

## Biocompatibility Investigation of Polyacrylonitrile/Fe (III) Metal- Organic Framework Fibrous Scaffolds Treated with Oxygen Plasma

Mohammad Reza Ramezani<sup>1</sup>,  
Zeinab Ansari-Asl<sup>2\*</sup>, Elham Hoveizi<sup>3</sup>

1. M. A., Department of Chemistry, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
  2. Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
  3. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
- (Received: Dec. 28, 2018 – Accepted: Jan. 12, 2020)

### Abstract

Preparation of scaffolds with special characters for growing of different cells is considered as an important goal of tissue engineering. In this study, polyacrylonitrile (PAN) and its composites with different percentages of Fe (III) metal-organic frameworks (PAN/x%Fe-MOF) were treated with oxygen plasma. The surface chemistry of these compounds was studied using FT-IR spectroscopy. The morphology stability of the nanofibers after cell-scaffold adhesion was investigated by scanning electron microscopy (SEM). Metabolic activity and survival of endothelial cells cultured on scaffolds were evaluated by MTT method. In conclusion, the results of this study showed that PAN/x%Fe-MOF scaffolds, in particular oxygen plasma treated scaffolds, provide a suitable support for binding and proliferation of endothelial cells due to their high biocompatibility.

**Keywords:** Biocompatibility, metal-organic frameworks, nanofiber, oxygen plasma, polyacrylonitrile.

## بررسی زیست‌سازگاری داربست‌های نانوفیبری کامپوزیت‌های پلی‌اکریلونیتریل و چارچوب فلز-آلی آهن (III) اصلاح‌شده با پلاسمای اکسیژن

محمدرضا رمضانی<sup>۱</sup>، زینب انصاری اصل<sup>۲\*</sup>، الهام حویزی<sup>۳</sup>

۱. کارشناس ارشد، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
  ۲. استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
  ۳. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
- (تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۲)

### چکیده

تهیه داربست‌هایی با خواص مناسب جهت کشت و رشد سلول‌های مختلف یکی از اهداف مهم مهندسی بافت تلقی می‌شود. پلیمرهای زیست‌سازگار از جمله پلی‌اکریلونیتریل حجم عمده‌ای از مطالعات را به خود اختصاص داده‌اند. در این پژوهش، به منظور اصلاح سطح پلی‌اکریلونیتریل (PAN) و کامپوزیت‌های حاصل از آن با درصد‌های مختلف از چارچوب فلز-آلی آهن (III)، PAN/x%Fe-MOF، از پلاسمای اکسیژن استفاده شده است. شیمی سطح این ترکیبات به کمک اسپکتروسکوپی مادون قرمز (FT-IR) مورد بررسی قرار گرفت. پایداری مورفولوژی نانوفیبرهای تهیه‌شده پس از استفاده به عنوان داربست‌هایی برای کشت سلولی و چسبندگی سلول‌ها بر آنها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) بررسی گردید. فعالیت متابولیکی و بقای سلول‌های اندوتلیالی کشت‌شده بر داربست‌ها نیز با روش MTT مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد داربست‌های الکترورسی شده PAN/x%Fe-MOF، به‌ویژه داربست‌های اصلاح‌شده توسط پلاسمای اکسیژن به علت زیست‌سازگاری بالا بستر مناسبی برای اتصال و تکثیر سلول‌های اندوتلیالی فراهم می‌کنند.

**واژه‌های کلیدی:** پلاسمای اکسیژن، پلی‌اکریلونیتریل، چارچوب فلز-آلی، زیست‌سازگاری، نانوفیبر.

## مقدمه

متنوعی از این پلیمر به‌روش مخلوط‌کردن آن با ترکیبات مختلف تهیه و به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (Konarov *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2017).

چارچوب‌های فلز-آلی (MOFها) دسته‌ای از ترکیبات کریستالی تشکیل شده از اجزای آلی و معدنی می‌باشند. تعداد مولکول‌های آلی که می‌توانند به‌عنوان لیگاند مورد استفاده قرار گیرند بسیار زیاد است. تنها محدودیت برای اتصال دهنده‌های آلی این است که این ترکیبات باید دارای گروه‌های عاملی با توانایی کوئوردینه‌شدن به مراکز فلزی به‌صورت یک، دو و یا سه بعدی باشند. کربوکسیلات‌ها، پیریدل‌ها، فسفونات‌ها و پیرازول‌ها رایج‌ترین گروه‌های عاملی هستند که تاکنون به‌طور موفقیت آمیز در سنتز این مواد به‌کار رفته‌اند. همچنین مولکول‌های دو عاملی مانند مولکول‌های شامل تترازول و کربوکسیلات و مولکول‌های شامل تترازول و پیریدیل نیز برای سنتز MOFها استفاده شده‌اند (Zhou *et al.*, 2012; Ricco *et al.*, 2018; Chowdhury, 2017).

علاوه بر تنوع لیگاند آلی، کاتیون‌های فلزی متنوعی نیز می‌توانند برای تهیه MOFها استفاده شوند. اکثر این کاتیون‌ها می‌توانند حالت‌های اکسایش و اعداد کوئوردیناسیونی مختلفی داشته باشند. مس، روی و آهن رایج‌ترین فلزات واسطه جهت سنتز چارچوب‌های فلز-آلی به‌شمار می‌آیند. این دسته از ترکیبات به دلیل تنوع و همچنین تداخل بسیار بالا به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. MOFها می‌توانند به‌عنوان جایگزین‌های مناسبی برای جاذب‌های فعلی (ترکیبات متخلخل دیگر) مانند کربن فعال و زئولیت در بسیاری از کاربردها مانند ذخیره گازها، فرایندهای کاتالیزوری، انتقال دارو و جذب آلاینده‌ها در نظر گرفته شوند. ساختار پودری MOFها به‌عنوان نقص اصلی آنها در کاربردهای عملی در نظر گرفته می‌شود (Gonen&Elbaz, 2018; Agusta *et al.*, 2017).

