

# بررسی خصوصیات مکانیکی و بیولوژیکی داربست مهندسی بافت بر پایه پلی کاپرولاکتون عامل دار و پلی اتیلن گلیکول دی آکریلات تقویت شده با ذرات هیدروکسی آپاتیت

نرجس کوپایی<sup>۱\*</sup>، اکبر کارخانه<sup>۲</sup>

۱- استادیار، مرکز تحقیقات مواد پیشرفته، دانشکده مهندسی مواد، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران

۲- استادیار، گروه بیومتریال، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیر کبیر، تهران، ایران

\*عهده دار مکاتبات: narges\_koupaei@Pmt.iaun.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۰۸، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۰۵)

**چکیده:** هدف از انجام این تحقیق ساخت داربست مهندسی بافت استخوان برپایه پلی کاپرولاکتون عامل دار و پلی اتیلن گلیکول دی آکریلات در حضور ذرات هیدروکسی آپاتیت و بررسی خصوصیات مکانیکی و بیولوژیکی داربست حاصل است. در مرحله اول، پلی کاپرولاکتون دی ال (PCL diol) از طریق واکنش با آکرلیک اسید کلراید، آکریلاته شد و آکریلاته شدن آن با استفاده از طیف نگاری مادون قرمز (FTIR) تأیید شد. سپس داربست‌ها از طریق برقراری اتصال عرضی رادیکالی بین پلی کاپرولاکتون دی آکریلات و پلی اتیلن گلیکول دی آکریلات در حضور ذرات هیدروکسی آپاتیت و خروج ذرات کلرید سدیم به عنوان تخلخل‌زا ساخته شد. نمونه‌های تهیه شده با استفاده از روش‌هایی مانند میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، طیف نگاری مادون قرمز (FTIR) و آنالیز حرارتی مکانیکی دینامیکی (DMTA) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش نسبت پلی اتیلن گلیکول دی آکریلات (PEGDA) به پلی کاپرولاکتون دی آکریلات (PCLDA) در شبکه پلیمری، پیک منحنی فاکتور اتلافی ( $\tan \delta$ ) افزایش و مدول فشاری کاهش یافت. به علاوه، با افزودن ذرات هیدروکسی آپاتیت به شبکه‌های پلیمری PCLDA/PEGDA پیک منحنی  $\tan \delta$  کاهش و مدول فشاری افزایش یافت. به منظور بررسی سمیت یا عدم سمیت داربست‌ها از آزمون تماس مستقیم، بررسی سلول‌های چسبیده شده بر روی داربست و رنگ آمیزی سلولی استفاده شد. نتایج آزمون‌های بیولوژیکی سمیت سازگار بودن داربست‌های PCLDA/PEGDA/HA را نشان داد. همچنین سلول‌های فیروبلاست و استئوبلاست به خوبی بر روی سطح داربست و دیواره تخلخل‌های آن چسبیده و گسترده شده‌اند. نتایج نشان داد داربست‌های PCLDA/PEGDA/HA پناسیل استفاده در مهندسی بافت استخوان را دارند.

## واژه‌های کلیدی:

پلی کاپرولاکتون دی آکریلات، پلی اتیلن گلیکول دی آکریلات، داربست، هیدروکسی آپاتیت، اتصال عرضی.

## ۱- مقدمه

زیست تخریب پذیری مناسب و خواص مکانیکی کافی و دارا بودن خاصیت هدایت استخوانی برای ایجاد ساختار سه بعدی است [۱-۲]. پلیمرهای زیست تخریب پذیر زیادی برای اهداف

مهندسی بافت استخوان یک روش قابل قبول برای ترمیم عیب‌های استخوانی است. یکی از چالش‌ها در مهندسی بافت استخوان، نیاز به داربست مناسب با کمترین تحریک بدن،

اتصال عرضی شیمیایی است [۱۲-۱۳]. در این تحقیق با هدف بهبود خصوصیات فیزیکی و بیولوژیکی پلی کاپرولاکتون، داربست هیدروژلی زیست تخریب پذیر از طریق واکنش اتصال عرضی بین پلی کاپرولاکتون آکریلاته و پلی اتیلن گلایکول دی-آکریلات در حضور ذرات هیدروکسی آپاتیت به عنوان یک روش جدید مطرح شده است.

## ۲- مواد و روش انجام تحقیق

### ۲-۱- مواد اولیه

پلی کاپرولاکتون دی ال (PCL diol) با وزن مولکولی ۲۰۰۰، پلی اتیلن گلایکول دی آکریلات (PEGDA) با وزن مولکولی ۷۰۰ و ۲۰۲-آزو بیس ایزو بوتیرونیتریل (AIBN) به عنوان آغازگر حرارتی از شرکت سیگما-آلد ریچ تهیه شد. بنزن، ان-هگزان (n-hexane)، آکرلیک اسید کلراید، تری اتیل آمین و هیدروکسی آپاتیت از شرکت مرک تهیه شد. دی اکسان از شرکت اپلی کم تهیه شد.

### ۲-۲- سنتز پلی کاپرولاکتون دی آکریلات

با هدف تهیه پلی کاپرولاکتون دی آکریلات ۵ گرم (mmol) (۲/۵) پلی کاپرولاکتون دی ال ( $M_n=2000$ ) در ۴۰ میلی لیتر بنزن حل شد. سپس ۰/۸۶۶ میلی لیتر تری اتیل آمین (۶/۲۵ mmol) و ۰/۵۰۵ میلی لیتر آکرلیک اسید کلراید (۶/۲۵ mmol) به محلول اضافه شد و مخلوط حاصل به مدت ۳ ساعت بر روی همزن مغناطیسی با سرعت ۳۰۰ دور بر دقیقه با دمای ۸۰ درجه سانتی-گراد قرار داده شد. سپس محصول فرعی واکنش از طریق فیلتر کردن خارج شد. در نهایت آن چه که از کاغذ صافی عبور کرده را در مقدار زیادی ان هگزان رسوب داده شد و رسوب حاصل در محفظه خلأ به مدت ۲۴ ساعت خشک شد [۱۴-۱۹]. شکل ۱ شماتیک ساخت پلی کاپرولاکتون دی آکریلات را از پلی کاپرولاکتون دی ال نشان می دهد.

مهندسی بافت استفاده شده اند. پلی کاپرولاکتون یک پلیمر زیست تخریب پذیر سنتزی است که برای کاربرد در پزشکی مورد تأیید است [۳-۴]. به هر حال آب گریزی ذاتی پلی-کاپرولاکتون و فقدان گروه های فعال بیواکتیو باعث برهم کنش ضعیف سلول - ماده و محدودیت در فعالیت سلولی از قبیل چسبندگی سلولی شده است که این موضوع برای کاربردهای مهندسی بافت استخوان مناسب نمی باشد زیرا چسبندگی سلولی یک فاکتور اساسی برای موفقیت در کشت سلول و تشکیل بافت می باشد. همچنین به علت خاصیت آب گریزی و درجه بلورینگی بالا، سرعت تخریب آن از طریق هیدرولیز بسیار آهسته است [۵]. این بدین معنا است که جهت کاربرد وسیع تر پلی کاپرولاکتون در پزشکی و مهندسی بافت، لازم به ایجاد تغییرات اساسی در این ماده است [۶]. پلی اتیلن گلایکول (PEG) به علت خصوصیات شاخصی از قبیل زیست سازگاری مناسب، آب-دوستی، فقدان سمیت و عدم سرطان زایی، یکی از مهم ترین پلیمرهای آب دوست برای کاربردهای پزشکی است [۷-۸].

هیدروکسی آپاتیت (HA) ماده سرامیکی با ترکیب و ساختاری شبیه به بخش معدنی استخوان طبیعی است و دارای زیست-سازگاری مناسب، خاصیت هدایت استخوانی و القای استخوانی است [۹]. دانشمندان موفق به ساخت داربست های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون/هیدروکسی آپاتیت شده اند و افزایش خاصیت هدایت استخوانی داربست ها را با افزودن ذرات هیدروکسی آپاتیت گزارش کرده اند [۱۰-۱۱]. به هر حال، آب گریزی ذاتی پلی کاپرولاکتون باعث کاهش چسبندگی سلولی شده است که همین موضوع باعث محدودیت استفاده از پلی کاپرولاکتون در کاربردهای کلینیکی است [۹].

