

## داربست کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون - هیدروکسی آپاتیت: بررسی تاثیر درصد ذرات هیدروکسی آپاتیت و مقایسه ذرات با سایز نانومتری و میکرومتری و اثر آن‌ها بر خواص مکانیکی و زیست تخریب پذیری داربست

مهديه مظفري<sup>۱</sup>، نرگس جوهری<sup>۲\*</sup> و محمد حسين فتحي<sup>۳</sup>

### چکیده

در این پژوهش، تاثیر اندازه ذرات هیدروکسی آپاتیت بر خواص مکانیکی و زیست تخریب پذیری داربست کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون/هیدروکسی آپاتیت انجام شد. داربست‌های کامپوزیتی با استفاده از دو نوع پودر هیدروکسی آپاتیت نانومتری (تهیه شده به روش سل - ژل) و میکرومتری تجاری، به روش لیچینگ ذره‌ای تهیه شدند. سه مقدار متفاوت برابر ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی از پودر هیدروکسی آپاتیت نانومتری و میکرومتری برای تهیه داربست به پلی کاپرولاکتون اضافه شد. شناسایی ساختار فازی با روش پراش پرتو ایکس (XRD)، مطالعه ریخت شناسی با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، شناسایی گروه‌های عاملی با طیف‌سنجی فرسرخ با تبدیل فوریه (FTIR) انجام گرفت. همچنین، رفتار زیست تخریب پذیری داربست با قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۳۰ روز در محلول فسفات بافر سالین (PBS) و اندازه‌گیری تغییرات وزن و pH آن‌ها بررسی شد. خواص مکانیکی داربست‌ها نیز با استفاده از دستگاه آزمون استحکام فشاری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که داربست‌های تهیه شده با پودر نانومتری دارای استحکام فشاری بیشتری در مقایسه با داربست‌های تهیه شده با پودر میکرومتری بود. با افزایش درصد تقویت کننده بیش از ۱۰ درصد وزنی، استحکام فشاری کاهش یافت. با افزایش مقدار هیدروکسی آپاتیت و گذشت زمان، مقدار تخریب داربست‌ها افزایش یافت و نرخ تخریب پذیری داربست‌های تهیه شده با پودر نانومتری بهتر از داربست‌های تهیه شده با پودر میکرومتری بود.

واژه های کلیدی: هیدروکسی آپاتیت، پلی کاپرولاکتون، داربست کامپوزیتی، زیست تخریب پذیری، مهندسی بافت.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی مواد، دانشگاه یزد.

۲- دانشجوی دکترای مهندسی مواد، دانشگاه صنعتی شریف.

۳- عضو هیئت علمی دانشکده مهندسی مواد، دانشگاه صنعتی اصفهان.

\*- نویسنده مسئول مقاله: n.johari@ma.iut.ac.ir

## پیشگفتار

سازگار بوده و دارای خواص مکانیکی مطلوب باشد، به گونه ای که توانایی تحمل نیروها را داشته و رفتاری مشابه بافت مورد نظر در برابر تنش داشته باشد. بسیاری از ترکیبات پلیمرهای زیست تخریب پذیر و سرامیک های زیست فعال به عنوان داربست های زیست سازگار در مهندسی بافت استفاده می شوند [۶۵]. اندازه و ریخت شناسی ذرات مصرفی بیوسرامیکی می تواند تاثیری بسزا در زیست فعالی و زیست سازگاری داربست کامپوزیتی داشته باشد [۵].

پژوهش ها نشان داده است که در برخی از موارد، خواص مکانیکی کامپوزیت هایی که با پلیمرهای زیست تخریب پذیر و میکروذرات هیدروکسی آپاتیت، وللاستونیت<sup>۷</sup> و شیشه زیست فعال<sup>۸</sup> ساخته شده اند، نه تنها بهبود نیافته بلکه کاهش نیز داشته است. افزون بر این، خواص زیست فعالی داربست نیز در حد انتظار نبوده است [۵]. علت این امر هم ابعاد میکرومتری ذرات و عدم اتصال مناسب بین فاز زمینه و تقویت کننده بوده است. از سوی دیگر، مطالعات دیگر نشان داده است که استفاده از نانوذرات سرامیکی زیست فعال، می تواند مشکلات مذکور را برطرف کند [۷]. افزون بر این، استفاده از نانوذرات در زمینه پلیمری می تواند دقیقاً شبیه سازی ساختمان استخوان طبیعی باشد چرا که استخوان کامپوزیتی از نانوبلورهای هیدروکسی آپاتیت و فاز پلیمری کلاژن می باشد [۵]. در این پژوهش، بررسی تاثیر درصد ذرات هیدروکسی آپاتیت و مقایسه ذرات با اندازه نانومتری و میکرومتری و اثر آنها بر خواص مکانیکی و زیست تخریب پذیری داربست کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت انجام شد.

## مواد و روش ها

### تولید نانوذرات هیدروکسی آپاتیت به روش سل-ژل

برای ساخت نانوذرات هیدروکسی آپاتیت از شیوه اجرا شده در پژوهش های پیشین به وسیله فتی و همکاران استفاده شد [۱]. برای تهیه ۵ گرم هیدروکسی آپاتیت نانومتری، ۲/۱۲ گرم پنتاکسید فسفر (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Merck)

امروزه استفاده از آپاتیت ها مانند هیدروکسی آپاتیت<sup>۱</sup> زیست فعال<sup>۲</sup> به گونه گسترده در کاربردهای پزشکی توسعه یافته است. هیدروکسی آپاتیت بسیار شبیه به بخش معدنی استخوان و دندان است و همچنین، خواص همبندی خوبی با استخوان از خود نشان می دهد [۳-۱]. استخوان دارای دو بخش معدنی و آلی است که تشکیل یک ساختار کامپوزیتی را می دهد [۱]. هیدروکسی آپاتیت کربناتی مهم ترین جزء بخش معدنی آن است و ۶۵ درصد کل جرم استخوان را تشکیل می دهد. بقیه جرم استخوان را ماده آلی و آب تشکیل داده است. بخش عمده ماده آلی کلاژن<sup>۳</sup> است و به عنوان چارچوبی عمل می کند که نانوبلورهای هیدروکسی آپاتیت به آن استحکام می بخشد [۲،۴].