در دهه‌های اخیر، الکتروریسی به‌عنوان روشی مؤثر برای تهیه فیبرهایی با قطرهای مختلف از ابعاد میکرون تا چند نانومتر مورد توجه بارزی قرار گرفته است. به‌منظور الکتروریسی پلیمر، مرحله اول تهیه محلول پلیمر مورد نظر در حلال یا مخلوطی از حلال‌هاست. تاکنون فیبر حاصل از پلیمرهای سنتزی مختلفی تهیه شده است که اغلب شامل پلیمرهای سنتزی زیست‌تخریب‌پذیر مانند پلی‌لاکتیک اسید، پلی‌گلیکولیک اسید و پلی‌کاپرولاکتون می‌باشند (Casasola *et al.*, 2014; Boland *et al.*, 2018; Kang *et al.*, 2001). همچنین فیبرهای بیوپلیمری طبیعی از جمله ابریشم، فیبرینوزن و کلاژن نیز تهیه شده‌اند که فرایندپذیری آنها در مقایسه با پلیمرهای سنتزی بسیار پایین است (Matthews *et al.*, 2002; Kishimoto *et al.*, 2017).

کاربرد نانوفیبرها در مهندسی بافت به دلیل شباهت ساختاری با ماتریس خارج سلولی در سال‌های اخیر رشد به‌سزایی داشته است. ویژگی‌های سطحی (برای مثال ترشوندگی و شیمی سطح) داربست‌های نانوفیبری مهندسی شده نقش مهمی در موفقیت آمیز بودن کاربردهای مهندسی بافت ایفا می‌کنند؛ به‌خصوص هنگامی که برهمکنش‌های ماتریس خارج سلولی به‌طور قابل توجهی تأثیرگذار باشند (Jun *et al.*, 2008; Haydarkhan-Hagvall *et al.*, 2018).

پلی‌اکریلونیتریل یکی از پرکاربردترین پلیمرهای استفاده شده برای تهیه ساختارهای فیبری است. این پلیمر به‌دلیل مقاومت در برابر حلال‌های مختلف و پایداری حرارتی و شیمیایی بالا انتخاب مناسبی برای کاربردهای مختلف به‌شمار می‌آید. با اینحال، این ترکیب دارای معایبی از جمله آبگریزی و بار استاتیک بالا به‌دلیل عدم تحرک الکترونی ناشی از گروه‌های بسیار قطبی نیتریل می‌باشد. تاکنون کامپوزیت‌های

شستشو داده شد. محصول واکنش در نهایت به مدت ۱۲ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک و توزین شد (میزان محصول ۰/۴۵ گرم و راندمان ۷۵٪).

#### تهیه نانوالیاف پلی‌اکریلونیتریل (PAN)

به منظور تهیه نانوالیاف پلی‌اکریلونیتریل، ابتدا ۱/۸ گرم از پلیمر پلی‌اکریلونیتریل در ۱۰ میلی‌لیتر حلال DMF حل و به مدت یک ساعت به وسیله همزن مغناطیسی هم زده شد. در ادامه جهت ایجاد یک محلول کاملاً شفاف و یکنواخت، به مدت یک ساعت تحت تابش‌دهی اولتراسونیک قرار داده و در نهایت به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق به وسیله همزن مغناطیسی همزده شد. محلول حاصل، جهت انجام الکتروریسی درون سرنگ قرار گرفت. بهترین شرایط الکتروریسی در ولتاژ ۱۵-۱۸ Kev و سرعت تزریق ۰/۴ ml/h بدون تشکیل قطره‌های کوچک و گره مشاهده شد. در نهایت نانوالیاف پس از انجام چهار ساعت الکتروریسی با ضخامت مناسب بر روی فویل آلومینیومی جمع‌آوری گردید.

#### تهیه نانوکامپوزیت‌های PAN/X% Fe-MOF

به منظور تهیه نانوکامپوزیت‌های PAN/X% Fe-MOF ابتدا ۱/۸ گرم از PAN در ۱۰ میلی‌لیتر DMF حل و به مدت یک ساعت به وسیله همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس ۵ میلی‌لیتر محلول DMF حاوی ۰/۱ گرم Fe-MOF به آرامی به محلول قبلی اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه به وسیله همزن مغناطیسی هم زده و جهت ایجاد سوسپانسیون کاملاً یکنواخت، به مدت یک ساعت تحت تابش‌دهی اولتراسونیک قرار داده شد. سوسپانسیون حاصل نهایتاً به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق به وسیله همزن مغناطیسی همزده شد. سوسپانسیون‌های با غلظت ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد جرمی از Fe-MOF به این روش تهیه گردید. برای ساخت داربست‌های نانوفیبری از دستگاه الکتروریسی استفاده شد. سوسپانسیون‌های تهیه‌شده در سرنگ ۱۵

کامپوزیت‌هایی از MOFها تهیه شده و پتانسیل آنها برای کاربرد در زمینه‌های کاتالیزوری، ذخیره انرژی و انتقال دارو مورد ارزیابی قرار گرفته است. برای مثال تاکنون از پلیمرهای مختلفی از جمله پلی‌آنیلین، پلی‌پیرول، پلی‌اکریلونیتریل و پلی‌لاکتیک‌اسید برای شکل‌دهی به MOFها استفاده شده است. ترکیب MOFها با ماتریس پلیمری می‌تواند به محصولاتی با خواص مناسب برای کاربردهای متنوع منجر شود. علاوه بر این، به منظور جلوگیری از تخریب این دسته ترکیبات از پوشش‌های آلی از جمله پلی‌اتیلن‌گلیکول، دکستران و کیتوزان استفاده شده است (Dai et al., 2016; Chen et al., 2017; Li et al., 2014).