با توجه به مطالب بیان شده، PEG و HA گزینه های مناسبی برای تغییر خصوصیات مکانیکی و بیولوژیکی PCL جهت کاربرد به عنوان داربست در مهندسی بافت استخوان است. علیرغم توجه فراوان به سیستم های پایه PCL و پلیمرهای آب دوست از جمله PEG در رهایش دارو و مهندسی بافت، این سیستم ها دارای عیوبی نظیر رهایش زنجیره های PEG از داربست در غیاب عامل

PEGDA در دی اکسان و افزودن AIBN و HA به محلول، ۱۴۰ درصد وزنی/حجمی کلرید سدیم (NaCl) به عنوان تخلخل زا به مخلوط اضافه شد. پس از عملیات هموژن کردن، مخلوط حاصل در لوله آزمایش ریخته شد و به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد در محفظه حرارتی قرار داده شد. نمونه‌ها از لوله آزمایش خارج شد و به دیسک‌هایی با ضخامت ۱ میلی‌متر تقسیم شد. سپس به منظور خروج ذرات تخلخل‌زا، نمونه‌ها به مدت ۴ روز در آب مقطر غوطه‌ور شدند. در نهایت به مدت ۴۸ ساعت به صورت انجمادی خشک شدند. کدگذاری داربست‌ها و درصد وزنی ترکیبات مورد استفاده در ساخت داربست‌های PCL/PEG از پلیمرهای PCLDA و PEGDA مطابق جدول ۱ می‌باشد.

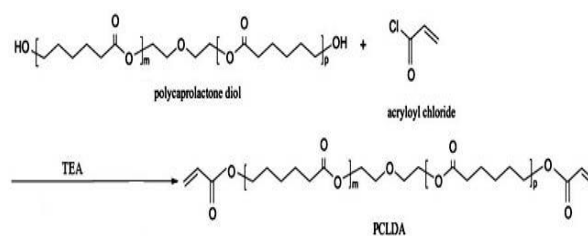
جدول (۱): درصد وزنی ترکیبات مورد استفاده در ساخت هیدروژل بدون تخلخل PCL/PEG با استفاده از پلیمرهای PCL-DA و PEG-DA

غلظت کل پلیمر wt./vol. (%)	HA (wt./vol. %)	نسبت وزنی PCLDA/PEGDA	کد گذاری نمونه‌ها
30	0	100:0	100PCLDA
30	5	100:0	100PCLDA/HA
30	0	75:25	75PCLDA
30	5	75:25	75PCLDA/HA
30	0	50:50	50PCLDA
30	5	50:50	50PCLDA/HA

## ۲-۵-۰۵- روش‌های ارزیابی خواص نمونه‌ها

### ۲-۵-۰۱- طیف‌نگاری مادون قرمز

به منظور مشاهده آکریلاته شدن پلی کاپرولاکتون از طیف‌نگاری مادون قرمز<sup>۱</sup> (FTIR) استفاده شد که طی آن طیف‌نگاری توسط دستگاه مدل FT-IR-6300 ساخت شرکت Jasco-Japan



شکل (۱): شماتیک ساخت پلی کاپرولاکتون آکریلاته [۱۵].

## ۲-۳- سنتز هیدروژل بدون تخلخل PCLDA /PEGDA

ساخت هیدروژل PCL/PEG از طریق واکنش اتصال عرضی رادیکالی بین پلی کاپرولاکتون دی آکریلات (PCLDA) و پلی اتیلن گلیکول دی آکریلات (PEGDA) انجام شد. بدین منظور پلی کاپرولاکتون دی آکریلات و پلی اتیلن گلیکول دی آکریلات با درصدهای وزنی مختلف در ۱-۴ دی اکسان حل شد و محلولی با غلظت کل ۳۰ درصد وزنی/حجمی تهیه شد. سپس مقدار مشخصی آغازگر حرارتی (AIBN) به محلول اضافه شد. همچنین به تعدادی از نمونه‌ها، ۵ درصد وزنی/حجمی هیدروکسی آپاتیت (HA) افزوده شد. سپس مخلوط حاصل در داخل لوله آزمایش در دما ریخته شد و به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد در محفظه حرارتی قرار داده شد. نمونه‌ها (هیدروژل‌ها) از لوله آزمایش خارج شد و به دیسک‌هایی با ضخامت ۱ میلی‌متر تقسیم شد. سپس ۳ مرتبه با آب مقطر شسته شدند و در نهایت به مدت ۲ روز در دستگاه خشک کن انجمادی خشک شدند.

جدول ۱ درصد وزنی ترکیبات مورد استفاده و نسبت اجزای پلیمری (پلی کاپرولاکتون دی آکریلات و پلی اتیلن گلیکول دی آکریلات) در ساخت هیدروژل بدون تخلخل PCL/PEG را نشان می‌دهد.

## ۲-۴- سنتز هیدروژل متخلخل PCLDA /PEGDA (سنتز داربست)

به منظور ساخت داربست، تمام مراحل ساخت نمونه بدون تخلخل PCL/PEG تکرار شد. با این تفاوت که بعد از انحلال مقدار مشخصی PCLDA (پلی کاپرولاکتون دی آکریلات) و

۴۸ ساعت داخل انکوباتور با دمای  $37^{\circ}\text{C}$  با رطوبت ۹۵ درصد و ۵ درصد گاز دی‌اکسید کربن قرار داده شد. بعد از گذشت این زمان محیط روی نمونه‌ها خارج و سلول‌های روی داربست با استفاده از گلو تار آلدئید ۴ درصد تثبیت شدند. سپس به کمک الکل از نمونه‌ها آب‌گیری شد، به مدت ۲۴ ساعت در محفظه خلأ خشک شدند و مورفولوژی سلول‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) مدل SIGMA/VP ساخت شرکت ZEISS مشاهده شد. به علاوه، بعد از ۲۴ ساعت مورفولوژی سلول‌های رشد یافته در مجاورت نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری مشاهده شد و با نمونه کنترل مقایسه شد. لازم به ذکر است که چاهک حاوی سلول ولی فاقد نمونه به عنوان کنترل در نظر گرفته شد.

#### ۲-۶-۲- رنگ آمیزی فلورسنس هوخست<sup>۲</sup>

با هدف رنگ آمیزی سلول‌ها، حدود  $1 \times 10^4$  سلول از زده سلولی<sup>۸</sup> استئوسارکوما ای انسانی MG63 روی داربست کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت محیط رویی خارج و سلول‌ها توسط گلو تار آلدئید بر روی داربست تثبیت شد. سپس رنگ هوخست ۳۳۴۳۲ با غلظت  $5 \mu\text{g/ml}$  به آن‌ها افزوده شد به طوری که سطح داربست توسط رنگ پوشیده شود. داربست/سلول‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط در تماس با رنگ هوخست قرار گرفتند و پس از آن رنگ‌ها خارج و با میکروسکوپ فلورسنس<sup>۹</sup> (Ziess Germany Axioskop) مشاهدات صورت گرفت [۲۰-۲۱].

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- سنتز هیدروژل بدون تخلخل و با تخلخل (داربست)

##### PCL/PEG

پلی‌کاپرولاکتون دی‌آکریلات (PCLDA) از طریق واکنش پلی‌کاپرولاکتون دی‌ال (PCL diol) با آکریلیک اسید کلراید به دست آمد. همچنین شبکه هیدروژلی تخریب پذیر PCL/PEG از طریق برقراری اتصال عرضی بین زنجیره‌های PCLDA و PEGDA در حضور ذرات هیدروکسی آپاتیت (HA) ساخته

در محدوده  $4000-400 \text{ cm}^{-1}$  با وضوح  $4 \text{ cm}^{-1}$  انجام گرفت. همچنین به منظور بررسی ساختار شیمیایی نمونه‌های شبکه‌ای شده، از آنالیز بازتابش کلی تضعیف شده<sup>۲</sup> (ATR-FTIR) استفاده شد.

