

## فرآیندهای نوین در مهندسی مواد

ma.iaumajlesi.ac.ir

مشخصه‌یابی، ارزیابی زیستی و بررسی خواص ضدباکتریایی شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی اصلاح شده با استرانسیم در حضور مقادیر بالای منیزیم

مقاله پژوهشی

نیلوفر کولیوند<sup>۱</sup>، رضا احمدی<sup>۲</sup>، امیرحسین مغانیان<sup>۳\*</sup>، مرتضی ثقفی یزدی<sup>۳</sup>

۱- کارشناس ارشد مهندسی مواد، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران.

۲- استادیار، گروه مهندسی مواد، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران.

۳- دانشیار، گروه مهندسی مواد، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران.

moghania@eng.ikiu.ac.ir\*

### چکیده

در این پژوهش، شیشه‌های زیست‌فعال پایه سیلیکاتی اصلاح شده با استرانسیم اکسید بر پایه  $60\text{SiO}_2-(36-x)\text{CaO}-4\text{P}_2\text{O}_5-5\text{SrO}-(8,10)\text{MgO}$  (درصد مولی) به روش سل-ژل سنتز شدند و خواص زیست‌فعال برون‌تنی (*In vitro*) آن‌ها توسط آزمون‌های مشخصه‌یابی، ارزیابی‌های زیستی و آزمون ضدباکتریایی در مقابل باکتری‌های مرسا (MRSA) بررسی گردید. طبق نتایج طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس (XRF)، میزان تغییر در مقدار عناصر به طور میانگین قبل و پس از سنتز، برای نمونه SBG8M و SBG10M به ترتیب برابر با  $4/08 \pm 2/66$  و  $4/99 \pm 2/66$  درصد بود که این امر حاکی از تأثیر گذاری ناچیز فرآیند سنتز بر روی ترکیب شیمیایی نهایی نمونه‌ها است. همچنین طبق نتایج طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس (XRD)، پیک‌های مشخصه هیدروکسی آپاتایت (HA) تنها در نمونه SBG8M پس از ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن (SBF) مشاهده گردید که این نتیجه توسط مشاهده بلورهای کروی هیدروکسی آپاتایت در تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نیز تأیید شد. ضمن اینکه طبق نتایج ارزیابی‌های زیستی، افزایش مقدار منیزیم اکسید از ۸ به ۱۰ درصد مولی، منجر به کاهش  $6/74$  و  $4/87$  و  $17/65$  درصدی در میزان چگالی نوری (OD) و نیز کاهش  $9/93$ ،  $12/16$  و  $24/30$  درصدی در فعالیت فسفات‌قلیایی (ALP) به ترتیب در روزهای ۱، ۳ و ۷ کشت در محیط کشت برون‌تنی گردید. علاوه بر این افزایش مقدار منیزیم اکسید، منجر به کاهش  $18/53$  درصدی خواص ضدباکتریایی گردید؛ بنابراین حضور مقادیر بالای ۸ و ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه‌های زیست‌فعال، منجر به کاهش زیست‌فعال برون‌تنی و خواص ضدباکتریایی آن‌ها می‌گردد.

### اطلاعات مقاله

دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۳۱

### کلید واژگان:

شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی

هیدروکسی آپاتایت

برون‌تنی

استرانسیم

منیزیم.

## Characterization, Biological Evaluation, and Investigation of Antibacterial Properties of Silicate-Based Bioactive Glass Modified with Strontium in the Presence of High Amounts of Magnesium

Niloufar Kolivand<sup>1</sup>, Reza Ahmadi<sup>2</sup>, Amirhossein Moghanian<sup>3\*</sup>, Morteza Thaghafi Yazdi<sup>3</sup>

1- Master of Materials Engineering, Department of Materials Engineering, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Materials Engineering, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran.

3- Associate Professor, Department of Materials Engineering, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran.

\* moghanian@eng.ikiu.ac.ir

### Article Information

Original Research Paper

Doi:

### Keywords:

Silicate-Based Bioactive Glass

Hydroxyapatite

In Vitro

Strontium

Magnesium.

