پراکنه پلی‌یورتان پایه آبی حاوی لیگاند باز شیف در برهمکنش با نقره (I): تهیه، شناسایی و بررسی خواص ضدباکتریایی

عباس محمدی*[۱]، امیرحسین دکترصفایی[۱]، سعید بیگی بروجنی[۲]،هادی امیری رودباری[۱]،نازنین کردستانی[۱]،سید احمد آیتی نجف‌آبادی[۳]

[۱] اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده شیمی، گروه شیمی‌پلیمر

[۲] مرکز تحقیقاتی مهندسی بافت سخت، پژوهشکده مهندسی بافت و طب بازساختی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[۳]اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ، دانشکده فناوریهای نوین علوم پزشکی ، گروه بایومتریال

*a.mohammadi@sci.ui.ac.ir

چکیده

در این پژوهش، به منظور غلبه بر مشکل انعقاد پلی‌یورتان پایه آبی (WPU) حاوی یون‌های نقره، از یک لیگاند باز شیف (SBL)[۱] مشتق شده از ۴،۲-دی‌هیدروکسی بنزآلدهید و بیس(۳-آمینوپروپیل) آمین طراحی شده است. اثر حضور SBL در زنجیره‌های پلی‌یورتان‌های پایه‌آبی در تشکیل کمپلکس آن با یون‌های Ag برای ایجاد پایداری پراکنه‌های آبی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از طیف سنجی UV-vis از پراکنه‌های آماده شده، تشکیل نانوذرات نقره در نمونه WPUL/Ag را از طریق کاهش درجا یون‌های نقره توسط پلی‌اول PTMG (پلی تری‌متیلن گلیکول) به عنوان یک عامل کاهش‌دهنده غیرسمی تأیید کرد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از پراکنه WPUL/Ag نشان داد که نانو ذره‌های تشکیل شده از نقره، شکل کروی با اندازه زیر ۱۰ نانومتر دارند. علاوه‌براین، تجزیه و تحلیل پراش پرتو ایکس از فیلم WPUL/Ag حضور نانوذرات نقره در ماتریس WPUL را تأیید کرد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از فیلم WPUL/Ag پراکندگی یکنواخت نانوذرات نقره را تایید کرد. آزمون‌های ضدباکتریایی فعالیت بسیار خوبی را برای فیلم WPUL/Ag در برابر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا نشان داد. علاوه براین، مطالعات سمیت سلولی در شرایط آزمایشگاهی تأیید کرد که نمونه WPUL/Ag دارای زیست‌سازگاری خوبی نسبت به سلول های L929 است.

کلید واژگان: پوشش‌های ضد باکتریایی، پلی‌یورتان‌های پایه آبی، لیگاندهای باز شیف، جدایی میکروفازی، خواص حرارتی و مکانیکی

۱- مقدمه

طی دهه‌های گذشته، با افزایش آگاهی عمومی در مورد اثرات بیماری‌زایی ناشی از میکروارگانیسم‌ها، نگرانی‌های جهانی درباره خطر عفونت‌های باکتریایی به سرعت در حال رشد است. در همین راستا، برای جلوگیری از اجتماع باکتری‌ها در سطوح مختلف و همچنین برای محدود کردن شیوع عفونت‌های باکتریایی در بسیاری از وسایل مانند: دستگاه‌های پزشکی، تجهیزات بیمارستانی، سیستم‌های تصفیه آب، بسته‌بندی مواد غذایی، دارویی و محصولات بهداشتی پوشش‌های پلیمری ضدباکتریایی مورد توجه قرار گرفته‌اند [۱]. پلی‌یورتان‌ها به دلیل تنوع زیادی که در انتخاب مونومرها از دی‌ایزوسیانات‌ها، پلی‌اول‌ها و زنجیرافزاینده‌ها دارند، خواص کاملاً متنوعی را نشان می‌دهند [۲]. این مواد به عنوان یکی از متنوع‌ترین گروه پلیمرها دارای طیف گسترده ای از کاربردها از فوم و الاستومرها گرفته تا چسب‌ها و پوشش هست. با توجه به مسائل زیست‌محیطی و ایمنی، پلی‌یورتان های پایه آبی (WPUs)، در کاهش ترکیبات

