

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

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 ۸۱۷۴۶-۷۳۴۴۱

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

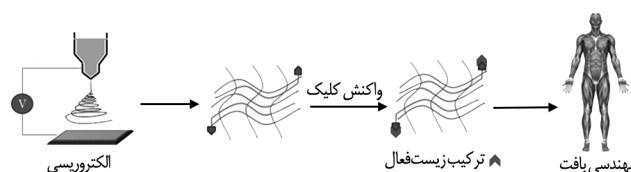
واژگان کلیدی

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

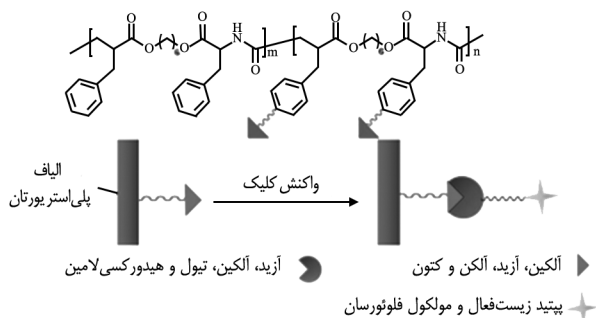
مقدمه

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 به عنوان 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 کنترل شده‌ای 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 کنترل شده 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].



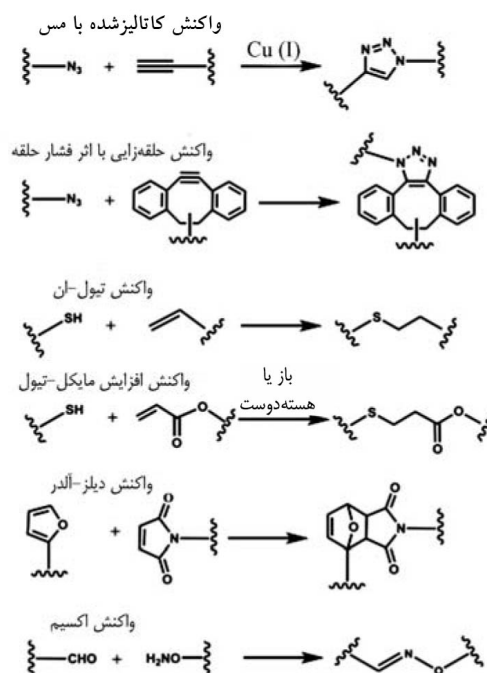
شکل ۲- سنتز و اصلاح نانوالیاف پلی (استر-اوره) [۴].

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 فلئوئورسان 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 انجام شده 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



شکل ۳- انواع واکنش های کلیک و سازوکار آن ها.

سمیت مس است، ظهور واکنش حلقه زایی بدون فلز، فرصت های استفاده در شرایط فیزیولوژیکی عمومی را گسترش می دهد. واکنش SPAAC که توسط Bertozzi و همکاران توسعه داده شد، در دهه اخیر مورد توجه قرار گرفت. حلقه اکین و آزیدها، ترکیبات درگیر در واکنش بوده که محصول ۳،۲،۱-تری آزول با ساختار پایداری را به وجود می آورد. این واکنش کلیک در اصلاح پروتئین و اولیگونوکلئوتیدها کاربرد گسترده ای یافته است [۷].

تیول-X

واکنش تیول-X نوعی واکنش هیدروتیول دار کردن است که از طریق افزودن گروه های تیول (SH) به پیوندهای دوگانه کربن-کربن (C=C) انجام می شود. به طور کلی، این واکنش به دو روش افزایش رادیکالی و افزایش مایکل انجام پذیر است. تاکنون واکنش تیول-X، در اصلاح شیمیایی پلیمرها با زیست مولکول ها و همچنین سنتز هیدروژل ها، تهیه شبکه های پلیمری، پوشش ها و فیلم ها مورد توجه بوده است [۶].

دیلز-آلدر (Diels-Alder)

واکنش دیلز-آلدر نوعی واکنش افزایشی مزدوج بین دیان و دیان دوست (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 ساده ای برای طراحی مواد خودترمیم به شمار می رود [۸].

اکسیم

واکنش اکسیم نوعی واکنش تراکمی بین گروه های کتون-آلدهید و هسته دوست های پایداری مانند هیدرازین و آلکوکسی آمین است. پیوندهای هیدرازون و اکسیم تشکیل شده طی واکنش، پایداری مناسبی در شرایط فیزیولوژیکی بدن دارند. در این واکنش، آب به عنوان محصول جانبی تولید می شود. شتاب دهی به واکنش، نیازمند شرایط اسیدی ضعیف است که کاربرد آن را در محیط های زیستی محدود می سازد. از این رو، توسعه سامانه های کاتالیزگر در این زمینه بسیار مورد توجه است [۶].