### Abstract

In this research, silicate-based bioactive glasses modified with strontium oxide based on  $60\text{SiO}_2-(36-x)\text{CaO}-4\text{P}_2\text{O}_5-5\text{SrO}-(8,10)\text{MgO}$  (molar percentage) were synthesized by sol-gel method and the bioactive properties their *in vitro* properties were investigated by characterization tests, biological evaluations and antibacterial tests against Mrsa bacteria (MRSA). According to the results of X-ray fluorescence spectroscopy (XRF), the amount of change in the amount of elements on average before and after synthesis, for SBG8M and SBG10M samples was equal to  $6.202 \pm 4.08\%$  and  $4.99 \pm 2.66\%$ , respectively, which indicates a negligible effect the synthesis process is based on the final chemical composition of the samples. Also, according to the X-ray diffraction (XRD) results, the characteristic peaks of hydroxyapatite (HA) were observed only in the SBG8M sample after 14 days of immersion in the simulated body solution (SBF), which Scanning electron microscopy (SEM) was also confirmed. Besides, according to the results of biological evaluations, increasing the amount of magnesium oxide from 8 to 10 mol percent, led to a decrease of 6.74%, 4.87%, and 17.65% in the amount of optical density (OD) and also a decrease of 9.93%, 12.16% and 24.30% in alkaline phosphatase (ALP) activity on days 1, 3 and 7 respectively of culture *in vitro* culture medium. In addition, increasing the amount of magnesium oxide led to a decrease of 18.53% in antibacterial properties. Therefore, the presence of high amounts of 8 and 10 mol percent magnesium oxide in the chemical composition of bioactive glasses leads to a decrease in their *in vitro* bioactivity and antibacterial properties.

برای ارجاع به این مقاله از عبارت ذیل استفاده نمایید:

### Please cite this article using:

Niloufar Kolivand, Reza Ahmadi, Amirhossein Moghanian, Morteza Thaghafi Yazdi, Characterization, Biological Evaluation, and Investigation of Antibacterial Properties of Silicate-Based Bioactive Glass Modified with Strontium in the Presence of High Amounts of Magnesium, New Process in Material Engineering, 2024, 18(2), 1-14.

## ۱- مقدمه

پیشگیری و درمان نواقص استخوانی در اثر تصادف، انواع بیماری‌ها نظیر سرطان، مشکل ترکم استخوان ناشی از افزایش سن و ابتلا به پوکی استخوان<sup>۱</sup>، اختلالات مادرزادی در استخوان و نیز عفونت پس از عمل جراحی، همیشه به‌عنوان یک مسئله مهم و چالش‌برانگیز برای متخصصان حوزه پزشکی بوده است که دستیابی به راه‌حلی ایمن به‌منظور رفع مشکلات ناشی از آن‌ها، نویدبخش ارتقا روند درمان و نیز افزایش اطمینان خاطر بیماران در مواجهه با بیماری‌ها می‌باشد [۱-۲]. طبق مطالعات پیشین، یکی از بهترین راهکارها به‌منظور ترمیم نقایص استخوانی در پزشکی بازساختی<sup>۲</sup>، پیوند استخوانی<sup>۳</sup> است که یکی از اساسی‌ترین محدودیت‌های روش مذکور، عدم دسترسی آسان به محل بافت آسیب‌دیده می‌باشد [۳-۴]. ضمن اینکه استفاده از کاشتنی‌های<sup>۴</sup> فلزی نیز با وجود داشتن خواص مطلوب آن‌ها نسبت به مواد غیرفلزی، به دلیل ایجاد خوردگی و سایش پس از واکنش با بافت اطراف محل پیوند، رهایش کنترل نشده یون‌ها، تضعیف پیوند بین کاشتنی و استخوان و به تبع آن عدم تشکیل بافت استخوانی جدید محدود شده است [۵]. با این وجود تلاش‌ها به‌منظور طراحی و سنتز مواد زیستی به‌عنوان جایگزین‌های مصنوعی ایده‌آل بدون نیاز به جراحی‌های مکرر و نسبتاً ناموفق در کنار داشتن خواص زیست‌سازگار<sup>۵</sup> مطلوب با بافت بدن، در حوزه مهندسی بافت<sup>۶</sup> معطوف گردیده است [۶-۸].