#### ۲-۵-۲- بررسی مورفولوژی داربست‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۳</sup>

برای بررسی سطح و مقطع شکست داربست‌ها و به هم پیوستگی تخلخل‌ها از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی<sup>۴</sup> (FESEM, Sigma/VP, Zeiss) استفاده شد. بدین منظور داربست‌ها در نیتروژن مایع شکسته شدند و بعد از لایه نشانی طلا، توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور مطالعه توزیع پراکنندگی ذرات هیدروکسی آپاتیت در سطح هیدروژل‌ها، نقشه رنگی توسط دستگاه FESEM مجهز به آنالیز توزیع انرژی پرتو ایکس<sup>۵</sup> (EDS) از آن‌ها تهیه شد.

#### ۲-۵-۳- آنالیز حرارتی مکانیکی دینامیکی<sup>۶</sup> (DMTA)

آنالیز DMTA به کمک دستگاه UK Polymer Lab مدل MK-II در حالت فشاری در محدوده دمایی  $80-100$  درجه سانتی-گراد در فرکانس ۱ هرتز و نرخ حرارتی ۵ درجه سانتی-گراد بر دقیقه انجام شد.

#### ۲-۶-۲- بررسی‌های سلولی

#### ۲-۶-۱- ارزیابی سمیت سلولی داربست‌ها با استفاده از تماس مستقیم و مشاهده مورفولوژی سلول‌های فیبروبلاست بر روی داربست‌ها

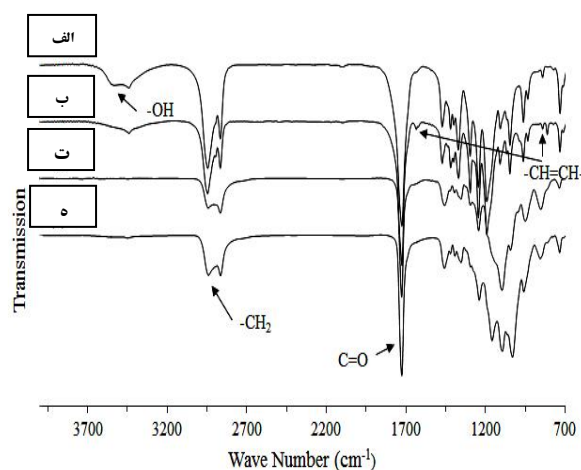
به منظور ارزیابی سمیت سلولی داربست‌ها، نمونه‌های استریل شده توسط اشعه ماوراء بنفش درون پلیت ۲۴ خانه‌ای قرار داده شد. روی هر نمونه تعدادی سلول فیبروبلاست L-929 توسط میکروپیت قرار داده شد. همچنین مجاورت نمونه‌ها با سلول پر شد. محیط کشت RPMI به هر چاهک اضافه شد و سطح نمونه‌ها با محیط کشت پوشانده شد. در این مرحله نمونه‌ها به مدت

$1725\text{cm}^{-1}$  و پیک جذب گرو متیلن ( $\text{-CH}_2$ ) در عدد موجی  $2950\text{cm}^{-1}$  مشاهده می‌شود. با توجه به این شکل، در این شبکه‌ها پیک جذب مربوط به گروه ونیل در اعداد موجی  $1635\text{cm}^{-1}$  و  $1635\text{cm}^{-1}$  حذف شده است که دلیل این امر را می‌توان به شکسته شدن پیوند دو گانه کربن-کربن توسط آغازگر حرارتی (AIBN) و برقراری اتصال عرضی بین زنجیره‌های پلی-کاپرولاکتون و پلی‌اتیلن گلایکول و تشکیل شبکه هیدروژلی نسبت داد [۱۵-۲۲]. در طیف‌های 75PCLDA/HA و 75PCLTA/HA علاوه بر پیک‌های موجود در طیف‌های 75PCLDA و 75PCLTA، پیک مربوط به گروه فسفات  $(\text{PO}_4)_3$  هیدروکسی آپاتیت نیز در عدد موجی  $1029\text{cm}^{-1}$  قابل مشاهده است [۲۳].

### ۳-۲- بررسی مورفولوژی داربست‌ها

در مهندسی بافت استخوان وجود داربستی متخلخل برای مهاجرت و تکثیر سلول‌های استخوانی بسیار ضروری است [۲۴]. داربست‌های مهندسی بافت باید دارای ساختاری متخلخل با درصد تخلخل بالا باشند. تخلخل‌های موجود در ساختار نیز باید به هم مرتبط باشند تا امکان انتقال مواد غذایی و دفع مواد زائد از سطوح داخلی تر داربست وجود داشته باشد و بدین وسیله امکان زنده ماندن و رشد سلول در این نواحی فراهم شود [۲۵]. در پژوهش حاضر، ساختار متخلخل داربست‌ها توسط خروج ذرات تخلخل‌زا (کلرید سدیم) حاصل شد. در شکل ۳ تصاویر FESEM از مقطع شکست داربست‌های ساخته شده با درصد‌های وزنی مختلف PCLDA و PEGDA با بزرگنمایی ۱۰۰ مشاهده می‌گردد. بر اساس این شکل، ساختار تمام داربست‌ها متخلخل می‌باشد و تخلخل‌ها به طور یکنواخت در ساختار پراکنده شده‌اند که این موضوع خروج ذرات کلرید سدیم (تخلخل‌زا) را از ساختار پس از غوطه‌وری در آب مقطر نشان می‌دهد. همچنین خلل و فرج‌های ساختار به یکدیگر مرتبط بوده و در نتیجه امکان انتقال مواد غذایی و اکسیژن برای رشد سلول‌ها وجود دارد. قابل ذکر است که تخلخل‌های به هم اتصال

شد. در شکل ۲ نتایج طیف‌نگاری مادون قرمز (FTIR) پلی کاپرولاکتون دی‌ال و پلی کاپرولاکتون دی‌آکریلات و نتایج آنالیز ATR-FTIR شبکه‌های هیدروژلی 75PCLDA و 75PCLDA/HA مشاهده می‌گردد. با توجه به این شکل در هر دو طیف a و b، باند جذبی در اعداد موجی  $3440\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی گروه هیدروکسیل ( $\text{-OH}$ )،  $2950\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی گروه متیلن ( $\text{-CH}_2$ )،  $1725\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی کربونیل استر ( $\text{C=O}$ ) و عدد موجی  $1190\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی اتر ( $\text{C-O}$ ) است.



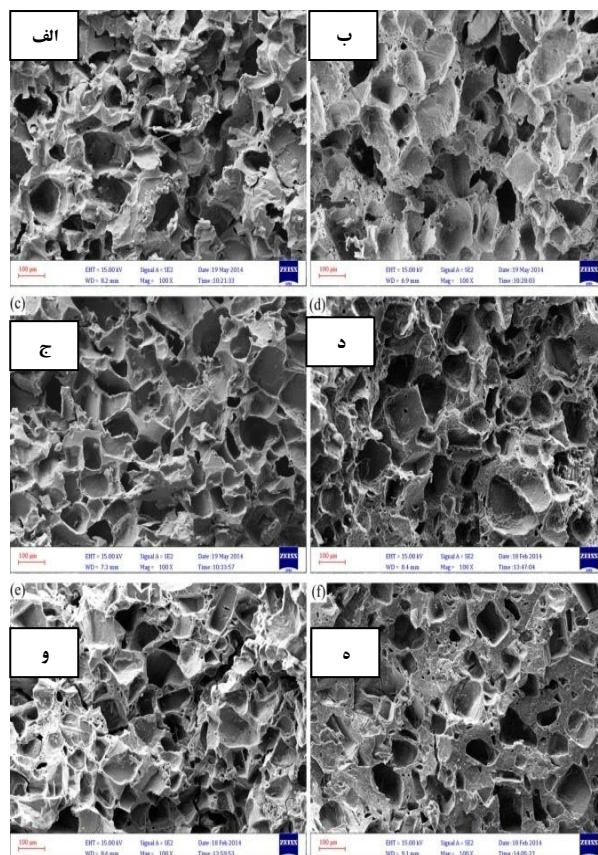
شکل (۲): طیف FTIR: (الف): پلی کاپرولاکتون دی‌ال، (ب): پلی-کاپرولاکتون دی‌آکریلات و طیف ATR-FTIR شبکه‌های هیدروژلی، (ت): 75PCLDA و (ه): 75PCLDA/HA