پس اصلاح نانوالیاف با واکنش های کلیک

حلقه زایی آزید-آلکن کاتالیز شده با مس (CuAAC)

واکنش های آزیدها و آلکین های آلی که به وسیله گونه های مس کاتالیز می شوند، نمونه های اولیه شیمی کلیک هستند. واکنش یاد شده که در

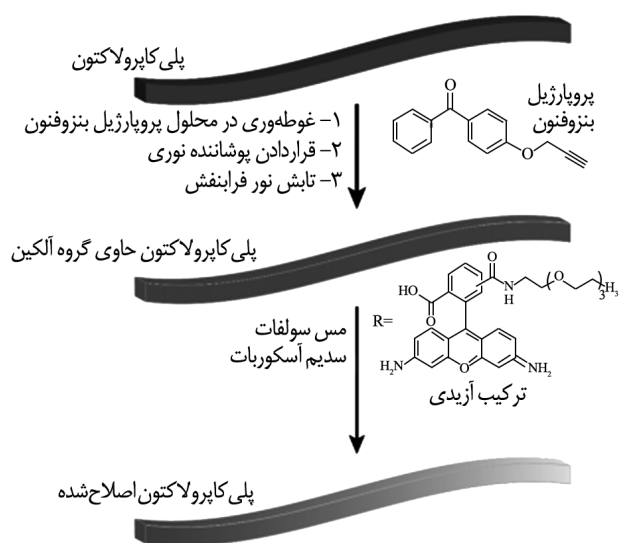
اشاره کرد. از واکنش های معروف کلیک می توان به واکنش های حلقه زایی آزید-آلکن کاتالیز شده با مس (Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, CuAAC) اشاره کرد. این واکنش به دمای زیاد نیاز دارد و از این رو برای زیست مولکول ها مضر است. در آغاز قرن بیستم، Meldal و Sharpless به طور مستقل حلقه زایی آزید-آلکن کاتالیز شده با مس را گزارش کردند که به عنوان اولین واکنش کلیک معرفی شد. از مزایای این واکنش می توان به امکان انجام آن در محیط آبی و گزینش پذیری زیاد اشاره کرد. این ویژگی ها، سبب کاربرد گسترده واکنش CuAAC در اصلاح زیست مولکول هایی چون پلی پپتیدها، نوکلئیک اسیدها و پلی ساکاریدها شده است [۶].

حلقه زایی آزید-آلکن کاتالیز شده با مس (CuAAC)

واکنش حلقه زایی اولیه که به حلقه زایی Huisgen معروف است، میان گروه های آزید و آلکین انجام شده و ترکیب ۳،۲،۱-تری آزول را ایجاد می کند. این واکنش به دمای زیاد نیاز دارد و از این رو برای زیست مولکول ها مضر است. در آغاز قرن بیستم، Meldal و Sharpless به طور مستقل حلقه زایی آزید-آلکن کاتالیز شده با مس را گزارش کردند که به عنوان اولین واکنش کلیک معرفی شد. از مزایای این واکنش می توان به امکان انجام آن در محیط آبی و گزینش پذیری زیاد اشاره کرد. این ویژگی ها، سبب کاربرد گسترده واکنش CuAAC در اصلاح زیست مولکول هایی چون پلی پپتیدها، نوکلئیک اسیدها و پلی ساکاریدها شده است [۶].

حلقه زایی آزید-آلکن پیش برده با کشیدگی (SPAAC)

با توجه به محدودیت های واکنش CuAAC که از مهم ترین آن ها

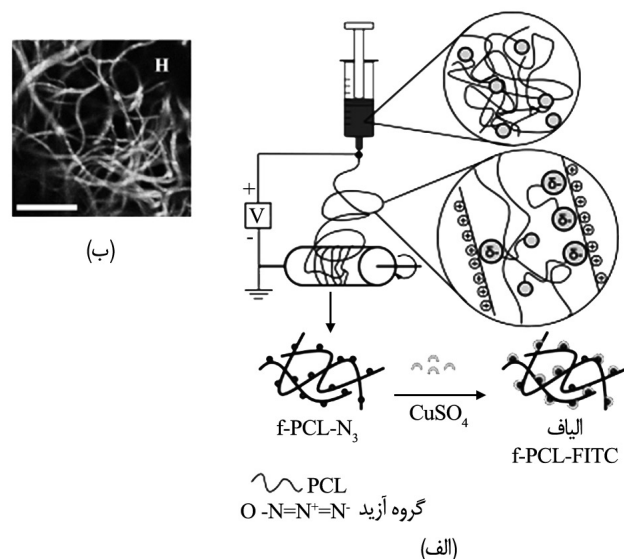


شکل ۵- طرح واکنش اصلاح الیاف PCL برای اتصال پپتید IKVAV [۱۲].