در این کار تحقیقاتی، به منظور افزایش خاصیت آبدوستی از طریق ایجاد و افزایش گروه‌های عاملی قطبی روی سطح بستر و در نتیجه بهبود ویژگی چسبندگی سلولی آن، سطح نانوفیبرهای الکتروریسی شده از کامپوزیت‌های چارچوب فلز-آلی آهن(III) و پلی‌اکریلونیتریل با استفاده پلاسمای اکسیژن اصلاح شده است. سپس ویژگی‌های زیست‌سازگاری و میزان چسبندگی و بقای سلول‌های اندوتلیالی بر کامپوزیت‌های سنتز شده مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

### تهیه چارچوب فلز-آلی آهن(III)

چارچوب فلز آلی آهن(III) مطابق رفرنس (Tian et al., 2015) تهیه شد. مقدار ۲ میلی‌مول (۰/۸۱ گرم) نمک آهن(III) نیترات نه آبه  $(\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O})$  و ۲ میلی‌مول (۰/۳۳ گرم) لیگاند ترفتالیک اسید در ۴۰ میلی‌لیتر حلال دی متیل فرمامید (DMF) حل شد. سپس ۴۰ میلی‌لیتر استونیتریل ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) همراه با همزدن مغناطیسی، قطره‌قطره به محلول فوق اضافه، محلول به مدت ۴۰ دقیقه در حمام روغن با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد رفلاکس و فرآورده واکنش در دمای اتاق خنک گردید. رسوب به دست آمده جمع‌آوری و چندین مرتبه به وسیله سانترفیوژ با DMF و متانول

فشار درون محفظه روی مقدار  $0/4$  میلی‌بار ثابت گردیده است. فرایند پلازما برای مدت زمان پنج دقیقه انجام شد. در پایان، خلأ درون محفظه شکسته شده و نمونه‌ها در معرض هوا قرار گرفتند.

#### بررسی ساختار شیمیایی داربست‌ها

ساختار داربست‌های تهیه شده پس از اصلاح توسط پلاسمای اکسیژنی توسط طیف‌سنجی مادون قرمز (FT-IR) مدل BOMEM/MB 102 در محدوده عدد موج  $400$  تا  $4000$  برساتی متر مورد بررسی قرار گرفته است.

#### کشت سلول‌های اندوتلیالی

رده سلولی اندوتلیالی (HUVEC) از مؤسسه پاستور ایران در تهران خریداری گردید. سلول‌های HUVEC در فلاسک کشت سلول (SPL, T25، کره) و در محیط DMEM/ F12 (Gibco, USA) که حاوی  $100 \text{ U ml}^{-1}$  پنی سیلین،  $100 \text{ pg ml}^{-1}$  استرپتومایسین و  $10$  درصد سرم جنین گاوی (FBS, Gibco, USA) بوده در انکوباتور با قابلیت تزریق  $\text{CO}_2$  به مقدار  $5\%$  و دمای  $37$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. محیط کشت هر دو روز تعویض و سلول‌ها با استفاده از تریپسین/EDTA پاساژ داده شدند.

#### کشت سلول‌ها بر داربست‌های تهیه شده

داربست‌های آماده شده به قطعه‌های کوچک با قطر  $1/5$  سانتی‌متر برش داده و با استفاده از نور UV به مدت دو ساعت استریل شدند. پس از آن سلول‌ها بر روی داربست‌های نانوفیبری با تراکم سلول  $5 \times 10^4$  سلول/داربست در پلیت‌های  $24$  خانه قرار داده شدند و در دمای  $37$  درجه سانتی‌گراد در محیط DMEM/F12 کشت داده تا سلول‌های HUVEC به داربست نفوذ کرده و به آن اتصال یابند.

میلی‌لیتری قرار داده شد. آزمون‌های متعددی برای به دست آوردن نانوالیاف مورد نظر بدون گره<sup>۱</sup> انجام شد. سپس نازل حاوی سوسپانسیون پلی‌اکریلونیتریل و MOF در شرایط ولتاژ  $25 \text{ KV}$ ، فاصله از جمع‌کننده  $100$  میلی‌متر و سرعت تزریق  $0/5 \text{ ml/h}$  تنظیم گردید. الکتروروسی با دور  $250 \text{ rpm}$  برای جمع‌کننده انجام شد. در نهایت کامپوزیت نانوفیبری روی جمع‌کننده تشکیل گردید. فرآیند الکتروروسی تا زمانی که پوشش با ضخامت دلخواه به دست آید، ادامه یافت. این کامپوزیت‌ها با نسبت‌های  $95:5$  پلی‌اکریلونیتریل به Fe-MOF (PAN/5% Fe-MOF)،  $90:10$  پلی‌اکریلونیتریل به Fe-MOF (PAN/10% Fe-MOF) و  $80:20$  پلی‌اکریلونیتریل به Fe-MOF (MOF) و تهیه شدند (Asiabani et al., 2015).