شیشه‌های زیست‌فعال<sup>۷</sup> با داشتن قابلیت‌هایی نظیر استخوان‌زایی<sup>۸</sup>، هدایت رشد استخوانی<sup>۹</sup> و زیست‌فعالی<sup>۱۰</sup> بسیار بالا، یکی از گزینه‌های امیدوارکننده در حوزه کاربردهای درمانی مهندسی بافت هستند است [۹-۱۰]. همچنین شیشه‌های زیست‌فعال پس از قرارگیری در محلول شیشه‌سازی شده بدن<sup>۱۱</sup> به صورت برون‌تنی<sup>۱۲</sup>، با تشکیل یک لایه هیدروکسی‌آپاتیت<sup>۱۳</sup> بر روی سطح خود، توانایی برقراری پیوند با بافت بدن را دارند [۱۱-۱۲]. علاوه بر این شیشه‌های زیست‌فعال پایه سیلیکاتی با ترکیبات شیمیایی خاص، دارای قابلیت‌های منحصربه‌فردی نظیر القای

رنگ‌زایی<sup>۱۴</sup> در طی انحلال شبکه شیشه در محلول شیشه‌سازی شده بدن [۱۶-۱۳] و خواص ضد باکتریایی<sup>۱۵</sup> توأم با خواص ضدالتهابی<sup>۱۶</sup> هستند [۱۷-۱۸] که این امر بیانگر قابلیت بالای آن‌ها در بازسازی<sup>۱۷</sup> استخوان، دارورسانی<sup>۱۸</sup> و ترمیم زخم<sup>۱۹</sup> می‌باشد [۱۹-۲۱]. ضمن اینکه اولین ترکیب شیشه زیست‌فعال بر پایه  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O}$  توسط پروفیسور هنج و همکاران<sup>۲۰</sup> در سال ۱۹۶۹ با نام شیشه زیست‌فعال "۴۵۵۵" طراحی و به روش ذوبی<sup>۲۱</sup> سنتز گردید و پس از آن نیز ترکیبات شیمیایی جدیدی با خواص مختلف سنتز و مورد بررسی قرار گرفتند [۲۲-۲۴]. همچنین اولین کاشتنی بر پایه شیشه زیست‌فعال ۴۵۵۵ به‌عنوان جایگزین‌های استخوان کوچک گوش میانی به‌منظور درمان کم‌شنوایی در کاربردهای پزشکی مورد استفاده قرار گرفت [۲۵]. طبق مطالعات پیشین تا سال ۱۹۹۲، سنتز اغلب شیشه‌های زیست‌فعال به روش ذوبی انجام شده و اکثر مطالعات بر روی شیشه زیست‌فعال ۴۵۵۵ متمرکز بوده است [۲۶]. ضمن اینکه سنتز شیشه‌های زیست‌فعال به دو روش ذوبی و سل-ژل<sup>۲۲</sup> قابل انجام است که روش سل-ژل به دلیل داشتن مزایایی نظیر دمای پایین سنتز، همگنی و خلوص بسیار بالا، سطح ویژه<sup>۲۳</sup> بالاتر و دستیابی به اندازه ذرات نانومتری، بیشتر مورد توجه محققان قرار گرفته است [۲۷-۲۸].

همچنین آرایش عناصر معدنی نظیر استرانسیم [۲۹] و منیزیم [۳۰] در ترکیب شیمیایی شیشه‌های زیست‌فعال، علاوه بر القای خواص استخوان‌زایی [۳۱-۳۳] در کنار کنترل زیست‌فعالی و زیست‌سازگاری [۳۴]، امکان ارتقا قابلیت‌های زیستی نظیر خواص ضد باکتریایی، ضدالتهابی [۳۵]، رنگ‌زایی [۳۶-۳۷] و تعدیل ایمنی<sup>۲۴</sup> به‌منظور ترمیم بافت و حذف عفونت را فراهم آورده است [۳۸]. ضمن اینکه در مطالعه‌ای شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی حاوی مقادیر ۲، ۴، ۶ و ۸ درصد مولی استرانسیم اکسید مورد بررسی قرار گرفت و طبق نتایج حاصل از آن، نمونه حاوی ۶ درصد مولی استرانسیم اکسید دارای رشد و تکثیر سلولی مطلوبی بود و قابلیت استفاده آن در دارورسانی، دندانپزشکی و