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 جانشینی کلر با گروه آزید انجام شد [۱۱].

لامینین و پپتیدهای مشتق از لامینین، مانند ایزولوسیل-لیزین-والیل-آلانین-والین (IKVAV) ترکیبات شناخته‌شده‌ای برای تقویت چسبندگی یاخته‌ای و القای رشد یاخته‌های پیش‌ساز عصبی هستند. Kim و همکاران با استفاده از واکنش‌های کلیک تثبیت گرایانی پپتیدهای IKVAV را روی الیاف کوآکسترونده گزارش کردند. تثبیت گرایانی 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].

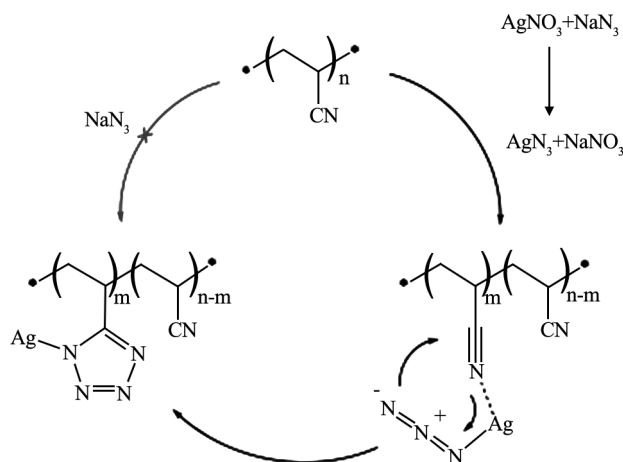
در گزارش دیگری Huang و همکاران، الیاف کوپلیمر پلی‌(وینیل الکل) و پلی‌اتیلن را با سیانوریک اسید اصلاح کردند. آن‌ها توانستند طی یک واکنش جانشینی گروه‌های آزید و آلکین را روی آن تعبیه کنند که متعاقباً قابلیت اتصال گونه‌های دیگر را پیدا کرد. بررسی‌ها نشان داد، برای تثبیت سولفوتائین‌ها روی الیاف کوپلیمر، 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. تعبیه‌کردن 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 ایزوتیوسیانات (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 الکترونیسی با ترکیب پروپارژیل- α -D-مانوزید اصلاح می‌شوند، زیست‌فراهمی کربوهیدرات نسبت به حالتی که پیش از فرایند ریسیده‌شدن با روش دیگری به PCL متصل شده باشد، افزایش چشمگیر می‌یابد که نقش پس‌اصلاح الیاف را نشان می‌دهد [۱۰].

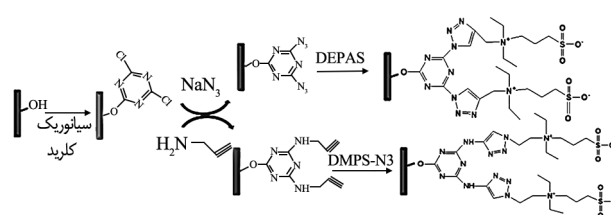
فتالوسیانین‌ها ترکیبات حساس به نوری هستند که در نوردرمانی بیماری سرطان استفاده می‌شوند. Chang و همکاران، روش



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 گزارش های زیادی از حلقه زایی کاتالیز شده با مس برای عامل دار 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 روش ها بسیار مطلوب به شمار می روند. واکنش حلقه زایی آزید-آلکن پیش برده با کشیدگی (SPAAC) به عنوان جایگزین مناسب بدون فلز برای واکنش کلاسیک CuAAC ارائه شده است. Becker و همکاران، عامل دار کردن الیاف الکتروریسی شده را براساس SPAAC گزارش کردند. در این کار، پلیمرهای پلی (۷-بنزیل-L-گلوتامات) (PBLG) که حاوی یک گروه عاملی سیکلوکتین در انتهای زنجیر هستند، الکتروریسی شده و سپس به دلیل فشار حلقه به راحتی وارد واکنش می شوند. از پلیمر شدن حلقه گشای ۷-بنزیل-L-گلوتامات-N-کربوکسی انیدرید برای سنتز پلیمر واکنش دهنده به آزید استفاده شد (شکل ۹). نانوذرات حاوی گروه آزید نیز می توانند در سطح الیاف تثبیت شوند که در زمینه تشخیص و درمان بیماری، تصویربرداری و انتقال دارو و ژن می توانند 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-دی بنزوسیکلوکتینول (DIBO) با وجود اکتوات قلع انجام شد. امکان اتصال گروه های آزید بر الیاف با اتصال رنگ دانه حاوی آزید با تصاویر فلوئورسان تأیید شد (شکل ۱۰) [۱۸].

