضعیت دانش فنی پیشین :

در اختراع A ۱۹۷۵/۳۸۷۲۰۷۴ US پیوندهای استری آمینولیز شده اند. که برای دستیابی به بازده مناسب از کاتالیزورهای برپایه ان-هیدروکسی استفاده شده است. همچنین در اختراع A ۱۹۸۱/۴۴۲۰۰۹ جهت تثبیت مولکول ها از آمینولیز استفاده شده و حتی پلیمرهای بدون اتصالات استری به نحوی اصلاح شده اند تا در نهایت توانایی واکنش موثر آمینولیز را داشته باشند.

ارائه راه حل برای مشکلات فنی اختراع :

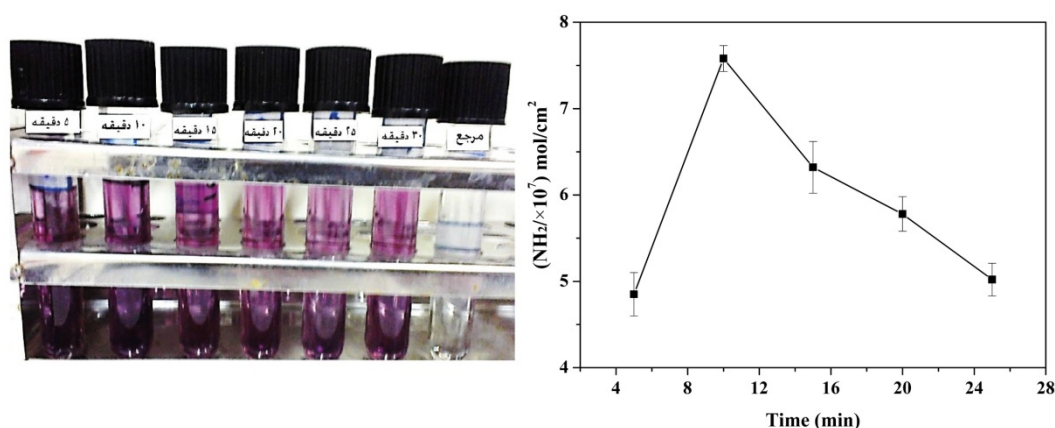
در این اختراع پلی یورتان اوره برپایه $PCL(M_n 2000 \text{ Da})$ و هگزامتیلن دی ایزوسیانات بعنوان مونومرهای اولیه در راکتوری مجهز به ورودی گاز نیتروژن، کندانسور و همزن مکانیکی سنتز می-شود. در مرحله ابتدایی دو مونومر مذکور در دمای $70-100^\circ\text{C}$ به مدت ۳-۵ ساعت برای تهیه پیش پلیمر مختوم به دی ایزوسیانات با هم واکنش می دهند. در پایان این مرحله، بنزوئیک اسید به

نسبت استوکیومتری با پیش پلیمر به سیستم اضافه می‌شود. واکنش در مرحله دوم در دمایی بین $20-50^{\circ}\text{C}$ ، طی حدود ۱۰-۲۴ ساعت انجام می‌شود. پس از اختتام واکنش، محصول پلیمری در آب یا متانل رسوب داده می‌شود. آزمون‌های مشخصه شناسی NMR و FTIR جهت تایید ساختار پلیمر سنتز شده بکار گرفته شدند.