MC3T3-E1 نمونه های شیشه زیست فعال مورد پژوهش توسط آزمون سمیت سلولی<sup>۲۹</sup> و آزمون فعالیت فسفات قلیایی<sup>۳۰</sup> پس از ۱، ۳ و ۷ روز کشت در محیط کشت برون تنی انجام گردید. علاوه بر این خواص ضدباکتریایی آن ها نیز در مقابل باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین<sup>۳۱</sup>، توسط آزمون ضدباکتریایی مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش های انجام تحقیق

### ۲-۱- معرفی مواد اولیه

در این پژوهش شیشه های زیست فعال پایه سیلیکاتی اصلاح شده با استرانسیم اکسید در حضور مقادیر ۸ و ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید با ترکیب شیمیایی بر پایه  $(MgO)_{(10)}(8)$  -  $5SrO-4P_2O_5-CaO-(36-x)SiO_2$  (درصد مولی) در شرایط برون تنی به روش سل-ژل سنتز گردید که ترکیب شیمیایی آن ها در جدول (۱) آورده شده است.

جدول (۱): ترکیب شیمیایی نمونه های شیشه زیست فعال پایه سیلیکاتی سنتز شده به روش سل-ژل (برحسب درصد مولی).

نمونه ها	SiO <sub>2</sub>	CaO	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	SrO
SBG8M	۶۰	۲۳	۴	۵
SBG10M	۶۰	۲۱	۴	۵

همچنین به منظور سنتز نمونه ها از پیش ماده های تترائیل اورتوسیلیکات (TEOS: Si(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>)، تری اتیل فسفات (TEP: PO(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>)، کلسیم نیترات چهار آبه (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O)، اسید نیتریک (HNO<sub>3</sub>)، منیزیم نیترات شش آبه (Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O) و آب دو بار تقطیر (H<sub>2</sub>O) استفاده شد که مشخصات آن در جدول (۲) آورده شده است. ضمن اینکه محلول شیشه سازی شده بدن به منظور انجام مشخصه یابی های زیستی، مطابق با دستور کار پیشنهادی کوکوبو<sup>۳۲</sup> تهیه گردید [۴۶].

ارتوپدی گزارش شد [۳۹]. علاوه بر این در مطالعه تاینوآ و همکاران<sup>۲۵</sup>، تأثیر آلایش مقادیر ۵ و ۱۰ درصد مولی استرانسیم اکسید و منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه های زیست فعال بر خواص زیست فعالی برون تنی آن ها مورد بررسی قرار گرفت و تأخیر در تشکیل لایه هیدروکسی آپاتایت بر روی سطح شیشه در حضور عناصر مذکور گزارش گردید [۴۰]. همچنین در مطالعاتی، شیشه های زیست فعال حاوی ۵ و ۱۰ درصد مولی استرانسیم اکسید و منیزیم اکسید به تنهایی و به صورت هم زمان، سنتز و مورد مطالعه قرار گرفت و علاوه بر گزارش تأثیر حضور هم زمان عناصر مذکور در کنترل نرخ تشکیل لایه هیدروکسی آپاتایت بر روی سطح شیشه ها، تأثیر آلایش منیزیم اکسید به تنهایی در ارتقا بیشتر خواص زیست فعالی شیشه ها نیز تأیید گردید [۴۱-۴۲]. ضمن اینکه در پژوهش های پیشین، مرگ سلولی در حضور مقادیر بالای استرانسیم اکسید و ارتقا زیست فعالی در حضور مقدار ۵ درصد مولی استرانسیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه های زیست فعال گزارش شد [۴۳-۴۴]. علاوه بر این در پژوهشی دیگر نیز کاهش زیست فعالی شیشه های زیست فعال و به تبع آن ناکارآمدی آن ها در حضور مقدار ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه ها تأیید گردید [۴۵]؛ بنابراین با توجه به ارزیابی مطالعات پیشین مبنی بر اهمیت بررسی تأثیر آلایش مقادیر مختلف عناصری نظیر استرانسیم و منیزیم در ترکیب شیمیایی شیشه های زیست فعال، در این پژوهش شیشه زیست فعال پایه سیلیکاتی اصلاح شده با ۵ درصد مولی استرانسیم اکسید در حضور مقادیر ۸ و ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید سنتز و خواص زیست فعالی برون تنی آن ها مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین به منظور مشخصه یابی نمونه های شیشه زیست فعال، از آزمون طیف سنجی فلورسانس پرتو ایکس<sup>۲۶</sup>، آزمون طیف سنجی پراش پرتو ایکس<sup>۲۷</sup> و به منظور بررسی ریزساختار آن ها نیز از میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۲۸</sup> پس از ۷ و ۱۴ روز غوطه وری در محلول شیشه سازی شده بدن استفاده شد. ضمن اینکه ارزیابی های زیستی و فعالیت سلول های استخوان ساز