Philip و همکاران با روش مشابهی، الیاف PCL را با

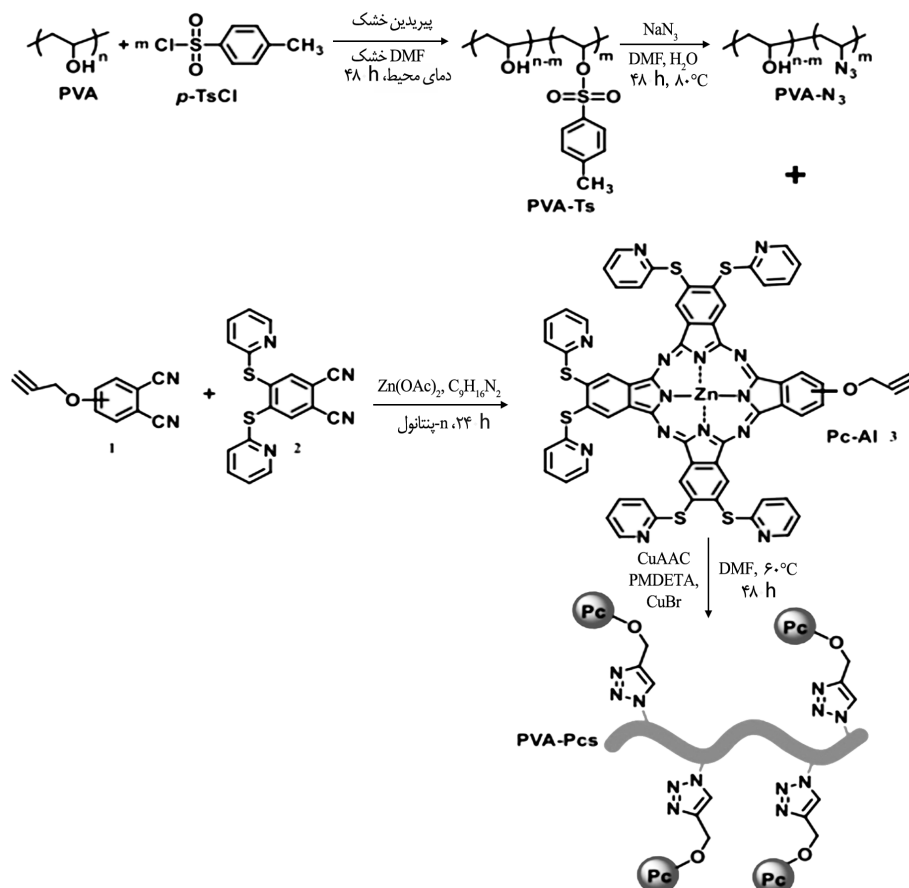


شکل ۶- اصلاح سطح نانوالیاف کوپلیمر پلی اتیلن-پلی (وینیل الکل) با سولفوتائین [۱۳].

الیاف به دلیل بازدهی واکنش بعدی تثبیت، بهتر از آزیدی کردن آنهاست. سولفوتائین ها یون های دوقطبی (zwitterion) هستند که خاصیت ضدخزه را در نمونه ایجاد می کنند (شکل ۶) [۱۳].

بیوتین از مولکول هایی است که با تثبیت روی نانوالیاف، کارایی زیستی آنها را بسیار افزایش می دهد. Goodge و همکاران، توانستند با استفاده از واکنش آزید-آلکن، مولکول های بیوتین را روی نانوالیاف سلولوز استات تثبیت کنند. بدین منظور، الیاف سلولوز استات تهیه شده و سپس گروه های آلکن طی واکنش با پروپارژیل برومید روی نانوالیاف ایجاد شد. در ادامه، امکان تثبیت مولکول های بیوتین با وجود کاتالیزگر مس سولفات میسر و برای خالص سازی، الیاف حاصل به مدت سه روز در آب غوطه ور شدند. میزان ماندگاری بیوتین روی سطح تحت زمان و محیط نگهداری الیاف است [۱۴].

