

تثبیت نوری ماده سنتز شده زیستی فتوراکتیو ژلاتین توسط تابش لیزر به منظور کاربردهای

زیستی فتولیتوگرافی و چاپ سلولی

مزگان حیدری^{۱*}، مزگان باقری^۱ و منیره گنجعلی^۱

^۱ پژوهشگاه مواد و انرژی، پژوهشکده نانوفناوری و مواد پیشرفته

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۲/۴/۵، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۲/۶/۲۵، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۲/۶/۲۵

چکیده در این تحقیق که برای اولین بار در ایران انجام گرفته است، ابتدا ماده حساس به نور (گروه فتوراکتیو) و سپس ماده پروتئینی ژلاتین حاوی گروه فتوراکتیو طی یک سری فرآیندهای پیچیده شیمیائی در تاریکی سنتز شدند. این ماده پروتئینی ژلاتین عامل دار حاوی آزیدو آنیلین می تواند تحت تابش میدان الکترومغناطیسی (نور معمولی، اشعه فرابنفش، LED، لیزر و سایر میدانهای الکترومغناطیسی) تحریک شده و روی سطوح مختلف تثبیت شود و یا حتی در معرض میدانهای الکترومغناطیسی با عبور از یک فتوماسک منجر به ایجاد هر گونه طرح یا الگوی مطلوب شود. شناسایی ماده سنتز شده فتوراکتیو توسط آزمایشات مختلف از جمله طیفسنجی فرابنفش و آنالیز FT-IR مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی تثبیت فتوراکتیو ژلاتین روی سطح شیشه، تابش لیزر CO₂ بکاربرده شد. نتایج حاصله حاکی از حضور گروههای حساس به نور در ماده سنتزی فتوراکتیو ژلاتین می باشد.

کلمات کلیدی: فتوراکتیو ژلاتین، فتولیتوگرافی، میدان الکترومغناطیسی، لیزر CO₂، تثبیت نوری.

Photoimmobilization of Synthesized Photoreactive Gelatin by Laser Irradiation for Applications of Photolithography and Cell Printing

M. Heydari^{1*}, M. Bagheri¹ and M. Ganjali¹

¹ Department of Nanotechnology and Advanced Materials, Materials and Energy Research Center (MERC), Karaj, Iran

Abstract In this research, which is performed for the first time in Iran, a novel photoreactive material was synthesized by the coupling reaction of gelatin with a photo-cross-linkable material (N-(4-azidobenzoyloxy) succinimide). The synthesized material was analyzed using UV-vis spectroscopy, and FT-IR followed by immobilization onto the various surfaces of glass using laser irradiation (i.e. CO₂ Laser). Then this pattern was confirmed by optical microscopy. It is concluded that unmodified gelatin could not be immobilized onto the surfaces. This is the main advantage of this biomaterial, which shows by inserting photoreactive group, immobilization could occur, and that gelatin could be easily fixed on the various surfaces using only electromagnetic fields.

Keywords: Photoreactive Gelatin, Photolithography, Electromagnetic Field, CO₂ Laser, Photo-immobilization

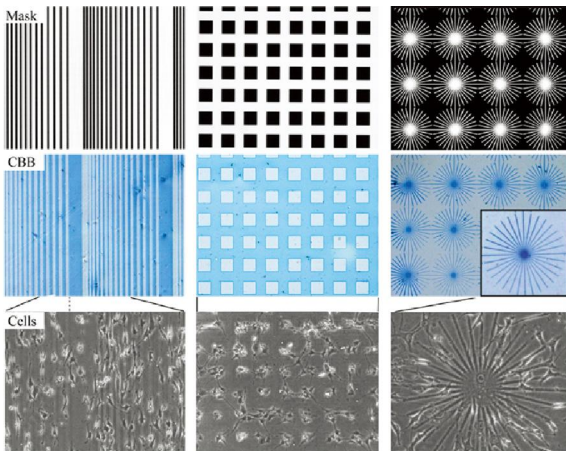
* عهده دار مکاتبات

نشانی: پژوهشگاه مواد و انرژی، پژوهشکده نانوفناوری و مواد پیشرفته، کرج، ایران

تلفن: ۰۲۶-۳۶۲۸۰۰۴۰، دورنگار: ۰۲۶-۳۶۲۰۱۸۸۸، پیام نگار: M.Heydari@merc.ac.ir

۱- مقدمه

بطور مثال پروتئین ها می توانند بطور کووالانسی به سطوح تک لایه اصلاح شده با آلکان تیول، آلکان آمینو و یا سایر زنجیرهای آلکان با گروههای انتهائی جانبی پیوند یابند. سپس با ایجاد طرحهایی در مقیاس میکرونی میتوان سلولها را وادار به رشد و مهاجرت فقط در راستای طرح نمود (شکل ۱) [۱۶].



شکل ۱. طرح دار کردن با فتوماسک (بالا)، تثبیت پروتئین (وسط) و سلولها (پائین) روی سطوح در حضور فتوماسک [۱۶].

علاوه بر کاربردهای فتولیتوگرافی می توان به کاربردهای تثبیت نوری مواد بیولوژیک اشاره کرد که امروزه بطور فراوان در علم پزشکی، دندانپزشکی و داروسازی استفاده می شود. به عنوان نمونه می توان به تثبیت نوری روکش پر کردن دندان در دندانپزشکی، همچنین بند آورنده زیستی (biosealant) در مهندسی بافت و عامل جلوگیری از چسبندگی در داروهای بعد از عمل جراحی اشاره کرد [۱]. انواع گوناگون پلیمرهای زیستی فعال در برابر نور یا حساس به نور (UV-reactive biopolymers) به منظور کاربردهای شیمیایی و پزشکی توسعه داده شده اند [۴ و ۶ و ۹].