آلی فرار (VOC) مورد توجه ویژه قرار گرفته اند. این پراکنه‌های آبی سازگاری با محیط زیست و ویسکوزیته کم را در وزن‌مولکولی بالا نشان می‌دهند. همچنین این پوشش‌های چسبندگی بسیار خوبی به بسترهای مختلف دارند و همچنین مقاومت در برابر سایش خوب و مقاومت مطلوب در برابر مواد شیمیایی نشان می‌دهند [۳]. از پلی‌یورتان‌ها به دلیل زیست‌سازگاری خوب و خواص مکانیکی بالا به عنوان ماده بیولوژیکی نیز استفاده می‌شود. در این راستا، متداول‌ترین تکنیک، ترکیب مواد افزودنی بیوشیمیایی در ماتریس‌های پلی‌یورتانی است. افزودنی ضد باکتریایی متداول شامل کاتیون‌های فلزی (به عنوان مثال: نقره، مس، سرب، کادمیوم، روی و قلع) یا ترکیبی از آن‌ها، انواع مختلف نانومواد (به عنوان مثال Ag، TiO_2، ZnO، Au، SiO_2، $Mg(OH)_2$، CuO، CNT)، اکسید نیتریک، نمک‌های آمونیوم نوع چهارم و آنتی‌بیوتیک در این زمینه بسیار پرکاربرد می‌باشند. نانوذرات نقره، به دلیل فعالیت بسیار قوی ضدباکتریایی کاربردهای زیادی در ساخت پوشش‌های ضدباکتریایی یافته‌اند. در مقالات، مطالعات زیادی در مورد آماده‌سازی پوشش پلی‌یورتان ضدباکتریایی دارای نانوذرات نقره وجود دارد که قادر به انتشار یون‌های نقره در تماس با باکتری‌ها و قارچ‌ها هستند. به طورکلی، به‌دلیل انتشار زیاد نانوذرات نقره و تمایل به تجمع آن‌ها، این پوشش‌ها معمولاً فقط برای کاربردهای کوتاه مدت مؤثر هستند. تثبیت نانوذرات نقره در ماتریس‌های پلیمری تأثیر معنی داری در بهبود فعالیت ضدمیکروبی و زیست‌سازگاری و کاهش تجمع آن‌ها در مقایسه با نمونه مشابه تثبیت نشده نانوذرات نقره در ماتریس پلیمر دارد [۴]. در این راستا، به عنوان یک روش امیدوارکننده، استفاده مستقیم از یون‌های Ag به جای نانوذرات نقره در پلی‌یورتان مورد بررسی قرار گرفته است. هدف از این مقاله تهیه لیگاند باز شیف سازگار با محیط‌زیست و استفاده آن در زنجیر اصلی پلی‌یورتان‌های پایه آبی است. در حقیقت، با توجه به کوردینیشن انتخابی یون‌های Ag، با لیگاند SBL قرار گرفته شده در زنجیره‌های پلی‌یورتان به عنوان زنجیرافزاینده، نه تنها به جلوگیری از مشکل ژل‌شدگی پلی‌یورتان پایه آبی با افزودن یون‌های Ag کمک می‌کند بلکه باعث بهبود کیفیت تثبیت پراکنه می‌شود. پراکنه پایه آبی دارای لیگاند SBL (WPUL) و پراکنه دارای نانوذره Ag آن (WPUL/Ag) با تجزیه و تحلیل DLS، طیف-سنجی UV-Vis ارزیابی گردید. فیلم‌های پراکنه‌های پایه آبی نیز در شرایط محیطی تهیه و متعاقباً از نظر ساختار شیمیایی، تبلور، مورفولوژی، حرارتی و آنالیز مکانیکی حرارتی پویا بررسی شدند. علاوه‌براین، فعالیت ضدباکتریایی و ارزیابی سمیت سلولی آزمایشگاهی فیلم‌های آماده شده نیز بررسی شد.

۲- بخش تجربی

۲-۱- روش تهیه لیگاند باز شیف

۱ میلی‌لیتر بیس(۳-آمینوپروپیل)آمین به آرامی به ۲ میلی‌لیتر محلول ۲،۴-دی هیدروکسی‌بنزآلدئید در ۳۰میلی‌لیتر کلروفرم اضافه شد. سپس رسوب زرد به سرعت تشکیل شد و مخلوط به مدت ۴ ساعت در دمای محیط همزده شد. در نهایت محصول سه بار با ۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم سرد فیلتر و شسته شد و در دمای اتاق خشک گردید.