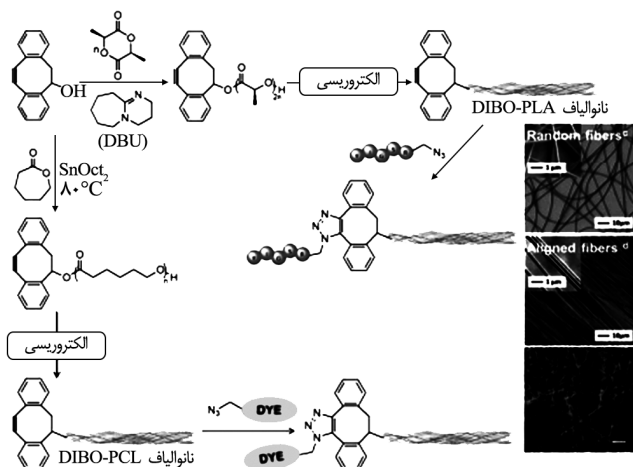
افزون بر ترکیبات مس، ترکیبات دیگری نیز به عنوان کاتالیزگر واکنش آزید-آلکن استفاده شده که برخی در زمینه اصلاح پلیمرها نیز به کار برده شده است. Wang و همکاران، از ذرات نقره بدین منظور استفاده کردند که می توانند ضمن آسان سازی واکنش حلقه زایی به عنوان عامل های شبکه ای کننده و ضدباکتری نیز در الیاف پلی (آکریلونیتریل) وجود داشته باشند. بدین منظور لازم است، ابتدا نقره آزید از واکنش نیترات و سدیم آزید تشکیل شده تا بتواند به عنوان 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 می کند. ترکیبات ضدباکتری برپایه روی نیز در بستر کمپلکس های فتالوسیانیین روی الیاف تثبیت می شوند و خاصیت ضدباکتری زیادی را نشان می دهند. در پژوهشی که در این زمینه انجام شده است، پلیمر پلی (وینیل الکل) طبق شکل ۸ با گروه های آزید اصلاح شده و قابلیت اتصال به کمپلکس روی فتالوسیانیین را دارد. نتایج حاصل، حاکی از کاهش میزان آب دوستی و افزایش خاصیت ضدباکتری با افزایش درجه اصلاح است [۱۶].



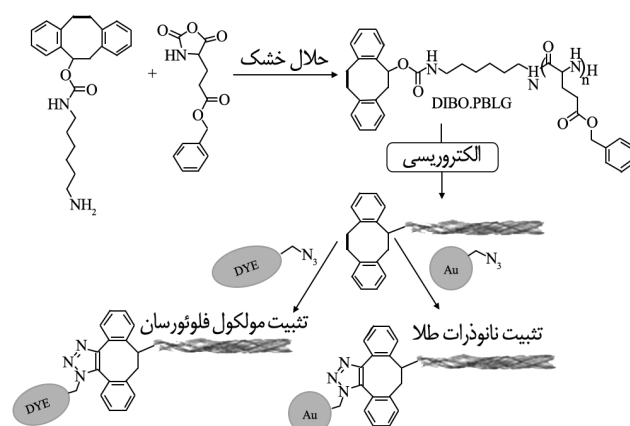
شکل ۸- مسیر کلی تهیه پلی (وینیل الکل) حاوی فتالوسیانین از طریق شیمی کلیک CuAAC [۱۶].

[۱۹]. وجود گروه‌های متنوع کلیک‌پذیر بر نانوالیاف، امکان اتصال زیست‌مولکول‌های 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