#### اصلاح سطح داربست‌های تهیه شده توسط پلاسمای اکسیژن

پس از تهیه نانوفیبرهای PAN و کامپوزیت‌های حاصل از آن (PAN/x%Fe-MOF)، به منظور افزایش آبدوستی، فیبرها در معرض پلاسمای اکسیژن قرار داده شدند. اصلاح سطح با استفاده از روش پلازما، یکی از روش‌های نوین جهت بهبود ویژگی‌های سطحی داربست، انجام گرفته است. پلازما گازی بسیار داغ و یونیزه شده است که برخوردهای شدید گرمایی تمامی یا اغلب اتم‌های آن را به یون‌های مثبت و الکترون‌ها تفکیک کرده است. جهت انجام فرآیند اصلاح سطحی با پلازما از دستگاه مدل نانو (محصول شرکت Diener Electronics کشور آلمان) استفاده شده است. فرایند پلازما به وسیله یک ژنراتور فرکانس پایین با فرکانس  $40$  کیلوهرتز و توان  $30 \text{ W}$  درون یک راکتور استوانه‌ای کوارتز صورت گرفته است. پس از اعمال خلأ، گاز  $\text{O}_2$  با خلوص  $99/99\%$  به درون محفظه واکنش دمیده شده و

کریستال‌های فورمازان در آب غیرمحلول بوده و بایستی قبل از رنگ‌سنجی توسط حلالی نظیر DMSO به حالت محلول درآیند. در نهایت جذب نوری (OD) محلول به‌دست‌آمده توسط الیزا ریدر در طول موج مشخص ۵۷۰ نانومتر خوانده می‌شود. از آنجایی‌که سلول‌های مرده قادر به تبدیل MTT به فورمازون نیستند، سطح فورمازون ایجادشده متناسب با تعداد سلول‌های زنده می‌باشد. در این پروژه از سلول‌های HUVEC استفاده شد. به‌طور خلاصه سلول‌ها بر روی داربست درون پلیت‌های ۹۶ خانه با تراکم ۱۰۰۰۰ سلول در هر چاهک، انکوبه شده و پس از مدت زمان ۲۴ تا ۷۲ ساعت با محلول ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر MTT مورد سنجش قرار گرفتند. محلول MTT پس از گذشت چهار ساعت حذف و پس از حل‌شدن کامل فورمازان درون مولکولی در حلال DMSO، جذب محلول بنفش رنگ به‌دست‌آمده در طول موج ۵۷۰ نانومتر به‌وسیله الیزا ریدر (Fax, USA) اندازه‌گیری گردید. در این تجزیه و تحلیل، کشت تک لایه در محیط DMEM/F12 به‌عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شد. آزمون‌های رشد و تکثیر سلول‌ها روی هر داربست در تکرارهای سه تایی انجام و نتایج مربوطه به‌صورت مقادیر میانگین گزارش گردید.

#### بررسی‌های آماری

نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Ver.16) و آزمون‌های آماری ANOVA و T-test به‌صورت (Mean±SE) مورد ارزیابی قرار گرفت. رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel انجام گرفت و تفاوت‌های با  $P < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

#### نتایج

شکل ۱ طیف FT-IR نانوفیبرهای پلاسماشده پلی‌اکریلونیتریل خالص و کامپوزیت‌های حاصل از آن را نشان می‌دهد. از مقایسه طیف ترکیبات اصلاح‌شده توسط پلاسمای با طیف نمونه‌های گزارش شده‌ای که در

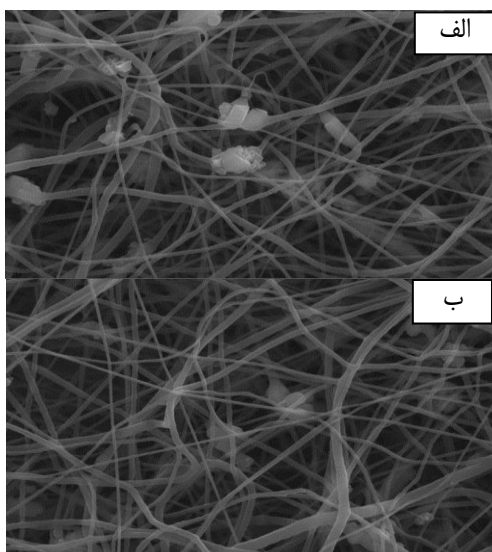
#### ارزیابی ساختار داربست‌ها به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

به‌منظور بررسی ساختار نانوالیاف PAN و PAN/x%Fe-MOF اصلاح‌شده توسط پلاسمای اکسیژن و نیز ارزیابی شکل و مورفولوژی سلول‌های کشت‌شده روی داربست‌های نانوفیبری از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) استفاده شد. برای تصویربرداری SEM، تثبیت سلول‌های HUVEC کشت‌شده بر داربست الکترورسی‌شده، با کمک گلوکارآلدئید ۲/۵ درصد به‌مدت دو ساعت انجام و سه بار با بافر فسفات سالین (PBS) شستشو داده شدند. در نهایت به‌مدت ۱۰ دقیقه در سری صعودی اتانول با درصدهای (۳۰، ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و خشک گردیدند. نمونه‌های خشک‌شده با طلا پوشش داده و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (مدل Philips XL-30، هلند) که در ۱۵ کیلو ولت عمل می‌کند مورد بررسی قرار گرفتند.