در مهندسی بافت نخست یک داربست<sup>۴</sup> متخلخل و زیست تخریب پذیر<sup>۵</sup> ساخته می شود و سپس سلول های بافت مورد نظر بر روی آن کشت داده می شوند. با کنترل شرایط فیزیولوژیکی در خارج از بدن بافت اولیه روی داربست تشکیل شده و پس از کاشت در داخل بدن، با تشکیل بافت جدید داربست تخریب می شود. اجزای اصلی مورد نیاز در مهندسی بافت عبارتند از سلول بافت مورد نظر، بیو مواد (به صورت داربست متخلخل و زیست تخریب پذیر و ...) و عوامل فعال کننده زیستی که عملکرد سلولی را کنترل می کنند. اگر این عوامل به دقت و به جا مورد استفاده قرار گیرند، در نهایت، منجر به تسهیل در تفکیک داربست، تکثیر سلولی و در نتیجه ایجاد بافت مورد نظر می شوند. این عوامل عبارتند از: فاکتورهای رشد، داروها و ژن ها<sup>۶</sup> [۵].

عامل اساسی دیگری که در مهندسی بافت تاثیرگذار است، انتخاب نوع داربست های بکار رفته در مهندسی بافت است. داربست یک ساختار سه بعدی است که سلول ها را به صورت مکانیکی هدایت می کند. داربست باید زیست

<sup>1</sup>-Hydroxyapatite (HA)

<sup>2</sup>-Bioactive

<sup>3</sup>-Collagen

<sup>4</sup>-Scaffold

<sup>5</sup>-Biodegradable

<sup>6</sup>-Gene

<sup>7</sup>-Wollastonite

<sup>8</sup>-Bioactive glass

آپاتیت استفاده شد. این محلول به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط خشک شد. پس از آن بمنظور خروج کامل حلال به مدت ۴۸ ساعت تحت خلاء قرار گرفت. در مرحله بعد، به مدت ۷۲ ساعت به کمک آب مقطر شسته شد. برای اطمینان نسبت به خروج کامل ذرات سدیم کلراید از داربست‌های ساخته شده ۱۲ بار هر ۶ ساعت یک بار شسته شد تا نمک خارج شود. این شستشو در حالت ویبره بوده و برای اطمینان کامل از آن‌ها XRD گرفته شد که نشان داد نمک کامل حذف شده است. بار دیگر بمنظور خروج کامل آب مقطر از خلل و فرج داربست‌ها، نمونه‌ها ۴۸ ساعت در شرایط محیط و ۴۸ ساعت تحت خلاء در آن الکتریکی خشک شدند [۸].

#### مشخصه‌یابی داربست‌های تهیه شده

##### فازشناسی و مطالعه ساختار فازی

جهت ارزیابی ساختار فازی و فازشناسی داربست‌های ساخته شده، از روش پراش پرتو ایکس (XRD, Philips Xpert- MPD System) استفاده شد. الگوی پراش پرتو ایکس هر نمونه با استفاده از لامپ  $\text{CuK}\alpha$  با طول موج  $\lambda = 1/542$  در بازه  $60 < \theta < 10$  با اندازه گام  $0/05$  درجه و زمان بر گام یک ثانیه بدست آمد. پس از حصول الگوهای پراش پرتو ایکس هر نمونه، هر یک از فازها و اجزا سازنده از راه مقایسه زاویه و شدت پیک‌های پراش با داده‌های موجود در کارت‌های استاندارد (JCDPS) مشخص و تعیین گردید [۵].

#### شناسایی گروه‌های عاملی با طیف‌سنجی مادون قرمز با

##### تبدیل فوریه

گروه‌های عاملی داربست‌های ساخته شده با استفاده از آزمون طیف‌سنجی فروسرخ با تبدیل فوریه-FTIR (Tensor27, Bryker) در محدوده  $4000-400$  نانومتر و با نرخ روبش  $2 \text{ cm}^{-1}$  بررسی شد. این نوع طیف‌سنجی ابزار بسیار مفیدی برای شناسایی گروه‌های عاملی ترکیبات آلی می‌باشد. استفاده از چنین روشی کم و بیش در ترکیبات معدنی نیز دیده می‌شود [۵].

در ۳۰ میلی‌لیتر اتانول خالص (Merck) با خلوص بالای ۹۸ درصد حل و محلول  $0/5$  مول بر لیتر تولید شد. سپس  $11/76$  گرم کلسیم نیترات تتراهیدرات  $(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  Merck) نیز در ۳۰ میلی‌لیتر اتانول خالص حل شده و محلول  $1/67$  مول بر لیتر تهیه شد. دو محلول با نسبت مولی  $\text{Ca/P} = 1/67$  مخلوط شده و محلول اولیه آماده شد. محلول اولیه به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط هم زده شد تا ژل شفاف بدست آمد. ژل حاصل در دمای محیط بمنظور پیرسازی و به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و پس از آن در دمای  $80$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت مورد عملیات خشک کردن در آن الکتریکی قرار گرفت و پودر آمورف کلسیم فسفات بدست آمد. پودر حاصل از ژل خشک شده در یک کوره مقاومتی قابل برنامه‌ریزی با نرخ  $5$  درجه سانتی‌گراد بر دقیقه یا دمای  $600$  درجه سانتی‌گراد و زمان  $2$  ساعت حرارت دهی شد تا محصول نهایی (پودر هیدروکسی آپاتیت  $25-28$  نانومتر) بدست آمد.

#### ساخت داربست نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون-هیدروکسی آپاتیت

داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون-هیدروکسی آپاتیت با استفاده از دو نوع پودر هیدروکسی آپاتیت، یکی با اندازه نانومتری و دیگری با اندازه میکرومتری ( $50$  میکرومتر) به روش ریخته‌گری حلال/لیچینگ تهیه شدند. مقادیر  $0$ ،  $5$ ،  $10$  و  $15$  درصد وزنی ذرات هیدروکسی آپاتیت (از هر یک از دو نوع جداگانه) به حلال دی‌کلرومتان ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , Aldrich)، اضافه شده و به مدت  $1$  ساعت در دمای محیط به وسیله همزن مغناطیسی با سرعت  $300$  دور در دقیقه هم زده شد. سپس ذرات پلی‌کاپرولاکتون (PCL,  $-(\text{CH}_2 \text{COO})_n - \text{MW} = 70000 - 90000$ , Aldrich) با نسبت  $(\text{PCL} / \text{CH}_2\text{Cl}_2) = 10/1 \text{ W/v}$  به محلول اضافه شد. ذرات سدیم کلراید ( $\text{NaCl}$ , Merck) با قطر  $300$  تا  $500$  میکرون با نسبت‌های وزنی  $(\text{PCL} + \text{HA}) = 9/1 \text{ W/W}$  به محلول اضافه شد و محلول نهایی در قالب‌های تفلونی (قطر  $10$  و ارتفاع  $20$  میلی‌متر) ریخته شد. برای تهیه داربست مقدار  $1$  گرم پلی‌کاپرولاکتون،  $9$  گرم نمک،  $10$  سی‌سی حلال دی‌کلرومتان و درصد‌های گوناگون هیدروکسی