جدول (۲): مواد اولیه به‌منظور سنتز نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی به روش سل-ژل.

کد	ترکیب شیمیایی	ماده
98%, Merck; No.8006581000	TEOS: Si(OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	تترااتیل اورتوسیلیکات
99%, Merck; No.8211411000	TEP: PO(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub>	تری‌اتیل فسفات
Merck Company Inc Grade: ACS	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	کلسیم نترات چهار آب
67%, Merck Company Inc	HNO <sub>3</sub>	اسید نیتریک
Merck Company Inc	Sr(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	استرانسیم نترات
Merck Company Inc	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	منیزیم نترات شش آب
	deionized water (H <sub>2</sub> O)	آب دو بار تقطیر

## ۲-۲- سازوکار تهیه محلول شبیه‌سازی شده بدن

در این پژوهش، به‌منظور تهیه محلول شبیه‌سازی شده بدن از سدیم کلرید (NaCl)، سدیم هیدروژن کربنات (NaHCO<sub>3</sub>)، پتاسیم کلرید (KCl)، دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات سه آب (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O)، منیزیم کلرید شش آب (MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O)، کلریدریک اسید (HCl)، کلسیم کلرید (CaCl<sub>2</sub>)، سدیم سولفات (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)، تریس (هیدروکسی متیل) آمینومتان ((CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>CNH<sub>2</sub>) و آب دو بار تقطیر (H<sub>2</sub>O) استفاده گردید.

## ۲-۳- سازوکار سنتز شیشه زیست‌فعال

همچنین به‌منظور سنتز نمونه‌ها، ابتدا آب مقطر دو بار تقطیر به همراه اسید نیتریک و تترااتیل اورتوسیلیکات به‌وسیله همزن مغناطیسی به مدت ۱ ساعت هم زده شد که پیش‌ماده‌های SiO<sub>2</sub> آماده شود و پس از افزودن تری‌اتیل فسفات (به‌منظور ایجاد شفافیت در ژل) به محلول و هم زدن مجدد آن به مدت ۳۰ دقیقه، پیش‌ماده‌های کلسیم اکسید، استرانسیم اکسید و منیزیم اکسید به‌صورت کلسیم نترات ۴ آب، استرانسیم نترات و منیزیم نترات شش آب در فواصل زمانی ۴۵ دقیقه به محلول اضافه شدند. همچنین در ادامه به‌منظور تکمیل فرآیند آبکافت<sup>۳۳</sup>، محلول به مدت ۱ ساعت توسط همزن مغناطیسی هم زده شد. ضمن اینکه پس از انحلال کامل محلول و تهیه سل، به‌منظور تبدیل سل به ژل، محلول به مدت ۷ روز در دمای اتاق (۲۵C) تحت عملیات پیرسازی طبیعی<sup>۳۴</sup> و پس از آن با قرارگیری در آون