#### بررسی فعالیت و میزان زنده ماندن سلول‌های کشت‌شده بر داربست‌ها با استفاده از تست MTT

بررسی خواص زیست‌سازگاری داربست‌های تهیه‌شده مشخصه‌ای مهم برای استفاده در مهندسی بافت می‌باشد. یکی از شناخته‌ترین روش‌ها جهت سنجش میزان تکثیر و زنده ماندن سلول‌ها تست رنگ‌سنجی MTT است. در این آزمون میزان فعالیت آنزیم دهیدروژناز میتوکندریایی سلول‌هایی که زنده و فعال هستند مورد مطالعه قرار می‌گیرد. کریستال‌های زرد رنگ تترازولیوم (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) توسط آنزیم دهیدروژناز احیا می‌شود. احیا و شکسته شدن این حلقه موجب تولید کریستال‌های ارغوانی رنگ فورمازان می‌شود که زیر میکروسکوپ براحتی قابل تشخیص می‌باشند. میزان رنگ تولیدشده با تعداد سلول‌هایی که از نظر متابولیک فعال هستند رابطه مستقیم دارد.

کامپوزیت PCL/20%Fe-MOF قبل و پس از تحت تأثیر قرار گرفتن در معرض پلاسمای اکسیژن در شکل ۲ نشان داده شده است. بر اساس این تصاویر، مورفولوژی نانوالیاف پس از تأثیر پلاسمای تفاوت چندانی را نشان نمی‌دهند و داربست ساختار فیبری خود را حفظ کرده است.



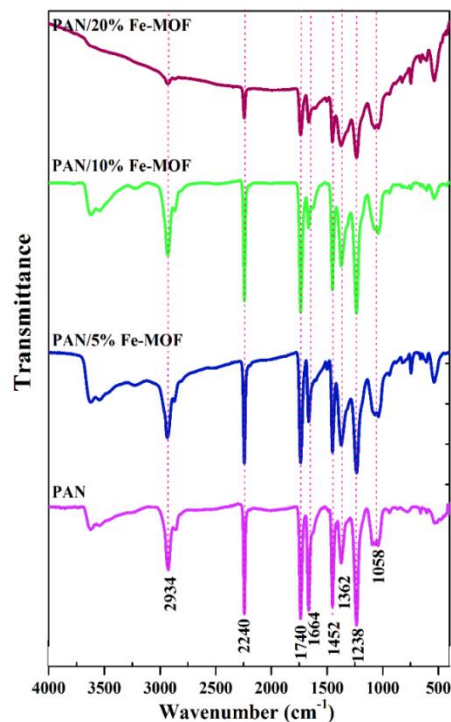
شکل ۲. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) کامپوزیت PCL/20%Fe-MOF (الف) قبل و (ب) پس از تحت تأثیر قرار گرفتن در معرض پلاسمای اکسیژن

### آزمون چسبندگی و گسترش سلولی

بررسی نتایج آزمون چسبندگی روشن ساخت که تعداد زیادی از سلول‌های HUVEC قادر به رشد بر سطوح داربست‌ها بوده، همچنین تعداد سلول‌ها با گذر زمان بر روی هر داربست افزایش نشان داده است. براساس آنچه برای چسبندگی سلولی ۲۴ ساعت پس از کشت به‌دست آمده است (شکل ۳)، داربست PAN/10%Fe-MOF تکثیر سلولی نسبتاً بیشتری نسبت به سایر داربست‌ها در یک روز نشان داده است.

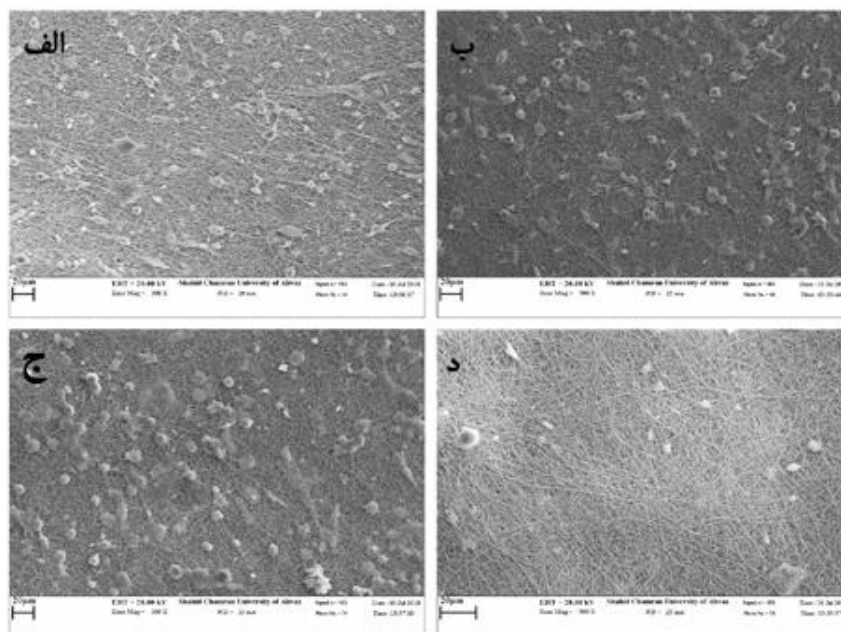
در واقع تکثیر سلول‌های HUVEC بر روی داربست‌های اصلاح‌شده PAN/x%Fe-MOF بسیار بیشتر از داربست‌های PAN می‌باشد. با اینحال، تعداد سلول‌ها روی داربست PAN/20%Fe-MOF کاهش چشم‌گیری نشان داده است (شکل ۳).