به قطر ۱۰ میلی‌متر و ضخامت ۱ میلی‌متر در داخل ظرف پیرکس قرار گرفت و بر اساس استاندارد ASTM 95 - F1635، محلول فسفات بافر سالین به آن افزوده شد. هر نمونه به مدت ۳۰ روز در فسفات بافر سالین قرار گرفت. هر شش روز یک بار، نمونه از محلول خارج و پس از این که در محیط خلاء کاملاً خشک شد، درصد کاهش وزن آن اندازه‌گیری شد. تغییرات pH محلول حاوی هر نمونه نیز هر دو روز یک بار ثبت شد. درصد کاهش وزن هر داربست، به کمک رابطه ۱ بدست آمد [۵].

$$Weight\ loss = \frac{(w_0 - w_d)}{w_0} \times 100 \quad (1)$$

که در این رابطه  $W_0$ ، وزن اولیه داربست و  $W_d$ ، وزن نهایی داربست پس از خشک شدن است. نتایج نهایی به صورت میانگین داده‌ها همراه با انحراف معیار آن‌ها ارائه شده است.

## نتایج و بحث

### فازشناسی و مطالعه ساختار فازی

شکل ۱ الگوی پراش پرتو ایکس داربست‌های تهیه شده را نشان می‌دهد. در شکل ۱ (الف) الگوی پراش پرتو ایکس نانوپودر هیدروکسی آپاتیت خالص تهیه شده به روش سل-ژل در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد نشان داده شده است. شکل ۱ (ب)، الگوی پراش پرتو ایکس پلی کاپرولاکتون خالص را نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که این پلیمر ساختار کریستالی دارد و در زوایای  $2\theta$  برابر  $21/3$  و  $23/7$  به ترتیب شامل صفحات کریستالی ( $110$ ) و ( $200$ ) است. در واقع، گفته می‌شود پلی کاپرولاکتون پیک‌های مشخصه‌ای را در موقعیت‌های نزدیک به پلی کاپرولاکتون اورتورومبیک نشان می‌دهد. همچنین، یک زمینه آمورف نیز مشاهده می‌شود. نسبت کریستالی و آمورف، مقدار بلورینگی را تعیین می‌کند [۵].

### مطالعه ریخت شناسی و ریزساختار با میکروسکوپ الکترونی روبشی

ریخت شناسی و ریزساختار داربست‌های ساخته شده، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM - Phillips XL 30: Eindhoven, The Netherlands) مطالعه و بررسی شد و تصاویر لازم نیز تهیه گردید [۵].