تثبیت مولکولهای سیگنال زیستی نظیر عوامل رشد و سیتوکین ها برای توسعه مواد فعال زیستی حائز اهمیت فراوان می باشد، زیرا اینگونه مواد می توانند سهم مهمی در مهندسی

فتولیتوگرافی یک روش ایجاد طرح روی سطح می باشد که می تواند بر اثر قرار گرفتن در یک میدان الکترومغناطیسی نظیر تابش نور فرابنفش و یا لیزر انجام پذیرد [۵-۱]. هر چند این تکنیک ابتدا کاربردهای الکترونیکی داشته است، اما امروزه کاربردهای ویژه ای در فرآیندهای بیولوژیکی دارد. در واقع این پدیده اصلاح انتخابی یک سطح حساس به نور از طریق تابش نور از میان یک فتوماسک است. نتیجه آن ایجاد یک سطح انتخابی اصلاح شده مربوط به مناطق طرح دار در معرض نور و یا قسمتهای ماسک شده می باشد [۶]. خواص سطح مواد زیستی در پاسخ به بافت و سیگنالهای سلولی اهمیت ویژه ای دارد. در واقع اگر وقایع روی سطح سلول بتواند انتقال سیگنال (Signal Transduction) ویژه ای را القاء و آن را تحریک کند، متعاقب آن بیومواد با تثبیت مولکولهای بیولوژیکی، توانائی بالقوه تنظیم عملکردهای مختلف سلولی نظیر رشد (proliferation)، تمایز (differentiation) و مرگ خودکار سلولی (apoptosis) را خواهند داشت. محققین تاکنون روشهای مختلفی را برای اصلاح سطح به منظور القاء پاسخ بیولوژیکی خاص بررسی کرده اند [۷-۱۰].

از کاربردهای این طرح در پزشکی و بیوتکنولوژی می توان به ایجاد طرح و کشت سلولی هدفمند روی قسمتهای مطلوب بافت موجود زنده در سیستم های آزمایشگاهی و بدن موجودات زنده اشاره کرد [۱۱]. در واقع تکنیک ایجاد طرح (micropatterning) سطوح با گروههای عاملی بیولوژیکی، اجازه کنترل کامل در فصل مشترک ماده سوبسترات و محیط سلولی را می دهد، بدین معنی که سطوح اصلاح می شوند تا بتوانند با سلولها در جهت کنترل شده و خاص واکنش دهند. این تکنیک ایجاد طرح یک روش بسیار مفید برای مشاهده و بازبینی اثر مولکولهای بیولوژیکی تثبیت شده روی سطح می باشد [۱۵-۱۲].

قطبی حل می شود و بطور فراوان به عنوان سوبسترات بیولوژیکی برای کشت سلولی بکار می رود.

۲- مواد اولیه و تجهیزات

مواد اولیه استفاده شده در این تحقیق شامل دی متیل فرامید (Dimethylformamide)، دی اکسان (۱،۴-Dioxane)، دی سیکلوهگزیل کربودی ایمید (Dicyclohexyl Carbodimide)، آزیدوبنزوئیک اسید (Azidobenzoic acid)، هیدروکسی سوکسیمینید (Hydroxysuccinimide)، آزیدوآنیلین هیدروکلراید (Azidoaniline Hydrochloride)، ژلاتین (Gelatin)، کیسه دیالیز (seamless cellulose tube cutoff molecular weight of 10,000) می باشد که از کمپانی های Merck و Sigma-Aldrich فراهم شدند.

در این تحقیق برای تهیه فتوراکتیو ژلاتین تجهیزاتی نظیر روتاری اوپراتور (Rotary Evaporator) (مدل Laborota 4002/4003 ساخت کمپانی Heidolph آلمان) و خشک کن انجمادی (Freeze Dryer) (مدل Alpha 1-2 LD plus ساخت کمپانی Martin-Christ آلمان) مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی ماده سنتزی گروه عاملی فتوراکتیو توسط دستگاه طیف سنجی فرابنفش PerkinElmer ساخت کشور امریکا مدل Lambda 25 و از طریق آنالیز FT-IR توسط دستگاه PerkinElmer ساخت کشور امریکا مدل RXI انجام گرفت. تثبیت فتوراکتیوژلاتین روی سطح در برابر تابش لیزر CO₂ مورد بررسی قرار گرفت. برای ثبت مشاهدات مربوط به تثبیت نور لیزر از دستگاه میکروسکوپ نوری از نوع Olympus ساخت کشور ژاپن مدل Olympus BX61 استفاده شده است.

۳- نحوه انجام آزمایش

ابتدا مقادیر مناسبی از ۴-آزیدوبنزوئیک اسید (۴-N-Azidobenzoic acid) با ان-هیدروکسی سوکسیمینید (N-Hydroxysuccinimide) در حلال دی اکسان (۱،۴-Dioxane) در دمای اتاق در تاریکی مخلوط می شود. سپس دی سیکلوهگزیل کربودی ایمید (Carbodimide Dicyclohexyl) به مخلوط فوق اضافه شد و واکنش بصورت شبانه در تاریکی انجام گرفت. ماده سنتز شده توسط دستگاه روتاری اوپراتور

بافت به عنوان یک جزء داشته باشند. فرآیند تثبیت فقط تثبیت آنزیم در یک راکتور زیستی یا فعل و انفعالات گیرنده-لیگاند نمی باشد، زیرا مولکولهای سیگنال زیستی روی سلول کار می کنند که ساختار و وظایف خیلی پیچیده و مهمی دارند [۳].