معرض پلاسمای قرار داده نشده‌اند، می‌توان پایداری ساختار آنها را تأیید نمود. به دلیل درصد بالای پلی‌اکریلونیتریل در کامپوزیت‌ها پیک‌های مشخصه این پلیمر، بارزترین پیک‌های ظاهر شده برای کامپوزیت‌های تهیه شده می‌باشند. نوارهای جذبی ظاهر شده در ۲۹۳۴ و ۲۲۴۰ بر سانتی‌متر در طیف مادون قرمز پلی‌اکریلونیتریل به ترتیب به ارتعاش‌های کششی پیوندهای C-H و C≡C، و نوار جذبی موجود در ۱۷۴۰ بر سانتی‌متر به ارتعاشات گروه C=C نسبت داده می‌شوند. پیک‌های ظاهر شده در ۱۳۶۲ و ۱۴۲۲ بر سانتی‌متر مربوط به ارتعاشات خمشی گروه‌های CH<sub>2</sub> می‌باشد. جذب در ناحیه ۱۰۵۸ و ۱۲۳۸ بر سانتی‌متر مربوط به ارتعاشات پیوندهای C-H و C-O می‌باشد. نوار جذبی موجود در ۱۶۶۴ بر سانتی‌متر به ارتعاشات گروه آمید نسبت داده می‌شود (Horcajada *et al.*, 2008; Ribeiro *et al.*, 2015).



شکل ۱. طیف مادون قرمز پلی‌اکریلونیتریل و کامپوزیت‌های حاصل از آن پس از اصلاح توسط پلاسمای اکسیژن

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)



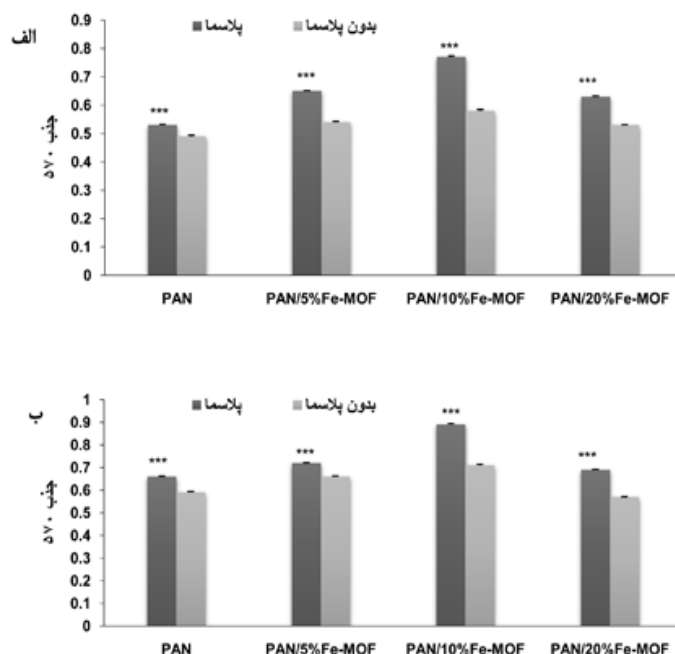
شکل ۳. فتومیکروگراف میکروسکوپ الکترونی SEM (الف) سلول‌های اندوتلیالی کشت داده شده بر داربست نانوفیبر PAN، (ب) سلول‌های اندوتلیالی کشت داده شده بر داربست نانوفیبر PAN/5%Fe-MOF، (ج) سلول‌های اندوتلیالی کشت داده شده بر داربست نانوفیبر PAN/10%Fe-MOF، (د) سلول‌های اندوتلیالی کشت داده شده بر داربست نانوفیبر PAN/20%Fe-MOF

زیست‌سازگاری سلول‌های قرارگرفته بر داربست‌های PAN/10%Fe-MOF و PAN/5%Fe-MOF به‌وجود می‌آید که به‌طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) رشد و چسبندگی بیشتر سلول‌ها در مقایسه با داربست PAN و PAN/10%Fe-MOF مشاهده گردیده است. علاوه بر این، همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده است در غلظت‌های بالاتر چارچوب فلز-آلی، PAN/20%Fe-MOF در سلول‌های HUVEC اثرات سمیت دیده شده است. به‌طور کلی، داربست کامپوزیت‌های شامل غلظت‌های پنج و ۱۰ درصد چارچوب فلز-آلی آهن (III) به‌طور قابل ملاحظه‌ای می‌تواند زیست‌سازگاری و چسبندگی سلول‌های HUVEC را افزایش دهد. علاوه بر این، نتایج سنجش بقای سلولی نشان داده است اصلاح سطح داربست‌ها توسط پلازما در انواع داربست‌ها تأثیر قابل توجهی در بهبود زیست‌سازگاری داربست‌ها داشته، به‌طوری‌که بقای سلولی را به‌طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) افزایش می‌دهد.

این نتایج تأییدکننده تأثیرات چشم‌گیر ترکیب داربست‌ها بر تکثیر سلولی بوده و Fe-MOF به‌صورت وابسته به غلظت می‌تواند چسبندگی سلولی و رشد آن را توسعه دهد. همچنین برای تمام داربست‌ها، اتصال و گسترش سلول‌های اندوتلیالی بر سطح داربست‌های پلاسماده نسبت به حالت بدون پلازما بهبود چشم‌گیری نشان داده است.