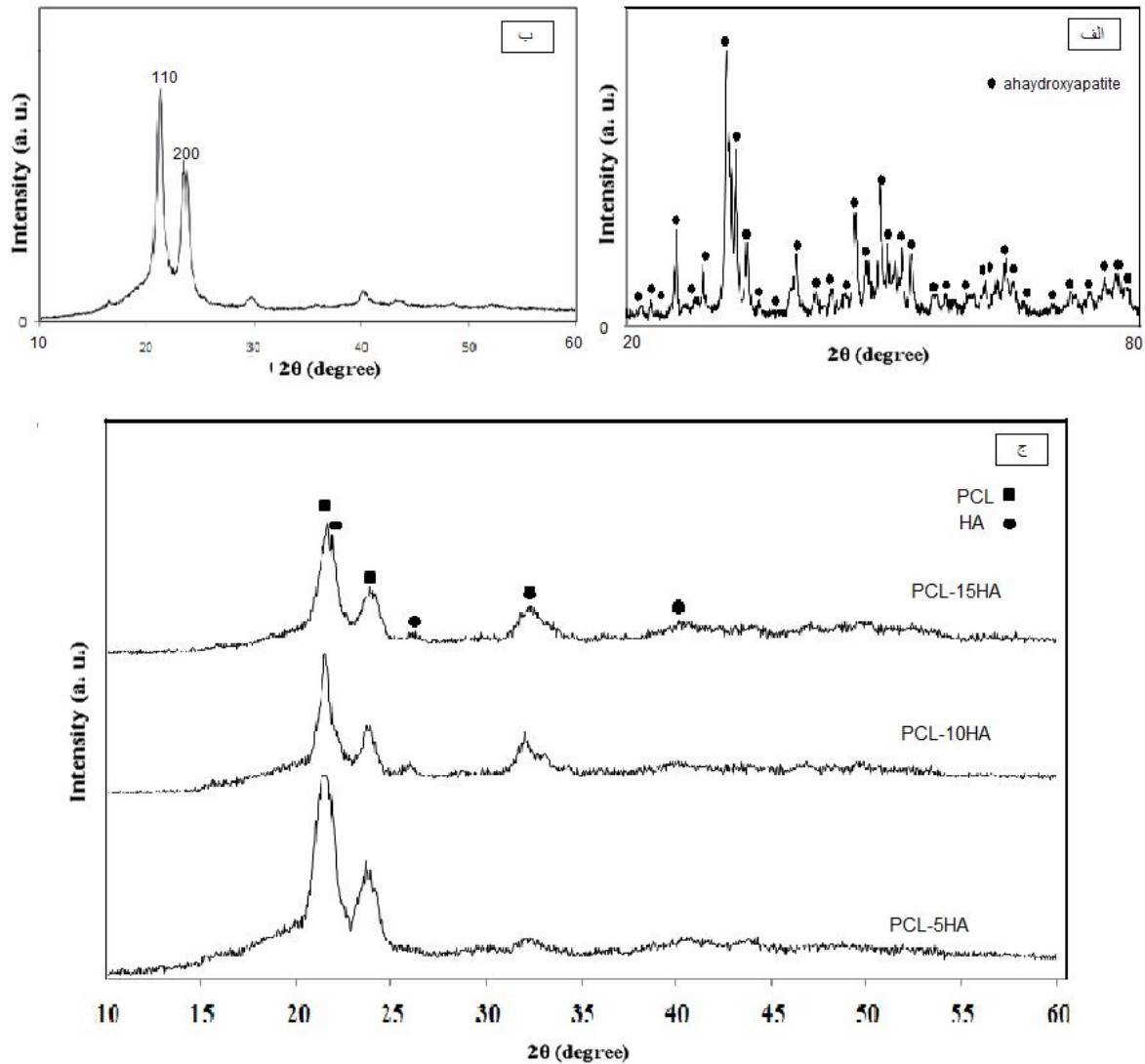
### سنجش خواص مکانیکی

داربست‌های ساخته شده ب اساس استاندارد ASTM, D31411/DS410M به شکل استوانه دارای قطر ۱۰ میلی‌متر و ارتفاع ۱۰ میلی‌متر با استفاده از دو نوع پودر هیدروکسی آپاتیت، یکی با اندازه نانومتری و دیگری با اندازه میکرومتری، با مقادیر ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی ذرات هیدروکسی آپاتیت (از هر یک از دو نوع جداگانه) به روش ریخته گری حلال/لیچینگ تهیه شدند و با استفاده از دستگاه آزمون استحکام فشاری مدل Zwick material prufung 1446 با سرعت ۲ میلی‌متر بر دقیقه و لود سل ۱۰ کیلونیوتن، تحت آزمون استحکام فشاری قرار گرفتند [۵]. آزمون استحکام فشاری با استفاده از ۳ نمونه از هر یک از انواع داربست‌ها انجام شد و نتایج به صورت میانگین همراه با انحراف معیار از آن‌ها ارائه شد.

### ارزیابی رفتار زیست تخریب‌پذیری

بمنظور ارزیابی رفتار زیست تخریب‌پذیری داربست‌های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت از محلول فسفات بافر سالین<sup>۱</sup> (PBS, sigma) که pH آن در دمای محیط برابر ۷/۴ بود، استفاده شد. بمنظور بررسی تاثیر تغییر مقدار تقویت‌کننده بر تخریب‌پذیری داربست‌ها، تعداد ۳ نمونه از هر یک از انواع داربست‌های تهیه شده از پلی کاپرولاکتون خالص و کامپوزیت پلی کاپرولاکتون /هیدروکسی آپاتیت حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی از ذرات هیدروکسی آپاتیت نانومتری و میکرومتری در محلول فسفات بافر سالین در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. برای این منظور، هر داربست دیسکی شکل

<sup>1</sup>-Phosphat buffred saline



شکل ۱- الگوی پراش پرتو ایکس الف) نانوپودر هیدروکسی آپاتیت، ب) داربست پلی کاپرولاکتون خالص و ج) داربست‌های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت تهیه شده با درصد وزنی گوناگون از هیدروکسی آپاتیت

مشاهده می‌شود. همچنین، در این الگو یک زمینه آمورف نیز مشاهده می‌شود. در الگوی پراش بدست آمده، پیک فاز دیگر و همچنین، پیک انتقال یافته در بین پیک‌ها مشاهده نمی‌شود. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که هیچ واکنشی بین پلی کاپرولاکتون و هیدروکسی آپاتیت رخ نداده است [۲] و نیز سایر فازهای ناخواسته مانند نمک (NaCl) در ترکیب نمونه‌ها حضور ندارد. الگوی پراش یاد شده نشان می‌دهد که با افزایش مقدار تقویت‌کننده هیدروکسی آپاتیت، شدت پیک‌های پلی کاپرولاکتون کاهش و شدت پیک‌های آپاتیت افزایش یافته‌است. کاهش شدت پیک‌های پلی کاپرولاکتون و افزایش شدت پیک‌های

در شکل ۱ ج) الگوی پراش پرتو ایکس داربست‌های پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت که با مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی هیدروکسی آپاتیت میکرومتری (PCL-5HA، PCL-10HA، PCL-15HA) تهیه شده، مشاهده می‌شود. همان گونه که مشاهده می‌شود، الگوی پراش پرتو ایکس داربست‌های تهیه شده، با پیک‌های واضح و متمایز هیدروکسی آپاتیت با کارت ارایه شده به وسیله JCPDS به شماره ۰۰-۰۰۹-۰۴۳۲ مطابقت دارد و همچنین، پیک‌های پلی کاپرولاکتون را نیز نشان می‌دهد. دو پیک پلی کاپرولاکتون در هر سه نمونه در دو زاویه  $2\theta$  برابر  $21/3^\circ$  و  $23/7^\circ$

[۹] و پیوندهای O-H و P-O هم به هیدروکسی آپاتیت [۱۰،۱۱] نسبت داده می‌شوند. در شکل ۲ هم ملاحظه می‌شود که همانند الگو پراش پرتو ایکس، پیک پیوند انتقال پیدا نکرده‌است. این موضوع نشان می‌دهد که هیچ واکنشی حین مخلوط کردن این دو ترکیب با هم رخ نداده است. هم‌چنین، در طیف‌های یادشده، هیچ پیک اضافه بر پیک‌های پلی کاپرولاکتون و هیدروکسی آپاتیت که بیان‌کننده ترکیبات ناخواسته باشد، دیده نمی‌شود.

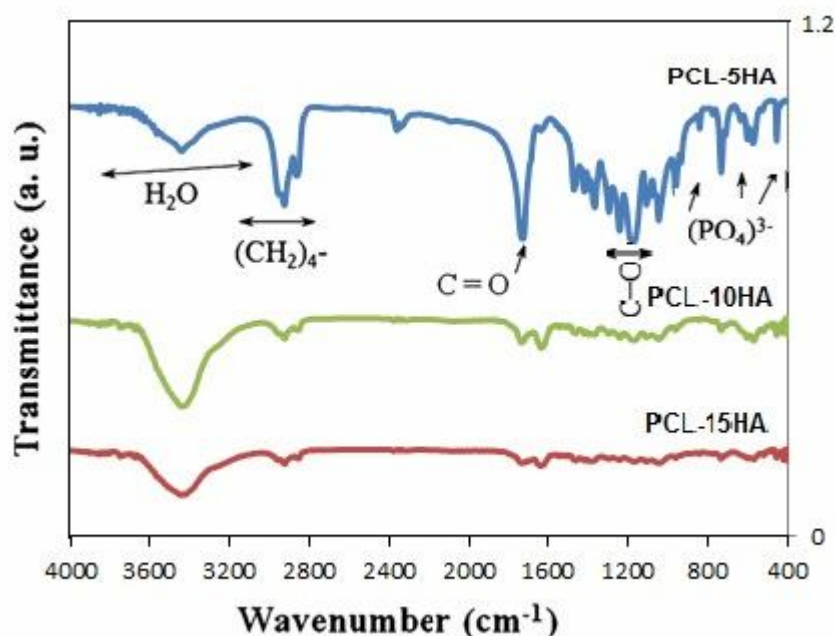
جوهری و همکاران نشان دادند [۵] با افزایش درصد وزنی تقویت‌کننده (فلوئور هیدروکسی آپاتیت) به داربست‌های پلیمری، شدت پیک‌های تقویت‌کننده افزایش و شدت پیک‌های پلی کاپرولاکتون کاهش می‌یابد.