تاکنون تعداد زیادی از مواد طبیعی و مصنوعی به عنوان جایگزین برای بافتهای آسیب دیده توسعه پیدا کرده اند، اما نتایج حاصله چندان رضایتبخش نبوده است. مهندسی بافت به عنوان یک جایگزین امیدبخش عمل کرده است که توسط آن اندام یا بافت توانائی تعمیر، تعویض و یا حتی تولید را می تواند داشته باشد [۱].

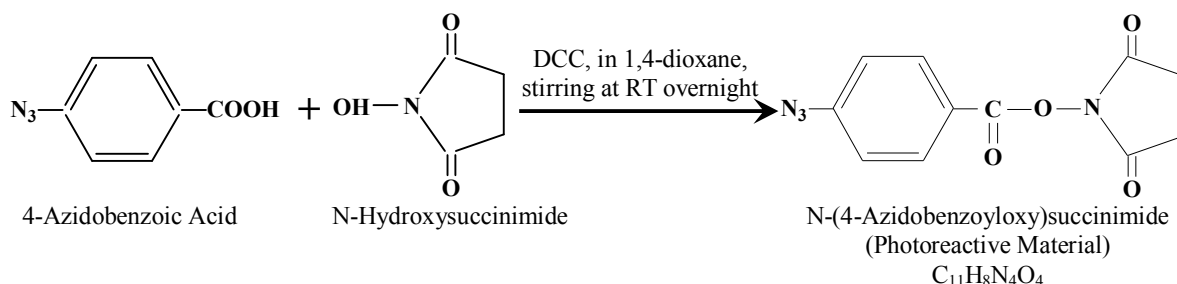
به منظور طراحی مواد زیستی، سلول ها و پروتئین ها در فصل مشترک نقش بسیار مهمی را بازی می کنند. بخصوص برای توسعه چنین مواد راکتورهای زیستی و یا مواد فعال زیستی که بتوانند تولیدمثل (باززایش) را در بدن افزایش دهند، بکاربردن پروتئین های سیگنال زیستی نظیر عوامل رشد و سیتوکین ها منطقی بنظر می رسد. اگرچه مثالهای زیادی از طراحی مواد برای چسبندگی سلول هست، اما تحقیقات کمی روی تنظیم عملکردهای بالاتر سلولی (بیان ژن یا gene expression) شامل رشد، تمایز، مرگ خودکار سلولی و تحول و تبدیل و غیره انجام شده است [۴].

در این تحقیق، از ژلاتین به عنوان یک پلیمر زیستی استفاده می شود که سپس با ماده حساس به نور (گروه فتوراکتیو) طی یک سری فرآیندهای پیچیده شیمیائی در تاریکی سنتز می شود، که این ماده حاوی آزیدو آنیلین می باشد که فعال در برابر نور بوده، فرض می شود تحت تابش میدان الکترومغناطیسی (نور معمولی، اشعه فرابنفش، LED، لیزر و سایر میدانهای الکترومغناطیسی) تحریک شده و روی سطوح مختلف تثبیت شود و یا حتی در معرض میدانهای الکترومغناطیسی با عبور از یک فتوماسک منجر به ایجاد هر گونه طرح یا الگوی مطلوب شود. در مرحله بعدی ماده پروتئینی ژلاتین طی چندین مرحله شیمیائی با گروه حساس به نور آزیدوآنیلین پیوند شیمیائی برقرار می کند.

علت انتخاب ژلاتین برای آن است که ژلاتین به عنوان فرم هیدرولیز شده کلاژن، یک پروتئین زیست سازگار بوده، به مقدار فراوان در بافتهای مختلف وجود دارد و در اکثر حلالهای

مراحل سنتز در تاریکی انجام شد تا ماده حاصله در برابر نور غیرفعال نشود.

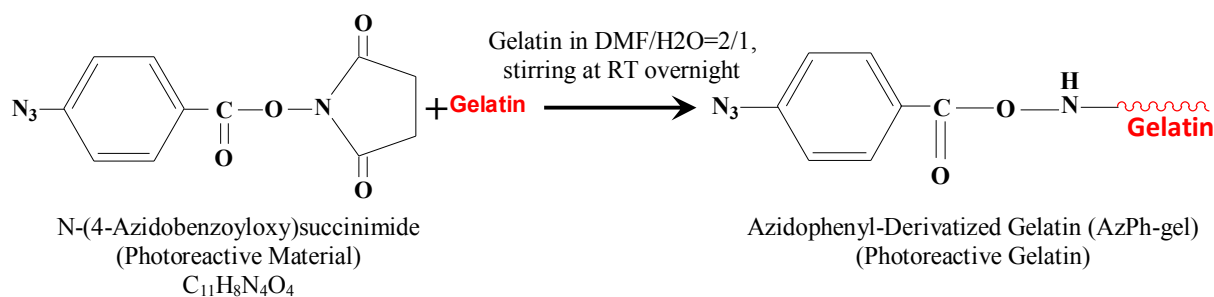
(Rotary Evaporator) تحت خلاء تغلیظ و سپس تحت فشار محتویات آن با استفاده از یک کیف بوخنر فیلتر شد. مراحل انجام واکنش شیمیایی سنتز ماده فتوراکتیو در شکل (۲) نشان داده شده است. لازم به ذکر است که کلیه