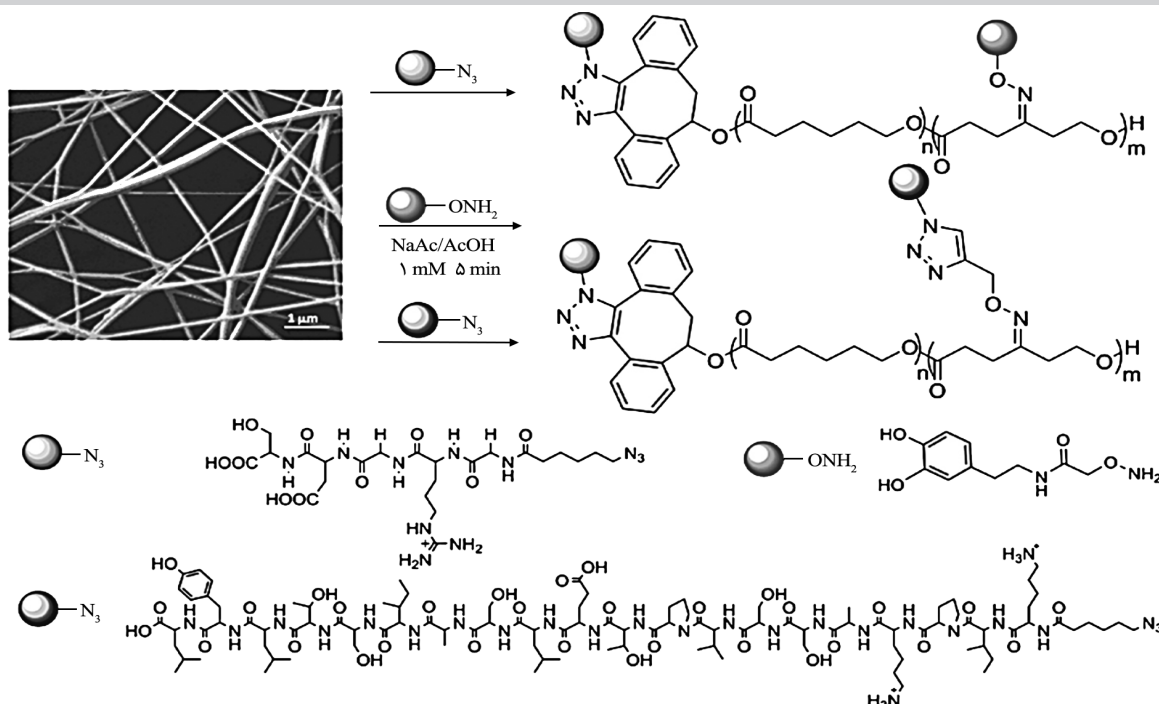
گروه‌های RGD اصلاح کردند که میزان بیان ژن و پروتئین‌ها برابر با نمونه‌های خالص RGD بود. سطح زیاد پروتئین اسیدی رشته‌ای گلیال در مراحل اولیه حاکی از پیش‌سازهای عصبی (neural progenitors) بوده که نسبت به نمونه کنترل و گزارش‌های موجود در منابع علمی بسیار سریع‌تر رخ داده بود



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



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



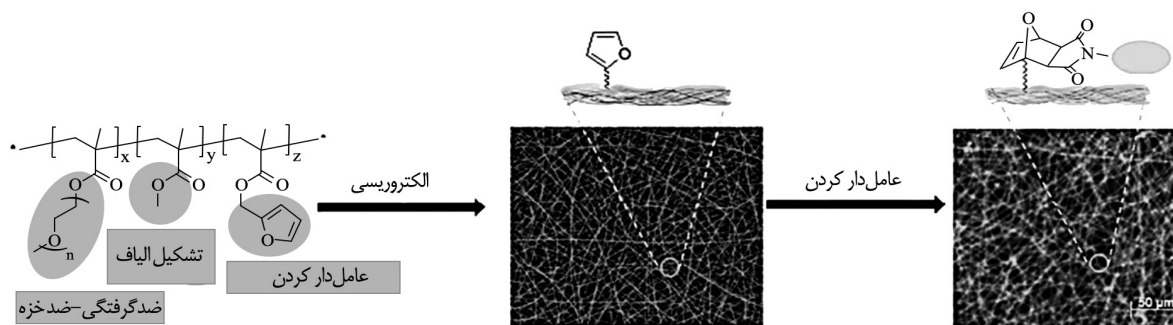
شکل ۱۱- اصلاح نانوالیاف تهیه شده از کوپلیمر پلی (کاپرولاکتون) و تری اکسایپرو [۶.۴]-۹-آن دکانون به سه طریق مختلف [۲۱].

واکنش دهنده نیروی محرکه واکنش کلیک بود و نیازی به استفاده از کاتالیزگر مس نبود. یاخته های بنیادی جنینی موش (mESC) روی نمونه های اصلاح شده و اصلاح نشده با پپتید کشت داده شدند. نتایج نشان داد، در حالت اصلاح شده، میزان بیان بتاتولومبین (TUI1)، رشد یاخته های عصبی بیان ژن نشانگرهای عصبی بیش از حالت اصلاح نشده بوده است [۲۲].