آپاتیت در سایر کارهای پژوهشی نیز مشاهده شده است [۵].

### شناسایی گروه‌های عاملی

شکل ۲ الگوی آزمون طیف‌سنجی فرسرخ داربست‌های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت را که با مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی هیدروکسی آپاتیت میکرومتری تهیه شده، نشان می‌دهد.

همان‌گونه که در شکل ۲ دیده می‌شود، پیوندهای ساختمانی هر دو ترکیب پلی کاپرولاکتون و هیدروکسی آپاتیت در این الگو وجود دارد و پیوندهای C=O و C-O و C=H مطابق با گروه‌های عاملی پلی کاپرولاکتون است

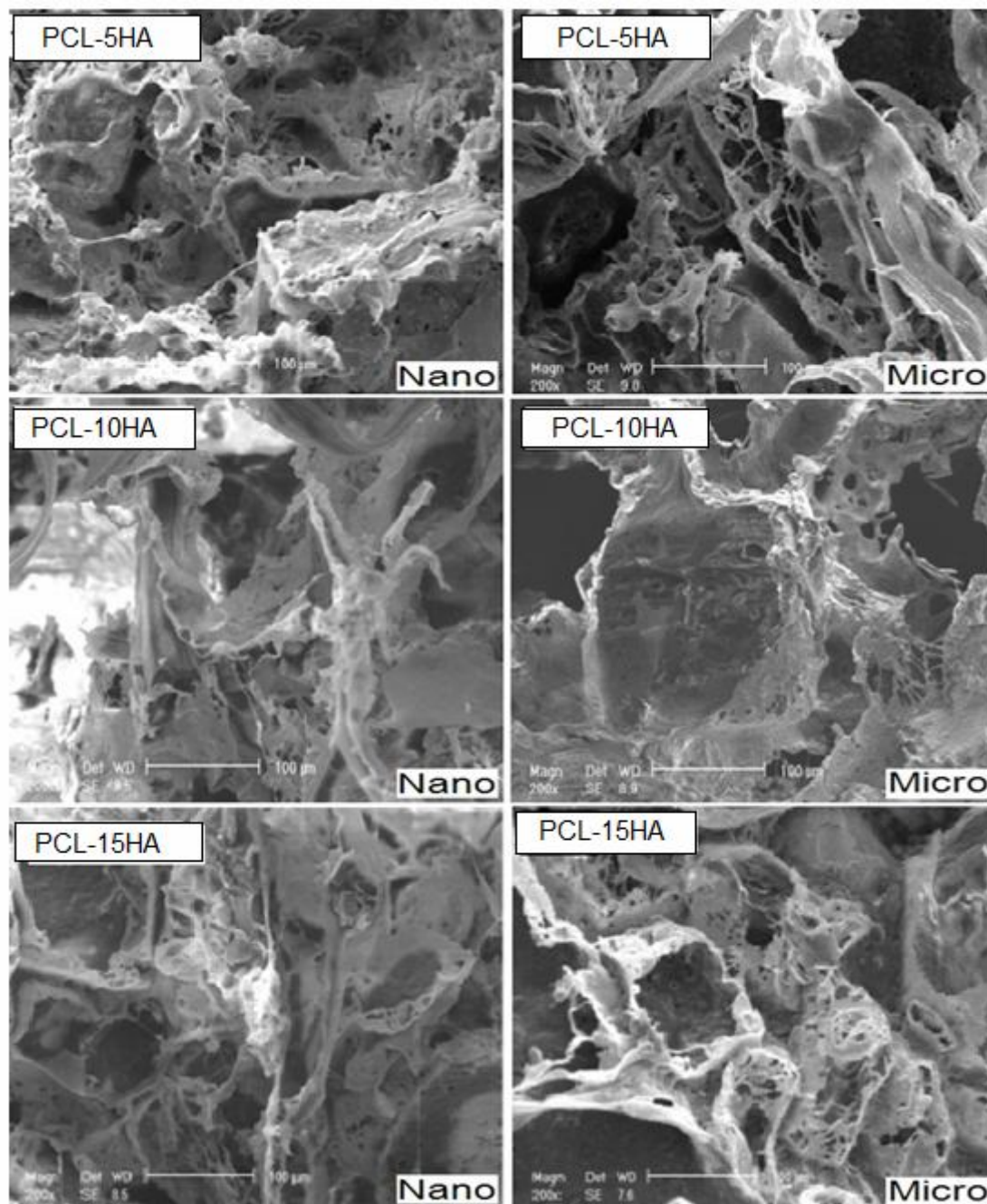


شکل ۲- الگوی آزمون طیف‌سنجی فرسرخ با تبدیل فوریه داربست‌های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت تهیه شده با درصد وزنی گوناگون از هیدروکسی آپاتیت

است، نشان می‌دهد. همان‌گونه که در تصویر مشاهده می‌شود، با افزایش هیدروکسی آپاتیت منافذ و تخلخل‌ها کاهش یافته‌اند. دیبا و همکاران [۱۲] نشان دادند که افزودن پودر تقویت‌کننده و پرکننده به داربست پلیمری باعث کاهش تخلخل و اندازه منافذ داربست می‌شود.