به مدت ۳ روز در دمای ۷۵C □ تحت عملیات پیرسازی مصنوعی<sup>۳۵</sup> قرار گرفت و پس از به دست آمدن ژل خشک، ژل در کوره به‌منظور حذف مواد آلی و نترات‌ها به مدت ۳ ساعت در دمای ۷۰۰C □ نگه‌داری گردید. علاوه بر این پودر به‌دست آمده از ژل خشک طبق نتایج حاصل از آزمون حرارتی، تحت فرآیند پایدارسازی<sup>۳۶</sup> در دمای ۷۰۰C □ قرار گرفت. در نهایت نیز، پودر حاصل از نمونه‌های شیشه زیست‌فعال مورد پژوهش، به‌منظور انجام مشخصه‌یابی‌ها و ارزیابی‌های زیستی به‌صورت برون‌تنی، به‌وسیله دستگاه پرس تحت فشار حدود ۹۸۰۰ MPa در قالب‌هایی استوانه‌ای شکل با مقداری حدود ۰/۴۸ gr پودر تهیه گردید.

به‌طور کلی در روش سنتز سل-ژل، ابتدا انحلال پیش‌ماده‌های معمول آلکوکسید فلزی و نمک فلزات نظیر کلریدها، نیتریدها و غیره در آب، الکل، حلال‌های آلی و یا نسبتی از آن‌ها صورت می‌گیرد (بعضی از پیش‌ماده‌های آلی فلزی پیش از انحلال در آب، در یک حلال آلی قابل حل در آب حل می‌گردند و پیش‌ماده‌های نمک فلزی بدون انجام این مرحله و مستقیماً در آب حل می‌شوند) و در ادامه، ژل توسط فرآیند آبکافت پس از حرارت دهی و هم زدن به دست می‌آید. ضمن اینکه رطوبت موجود در ژل نیز با توجه به خواص مورد نیاز و کاربرد ژل توسط فرآیند خشک شدن، حذف می‌شود و ژل پس از تبدیل به پودر، تحت عملیات پایدارسازی و مجموعه‌ای از واکنش‌های برگشت‌ناپذیر به‌منظور دستیابی به محصول نهایی قرار می‌گیرد. همچنین در روش سنتز سل-ژل، آسان‌تر بودن کار با محلول‌ها در مقایسه با فرآیندهای جامد، منجر به افزایش کنترل ترکیب شیمیایی و پایین بودن دمای فرآیند (پایین‌تر از ۷۰۰C □) منجر به همگنی در اندازه ذرات، خلوص بالا و دستیابی به سطح ویژه بالاتر می‌گردد.

## ۲-۴- مشخصه‌یابی‌های شیشه زیست‌فعال

زیست‌فعالی برون‌تنی شیشه‌های زیست‌فعال پایه سیلیکاتی اصلاح شده با مقدار ۵ درصد مولی استرانسیم اکسید در حضور مقادیر ۸ و ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید، پس از ۷ و ۱۴ روز غوطه‌وری در مقادیر متفاوت ۲-۱۰ cc محلول

استخوان‌ساز MC3T3-E1 با چگالی  $1 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> رشد یافته بر روی سطح نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی بر اساس میزان فعالیت فسفات قلیایی در بازه‌های زمانی ۱، ۳ و ۷ روز کشت در محیط کشت برون‌تنی، مورد ارزیابی قرار گرفت و پس از شستشو لایه سلولی توسط محلول نمک فسفات با خاصیت بافری و افزودن ۱ mL تریس بافر و ۱ mL محلول پی-نیتروفنیل-فسفات، میزان رهاش پی-نیتروفنیل به وسیله دستگاه خوانش گر میکروپلیت با طول موج ۴۱۰ nm اندازه‌گیری گردید. علاوه بر این خواص ضدباکتریایی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی، با کاشت باکتری‌های مرسا بر روی سطح نمونه‌ها و قرارگیری آن‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷C □ در انکوباتور مورد بررسی قرار گرفت و میزان تشکیل کلونی در هر CFU/mL طبق رابطه (۱) محاسبه شد.