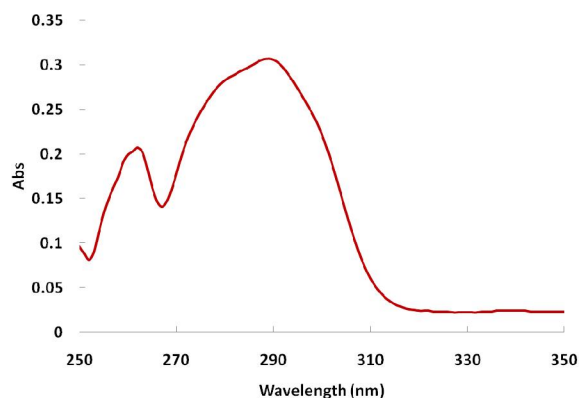
شکل ۲. واکنش شیمیایی سنتز ماده فتوراکتیو

کامل مواد شیمیایی زائد چندین مرحله دیالیز انجام گرفت. بدین منظور طیف فرابنفش آب مقطر حاصله از دیالیز مورد بررسی قرار گرفت و دیالیز تا زمانی که جذبی در این ناحیه مشاهده نشود ادامه داشت. بعد از این مرحله، نمونه فتوراکتیوژلاتین توسط خشک کن انجمادی تحت شرایط دمای $50^{\circ}C$ - و فشار $0.40/0$ میلی بار خشک شد. مراحل انجام واکنش شیمیایی سنتز فتوراکتیوژلاتین بطور خلاصه در شکل (۳) نشان داده شده است. لازم به ذکر است که کلیه مراحل سنتز در تاریکی انجام شد تا ماده حاصله در برابر نور غیرفعال نشود.

در مرحله بعدی پودر ژلاتین با ماده فتوراکتیو تهیه شده حاوی گروه آزیدوآنیلین که حساس به نور است واکنش داده و تولید ژلاتین حساس به نور می کند. برای سنتز ماده فتوراکتیوژلاتین، مقادیر مناسبی از ماده فتوراکتیو سنتز شده با حلال دی متیل فرمامید (Dimethylformamide) در تاریکی مخلوط شد، سپس محلول پودر ژلاتین در آب مقطر قطره قطره به محلول فوق اضافه شد. واکنش به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی انجام شد. سپس این مخلوط چندین بار ساتریفوژ شد تا ژلاتین های واکنش نکرده از آن حذف شوند. در مرحله بعدی این مخلوط در مجاورت آب مقطر دیالیز شد. به منظور حذف



شکل ۳. واکنش شیمیایی سنتز فتوراکتیو ژلاتین



شکل ۴. طیف فرابنفش فتوراکتیو کریستال ($C_{11}H_{10}N_4O_4$)

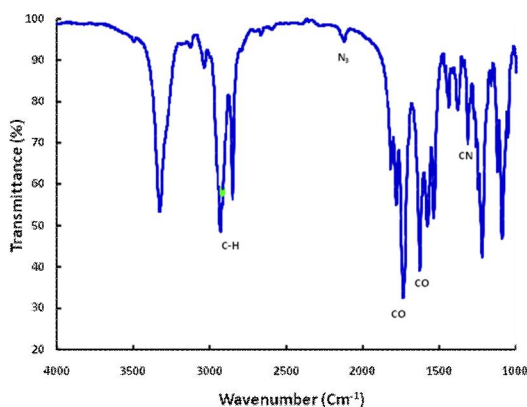
پیک مشاهده شده در طول موج ۲۶۰ نانومتر مربوط به ناخالصی موجود در ماده فتوراکتیو سنتزی می‌باشد. این ناخالصی مربوط به محصول جانبی آن و آن-دی-سیکلوهاگزیل کربودی ایمید (N,N -Dicyclohexylcarbodiimide) (فرمول شیمیایی $C_{13}H_{22}N_2$) می‌باشد که با فیلتراسیون کاملاً حذف نمی‌شود و مقادیر خیلی کمی از آن در نمونه باقی می‌ماند (شکل ۵). لازم به ذکر است که این ناخالصی در مراحل بعدی پس از افزودن ژلاتین به ماده فتوراکتیو و سپس خالص سازی آن از طریق فرآیند دیالیز حذف می‌شود.

۳- بحث و نتایج

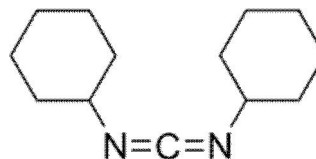
ابتدا ماده حساس به نور (گروه فتوراکتیو) طی یک فرآیند پیچیده شیمیائی در تاریکی سنتز شد، این ماده حاوی آزیدو آنیلین می‌باشد که انتظار می‌رود تحت تابش میدان الکترومغناطیسی (نور معمولی، اشعه فرابنفش، LED، لیزر و سایر میدانهای الکترومغناطیسی) تحریک شده و روی سطوح مختلف تثبیت شود و یا حتی در معرض میدانهای الکترومغناطیسی با عبور از یک فتوماسک منجر به ایجاد هر گونه طرح یا الگوی مطلوب شود.

ماده سنتز شده فتوراکتیو توسط آزمایشات طیفسنجی فرابنفش - مرئی و آنالیز FT-IR بررسی شد. در مرحله بعدی، تثبیت فتوراکتیوژلاتین روی سطح در برابر تابش لیزر مورد بررسی قرار گرفت [۱۷].