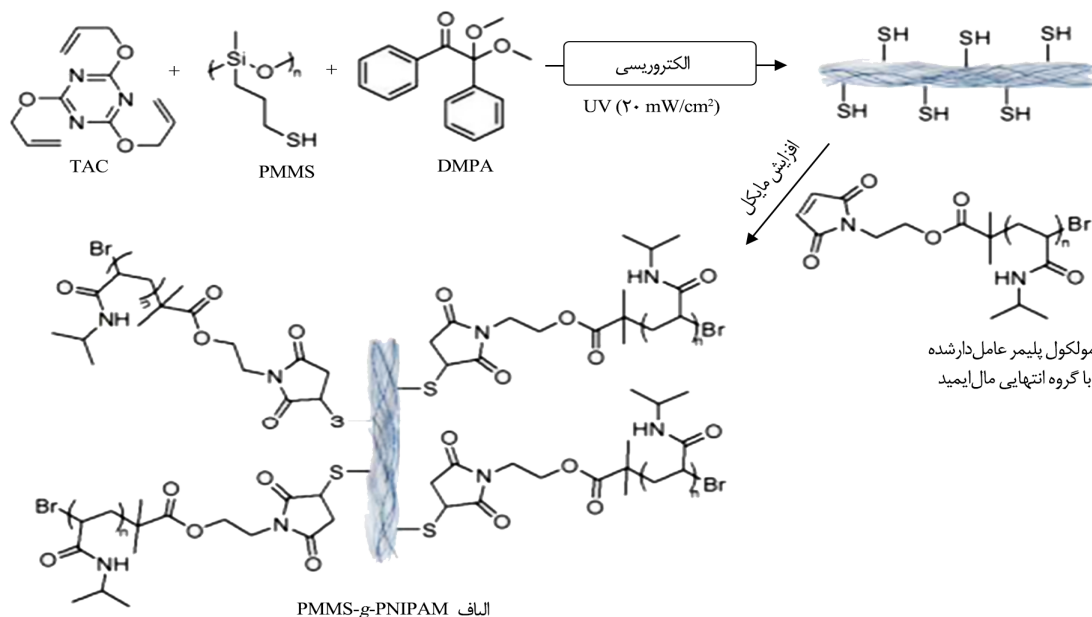
دیلز-آلدر

واکنش های دیلز-آلدر را می توان به دلیل سادگی و بازده زیاد به عنوان واکنش های کلیک طبقه بندی کرد. پژوهش های زیادی درباره این واکنش ها به دلیل گستره وسیع مواد اولیه، هم در زمینه ترکیبات آلی کوچک مولکول و هم پلیمری انجام شده اند. Altan

تیروزیل-ایزولوسیل-گلیسین-سرین-آرژینین (Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg) قابلیت اتصال روی الیاف PCL را داشتند که موجب آسان شدن تکثیر یاخته های شوآن (Schwann) شده و سازه های نویدبخشی در بازسازی اعصاب محیطی محسوب می شوند [۲۰]. در پژوهش مشابهی، سه ترکیب GRGDS، دوپامین و پپتید BMP-2 با سه نوع واکنش کلیک اکسیم، حلقه زایی 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 مولکول ها بر سطح نانوالیاف آسان می شود [۲۱]. در پژوهش دیگری، الیاف پلی (L-لاکتیک اسید) که از دو سر با گروه های دی بنزوسیکلوآکتینول 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].



شکل ۱۳- تهیه و اصلاح الیاف از طریق واکنش رادیکالی و هسته دوستی تیول-ان [۲۵].

واکنش از طریق افزایش مایکل تیول-مال ایمید انجام شد [۲۵].
 An و همکاران، اصلاح نانوالیاف سلولوز با گروه‌های تیول را گزارش کردند. بدین منظور، الیاف سلولوز استات تهیه شده و پس از استیل زدایی، طی واکنش با ۳،۳-دی تیودی پروپیونیک اسید، الیاف سلولوز تیول دار شده به دست آمد که با سه طریق اصلاح پذیر 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 الیاف کربوهیدرات برای کاربردهای مختلف معرفی شد [۲۶].

سایر روش‌ها

نانوالیاف 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، نانوالیاف سلولوز استات و پلی (۳-فلوئوروسولفونیل) پروپیل متاکریلات (PFPM) را با واکنش جدید کلیک با عنوان تبادل سولفور (IV)-فلوئورید (SuFEx) عامل دار کردند که درجه اصلاح آن با نسبت پلیمرها کنترل پذیر بود. SuFEx واکنش سولفونیل کلرید (SO₂F-) یا فلوئوروسولفات (OSO₂F-) با سیلیل اتر بوده که با سرعت و بازدهی زیاد انجام پذیر است و الیاف حاوی سولفونیل فلوئورید را با زیست مولکول‌های سیلیل اتر عامل دار ایجاد می‌کند (شکل ۱۴) [۲۷].

همکاران، نانوالیافی برپایه کوپلیمرها را طراحی کردند که در شرایط ملایم قابلیت انجام واکنش دیلز-آلدرا 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 آب دوست و آب گریز در محیط آبی افزایش می‌یابد. عامل دار کردن الیاف حاصل به وسیله لیگاندها و مولکول‌های حاوی مال ایمید مانند بیوتین اصلاح شده با مال ایمید می‌تواند انجام شود. نانوالیاف بیوتین دار شده، قابلیت جذب و تسهیل تثبیت پروتئین استرپتاویدین و نقاط کوانتومی پوشش یافته با استرپتاویدین را دارند [۲۳].
 در گزارش اخیر، کوپلیمرهای برپایه پلی لاکتید (PLA) حاوی گروه‌های فوران و تری اتیلن گلیکول (TEG) نیز سنتز شده و برای تولید نانوالیاف الکتروریسی شدند. الیاف با واکنش دیلز-آلدرا قابلیت اتصال شیمیایی به پپتید حلقوی cRGDfK را دارند. نتایج حاکی از آن بود که وجود این پپتیدها موجب افزایش زیست سازگاری، ارتقای چسبندگی یاخته‌ای و تکثیر یاخته‌های L929 می‌شود [۲۴].