بر اساس شکل ۲، تمام باندهای جذبی موجود در طیف پلی-کاپرولاکتون دی‌ال در طیف پلی کاپرولاکتون دی‌آکریلات قابل مشاهده است. با این تفاوت که در طیف پلی کاپرولاکتون دی‌آکریلات شدت پیک هیدروکسیل در عدد موج  $3440\text{cm}^{-1}$  کاهش یافته است. علاوه بر آن، در این طیف باند جذبی در اعداد موجی  $1635\text{cm}^{-1}$  و  $1635\text{cm}^{-1}$  نیز قابل مشاهده است که مربوط به گروه ونیل است که به علت آکریلاته شدن پلی-کاپرولاکتون دی‌ال ظاهر شده است [۱۴-۱۵]. بر اساس شکل ۲، برای شبکه‌های هیدروژلی 75PCLDA و 75PCLDA/HA پیک جذبی گروه کربونیل استر ( $\text{C=O}$ ) در عدد موجی  $\text{cm}^{-1}$

**۳-۳- نتایج آنالیز حرارتی مکانیکی دینامیکی (DMTA)**

در شکل ۵ و ۶ منحنی مدول ذخیره<sup>۱۲</sup> و فاکتور اتلافی<sup>۱۳</sup> ( $\tan \delta$ ) حاصل از آنالیز DMTA شبکه‌های هیدروژلی متشکل از PCLDA و PEGDA مشاهده می‌گردد. دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) نمونه‌ها، از مقدار بیشینه منحنی فاکتور اتلافی ( $\tan \delta$ ) تعیین گردید. مقادیر مدول ذخیره در دمای  $37^\circ\text{C}$  برای شبکه‌های هیدروژلی که در پزشکی کاربرد دارند، دارای اهمیت است [۲۷]. از این رو، مقادیر دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) و مدول ذخیره شبکه‌ها در دمای  $37^\circ\text{C}$  تعیین و مقادیر آن‌ها در جدول ۲ گزارش شده است. مطابق جدول ۲، با افزودن پلی اتیلن گلیکول دی آکریلات به پلی کاپرولاکتون دی آکریلات و ایجاد شبکه هیدروژلی 75PCLDA، مدول ذخیره در دمای  $37^\circ\text{C}$  از (MPa) ۲۲ به (MPa) ۱۱/۷۳ و دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) از  $26/3^\circ\text{C}$  به  $28/7^\circ\text{C}$  کاهش یافته است. به علاوه، با افزایش بیشتر پلی اتیلن گلیکول دی آکریلات و ایجاد شبکه هیدروژلی 50PCLDA مدول ذخیره در دمای  $37^\circ\text{C}$  به (MPa) ۰/۶ و دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) به  $35/4^\circ\text{C}$  کاهش یافته است. همان طور که پیشتر ذکر شد با افزودن پلی اتیلن گلیکول به پلی کاپرولاکتون، درجه بلورینگی ساختار کاهش یافته است. از آنجایی که درجه بلورینگی بر روی خواص مکانیکی و حرارتی ساختار تأثیر گذار است [۲۲] بنابراین، کاهش مدول ذخیره و دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) منطقی به نظر می‌رسد. همچنین با افزودن پلی اتیلن گلیکول به ساختار، حرکت زنجیره‌های پلیمری تسهیل یافته و از این جهت پیک منحنی فاکتور اتلافی ( $\tan \delta$ ) در نمونه‌های 75PCLDA و 50PCLDA در مقایسه با نمونه 100PCLDA افزایش یافته است. مطابق جدول ۲، با ورود ذرات هیدروکسی آپاتیت به تمام شبکه‌های هیدروژلی PCL/PEG، مقدار مدول ذخیره در دمای  $37^\circ\text{C}$  افزایش یافته است که این موضوع تأثیر تقویت کنندگی ذرات هیدروکسی آپاتیت (HA) را در شبکه پلیمری نشان می‌دهد. مدول ذخیره حاکی از توانایی مواد جهت ذخیره کردن انرژی مکانیکی و مقاومت در برابر تغییر شکل می‌باشد. قابل ذکر است که مواد دارای مدول ذخیره

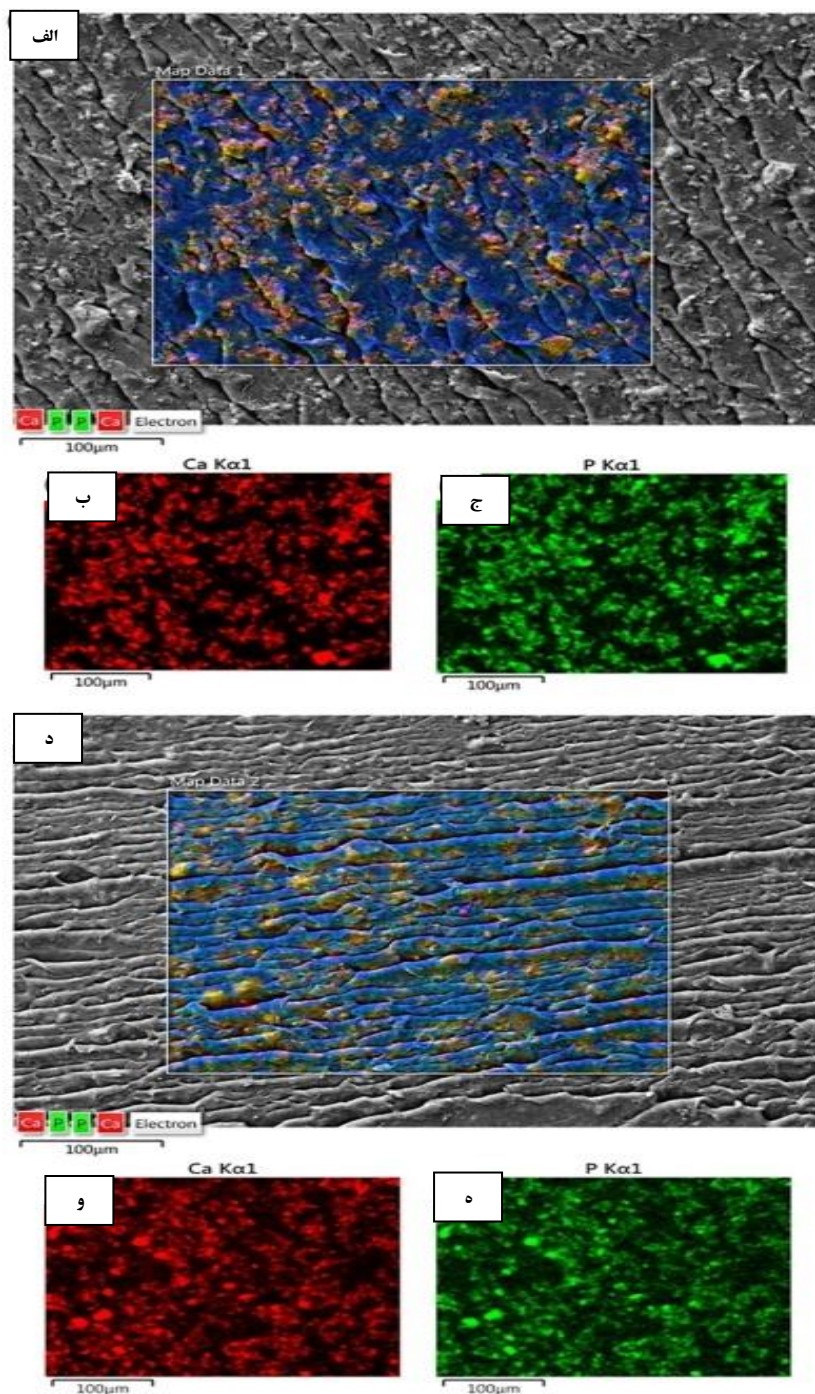
یافته، نقش مهمی در رشد سلول و تشکیل بافت دارند [۲۶]. در شکل ۴ تصاویر FESEM از سطح شبکه هیدروژل 75PCLDA/HA به همراه نقشه توزیع نقطه‌ای اشعه ایکس<sup>۱۰</sup> مربوط به عناصر کلسیم (Ca) و فسفر (P) ناحیه انتخاب شده، مشاهده می‌گردد. نقشه عنصری<sup>۱۱</sup> شبکه هیدروژل 75PCLDA/HA نشان داد که قبل و بعد از غوطه‌وری شبکه هیدروژلی در آب مقطر، کلسیم و فسفر به طور گسترده در شبکه حضور دارند و به طور یکنواختی در ساختار پراکنده شده‌اند. بنابراین، از آنجایی که کلسیم و فسفر از اجزای اصلی تشکیل دهنده هیدروکسی آپاتیت محسوب می‌شوند [۱۱]، می‌توان استنباط نمود که ذرات هیدروکسی آپاتیت به طور یکنواخت و هموزن در ساختار پراکنده شده‌اند.