ابتدا ماده سنتزی فتوراکتیو از طریق آنالیز طیفسنجی فرابنفش - مرئی (UV-Vis Spectroscopy) مورد بررسی قرار گرفت. شکل (۴) طیف مربوط به آنالیز طیفسنجی فرابنفش - مرئی ماده سنتز شده فتوراکتیو N -(4-Azidobenzoyloxy)succinimide را نشان می‌دهد. همانطور که در این شکل دیده می‌شود، پیک مربوط به حضور گروه‌های حساس به نور در ترکیب ساخته شده فتوراکتیو در ناحیه ۲۹۰ نانومتر دیده می‌شود.

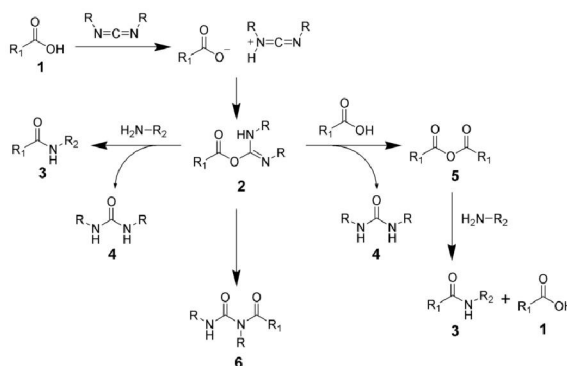


شکل ۷. آنالیز FT-IR ماده فتوراکتیو



شکل ۵. ساختار شیمیایی N,N-دی سیکلوهگزیل کربودی ایمید با فرمول شیمیایی $C_{13}H_{22}N_2$

مکانیزم تشکیل پیوند آمیدی با استفاده از کربودی ایمید بصورت مستقیم صورت می گیرد ولی حاوی یک سری واکنش های جانبی می باشد که خلاصه آن در شکل (۶) نشان داده شده است [۱۸].



شکل ۶. مکانیزم شیمیایی تشکیل آمید با استفاده از کربودی ایمید [۱۸].

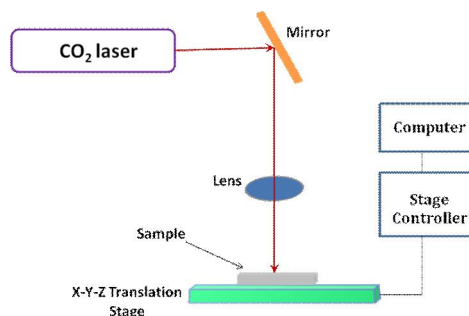
همانطور که در شکل فوق دیده می شود، در نواحی cm^{-1} ۳۳۲۶ و ۲۹۲۹ و ۳۰۳۵ باند جذبی حاصل از ارتعاشات کششی آلکان (C-H) قرار دارد. محل ارتعاشات کششی C-H از پایدارترین مکانهای جذبی طیف مادون قرمز می باشد [۱۹]. یک نوار جذبی نسبتاً ضعیف در ناحیه cm^{-1} ۲۱۲۱ دیده می شود که متعلق به ارتعاشات N3 می باشد. چند نوار جذبی در نواحی cm^{-1} ۱۲۴۳ و ۱۲۱۷/۲۲ و ۱۰۸۷ و ۱۰۴۹ مربوط به ارتعاشات کششی C-C می باشد. یک نوار جذبی نسبتاً قوی در ناحیه cm^{-1} ۱۷۳۳ مربوط به ارتعاشات کششی C=O می باشد. یک نوار جذبی قوی مربوط به ارتعاشات غیرمتقارن NO است که در ناحیه cm^{-1} ۱۶۲۱ مشاهده می شود و بالأخره یک باند جذبی مربوط به ارتعاشات کششی CN که در ناحیه cm^{-1} ۱۳۱۱ می باشد. نتایج حاصله از طیف مادون قرمز نشاندهنده سنتز ماده فتوراکتیو می باشد.

در مرحله بعدی آزمایشات تثبیت فتوراکتیوژلاتین روی سطح شیشه در برابر تابش لیزر بررسی شد. شماتیک

همچنین گروه های عاملی در ماده سنتزی فتوراکتیو از طریق آنالیز FT-IR مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه حاصل از طیف سنجی مادون قرمز (شکل ۷) حاکی از وجود گروه های عاملی N_3 و CO و NO و COO و CH می باشد. پیکهای مشاهده شده در نواحی بین ۳۰۰۰ تا cm^{-1} ۳۵۰۰ مربوط به ارتعاشات کربن-هیدروژن، کربن-اکسیژن، نیتروژن-اکسیژن و نیتروژن-نیتروژن می باشد که متناسب با فرمول شیمیایی ماده سنتزی فتوراکتیو $(C_{11}H_8N_4O_4)$ می باشد.

جدول (۱) پارامترهای مربوط به تثبیت ماده سنتزی فتوراکتیوژلاتین را روی سطح شیشه در برابر تابش لیزر CO₂ نشان می دهد که با شدت‌های توان ۰/۸، ۱، ۱/۱، ۱/۳، ۱/۵، ۱/۶، ۱/۸، ۲، ۲/۱، ۲/۳ و ۲/۵ وات بر میلیمترمربع در طول موج ۱۰/۶ میکرون و در فاصله ۵ سانتیمتری از سطح نمونه انجام گرفته است.