تیول-X

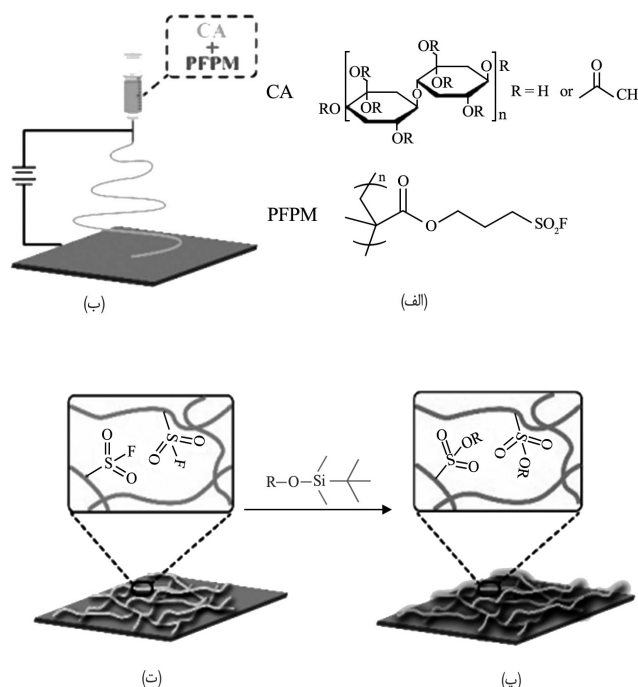
Guo و همکاران، اصلاح الیاف شبکه‌ای شده پلی (۳-مرکاپتوپروپیل) متیل سیلوکسان (PMMS) را از طریق واکنش رادیکال تیول-ان گزارش کردند (شکل ۱۳). در فرایند رسیدن، الیاف PMMS شبکه‌ای شده و تیول‌های آزاد باقی مانده را می‌توان برای اتصال زنجیرهای اصلاح شده با مال ایمید PNIPAM استفاده کرد. بدین منظور، الیاف PMMS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

نتیجه گیری

الکتروپرسی روش ساده و تطبیق پذیری برای تولید داربست های الیاف پلیمری بوده که قابلیت تقلید از ساختار ماتریس طبیعی برون یاخته ای (ECM) برای طیف گسترده ای از کاربردهای مهندسی بافت را داراست. در سال های اخیر، سازه های الکتروپرسی شده به عنوان بستر مناسب و نویدبخشی برای ساخت داربست های زیستی بوده است. در این راستا، عملکرد زیستی الیاف الکتروپرسی شده، رویکردی نوین برای طراحی ساختارهای هوشمند و کارآمد است. زیست فعالی داربست های الکتروپرسی شده را می توان با تثبیت کووالانسی زیست مولکول ها از طریق واکنش کلیک و با هدف آسان سازی چسبندگی و فعالیت های یاخته ای انجام داد. ترکیبی از فرایند الکتروپرسی و واکنش های کلیک نشانگر راهبرد امیدبخشی در طراحی و توسعه سامانه های زیستی پیشرو و هوشمند برای کاربردهای مهندسی بافت است. این راهکار می تواند نقطه شروع معتبری برای دستیابی به سامانه های زیستی تنظیم پذیر و هوشمند باشد که قابلیت تحریک و هدایت فرایند بازسازی بافت را دارند.

مراجع

1. 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.
2. 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.
3. Binder W.H. and Sachsenhofer R., 'Click' Chemistry in Polymer and Material Science: An Update, *Macromol. Rapid Commun.*, **29**, 952-981, 2008.
4. 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.
5. Yet L., Five-Membered Ring Systems: With More than One N Atom, *Prog. Heterocycl. Chem.*, **21**, 224-260, 2009.
6. 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.
7. Mbua N.E., Guo J., Wolfert M.A., Steet R., and Boons G.J., Strain-Promoted Alkyne-Azide Cycloadditions (SPAAC)



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

8. 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.
9. 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.
10. Lancuški A., Bossard F., and Fort S., Carbohydrate-Decorated PCL Fibers for Specific Protein Adhesion, *Biomacromolecules*, **14**, 1877-1884, 2013.
11. 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.
12. 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.
13. 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.

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.