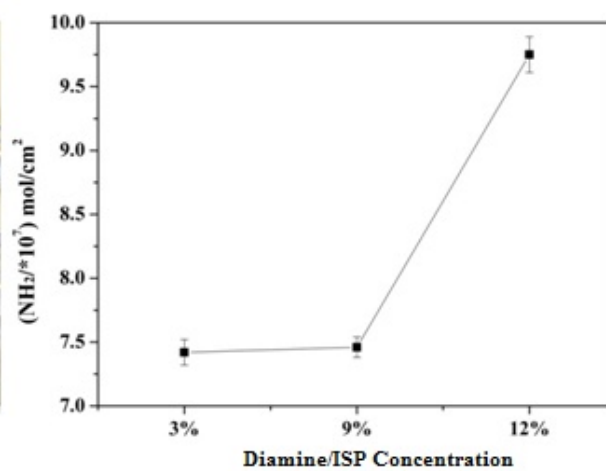
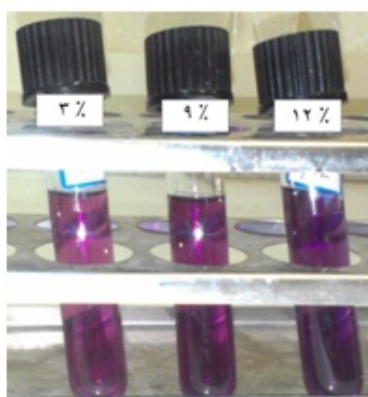
در مرحله اصلاح سطح، فیلم پلی‌یورتان‌اوره در غلظت، دما و زمان‌های مختلف در محلول واکنشگر دی آمین آلیفاتیک/ایزوپروپانول آمینولیز می‌شود. جهت مقایسه میزان دانسیته گروه‌های آمینی بر سطح پلیمر سنتز شده، پلیمرهای پلی‌کاپرولاکتون (خریداری شده از شرکت مرک) و پلی‌یورتان (سنتز شده بر پایه پلی‌کاپرولاکتون (جرم مولکولی ۲۰۰۰)، هگزامتیلن‌دی‌ایزوسیانات و زنجیرافزاینده الکلی) نیز آمینولیز شدند.

جهت تعیین کمی گروه‌های آمینی روی سطح نمونه‌های آمینولیز شده، از روش رنگ‌سنجی نین-هیدرین استفاده می‌شود. در این روش معرف نین‌هیدرین فیلم‌های آمینولیز شده را رنگی کرده و پس از انحلال فیلم‌های رنگی در حلال، جذب هریک از نمونه‌ها توسط دستگاه طیف‌نمای UV در ناحیه مرئی خوانده می‌شود.

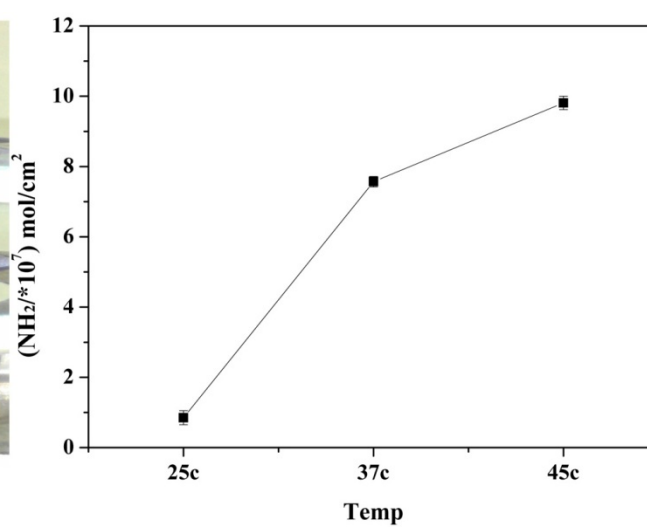
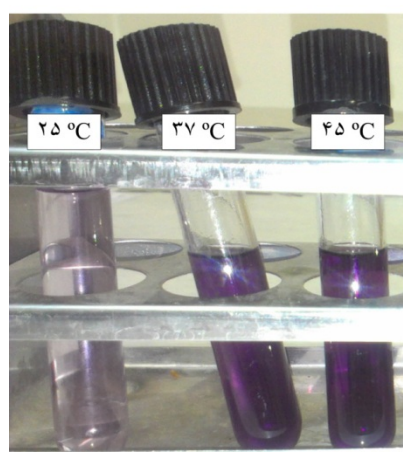
توضیح اشکال و نمودارها:



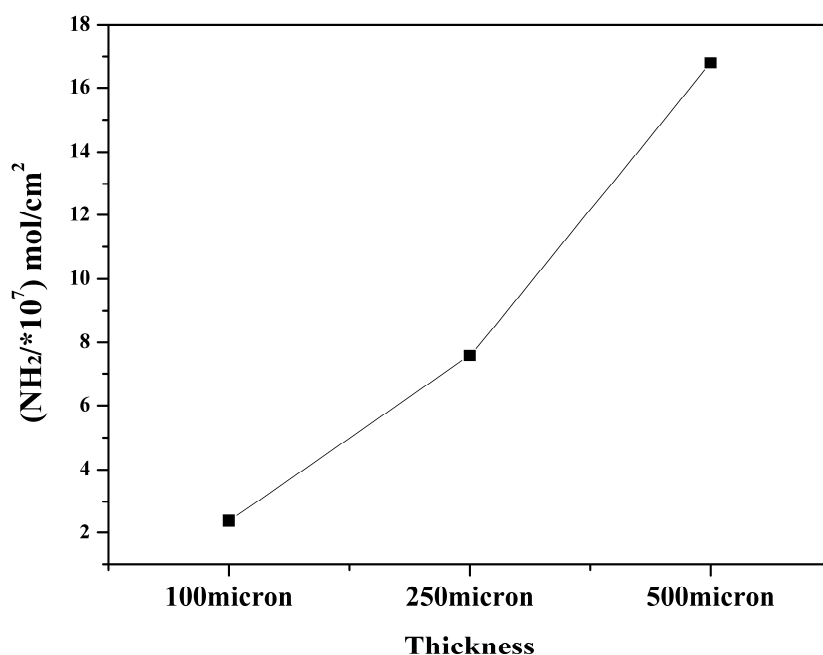
شکل ۱



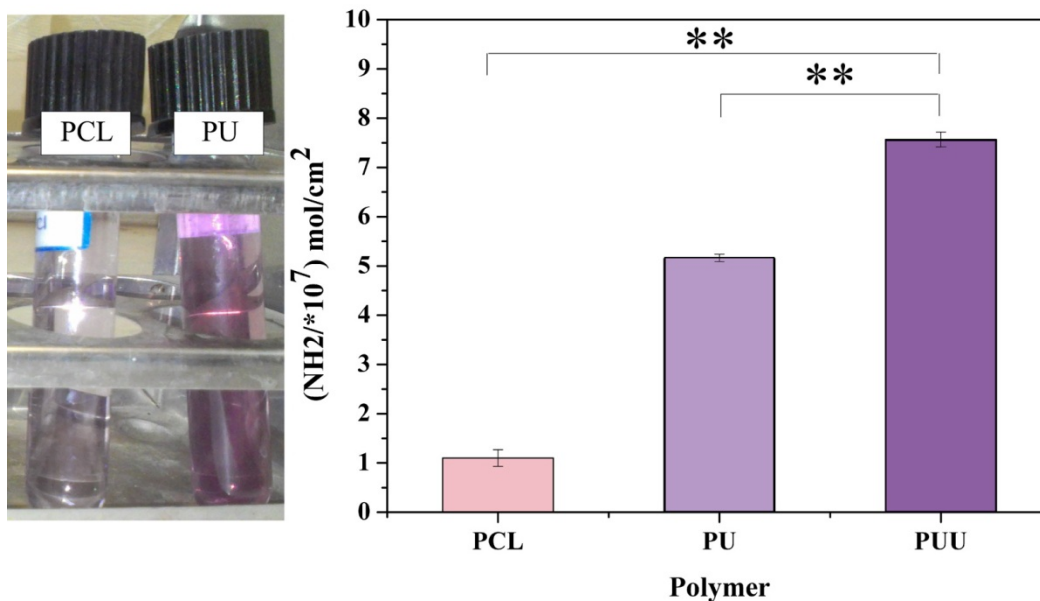
شکل ۲



شکل ۳



شکل ۴



شکل ۵

شکل ۱، نمودار تغییرات دانسیته گروه‌های آمینی ایجاد شده روی سطح پلی‌یورتان‌اوره، (مول بر سانتی‌متر مربع) با زمان (غلظت ۱۰٪ دی‌آمین آلیفاتیک/ایزوپروپانول و ۳۷°C).

شکل ۲، نمودار تغییرات دانسیته گروه‌های آمینی ایجاد شده روی سطح پلی‌یورتان‌اوره، مول بر سانتی‌متر مربع) با غلظت محلول واکنش‌گرددی آمین آلیفاتیک/ایزوپروپانول (در زمان ۱۰ دقیقه و دمای ۳۷°C)

شکل ۳، نمودار تغییرات دانسیته گروه‌های آمینی ایجاد شده روی سطح پلی‌یورتان‌اوره، (مول بر سانتی‌متر مربع) با دما (غلظت ۱۰٪ دی‌آمین آلیفاتیک/ایزوپروپانول و زمان ۱۰ دقیقه).

شکل ۴، نمودار تغییرات دانسیته گروه‌های آمینی ایجاد شده روی سطح پلی‌یورتان‌اوره، (مول بر سانتی‌متر مربع) با ضخامت فیلم (غلظت ۱۰٪ دی‌آمین آلیفاتیک/ایزوپروپانول، ۳۷°C و زمان ۱۰ دقیقه).