### مطالعه ریخت شناسی و ریزساختار داربست‌های کامپوزیتی

شکل ۳ تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی داربست‌های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت را که با مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی از هیدروکسی آپاتیت میکرومتری و نانومتری تهیه شده



شکل ۳- تصاویر میکروسکوپی الکترونی روبشی داربست‌های کامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت تهیه شده با درصد وزنی گوناگون از هیدروکسی آپاتیت

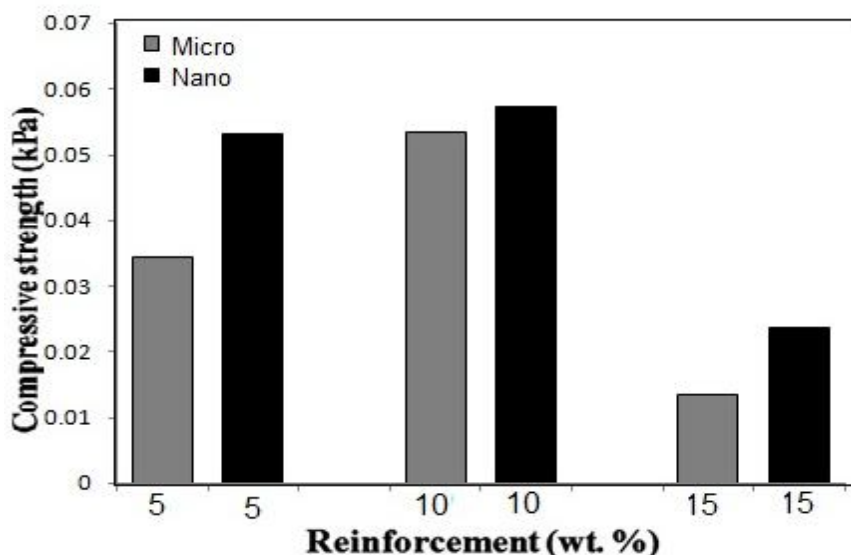
نشان دادند که افزودن تقویت‌کننده به داربست پلیمری به دلیل کاهش تخلخل، اندازه منافذ و پودر تقویت‌کننده و پرکننده باعث افزایش استحکام می‌شود. افزایش درصد تقویت‌کننده تا درصد بالاتر باعث آگلومره شدن پودر می‌شود و یکنواختی توزیع پودر کم می‌شود [۵]، بنابراین با افزایش درصد بالاتری از هیدروکسی آپاتیت استحکام کاهش می‌یابد.

سنجش خواص مکانیکی داربست‌های کامپوزیتی قاسمیه [۷] در سال ۲۰۰۸ نشان داد که با افزودن بیوسرامیک به پلیمر، خواص مکانیکی داربست بهبود پیدا می‌کند. با توجه به شکل ۴ مشاهده می‌شود که با افزایش درصد تقویت‌کننده تا ۱۰ درصد استحکام نمونه‌ها افزایش و با افزایش درصد تقویت‌کننده بیش از ۱۰ درصد استحکام نمونه کاهش یافته است. دیبا و همکاران [۱۲]



بیشتر از استحکام داربست‌های ساخته شده با هیدروکسی آپاتیت میکرومتری است [۱۳].

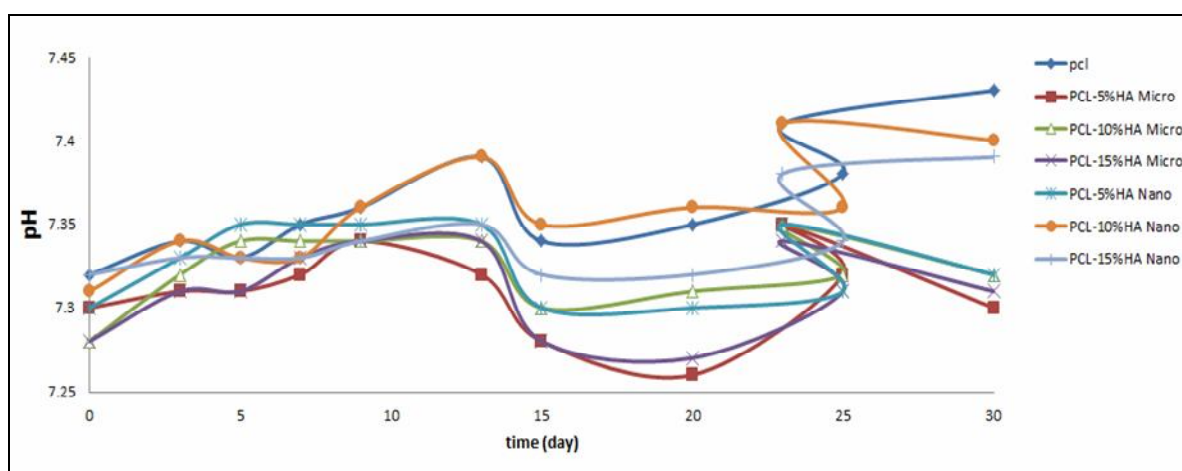
همان گونه که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، استحکام داربست‌های ساخته شده با هیدروکسی آپاتیت نانومتری



شکل ۴- تغییرات استحکام فشاری داربست‌های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت تهیه شده با درصد وزنی گوناگون از هیدروکسی آپاتیت

آپاتیت را که با مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی از هیدروکسی آپاتیت میکرومتری و نانومتری تهیه شده است، نشان می‌دهد.

ارزیابی رفتار زیست تخریب پذیری داربست‌های کامپوزیتی شکل ۵ تغییرات pH محلول فسفات بافر سالین حاوی داربست‌های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی



شکل ۵- تغییرات pH محلول فسفات بافر سالین حاوی داربست‌های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت تهیه شده با درصد وزنی گوناگون از هیدروکسی آپاتیت.

کاهش پیدا می‌کند. پژوهش‌ها نشان داده اند [۱۱] که هر چه مقدار آپاتیت در کامپوزیت افزایش پیدا کند، محلول

تغییرات pH محلولی که پلیمر خالص در آن قرار داشته، تا مدتی بدون تغییر بوده و پس از مدتی روند



بالا می رود زیرا با افزایش نسبت سطح به حجم در نانوذرات نسبت به ذرات میکرونی، اثر سطح در نانوذرات افزایش یافته و بیش تر تخریب می شوند [۵] و به این ترتیب، بر تخریب پذیری داربست تاثیر می گذارد. تخریب پذیری هیدروکسی آپاتیت با کاهش کریستالینیتی افزایش می یابد و با کاهش اندازه ذرات نیز بالا می رود و به این ترتیب، بر تخریب پذیری داربست تاثیر می گذارد [۲]. از سوی دیگر، تخریب پلیمر نیز به دلیل حضور ذرات هیدروکسی آپاتیت افزایش می یابد و در نتیجه، زیست تخریب پذیری داربست تغییر می کند و زیاد می شود [۷ و ۵]. همان گونه که مشاهده می شود، تخریب داربست های کامپوزیتی نانومتری بهتر از داربست های کامپوزیتی میکرومتری بوده است.