#### بررسی نتایج سمیت سلولی ترکیبات سنتز شده با استفاده از روش MTT

زیست‌سازگاری سلول‌های HUVEC موجود روی داربست‌های پلاسماده و غیر پلاسماده در دو بازه زمانی ۲۴ و ۷۲ ساعت اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد زیست‌سازگاری سلول‌های قرار گرفته بر داربست PAN/10%Fe-MOF پس از ۲۴ و ۷۲ ساعت به‌طور قابل ملاحظه‌ای ( $P < 0.05$ ) بیشتر از سایر داربست‌ها بوده است. همچنین نتایج به‌دست‌آمده پس از سه روز مشخص کرد که افزایش مؤثری در



شکل ۴. مقایسه میزان جذب (در طول موج ۵۷۰ نانومتر) سلول‌های اندوتلیالی کشت داده شده بر داربست‌های اکتروریسی شده با استفاده از روش MTT در (الف) روز اول و (ب) روز سوم

## بحث و نتیجه گیری

امروزه مهندسی بافت به‌عنوان یکی از جدیدترین و مؤثرترین شاخه‌های علم پزشکی بازساختی در جایگزینی و ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده مورد توجه قرار گرفته است. تهیه یک داربست با ویژگی‌های مناسب به‌عنوان یکی از ارکان اصلی مهندسی بافت محسوب می‌گردد. به‌طور کلی ترکیباتی که به‌عنوان داربست در مهندسی بافت مورد استفاده قرار می‌گیرند باید خواصی مشابه ماتریس خارج سلولی از خود نشان دهند. مهم‌ترین ویژگی این ماتریکس آبدوستی و ریخت‌شناسی آن می‌باشد که نقشی بارز در انتقال اکسیژن و مواد مغذی بین سلول‌ها و محیط اطرافشان ایفا می‌کند. داربست‌های الکتروریسی شده به‌دلیل تخلخل موجود در ساختار پتانسیل کاربرد در مهندسی بافت را دارند. باین‌حال، تاکنون تحقیقات گسترده‌ای در زمینه بهبود ویژگی آبدوستی داربست‌های الکتروریسی شده به‌کمک پلاسمای اکسیژن صورت گرفته است. (Mohamadali et al. 2017)

به‌منظور بهبود خواص آبدوستی داربست الکتروریسی تهیه شده از پلی‌اکریلونیتریل/پلی‌آنیلین از پلاسمای

اکسیژن استفاده کردند. نتایج نشان داد اصلاح داربست منجر به بهبود خواص آبدوستی و در نتیجه اتصال و رشد بهتر سلول‌ها شده است. در پژوهش دیگری Pappa et al. (2015) از پلاسمای اکسیژن به‌منظور بهبود خواص داربست‌های الکتروریسی شده پلی‌کاپرولاکتون بهره بردند. در نهایت، مطالعات سلولی این تحقیق نشان داد داربست‌های اصلاح‌شده با پلاسمای رشد و چسبندگی بیشتری برای سلول‌ها نسبت به داربست‌های اولیه از خود نشان داده‌اند. پژوهش‌ها نشان می‌دهد نانو- و میکروفیبرهای حاصل از پلیمرهای مختلف از جمله پلی‌اکریلونیتریل دارای پتانسیل بالقوه‌ای برای استفاده به‌عنوان داربست‌های زیستی می‌باشند. هدف از انجام این مطالعه تهیه و بررسی اثر اصلاح خصوصیات سطحی به‌واسطه پلاسمای اکسیژن بر رفتار سلول‌های اندوتلیالی بر داربست کامپوزیت‌های حاصل از پلی‌اکریلونیتریل و چارچوب فلز-آلی آهن(III) تهیه‌شده با روش الکتروریسی می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی تست FT-IR تأییدکننده ترکیب چارچوب فلز-آلی آهن(III) با پلیمر پلی‌اکریلونیتریل و پایداری



اصلاح‌شده با پلاسمای اکسیژن حاصل از کامپوزیت چارچوب فلز-آلی آهن(III) و پلیمر پلی‌اکریلونیتریل گزارش نشده است. در این مطالعه برای اولین بار نشان داده شد این دسته از داربست‌ها می‌توانند به‌عنوان بستری مناسب برای اتصال و گسترش سلولی و کاربردهای مهندسی بافت مورد استفاده قرار گیرند.

### سپاسگزاری

از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز (گرنه سال ۹۷)، تشکر و قدردانی می‌گردد.

ساختار شیمیایی آنها پس از اصلاح با پلاسمای اکسیژن می‌باشد. تصاویر به‌دست‌آمده از میکروسکوپ الکترونی SEM نشان‌دهنده تشکیل نانوفیبرهای همگن و یکنواخت می‌باشد. این تصاویر همچنین اتصال، رشد و گسترش مناسب سلول‌های اندوتلیالی بر سطوح داربست به‌ویژه داربست‌های اصلاح‌شده را نشان داده است. نتایج تست MTT نشان داد تکثیر و بقای سلول‌ها بر داربست‌های اصلاح‌شده با روش پلاسمای به‌طور معنی‌داری در مقایسه با داربست‌های بدون پلاسمای افزایش یافته است. تاکنون مطالعه‌ای مبنی بر اتصال و تکثیر سلولی بر داربست‌های