شکل (۳): تصاویر FESEM از مقطع شکست داربست‌های سنتز شده با درصد‌های وزنی مختلف PCLDA و PEGDA در بزرگنمایی ۱۰۰: (الف): 100PCLDA، (ب): 100PCLDA/HA، (ج): 75PCLDA، (د): 75PCLDA/HA، (و): 50PCLDA و (ه): 50PCLDA/HA

صلبیت<sup>۱۴</sup> تمام شبکه‌های هیدروژلی PCL/PEG در دمای ۳۷ °C افزایش یافته است.

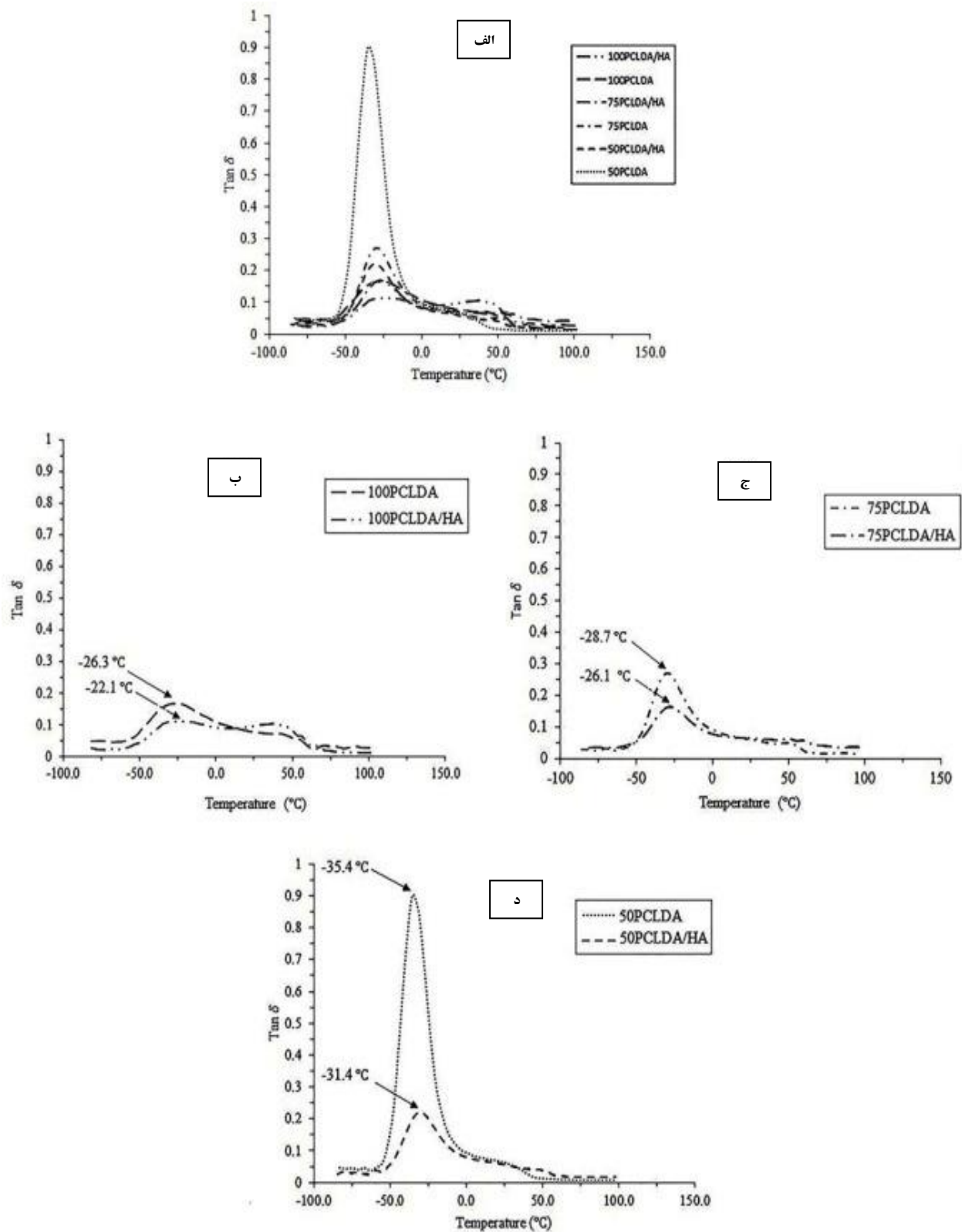
بالا نسبت به موادی که مدول ذخیره آن‌ها کم است دارای سختی بیشتری می‌باشند [۲۸]. نتایج حاصل از آنالیز DMTA نشان می‌دهد با افزودن ذرات هیدروکسی آپاتیت (HA)،



شکل (۴): (الف): تصویر FESEM از سطح شبکه هیدروژل 75PCLDA/HA قبل از غوطه‌وری در آب مقطر به همراه نقشه توزیع نقطه‌ای اشعه ایکس عناصر، (ب): Ca، (ج): P ناحیه انتخاب شده، (د): تصویر FESEM از شبکه هیدروژل 75PCLDA/HA بعد از ۴ روز غوطه‌وری در آب مقطر به همراه نقشه توزیع نقطه‌ای اشعه ایکس عناصر، (و): Ca و (ه): P ناحیه انتخاب شده







شکل (۶): منحنی فاکتور اتلافی ( $Tan \delta$ ) بر حسب دما برای: (الف): همه شبکه‌های هیدروژلی متشکل از PCLDA و PEGDA، (ب): شبکه‌های هیدروژلی 100PCLDA/HA و 100PCLDA، (ج): شبکه‌های هیدروژلی 75PCLDA/HA و 75PCLDA، (د): شبکه‌های هیدروژلی 50PCLDA/HA و 50PCLDA

پلیمری نسبت داده شده است [۲۹]. علاوه بر این، چن<sup>۱۶</sup> و همکارانش نیز کاهش پیک منحنی فاکتور اتلافی ( $\tan \delta$ ) و افزایش دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) را با افزودن نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت به پلی (۳-هیدروکسی بوتیرات-کو-۳-هیدروکسی ولریت) (PHBV) گزارش کرده‌اند. این پژوهشگران علت این امر را به توزیع یکنواخت فاز تقویت کننده هیدروکسی آپاتیت در فاز پلیمری و کاهش حرکت زنجیره‌های پلیمری ربط داده‌اند [۲۸].

### ۳-۴- ارزیابی بررسی‌های سلولی

۳-۴-۱- ارزیابی سمیت سلولی با استفاده از تماس مستقیم در شکل ۷ تصاویر میکروسکوپ نوری از سلول‌های فیروبلاست L-929 که ۲۴ ساعت در مجاورت داربست‌های PCL/PEG با درصد‌های وزنی مختلف از PCLDA و PEGDA قرار داشته‌اند، مشاهده می‌گردد. لازم به ذکر است نواحی تیره در تصاویر، داربست‌ها می‌باشند که به دلیل عدم امکان عبور نور از آن‌ها در زیر میکروسکوپ نوری به این شکل مشاهده شده‌اند. همان طور که در تصاویر شکل ۷ مشخص است تفاوتی در مورفولوژی سلول‌های رشد یافته در اطراف داربست‌ها با مورفولوژی سلول‌های رشد یافته نمونه کنترل مشاهده نشده است و سلول‌های فیروبلاست اطراف داربست‌ها مورفولوژی خود را حفظ کرده‌اند. به علاوه، بدون هیچ فاصله‌ای از داربست‌ها رشد و تکثیر یافته‌اند. این موضوع عدم سمیت داربست‌های PCL/PEG را نشان می‌دهد.