### نتیجه گیری

داربست های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت با استفاده از ذرات نانومتری و میکرومتری هیدروکسی آپاتیت و با روش ریخته گری حلال/لیچینگ ذره ای ساخته شدند. استحکام فشاری داربست های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت با افزایش درصد تقویت کننده افزایش یافت، ولی با افزایش بیش از ۱۰ درصد وزنی از تقویت کننده، استحکام فشاری داربست ها کاهش یافت. از سوی دیگر، داربست های تهیه شده با هیدروکسی آپاتیت نانومتری دارای استحکام فشاری بیش تری نسبت به داربست های ساخته شده با هیدروکسی آپاتیت میکرومتری بودند. با افزایش مقدار هیدروکسی آپاتیت در داربست های کامپوزیتی و با گذشت زمان، مقدار تخریب داربست افزایش می یابد. هم چنین، نرخ تخریب پذیری داربست های تهیه شده با هیدروکسی آپاتیت نانومتری بهتر از داربست های ساخته شده با هیدروکسی آپاتیت میکرومتری بود. در کل چنین نتیجه گیری شد که داربست های تهیه شده با پودر نانومتری دارای خواصی بهینه تر نسبت به داربست های ساخته شده با پودر میکرومتری هستند.

قلیایی تر می شود و pH محلول افزایش می یابد. همان گونه که در نتایج این پژوهش نیز مشاهده می شود، هرچه درصد وزنی هیدروکسی آپاتیت در داربست افزایش پیدا می کند، pH محلول نیز افزایش می یابد.

بوکاجینی<sup>۱</sup> و همکارانش [۱۴] نیز گزارش کردند که انحلال یون های قلیایی از ذرات بیوسرامیک زیست فعال، باعث قلیایی شدن PH محلول فسفات بافر سالین حاوی داربست های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت می شود، ولی هرچه مقدار ذرات هیدروکسی آپاتیت در ساختار افزایش یابد، قلیایی شدن سلول افزایش یافته و در نتیجه، باعث افزایش pH می شود.

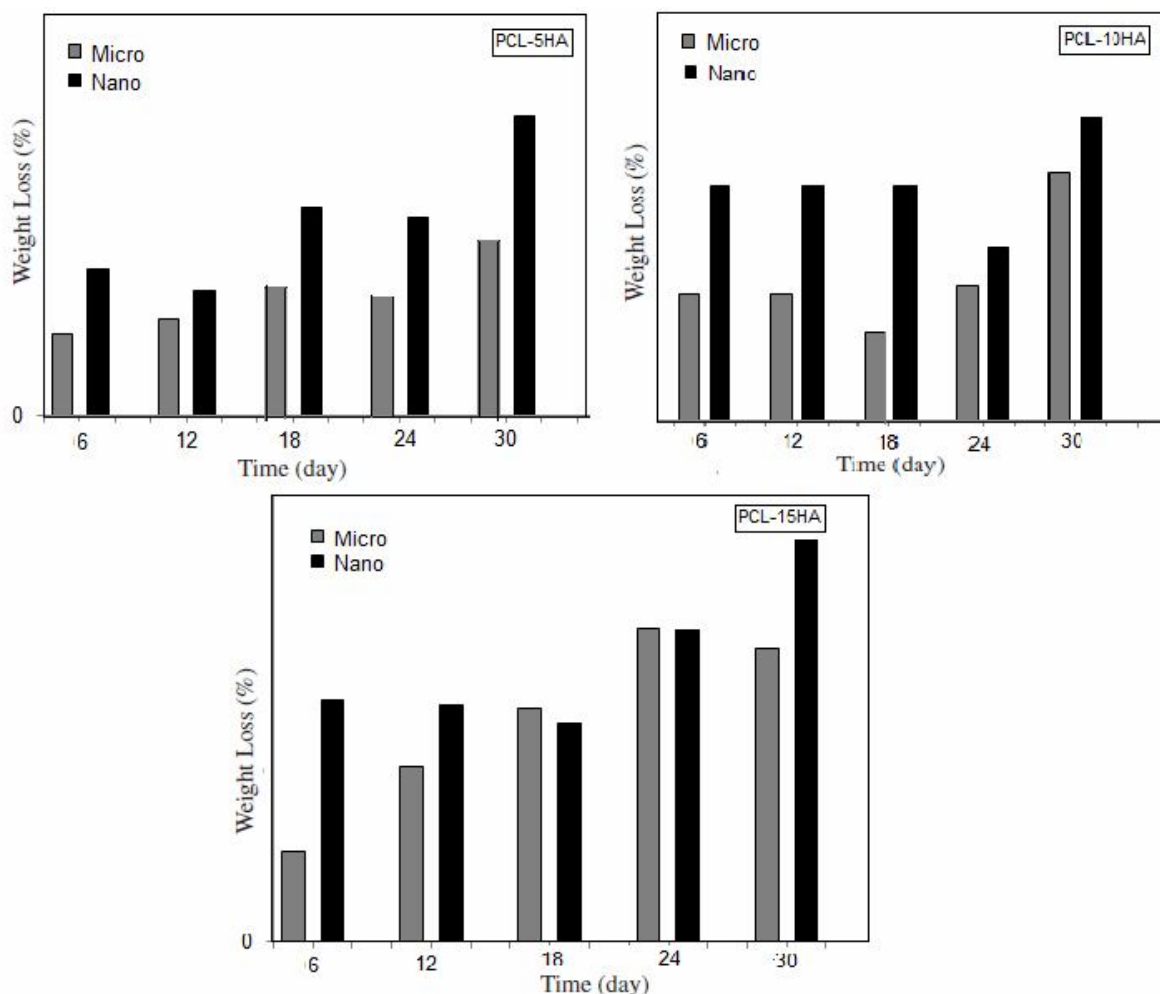
در شکل ۶، تغییرات وزن داربست های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت که با مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی از هیدروکسی آپاتیت میکرومتری و نانومتری تهیه شده، در محلول فسفات بافر سالین، در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در مدت زمان ۳۰ روز نشان داده شده است.