دستگاه لیزر مورد استفاده در این آزمایشات در شکل (۹) نشان داده شده است.



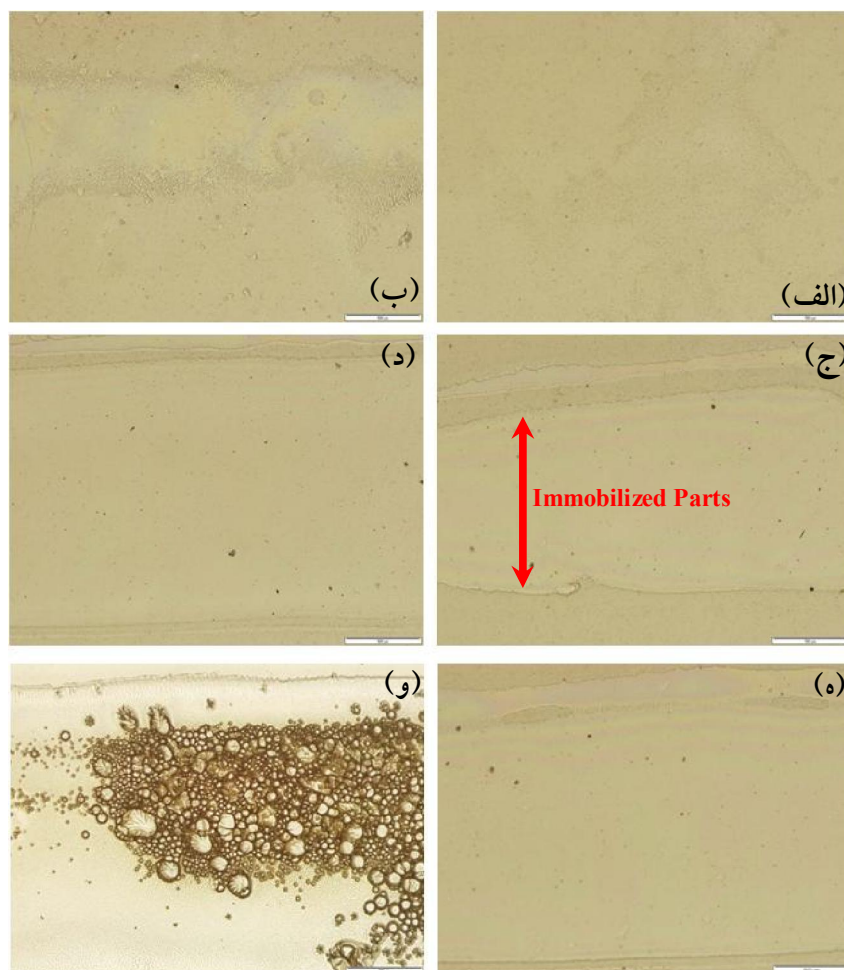
شکل ۹. شماتیک دستگاه لیزر CO₂ مورد استفاده برای تثبیت نوری

جدول ۱. مشخصات لیزر مورد استفاده در آزمایشات تثبیت نوری با فتوراکتیوژلاتین

Laser Parameters on the Surface of Photoreactive Gelatin										
Laser Type	CO ₂ Laser									
Laser Wavelength	10.6 μm									
Power Intensity (W/mm ²)	0.8	1	1.1	1.3	1.5	1.6	1.8	2	2.1	2.3
Distance from the sample	5 cm									

شکل (۱۰) نتایج مربوط به آزمایشات طرح دار کردن سطوح شیشه و تثبیت ماده سنتزی فتوراکتیوژلاتین را در برابر تابش لیزر CO₂ نشان می دهد که با شدت‌های توان ۰/۸، ۱، ۱/۱، ۱/۳، ۱/۵، ۱/۶، ۱/۸، ۲، ۲/۱، ۲/۳ و ۲/۵ وات بر میلیمترمربع در طول موج ۱۰/۶ میکرون انجام گرفته است.

شکل (۱۰) نتایج مربوط به آزمایشات طرح دار کردن سطوح شیشه و تثبیت ماده سنتزی فتوراکتیوژلاتین را در برابر تابش لیزر CO₂ نشان می دهد که با شدت‌های توان ۰/۸، ۱، ۱/۱، ۱/۳، ۱/۵، ۱/۶، ۱/۸، ۲، ۲/۱، ۲/۳ و ۲/۵ وات بر میلیمترمربع در طول موج ۱۰/۶ میکرون انجام گرفته است.

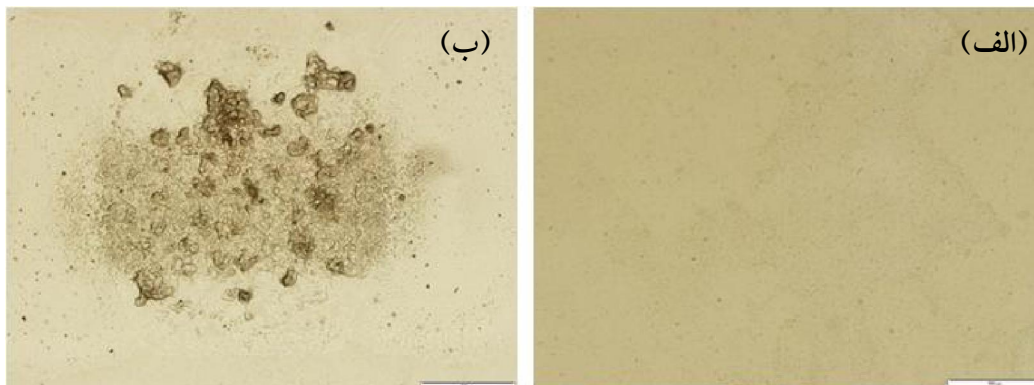


شکل ۱۱. سطوح تثبیت شده شیشه با فتوراکتیوژلاتین با غلظت ۴ میلی گرم بر میلی لیتر در معرض لیزر CO_2 با بزرگنمایی ۵۰ برابر با توان های خروجی (الف) ۱/۳، (ب) ۱/۵، (ج) ۱/۸، (د) ۲، (ه) ۲/۱ و (و) ۲/۳ وات بر میلیمترمربع.