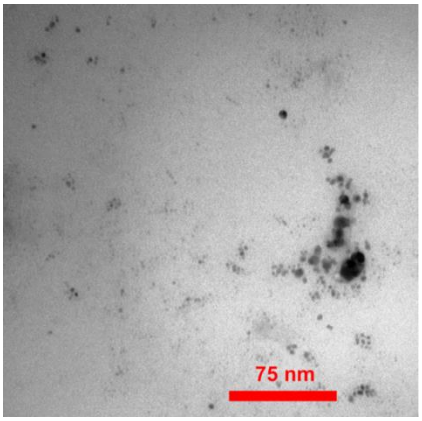
۲-۲-روش تهیه پلی یورتان های پایه آبی

به منظور تهیه WPU و WPUL، پیش‌پلیمرها جداگانه در بالن سه دهانه ۲۵۰ میلی‌لیتری همراه با همزن مکانیکی، گاز نیتروژن، دماسنج و کندانسور سنتز شد. در ابتدا برای آماده‌سازی پیش‌پلیمرهای با انتهای NCO، PTMG، IPDI و DMPA (حل شده در ۲ میلی‌لیتر NMP) درون بالن سه دهانه ریخته و مخلوط حاصل تحت همزدن با سرعت ۲۵۰ دور در دقیقه تحت اتمسفر N_2 در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت. سپس مخلوط پیش‌پلیمر با مقادیر مناسب از زنجیرافزاینده‌های BDO به تنهایی یا مخلوطی از لیگاند باز شیف و BDO در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه واکنش داد. سرانجام مخلوط‌های واکنش تا دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد سرد شدند و TEA (معادل DMPA) برای خنثی کردن گروه‌های اسیدی DMPA اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه واکنش در این دما ادامه یافت. در نهایت پراکنه‌های WPU و WPUL با اضافه کردن مقادیر مشخصی از آب دیونیزه برای

به‌دست آوردن محصولی با محتوای ۳۰ درصد جامد تحت همزدن شدید (۹۰۰ دور در دقیقه) به‌دست آمد. برای تهیه پراکنه WPUL/Ag، ۷ میلی‌لیتر محلول آبی $Ag(NO_3)$ با غلظت (۴/۳۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به‌طور جداگانه به ۱۰ میلی‌لیتر پراکنه WPUL در دمای اتاق اضافه شد و سپس به مخلوط حاصل اجازه داده شد به مدت ۳۰ دقیقه هم بخورد.

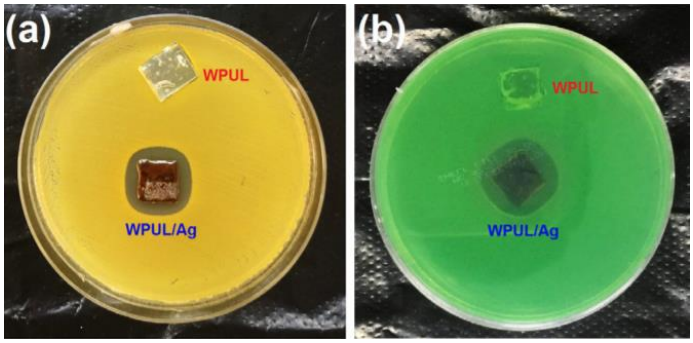
۳- نتایج و بحث

شناسایی لیگاند باز شیف با آنالیزهای HNMR و CHNS مورد بررسی قرار گرفت و سنتز آن تایید شد. میانگین اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات پراکنه های پایه آبی اندازه گیری شد. پتانسیل‌های Zeta پراکنه‌های WPU، WPULو WPUL/Ag نیز در دمای اتاق و pH = 7 اندازه‌گیری شد. پایداری پراکنه‌های WPU، WPUL و WPUL/Ag نیز پس از سه ماه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به صورت بصری مورد بررسی قرار گرفت. عدم مشاهده هرگونه رسوب، حاکی از کیفیت بالای پایداری پراکنه‌ها است. طیف جذب UV-Vis از پراکنه‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفت و سنتز پراکنه‌ها را تایید کرد. میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) به منظور بررسی مورفولوژی نانوذرات نقره درجا تشکیل شده در نمونه WPUL/Ag مورد استفاده قرار گرفت که با توجه به شکل سایز حدود ۱۰ nm برای ذرات تایید شد.