$$100 = \text{درصد ضدباکتریایی}$$

$$(1) \quad \frac{\text{تعداد باکتری‌های مرده}}{\text{تعداد کل باکتری‌ها}} \times 100$$

همچنین بررسی‌های آماری برای تعیین میزان تفاوت آماری و نیز مقایسه نتایج به صورت کمی، توسط نرم‌افزار GraphPad Prism (V.3.0) GraphPad Software، ایالات متحده) انجام گردید. ذکر این نکته حائز اهمیت است که داده‌ها، در نتیجه انجام حداقل ۳ آزمایش مستقل به صورت عدد صحیح به دست آمد و با میانگین  $\pm$  انحراف معیار، به صورت تفاوت قابل ملاحظه آماری مقدار احتمال  $p < 0.05$ ،  $p < 0.01$ ،  $p < 0.001$  و  $p < 0.0001$  گزارش گردید.

### ۳- نتایج و بحث

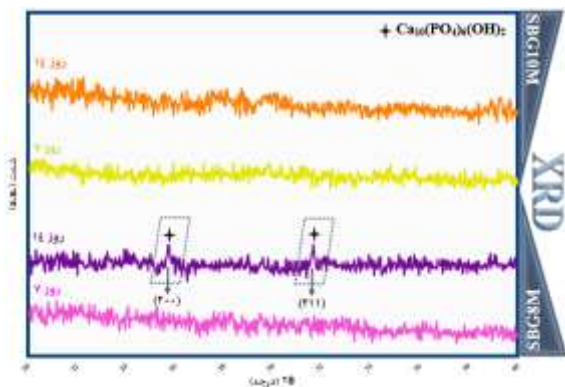
۳-۱- تحلیل طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس مقادیر عناصر موجود در ترکیب شیمیایی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی اصلاح شده با استرانسیم اکسید در حضور مقادیر ۸ و ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید قبل و پس از سنتز به روش سل-ژل، با توجه به نتایج به دست آمده از

شیشه‌سازی شده بدن در فالدکون‌هایی، مورد بررسی قرار گرفت. همچنین ترکیب شیمیایی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال ۵ جزئی پایه سیلیکاتی مورد پژوهش توسط دستگاه طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس (Panalytical Axios) ساخت کشور هلند اندازه‌گیری گردید. ضمن اینکه مشخصه‌یابی سطح نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی به منظور تأیید تشکیل یا عدم تشکیل لایه هیدروکسی‌آپاتایت بر روی سطح نمونه‌ها پس از ۷ و ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول شیشه‌سازی شده بدن در محدوده ۲۵ بین ۴۰-۲۰ درجه و با شدت ۴۰ kV و طول موج  $1.504 \text{ \AA}$ ، توسط دستگاه تجزیه و تحلیل فازی پراش پرتو ایکس مدل (XRD, INEL- Equinox- 3000) ساخت کشور فرانسه به وسیله کارت مرجع JCPDS (No. 09-432) مورد ارزیابی قرار گرفت. علاوه بر این بررسی ریزساختار و نیز ریخت‌شناسی سطح نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پس از ۷ و ۱۴ روز غوطه‌وری نمونه‌ها در محلول شیشه‌سازی شده بدن، توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل (Philips XL30) ساخت کشور هلند با شتاب ۲۰ kW انجام گردید.

### ۵-۲- ارزیابی‌های زیستی شیشه زیست‌فعال

ارزیابی سمیت سلولی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی اصلاح شده با استرانسیم اکسید در حضور مقادیر ۸ و ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید، بر اساس میزان تکثیر و تمایز سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1 بر روی سطح نمونه‌ها، از طریق کشت سلول‌ها با چگالی  $6 \times 10^3$  در چاهک‌های ظرف ۹۶ خانه‌ای به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور و سپس به مدت ۱، ۳ و ۷ روز در محیط کشت جدید حاوی  $100 \mu\text{L}$  از  $5 \text{ mg/mL}$  محلول MTT (سیگما آدریج) مورد بررسی قرار گرفت. ضمن اینکه اندازه‌گیری میزان چگالی نوری بلورهای حل شده فورمازون، پس از ۴ ساعت قرارگیری در انکوباتور تحت دمای ۳۷C □، توسط دستگاه طیف‌سنج مدل (EL312e Biokinetics) ساخت شرکت Biotek با طول موج  $570 \text{ nm}$  نانومتر اندازه‌گیری شد. همچنین بررسی میزان تحریک تکثیر و تمایز سلول‌های