جدول (۲): دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) و مدول ذخیره در دمای  $37^\circ\text{C}$  شبکه‌های هیدروژلی PCL/PEG (در حضور یا عدم حضور ذرات هیدروکسی آپاتیت)

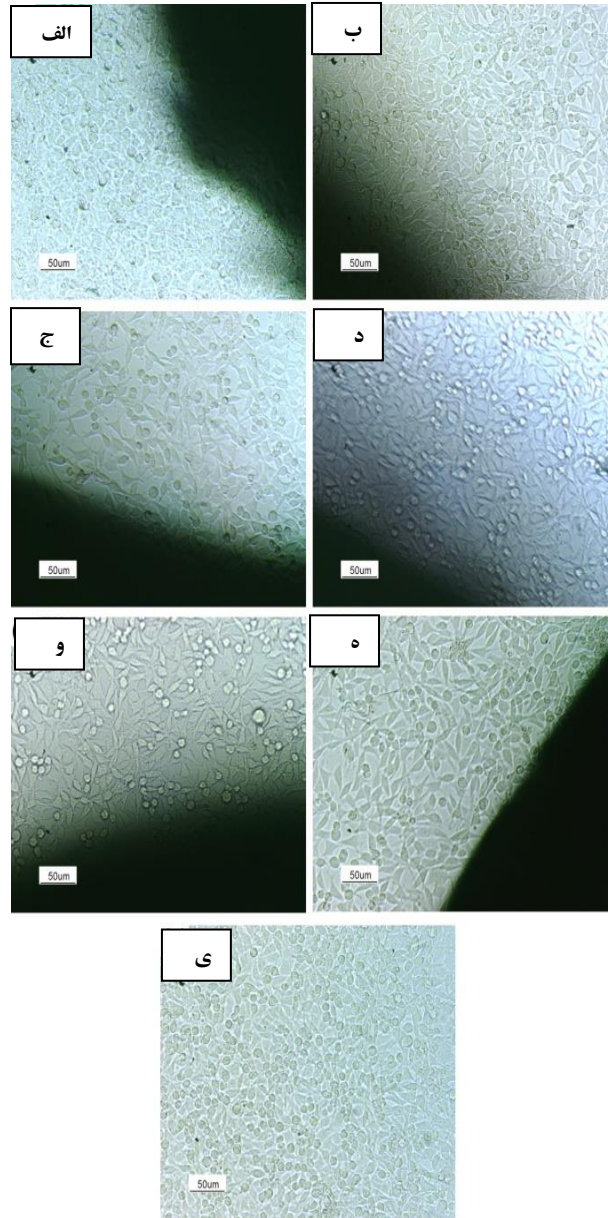
مدول ذخیره در دمای $37^\circ\text{C}$ (MPa)	$T_g$ ( $^\circ\text{C}$ )	کد گذاری نمونه‌ها
۲۲	-۲۶/۳	100PCLDA
۳۰	-۲۲/۱	100PCLDA/HA
۱۱/۷۳	-۲۸/۷	75PCLDA
۱۶	-۲۶/۱	75PCLDA/HA
۰/۶	-۳۵/۴	50PCLDA
۱۱/۶	-۳۱/۴	50PCLDA/HA

همان طور که در شکل ۶ مشاهده می‌گردد، با افزودن ذرات هیدروکسی آپاتیت (HA) به همه شبکه‌های هیدروژلی PCL/PEG، دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) به سمت دماهای بالاتر شیف‌ت پیدا کرده است. مقدار دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) پلیمرها به توانایی حرکت زنجیره‌های پلیمری بستگی دارد [۲۹]. اگر عاملی مانع حرکت زنجیره‌های پلیمری شود، حرکت زنجیره‌های پلیمری سخت شده و دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) افزایش می‌یابد [۲۹]. ذرات هیدروکسی آپاتیت (HA) موجود در ساختار از حرکت زنجیره‌های پلیمری جلوگیری کرده و از این رو دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) ماتریس پلیمری افزایش یافته است. نرته<sup>۱۵</sup> و همکارانش نیز افزایش دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) را با افزودن ذرات هیدروکسی آپاتیت (HA) به پلی لاکتیک اسید (PLLA) گزارش کرده‌اند [۳۰]. همان طور که در منحنی فاکتور اتلافی ( $\tan \delta$ ) مشاهده می‌گردد (شکل ۶) با افزودن ذرات هیدروکسی آپاتیت (HA) به همه شبکه‌های هیدروژلی PCL/PEG، پیک منحنی فاکتور اتلافی ( $\tan \delta$ ) کاهش یافته است که علت این امر به کاهش حرکت زنجیره‌های پلیمری و افزایش درجه بلورینگی در حضور ذرات هیدروکسی آپاتیت (HA) مربوط می‌شود. در مطالعات انجام شده توسط محققین نیز علت کاهش پیک منحنی فاکتور اتلافی ( $\tan \delta$ ) در اثر حضور ماده تقویت کننده ترد به محدودیت در حرکت زنجیره‌های

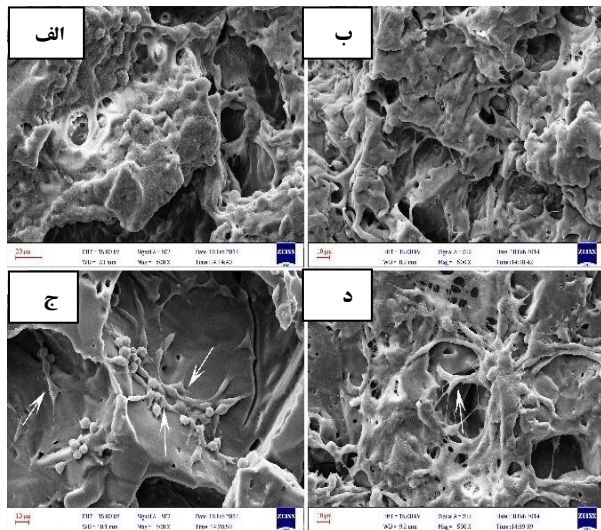
پوشانده‌اند و بر روی سطح داربست‌ها چسبیده و گسترده شده‌اند. همچنین سلول‌ها به خوبی بر روی دیواره تخلخل‌ها چسبیده و گسترده شده‌اند. با توجه به نتایج ذکر شده، به نظر می‌رسد داربست‌های PCL/PEG فاقد سمیت هستند.

### ۳-۴-۲- نتایج رنگ آمیزی فلورسنس هوخست

رنگ هوخست ۳۳۳۴۲ یک گروه از رنگ‌های فلورسنس آبی است که برای رنگ کردن هسته سلول استفاده می‌شود. در واقع بعد از رنگ آمیزی توسط هوخست، هسته سلول‌ها به رنگ آبی ظاهر می‌شوند [۳۱]. با رنگ آمیزی توسط هوخست می‌توان سلول‌های چسبیده بر روی سطح داربست را مشخص کرد [۳۲].



شکل (۷): تصاویر میکروسکوپ نوری از سلول‌های فیبروبلاست در مجاورت داربست‌های: (الف): 100PCLDA، (ب): 100PCLDA/HA، (ج): 75PCLDA/HA، (د): 75PCLDA، (و): 50PCLDA، (ه): 50PCLDA/HA و (ی): نمونه کنترل پس از ۲۴ ساعت



شکل (۸): تصاویر FESEM با بزرگنمایی ۵۰۰ از سطح داربست‌های: (الف): 100PCLDA، (ب): 100PCLDA/HA، (ج): 75PCLDA/HA و (د): 75PCLDA/HA پس از ۴۸ ساعت تماس با سلول‌های فیبروبلاست (پیکان‌ها، سلول‌های فیبروبلاست را نشان می‌دهد)

در شکل ۹ تصاویر حاصل از آزمون رنگ آمیزی هوخست پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان کشت سلول‌های MG63 بر روی سطح داربست 75PCLDA/HA مشاهده می‌گردد. رنگ آمیزی هوخست (شکل ۹) مشخص کرد که سلول‌های MG63 توانسته‌اند بر سطح داربست 75PCLDA/HA بچسبند و این داربست توانسته است از رشد سلول به صورت سه بعدی بر روی سطح و

در شکل ۸ تصاویر FESEM از سطح داربست‌های 100PCLDA، 100PCLDA/HA، 75PCLDA و 75PCLDA/HA که ۴۸ ساعت در تماس با سلول‌های فیبروبلاست بوده‌اند، مشاهده می‌گردد. همان‌طور که در تصاویر مشخص است سلول‌های فیبروبلاست L-929 سطح داربست‌ها را

خوبی بر روی سطح چسبیده و پهن شده‌اند. بنابراین می‌توان از داربست کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون/پلی اتیلن گلایکول/هیدروکسی آپاتیت برای کاربرد در مهندسی بافت بهره برد.