### REFERENCES

- Agusta, M.K.; Saputro, A.G.; Tanuwijaya, V.V.; Hidayat, N.N.; Dipojono, H.K. (2017). Hydrogen Adsorption on Fe-based Metal Organic Frameworks: DFT Study, *Procedia Engineering*; 170: 136-140.
- Asiabi, M.; Mehdinia, A.; Jabbari, A. (2015). Preparation of water stable methyl-modified metal-organic framework-5/polyacrylonitrile composite nanofibers via electrospinning and their application for solid-phase extraction of two estrogenic drugs in urine samples, *Journal of Chromatography A*; 1426: 24-32.
- Boland, E.D.; Wnek, G.E.; Simpson, D.G.; Pawlowski, K.J.; Bowlin, G.L. (2001). Tailoring tissue engineering scaffolds using electrostatic processing techniques: A study of poly (glycolic acid) electrospinning, *Journal of Macromolecular Science, Part A*; 38: 1231-1243.
- Casasola, R.; Thomas, N.L.; Trybala, A.; Georgiadou, S. (2014). Electrospun poly lactic acid (PLA) fibres: Effect of different solvent systems on fibre morphology and diameter. *Polymer*; 55: 4728-4737.
- Chen, X.; Zhang, M.; Li, S.; Li, L.; Zhang, L.; Wang, T.; Yu, M.; Mou, Z.; Wang, C. (2017). Facile synthesis of polypyrrole@metal-organic framework core-shell nanocomposites for dual-mode imaging and synergistic chemophotothermal therapy of cancer cells, *Journal of Materials Chemistry B*; 5: 1772-1778.
- Chowdhury, M. (2017). Metal-Organic-Frameworks for biomedical applications in drug delivery, and as MRI contrast agents, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*; 105: 1184-1194.
- Dai, X.; Cao, Y.; Shi, X.; Wang, X. (2016). Non-isothermal crystallization kinetics, thermal degradation behavior and mechanical properties of poly (lactic acid)/MOF composites prepared by melt-blending methods, *RSC Advances*; 6: 71461-71471.
- Gonen, S.; Elbaz, L. (2018). Comparison of new metal organic framework-based catalysts for oxygen reduction reaction, *Data in brief*; 19: 281-287.
- Heydarkhan-Hagvall, S.; Schenke-Layland, K.; Dhanasopon, A.P.; Rofail, F.; Smith, H.; Wu, B.M.; Shemin, R.; Beygui, R.E.; MacLellan, W.R. (2008). Three-dimensional electrospun ECM-based hybrid scaffolds for cardiovascular tissue engineering, *Biomaterials*; 29: 2907-2914.

- Horcajada, P.; Serre, C.; Maurin, G.; Ramsahye, N. A.; Balas, F.; Vallet-Regí, M.; et al. (2008). Flexible Porous Metal-Organic Frameworks for a Controlled Drug Delivery. *Journal of American Chemical Society*; 130: 6774-6780.
- Jun, I.; Han, H.-S.; Edwards, J.R.; Jeon, H. (2018). Electrospun Fibrous Scaffolds for Tissue Engineering: Viewpoints on Architecture and Fabrication, *International journal of molecular sciences*; 19: 745.
- Kang, Y.; Chen, P.; Shi, X.; Zhang, G.; Wang, C. (2018). Multilevel structural stereocomplex polylactic acid/collagen membranes by pattern electrospinning for tissue engineering, *Polymer*; 156: 250-260.
- Kim, H.; Jalili, R.; Spinks, G.M.; Wallace, G.G.; Kim, S.J. (2017). High-strength graphene and polyacrylonitrile composite fiber enhanced by surface coating with polydopamine, *Composites Science and Technology*; 149: 280-285.
- Kishimoto, Y.; Morikawa, H.; Yamanaka, S.; Tamada, Y. (2017). Electrospinning of silk fibroin from all aqueous solution at low concentration, *Materials Science and Engineering: C*; 73: 498-506.
- Konarov, A.; Bakenov, Z.; Yashiro, H.; Sun, Y.-K.; Myung, S.-T. (2017). Effect of carbon-sulphur bond in a sulphur/ dehydrogenated polyacrylonitrile/ reduced graphene oxide composite cathode for lithium-sulphur batteries, *Journal of Power Sources*; 355: 140-146.
- Li, W.; Yang, Z.; Zhang, G.; Fan, Z.; Meng, Q.; Shen, C.; Gao, C. (2014). Stiff metal-organic framework-polyacrylonitrile hollow fiber composite membranes with high gas permeability, *Journal of Materials Chemistry A*; 2: 2110-2118.
- Matthews, J.A.; Wnek, G.E.; Simpson, D.G.; Bowlin, G.L. (2002). Electrospinning of Collagen Nanofibers, *Biomacromolecules*; 3: 232-238.
- Mohamadali, M.; Irani, S.; Soleimani, M.; Hosseinzadeh, S. (2017). PANi/PAN copolymer as scaffolds for the muscle cell-like differentiation of mesenchymal stem cells, *Polym. Adv. Technol.*; 28: 1078-1087.
- Pappa, A. M.; Karagkiozaki, V.; Krol, S.; Kassavetis, S.; Konstantinou, D.; Pitsalidis, C.; Tzounis, L.; Pliatsikas, N.; Logothetidis, S. (2015). Oxygen-plasma-modified biomimetic nanofibrous scaffolds for enhanced compatibility of cardiovascular implants. *Beilstein journal of nanotechnology*; 6(1): 254-262.
- Ribeiro, R. F.; Pardini, L. C.; Alves, N. P.; Júnior, B.; Rios, C. A. (2015). Thermal Stabilization study of polyacrylonitrile fiber obtained by extrusion, *Polimeros*; 25: 523-530.
- Riccò, R.; Liang, W.; Li, S.; Gassensmith, J.J.; Caruso, F.; Doonan, C.; Falcaro, P. (2018). Metal-Organic Frameworks for Cell and Virus Biology: A Perspective, *ACS Nano*; 12: 13-23.
- Tian, J.; Liu, Q.; Shi, J.; Hu, J.; Asiri, A.M.; Sun, X.; He, Y. (2015). Rapid, sensitive, and selective fluorescent DNA detection using iron-based metal-organic framework nanorods: synergies of the metal center and organic linker, *Biosensors and Bioelectronics*; 71: 1-6.
- Zhou, H.-C.; Long, J.R.; Yaghi, O.M. (2012). Introduction to Metal-Organic Frameworks, *Chemical Reviews*; 112: 673-674.