شکل ۱. تصویر TEM از پراکنه WPUL/Ag

همچنین طیف (ATR)FTIR فیلم های WPU، WPUL و WPUL/Ag و طیف های H-NMR از فیلم های WPU و WPUL و آنالیزهای XRD، SEM، TGA و DMTA از نمونه‌ها برای شناسایی و بررسی خواص نمونه‌ها گرفته شد. مقدار نقره آزاد شده از فیلم WPUL/Ag با استفاده از ICPMS مورد بررسی قرار گرفت و مقدار کم آزاد شدن نقره در حدود ۵ ppm برای نمونه بعد از ۷۲ ساعت گزارش شد. بررسی فعالیت ضدباکتریایی فیلم‌ها بر اساس استاندارد ASTM E2149 انجام گرفت و جهت انجام این آزمون، از دو نوع باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا استفاده شد. به ترتیب تصاویر ۲-a و ۲-b نشان‌دهنده منطقه عاری از باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا می‌باشند. مطابق شکل مذکور، منطقه عاری از باکتری قابل توجهی در اطراف نمونه WPUL/Ag برای باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا مشاهده شد، درحالی که هیچ منطقه عاری از باکتری در اطراف نمونه WPUL مشاهده نشد. مطالعات زنده ماندن سلول‌ها، با استفاده از سنجش MTT [(۴،۵-دی‌متیل-۲- تیازولیل)-۲،۵-دی‌فنیل تترازولیوم بروماید] انجام گرفت. در این آزمون از سلول‌های فیبروبلاست L929 موش استفاده شد.



شکل۲. تصویر a وb به ترتیب نشان‌دهنده فیلم‌های پلیمری در حضور باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا

۴- نتیجه‌گیری

به طورکلی در این مقاله، برای اولین بار، یک لیگاند باز شیف (SBL) داخل زنجیره‌های پلی‌یورتانی پراکنده شده در آب (WPUL) با ویژگی کیلیت‌کنندگی قرار گرفته است و از آن به عنوان یک رویکرد خوب برای پراکندگی همگن نانوذرات Ag در پراکنه پایه آبی (WPUL/Ag) و به‌دست آوردن یک پوشش ضدباکتریایی مؤثر استفاده شد. بر اساس مطالعات پایداری نانوذره Ag، به کمک لیگاند SBL می‌تواند بر تشکیل ژل و انعقاد پراکنه WPU/Ag بدون لیگاند SBL غلبه کند. همراه با این روش، برخی از مزایا از جمله پایداری مانایی بالا، تشکیل فیلم در دمای اتاق، کاهش یون‌های Ag به نانوذرات Ag و پراکندگی خوب نانوذرات نقره به‌دست آمد. تصاویر SEM گرفته شده از پوشش WPUL/Ag، پراکندگی تقریبا یکنواخت و تمایل کم به تجمع نانودرات نقره را نشان داد. براساس نتایج DMTA، مقادیر T_g بخش‌های نرم پلی‌یورتان و T_g بخش‌های سخت پلی‌یورتان در نمونه WPUL/Ag نسبت به نمونه WPUL به سمت دمای بالاتر جابه‌جا شده است. به‌عنوان یک نتیجه امیدوارکننده، ارزیابی ضدباکتریایی پوشش آماده شده WPUL/Ag اثر ضدمیکروبی شدید در برابر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا با بازده ۹۹/۹۹ درصد را نشان داد. علاوه‌براین، سنجش MTT تأیید کرد که نمونه WPUL/Ag هیچ سمیتی برای سلولهای L929 ندارد. در مقایسه با تحقیقات مرتبط پیشین، فیلم نانوکامپوزیتی WPUL/Ag، که تنها حاوی ۰/۶۴ درصد نقره است عملکرد ضدباکتریایی چشمگیری را نشان داد که می‌تواند برای طیف گسترده‌ای از برنامه‌های تجاری مناسب باشد.

مراجع

[1] E.R. Kenawy, S. Worley, R. Broughton, The chemistry and applications of antimicrobial polymers: a state-of-the-art review, Biomacromolecules 8 (2007) 1359–1384.

[2] Y. Xia, Z. Zhang, M.R. Kessler, B. Brehm-Stecher, R.C. Larock, Antibacterial soya bean-Oil-based cationic polyurethane coatings prepared from different amino polyols, Chem. Sustain. Chem. 5 (2012) 2221–2227

[3] D. Macocinschi, D. Filip, M.F. Zaltariov, C.D. Varganici, Thermal and hydrolytic stability of silver nanoparticle polyurethane biocomposites for medical applications, Polym. Degrad. Stabil. 121 (2015) 238–246.

[4] A. Mohammadi, M.M. Lakouraj, M. Barikani, Waterborne polyurethanes based on macrocyclic thiacalix[4] arenes as novel emulsifiers: synthesis, characterization and anti-corrosion properties, RSC Adv. 6 (2016) 87539–87554.