## ۵- مراجع

[۱] م. فروغی، س. کرباسی، ر. ابراهیمی کهریزسنگی و ع. سعادت، "ارزیابی خواص فیزیکی داربست کامپوزیت نانو کریستال هیدروکسی آپاتیت/پلی هیدروکسی بوتیرات برای کاربرد در مهندسی بافت استخوان"، فرآیندهای نوین در مهندسی مواد، سال ۶، صفحه ۶۰-۵۱، ۱۳۹۰.

[2] D. Puppi, F. Chiellini, A. M. Piras & E. Chiellini, "Polymeric materials for bone and cartilage repair", Progress in Polymer Science, Vol. 35, pp. 403-440, 2010.

[۳] ا. یزدانی چم زینی، م. رفیعی نیا، ب. موحدی و ح. صالحی، "سنتر و ارزیابی سمیت سلولی نانو الیاف شیشه‌ی زیستی تهیه شده به روش الکتروسیسی جهت ساخت داربست مهندسی بافت"، فرآیندهای نوین در مهندسی مواد، سال ۹، صفحه ۱۵۴-۱۴۵، ۱۳۹۴.

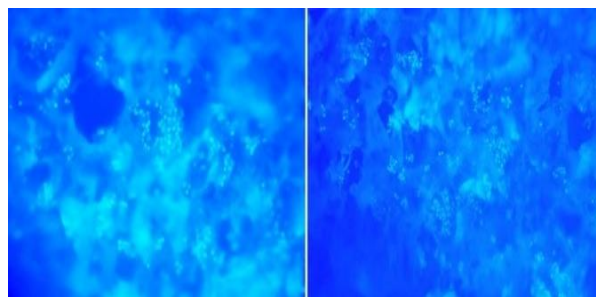
[4] Y. Zhang, M. Chen, J. Yan, Z. Ye, Y. Zhou, W. Tan & M. Lang, "Surface properties of amino-functionalized poly( $\epsilon$ -caprolactone) membranes and the improvement of human mesenchymal stem cell behavior", Colloid and Interface Science, Vol. 368, pp. 64-69, 2012.

[5] Z. Xie, C. Lu, X. Chen, L. Chen, X. Hu, Q. Shi & X. Jing, "A facile approach to biodegradable poly( $\epsilon$ -caprolactone)-poly (ethylene glycol)-based polyurethanes containing pendant amino groups", European Polymer Journal, Vol. 43, pp. 2080-2087, 2007.

[6] G. G. Ayala, E. D. Pace, P. Laurienzo, D. Pantalena, E. Somrab & M. R. Nobile, "Poly( $\epsilon$ -caprolactone) modified by functional groups: Preparation and chemical-physical investigation", European Polymer Journal, Vol. 45, pp. 3217-3229, 2009.

[7] Q. Guo, S. Slavov & P. J. Halley, "Phase Behavior, Crystallization, and morphology in thermosetting blends of a biodegradable poly (ethylene glycol)-type epoxy resin and poly ( $\epsilon$ -caprolactone)",

داخل داربست حمایت کند و از این جهت، سلول‌ها به داخل تخلخل‌های ساختار نفوذ کرده‌اند. سلول‌ها به دو صورت انفرادی<sup>۱۸</sup> و یا تجمع یافته<sup>۱۹</sup> بر روی سطح داربست ظاهر شده‌اند.



شکل (۹): رنگ آمیزی هوست سلول‌های MG63 کشت داده شده بر روی سطح داربست 75PCLDA/HA پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان کشت با بزرگنمایی  $\times 200$

## ۴- نتیجه گیری

در این پژوهش شبکه زیست تخریب پذیر PCL/PEG از طریق برقراری اتصال عرضی بین پلی کاپرولاکتون دی آکریلات (PCLDA) و پلی اتیلن گلایکول دی آکریلات (PEGDA) در حضور ذرات کلرید سدیم و هیدروکسی آپاتیت (HA) ساخته شد و به دنبال آن، خروج ذرات کلرید سدیم باعث ایجاد داربست متخلخل شد. تصاویر SEM از مقطع شکست داربست‌ها، وجود تخلخل‌های به هم اتصال یافته با توزیع یکنواخت را در ساختار داربست‌ها نشان داد. نتایج آزمون DMTA نشان داد با افزودن پلی اتیلن گلایکول دی آکریلات (PEGDA) به پلی-کاپرولاکتون دی آکریلات (PCLDA) و افزایش مقدار آن، دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) کاهش یافت. به علاوه، پیک منحنی فاکتور اتلافی ( $\tan \delta$ ) افزایش یافت. همچنین، با افزودن ذرات هیدروکسی آپاتیت (HA) به شبکه‌های هیدروژلی PCLDA، دمای انتقال شیشه‌ای ( $T_g$ ) به سمت دماهای بالاتر شیفیت پیدا کرد. به علاوه، پیک منحنی فاکتور اتلافی ( $\tan \delta$ ) کاهش یافت. بررسی‌های سلولی، عدم سمیت داربست پلی کاپرولاکتون/پلی اتیلن گلایکول/هیدروکسی آپاتیت را نشان داد و تصاویر FESEM از سطح داربست‌ها نشان داد سلول‌ها به