شکل ۵، نمودار تغییرات دانسیته گروه‌های آمینی ایجاد شده روی سطح پلی‌یورتان‌اوره، (مول بر سانتی‌متر مربع) با پلیمرهای مختلف (غلظت ۱۰٪ دی‌آمین آلیفاتیک/ایزوپروپانول، ۳۷°C و زمان ۱۰ دقیقه).

مزایای اختراع :

با توجه به ساختار مولکولی پلیمر سنتز شده، توانایی اصلاح سطح این پلیمر نسبت به پلیمرهایی همچون پلی‌یورتان (PU) و پلی‌کاپرولاکتون (PCL) بسیار بالاتر است. زیست‌سازگاری این پلیمر با داشتن پتانسیل تثبیت ماکرومولکول‌های طبیعی زیست‌فعالی هم چون ژلاتین و کیتوسان روی سطح خود با دانسیته بالا و در نتیجه بهبود آبدوستی سطح، تضمین می‌شود.

توضیح حداقل یک روش اجرایی برای به کارگیری اختراع :

الف) آمینولیز فیلم‌های تهیه شده:

پلی‌یورتان‌اوره سنتز شده با غلظت مناسب در حلال کلروفرم حل می‌شود. سپس از طریق ریخته‌گری محلول در قالب، فیلم تهیه می‌شود. در مرحله بعد فیلم‌ها به ابعاد $1 \times 1 \text{ cm}$ برش داده می‌شود. واکنش آمینولیز برای پلی‌یورتان‌اوره در غلظت‌های ۰.۳٪، ۰.۹٪، ۱۰٪ و ۱۲٪ محلول دی‌آمین آلیفاتیک/ایزوپروپانول، دماهای ۲۵°C، ۳۷°C و ۴۵°C و زمان‌های متفاوت انجام می‌شود. پس از آمینولیز، هر یک از فیلم‌ها توسط آب دوبار تقطیر بطور مرتب و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C شست و شو داده می‌شوند تا گروه‌های آمینی آزاد واکنش نکرده از سطح شسته شوند.

ب) تعیین کمی گروه‌های آمینی تثبیت شده روی سطح

جهت تعیین کمی گروه‌های آمینی روی سطح پلی‌یورتان‌اوره آمینولیز شده از روش رنگ سنجی نین‌هیدرین استفاده می‌شود. فیلم‌ها پس از شست‌وشوی کامل و خشک شدن در آون خلاء، در محلول ۱ مولار نین‌هیدرین/اتانول به مدت ۱ دقیقه غوطه‌ور می‌شوند و سپس به مدت پانزده دقیقه در دمای ۸۰°C قرار داده شده و پس از تبخیر اتانول جذب شده، نمونه‌ها در محلول کلروفرم حل می‌شوند. پس از انحلال کامل، به محلول ایزوپروپانول افزوده می‌شود تا محلول رنگی، پایدار بماند. در نهایت جذب نمونه‌ها به کمک دستگاه طیف‌نمای UV در ناحیه مرئی ۸۰۰-۴۰۰ nm اندازه‌گیری می‌شود. با کمک منحنی کالیبراسیون تغییرات مقدار جذب با غلظت که توسط دی‌آمین آلیفاتیک و نین‌هیدرین در غلظت‌های مختلف بدست آمده، مقدار گروه‌های آمینی محاسبه می‌شود.

کاربرد صنعتی اختراع:

با توجه به قابلیت بسیار بالای این پلیمر در تثبیت ماکرومولکول‌های طبیعی و همچنین تاثیر قابل ملاحظه این مولکول‌ها در رشد، تکثیر و تمایز سلولی، استفاده از این پلیمر در کاربردهای پزشکی

مانند داربست های استخوانی می تواند بصورت چشمگیری موثر واقع شود. بعلاوه، در بین روش های اصلاح سطح، آمینولیز روشی بسیار ساده و قابل دسترس، بدون نیاز به تجهیزات پیچیده و گران، و با صرف هزینه کم از نظر مواد و انرژی است.

در پایان توجه به این مسئله حائز اهمیت است که داربست های پلی یورتان اوره اصلاح شده مورد بحث، بدلیل دانسیته بالای ماکرومولکول های تثبیت شده روی سطح، در مهندسی بافت ورشد، تکثیر و تمایز سلول های بنیادی بسیار موثرتر از پلیمرهایی چون PCL و PU عمل میکند.