همانطور که در این تصاویر مشاهده می شود، هنگامی که شدت توان ۱/۳ وات بر میلیمترمربع است (شکل ۱۱). فرآیند تثبیت مشاهده نمی شود. با افزایش توان خروجی، قدرت تثبیت نوری لیزر CO_2 افزایش یافته، در شدت توان ۲ وات بر میلیمترمربع تثبیت نوری

همانطور که در این تصاویر مشاهده می شود، هنگامی که شدت توان ۱/۳ وات بر میلیمترمربع است (شکل ۱۱). فرآیند تثبیت مشاهده نمی شود. با افزایش توان خروجی، قدرت تثبیت نوری لیزر CO_2 افزایش یافته، در شدت توان ۲ وات بر میلیمترمربع تثبیت نوری

فتوراکتیوژلاتین روی سطح شیشه بخوبی انجام می گیرد (شکل ۱۱-ج)، البته در شدت توانهای خیلی بالا (۲/۳ وات بر میلیمترمربع) حرارت بالا رفته و همانطور که در (شکل ۱۱-و) مشاهده می شود، ژلاتین می سوزد.



شکل ۱۲. سطوح تثبیت نشده شیشه با ژلاتین معمولی با غلظت ۴ میلی گرم بر میلی لیتر در معرض لیزر CO₂ با بزرگنمایی ۵۰ برابر با توان های خروجی (الف) ۱/۳ وات و (ب) ۲/۱ وات بر میلیمترمربع

۲. برای بررسی ماده سنتز شده فتوراکتیو به چند آنالیز از جمله شناسایی و بررسی ماده حساس به نور از طریق آزمایشات طیف سنجی فرابنفش-مرئی و آنالیز FT-IR پرداخته شد.

۳. در مرحله بعدی آزمایشات از بررسی تثبیت فتوراکتیو ژلاتین روی سطح در برابر تابش لیزر CO₂ استفاده شد، که با مشاهده سطوح تثبیت شده فتوراکتیو ژلاتین در زیر میکروسکوپ نوری فرآیند تثبیت محرز شد.

۴. نتایج حاصله حاکی از حضور گروههای حساس به نور در ترکیب ساخته شده فتوراکتیو ژلاتین می باشد. همانطور که انتظار می رفت ماده سنتز شده فتوراکتیو ژلاتین بعلت داشتن گروههای آزیدوفنیل وقتی در معرض میدان الکترومغناطیسی قرار بگیرد، فعال شده، ایجاد مواد واسطه فعال (reactive intermediates) کند که آنها سپس با گروههای هیدروکسیل (OH-) موجود در روی سطح پیوند کووالانسی برقرار کند [۶]. این ماده حاوی گروه آزیدو آنیلین توانست تحت تابش میدان های الکترومغناطیسی (نور معمولی، اشعه فرابنفش، LED، لیزر و سایر میدانهای

شایان ذکر است که وقتی ژلاتین معمولی در معرض تابش لیزر CO₂ قرار گرفت، هیچگونه تثبیت یا طرح دار شدن روی سطوح شیشه مشاهده نشد که این امر حاکی از فرآیند تثبیت توسط گروههای فتوراکتیو است و وقتی این گروه ها موجود نباشند، پدیده تثبیت رخ نخواهد داد (شکل ۱۲). این یکی از مهمترین مزیت این بیوماده است که فقط با وارد کردن گروه حساس به نور، می تواند فرآیند تثبیت انجام شود و اینکه ژلاتین فقط تحت اثر تابش لیزر براحتی روی سطوح مختلف تثبیت می شود. ضمناً با مقایسه اشکال (ه.۱۱) و (ب.۱۲) مشاهده می شود که ژلاتین معمولی نسبت به ژلاتین فتوراکتیو سریعتر می سوزد. بنظر می رسد گروههای حساس به نور مقاومت ماده را نسبت به گرما و توان لیزر بالاتر می برند.

۴- نتیجه گیری

۱. در این تحقیق ماده حساس به نور (گروه فتوراکتیو) طی یک سری فرآیندهای پیچیده شیمیائی در تاریکی سنتز شد.