- crosslinked nanocomposites for promoting MC3T3 cell proliferation and differentiation”, *Acta Biomaterialia*, Vol. 7, pp. 2185–2199, 2011.
- [17] M. G. Henry, L. Cai, X. Liu, L. Zhang, J. Dong, L. Chen, Z. Wang & S. Wang, “Roles of hydroxyapatite allocation and microgroove dimension in promoting preosteoblastic cell functions on photocured polymer nanocomposites through nuclear distribution and alignment”, *Langmuir*, Vol. 31, pp. 2851–2860, 2015.
- [18] M. Jaiswal, A. K. Dinda, A. Gupta & V. Koul, “Polycaprolactone diacrylate crosslinked biodegradable semi-interpenetrating networks of polyacrylamide and gelatin for controlled drug delivery”, *Biomedical Materials*, Vol. 5, pp. 065014, 2010.
- [19] N. Koupaei, A. Karkhaneh & M. Daliri Joupari, “Preparation and characterization of (PCL-crosslinked-PEG)/hydroxyapatite as bone tissue engineering scaffolds”, *Biomed Mater Res*, Vol. 103A, pp. 919–3926, 2015.
- [20] Z. L. Mou, L. J. Zhao, Q. A. Zhang, J. Zhang & Z. Q. Zhang, “Preparation of porous PLGA/HA/collagen scaffolds with supercritical CO<sub>2</sub> and application in osteoblast cell culture”, *The Journal of Supercritical Fluids*, Vol. 3, pp. 398–406, 2011.
- [21] W. W. Thein Han & R. D. K. Misra, “Biomimetic chitosan–nanohydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering”, *Acta Biomaterialia*, Vol. 4, pp. 1182–1197, 2009.
- [22] S. Wang, M. J. Yaszemski, J. A. Gruetzmacher & L. Lu, “Photo-crosslinked poly ( $\epsilon$ -caprolactone fumarate) networks: roles of crystallinity and crosslinking density in determining mechanical properties”, *Polymer*, Vol. 49, pp. 5692–5699, 2008.
- [23] C. P. Jiang, Y. Y. Chen & M. F. Hsieh, “Biofabrication and in vitro study of hydroxyapatite/mPEG–PCL–mPEG scaffolds for bone tissue engineering using air pressure-aided deposition technology”, *Materials Science and Engineering*, Vol. 33C, pp. 680–690, 2013.
- [24] M. Peter, N. S. Binulal, S. Soumya, S. V. Nair, T. Furuike, H. Tamura & R. Jayakumar, “Nanocomposite scaffolds of bioactive glass ceramic nanoparticles disseminated chitosan matrix for tissue engineering applications” *Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, Vol. 42, pp. 2833–2843, 2004.
- [8] J. Zhu, “Bioactive modification of poly (ethylene glycol) hydrogels for tissue engineering”, *Biomaterials*, Vol. 31, pp. 4639–4656, 2010.
- [9] C. P. Jiang, Y. Y. Chen & M. F. Hsieh, “Biofabrication and in vitro study of hydroxyapatite/mPEG–PCL–mPEG scaffolds for bone tissue engineering using air pressure-aided deposition technology”, *Materials Science and Engineering*, Vol. 33C, pp. 680–690, 2013.
- [10] B. Chuenjitkuntaworn, W. Inrung, D. Damrongsri, K. Mekaapiruk, P. Supaphol & P. Pavasant, “Polycaprolactone/Hydroxyapatite composite scaffolds: Preparation, characterization, and in vitro and in vivo biological responses of human primary bone cells”, *Biomedical Material Research*, Vol. 94A, pp. 241–251, 2010.
- [11] Y. Wang, L. Liu & S. Guo, “Characterization of biodegradable and cytocompatible nano-hydroxyapatite/polycaprolactone porous scaffolds in degradation in vitro”, *Polymer Degradation and Stability*, Vol. 95, pp. 207–213, 2010.
- [12] Y. Jiang, K. Mao, X. Cai, S. Lai & X. Chen, “Poly (ethyl glycol) Assisting water sorption enhancement of poly ( $\epsilon$ -caprolactone) blend for drug delivery”, *Applications Polymer Science*, Vol. 122, pp. 2309–2316, 2011.
- [13] C. S. Cho, S. Y. Han, J. H. Ha, S. H. Kim & D. Y. Lim, “Clonazepam release from bioerodible hydrogels based on semi-interpenetrating polymer networks composed of poly ( $\epsilon$ -caprolactone) and poly (ethylene glycol) macromer”, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 181, pp. 235–242, 1999.
- [14] H. Y. Kweona, M. K. Yoob, I. K. Park, T. H. Kimb, H. C. Lee, H. S. Lee, J. S. Oh, T. Akaiked & C. S. Cho, “A novel degradable polycaprolactone networks for tissue engineering” *Biomaterials*, Vol. 24, pp. 801–808, 2003.
- [15] L. Cai & S. Wang, “Poly ( $\epsilon$ -caprolactone) acrylates synthesized using a facile method for fabricating networks to achieve controllable physicochemical properties and tunable cell responses”, *Polymer*, Vol. 51, pp. 164–177, 2010.
- [16] L. Cai, A. S. Guinn & S. Wang, “Exposed hydroxyapatite particles on the surface of photo-

## ۶- پی نوشت

- [1] Fourier Transform Infrared
- [2] Total Reflectance-Fourier Transform Infrared
- [3] Scanning Electron Microscope
- [4] Field Emission Scanning Electron Microscope
- [5] Energy Dispersive X-ray Spectroscopy
- [6] Dynamic Mechanical Thermal Analysis
- [7] Hoechst
- [8] Cell line
- [9] Fluorescence Microscope
- [10] X-ray Dot Distribution map
- [11] Elemental Map
- [12] Storage Modulus
- [13] Loss Factor
- [14] Rigidity
- [15] Nazhat
- [16] Chen
- [17] Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)
- [18] Individually
- [19] Aggregate
- Carbohydrate Polymers, Vol. 79, pp. 284–289, 2010.
- [25] Z. Li, H. R. Ramay, K. D. Hauch, D. Xiao & M. Zhang, “Chitosan–alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering”, *Biomaterials*, Vol. 26, pp. 3919–3928, 2005.
- [26] L. P. Yan, J. M. Oliveira, A. L. Oliveira, S. G. Caridade, J. F. Mano & R. L. Reis, “Macro/microporous silk fibroin scaffolds with potential for articular cartilage and meniscus tissue engineering applications” *Acta biomaterialia*, Vol. 1, pp. 289-301, 2012.
- [27] Y. Wang, M. A. Rodriguez Perez, R. L. Reis & J. F. Mano, “Thermal and thermomechanical behaviour of polycaprolactone and starch/polycaprolactone blends for biomedical applications”, *Macromolecular Materials and Engineering*, Vol. 8, pp. 792-801, 2008.
- [28] D. Z. Chen, C. Y. Tang, K. C. Chan, C. P. Tsui, P. H. F. Yu, M. C. P. Leung & P. S. Uskokovic, “Dynamic mechanical properties and in vitro bioactivity of PHBHV/HA nanocomposite”, *Composites science and technology*, Vol. 7, pp. 1617-1626, 2007.
- [29] C. J. Pérez, V. A. Alvarez, I. Mondragon & A. Vazquez, “Mechanical properties of layered silicate/starch polycaprolactone blend nanocomposites”, *Polymer International*, Vol. 5, pp. 686-693, 2007.
- [30] S. N. Nazhat, M. Kellomaki, P. Tormala, K. E. Tanner & W. Bonfield, “Dynamic mechanical characterization of biodegradable composites of hydroxyapatite and polylactides”, *Journal of biomedical materials research*, Vol. 4, pp. 335-343, 2001.
- [31] L. Pan, X. Pei, R. He, Q. Wan & J. Wang, “Multiwall carbon nanotubes/polycaprolactone composites for bone tissue engineering application”, *Colloids and Surfaces, Biointerfaces*, Vol. 93B, pp. 226– 234, 2012.
- [32] J. Venkatesan, R. Pallela, I. Bhatnagar & S. K. Kim, “Chitosan–amylopectin/hydroxyapatite and chitosan–chondroitin sulphate/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering” *International journal of biological macromolecules*, Vol. 5, pp. 1033-1042, 2012.

## Investigation of mechanical and biological properties of functionalized polycaprolactone and polyethylene glycol diacrylate based scaffold reinforced with hydroxyapatite

Narjes Koupaei<sup>1\*</sup>, Akbar Karkhaneh<sup>2</sup>

1- Assistant Professor, Advanced Materials Research Center, Faculty of Materials Engineering, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biomedical Engineering, Amirkabir University of Technology (Tehran Polytechnic), Tehran, Iran

\*Corresponding author: narges\_koupaei@Pmt.iaun.ac.ir

---

### Abstract

The purpose of this study is synthesised of functionalized polycaprolactone and polyethylene glycol diacrylate based scaffold in the presence of hydroxyapatite (HA) particles and investigated of mechanical and biological properties of scaffolds. At the first step, PCL diol was acrylated with acryloyl chloride and confirmed using fourier transform infrared (FTIR). Then, the scaffolds were synthesized by radical crosslinking reaction of polycaprolacton acrylate and polyethylene glycol diacrylate (PEGDA) in the presence of hydroxyapatite (HA) particles and particulate technique with sodium chloride. The prepared samples were characterized using techniques such as scanning electron microscopy (SEM), fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and dynamic mechanical thermal analysis (DMTA). Results show that increasing the ratio of PEGDA to polycaprolactone diacrylate (PCLDA) led to increase of  $\tan \delta$  peak and decrease of compressive modulus of the network, respectively. It was found that the incorporation of HA particles with the polymer matrices resulted in an increased of compressive modulus and a decrease of  $\tan \delta$  peak. Cytocompatibility of the scaffolds were assessed by direct contact test and staining cell. Results indicated no toxicity, and cells attached and spread on the pore walls offered by the scaffolds. Thus, the results indicated that the PCLDA/PEGDA/HA scaffolds have the potential of being used as promoting substrates in bone tissue engineering.

**Keyword:** Polycaprolactone Acrylate, Polyethylene Glycol Diacrylate, scaffolding, hydroxyapatite, Incorrect Connection.

---

Journal homepage: [ma.iaumajlesi.ac.ir](http://ma.iaumajlesi.ac.ir)

### Please cite this article using:

Narjes Koupaei, Akbar Karkhaneh, Investigation of mechanical and biological properties of functionalized polycaprolactone and polyethylene glycol diacrylate based scaffold reinforced with hydroxyapatite, in Persian, New Process in Material Engineering, 2018, 12(3), 29-43.