همان گونه که مشاهده می شود، تمام داربست ها کاهش وزن داشته اند. روشن است که این کاهش وزن مربوط به تخریب پلی کاپرولاکتون از ساختار کامپوزیتی است. هم چنین، دیده می شود که با افزایش درصد هیدروکسی آپاتیت تخریب نمونه ها افزایش یافته است. لی<sup>۲</sup> و همکاران نشان دادند [۱۵] که تخریب کامپوزیت پلی (لاکتیک اسید)/ هیدروکسی آپاتیت سریع تر از تخریب پلیمر خالص است. در واقع، هیدروکسی آپاتیت تخریب پلیمر را سرعت می بخشد. هم چنین، یو<sup>۳</sup> و همکارانش نشان دادند [۱۶] با افزودن تری کلسیم فسفات (TCP) تخریب پلی کاپرولاکتون تسریع می شود. وقتی ذرات تری کلسیم فسفات، به گونه فیزیکی با پلی کاپرولاکتون مخلوط می شوند، به گونه تصادفی فضایی را در پلیمر اشغال می کنند. خروج تری کلسیم فسفات نیز حفراتی را در پلیمر ایجاد می کند، بنابراین، سطح آن ها در معرض حمله هیدرولیزی قرار گرفته و ساختار روی هم رفته، تضعیف می شود. تخریب پذیری هیدروکسی آپاتیت با کاهش کریستالینیتی افزایش می یابد و با کاهش اندازه ذرات نیز

<sup>1</sup>- Boccaccini

<sup>2</sup>-Lei

<sup>3</sup>-Yeo



شکل ۶- تغییرات وزن داربست‌های کامپوزیتی پلی کاپرولاکتون- هیدروکسی آپاتیت تهیه شده با درصد وزنی گوناگون از هیدروکسی آپاتیت در محلول فسفات بافر سالین، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در مدت زمان ۳۰ روز.

### References

- 1- M.H. Fathi, and A. Hanifi, "Evaluation and Characterization of Nanostructure Hydroxyapatite Powder Prepared by Simple Sol-Gel Method", *Materials Letters*. 61, pp: 3978–3983, 2007
- 2- M.H. Fathi, A. Hanifi, and V. Mortazavi, "Preparation and Bioactivity Evaluation of Bone-Like Hydroxyapatite Nanopowder", *Journal of Materials Processing Technology*. 202, pp: 536–542, 2008.
- 3- W. Suchanek, M. Yoshimura, and J. Mater. Res. 13 (1998) 94–117.
- 4- M. Mazrooei, M. Sebdani, and M.H.Fathi, "Novel hydroxyapatite-Fosterite-Bioglass Nanocomposite

Coatings with Improved Mechanical Properties" *Journal of Alloys and Compounds*, Volume 509, Issue 5, 3 February 2011, Pages 2273-2276.

5- N. Johari, M.H. Fathi, M.A. Golozar, "Fabrication Characterization and Evaluation of the Mechanical Properties of Poly (E-Caprolactone)/Nano-Fluoridated Hydroxyapatite Scaffold for Bone Tissue Engineering", *Composites: Part B*. 43, pp: 1671–1675, 2012.

۶- ناصری، ا.، حافظی، ف.، "طراحی و ساخت نانوکامپوزیت‌های شیشه‌ای زیست تخریب پذیر با قابلیت کاربری در مهندسی بافت استخوان"، *مجله علمی پژوهشی*

مواد نوین، دوره ۴، شماره ۱۴، صفحه ۱۱-۳۰، زمستان ۱۳۹۲.

7- E. Ghassemieh, "Morphology and Compression Behavior of Biodegradable Scaffolds Produced by the Sintering Process", *J Eng Med.* 222, pp:1247-1262, 2008.

8- Soomasundran, P., "Zeta Potential Of Apatite In Aqueous Solution And Its Change During Equilibrium", *J. Colloid. Interface. Sci.* 27, pp: 659-666, 1968.

9- R. Cristescu, A. Doraiswamy, G. Socol, S. Grigorescu, E. Axente, and D. Mihaiescu, "Polycaprolactone Biopolymer Thin Films Obtained by Matrix Assisted Pulsed Laser evaporation", *Appl Surf Sci.* 253, pp:6476-6479, 2007.

10- F. Yang, S.K. Both, and X. Yang, , Walboomers, X.F., Jansen, J.A., "Development of an Electrospun Nano-Apatite/PCL Composite Membrane for GTR/GBR Application", *Acta Biomater.* 5, pp: 3295-3304, 2009.

11- M.H. Fathi, and E. Mohammadi Zahrani, "Fabrication and Characterization Fluoridated hydroxyapatite Nanopowders Via Mechanical Alloying", *J Alloys Compd.* pp: 475:408-414, 2009.

12- M. Diba, M. Kharaziha, M.H. Fathi, and A. Samadikuchaksaraei, "Preparation and Characterization of Polycaprolactone /Forsterite Nanocomposite Porous Scaffolds Designed for Bbone Tissue Regeneration", *Composites Science and Technology*, Vol. 72, Pages 716-723, 2012.

13- Y. Ung, S.S. Kim, H.K. Young, S.H. Kim, B.S. Kim, and S. Kim, "A poly (Lactic Acid)/ Calcium Metaphosphate Composite for Bone Tissue Engineering", *Biomater.* 26, 6314-6322, 2005.

14- K. Rezwana, Q.Z. Chena, J.J. Blakera, and A.R. Boccaccini, , "Biodegradable and Bioactive Porous Polymer/Inorganic Composite scaffolds for Bone Tissue Engineering", *Biomater.* 27, pp:3413-3431, 2006.

15- Y. Lei, B. Rai, , K. H. H.o, , and S. H. Teoh, , " In Vitro Degradation of Novel Bioactive Polycaprolactone-20% Tricalcium Phosphate Composit Scaffolds for Bone Engineering", *Mater. Sci. Engng C, Biomim. Supramol. Syst.* 27, pp: 293-298, 2007.

16- A. Yeo, B. Rai, E. Sju, J.J. Cheong, and Teoh SH. The Degradation Profile of Novel, Bioresorbable PCL-TCP Scaffolds: An in Vitro and in Vivo Study", *J Biomed Mater Res A* 84, pp:208-218, 2008.