- Journal of Biomedical Materials Research A*. 83 (2007) 906-914.
7. H. Hasuda, O. H. Kwon, I.-K. Kang, and Y. Ito, "Synthesis of photoreactive pullulan for surface modification," *Biomaterials*. 26 (2005) 2401-2406.
 8. H.-N. Na, K.-I. Kim, J.-H. Han, J.-G. Lee, D.-J. Han, Y. Ito, K.-S. Song, E.-C. Jang, and T.-I. Son, "Synthesis of O-carboxylated low molecular chitosan with azido phenyl group: Its application for adhesion prevention" *Macromolecular Research*. 18 (2010) 1001-1007.
 9. K.-I. Kim, J.-W. Lee, J.-H. Kang, K.-S. Song, E.-C. Jang, Y. Ito, and T.-I. Son, "Preparation of photo-reactive azidophenyl chitosan derivative for immobilization of growth factors," *Journal of Applied Polymer Science*. 117 (2010) 3029-3037.
 10. B. Joddar and Y. Ito, "Biological Modifications of Materials Surfaces with Proteins for Regenerative Medicine" *Journal of Materials Chemistry*. 21 (2011) 13737-13755.
 11. T. I. Son, M. Sakuragi, S. Takahashi, S. Obuse, J. Kang, M. Fujishiro, H. Matsushita, J. Gong, S. Shimizu, Y. Tajima, Y. Yoshida, K. Suzuki, T. Yamamoto, M. Nakamura, and Y. Ito, "Visible light-induced cross-linkable gelatin", *Acta Biomaterialia*. 10 (2010) 4005-4010.
 12. S.-h. Park, S.-y. Seo, H.-n. Na, K.-i. Kim, J.-w. Lee, H.-d. Woo, J.-h. Lee, H.-k. Seok, J.-g. Lee, S.-i. Chung, K.H. Chung, D.K. Han, Y. Ito, E.-c. Jang, and T.-i. Son, "Preparation of a visible light-reactive low molecular-O-carboxymethyl chitosan (LM-O-CMCS) derivative and applicability as an anti-adhesion agent", *Macromolecular Research*. 19 (2011) 921-927.
 13. S. Y. Seo, S. H. Park, H. J. Lee, H. N. Na, K. I. Kim, J. K. Lee, Y. Ito, T. I. Son, "Visible light-induced photocurable (forming a film) low molecular weight chitosan derivatives for biomedical applications: Synthesis, characterization and in vitro biocompatibility" *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 18 (2012) 1258-1262.
 14. T. Kitajima, S. Obuse, T. Adachi, M. Tomita, Y. Ito, "Recombinant Human Gelatin Substitute With Photoreactive Properties for Cell Culture and Tissue Engineering", *Biotechnology and Bioengineering*. 108 (2011) 2468-2476.
 15. Y. Ito, "Photoimmobilization for Microarrays", *Biotechnology Progress*. 22 (2006) 924-932.
 16. H.N. Na, K.I. Kim, J.H. Han, J.G. Lee, T.I. Son, D.K. Han, Y. Ito, K.S. Song and E.Ch. Jang "Synthesis of O-Carboxylated Low Molecular

الکترومغناطیسی) تحریک شده و روی سطوح مختلف تثبیت شود.

۵. همچنین این طرح پژوهشی میتواند به عنوان مطالعات اولیه کمک به ایجاد آسانتر الگو روی سطح به منظور هموار کردن الگوهای مهاجرتی سلولها مورد استفاده در فرآیندهای بیولوژیکی و تثبیت نوری مورد استفاده در دندانپزشکی، بند آورنده زیستی (biosealant) در مهندسی بافت و عامل جلوگیری از چسبندگی در داروهای بعد از عمل جراحی معرفی شود. ایجاد ساختارهایی بر مبنای ماده زیستی حساس به نور، زمینه ساز بسیاری از کاربردهای پزشکی، داروسازی و دندانپزشکی می باشد.

مراجع

1. Y. Ikada, "Tissue Engineering: Fundamentals and Applications", *Elsevier*, Oxford, UK, 1st Edition. 46 (2006) 301-411.
2. J.A. Burdick and R.L. Mauck, "Biomaterials for Tissue Engineering Applications: A Review of the Past and Future Trends", *Springer-Verlag*, 1st Editon. (2011) 120-122.
3. Y. Ito, "Covalently immobilized biosignal molecule materials for tissue engineering", *Soft Matter*. 4 (2008) 46-56.
4. Y. Ito, N. Sugimura, O. H. Kwon, and Y. Imanishi, "Enzyme modification by polymers with solubilities that change in response to photoirradiation in organic media", *Nature Biotechnology*. 17 (1999) 73-75.
5. T. Son, M. Sakuragi, S. Takahashi, S. Obuse, J. Kang, M. Fujishiro, H. Matsushita, J.Gong, Sh. Shimizu, Y. Tajima, Y. Yoshida, K. Suzuki, T. Yamamoto, M. Nakamura, and Y. Ito, "Visible light-induced crosslinkable gelatin", *Acta Biomaterialia*. 6 (2010) 4005-4010.
6. M. Heydari, H. Hasuda, M. Sakuragi, Y. Yoshida, K. Suzuki, and Y. Ito, "Surface Pattern Modification of the titan surface with photoreactive gelatin to regulate cell attachment",

- Chitosan with Azido Phenyl Group: Its Application for Adhesion Prevention”, *Macromolecular Research*. 18 (2010) 1001-1007.
17. J. Wilson – J.F.B. Hawakes, “Lasers: Principles and Applications”, *Prentice Hall International Series in Optoelectronics*. (1987) 25-60.
18. J. J. Monagle, "Carbodiimides. III. Conversion of Isocyanates to Carbodiimides. Catalyst Studies". *Journal of Organic Chemistry*. 27 (1962) 3851–3855.
۱۹. غلامحسین نفیسی، "شیمی تجزیه"، انتشارات پژوهشی نوآوران شریف، تهران. (۱۳۸۹) ۳۰۳-۳۳۲ و ۴۰۴-۳۹۳.