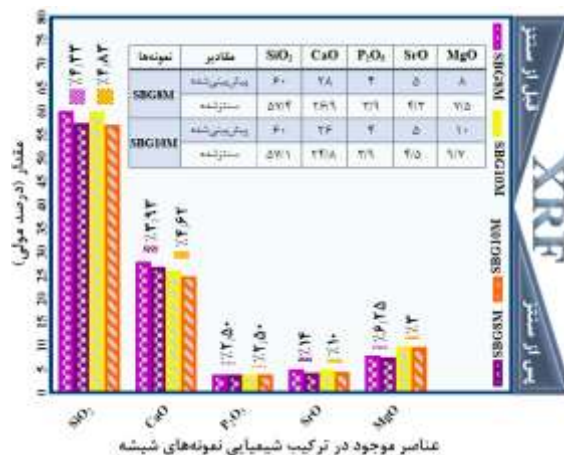
بین ۲۰-۴۰ درجه، در شکل (۲) ارائه شده است. با توجه به بررسی مطالعات، حضور پیک‌های مشخصه در زوایای ۲θ برابر با ۲۵/۸ و ۳۱/۸ درجه از صفحات اتمی (۲۰۰) و (۲۱۱)، معیاری از تشکیل لایه هیدروکسی‌آپاتایت بر روی سطح شیشه‌های زیست‌فعال است [۱۱-۱۲].



شکل (۲): الگوی پراش پرتو ایکس نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی پس از ۷ و ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن.

همچنین طبق نتایج حاصل از طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس در شکل (۲)، عدم مشاهده پیک در الگو پراش هر دو نمونه مورد پژوهش در زوایای مذکور پس از ۷ روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن، حاکی از عدم تشکیل لایه هیدروکسی‌آپاتایت بر روی سطح آن‌ها می‌باشد. ضمن اینکه با توجه به الگو پراش نمونه SBG8M پس از ۱۴ روز غوطه‌وری، تنها دو پیک کم شدت در زوایای مشخصه مشاهده گردید که این نتیجه، بیانگر توانایی پایین نمونه مذکور در تشکیل لایه هیدروکسی‌آپاتایت بر روی سطح خود به‌عنوان معیاری از زیست‌فعالی آن می‌باشد. علاوه بر این در الگوی پراش نمونه SBG10M حتی پس از ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن، هیچ پیکی در زوایای مذکور مشاهده نگردید که این امر حاکی از عدم تشکیل لایه هیدروکسی‌آپاتایت بر روی سطح نمونه مذکور است. همچنین طبق مطالعات پیشین حضور استرانسیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه‌های زیست‌فعال، به دلیل شعاع یونی بزرگ‌تر استرانسیم نسبت به کلسیم منجر به تأخیر در تشکیل لایه هیدروکسی‌آپاتایت بر روی سطح آن‌ها می‌گردد؛ بنابراین طبق مطالعات پیشین و نتایج حاصل از آزمون،

طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس، در شکل (۱) ارائه شده است. همچنین طبق نتایج حاصل از آزمون، میزان تغییر در مقدار عناصر موجود در ترکیب شیمیایی شیشه‌های مورد پژوهش پس از سنتز، در نمونه SBG8M برای  $\text{CaO}$ ،  $\text{SiO}_2$ ،  $\text{SrO}$ ،  $\text{P}_2\text{O}_5$  و  $\text{MgO}$  به ترتیب برابر با ۴/۳۳، ۳/۹۳، ۲/۵۰، ۱۴ و ۶/۲۵ (درصد) و در نمونه SBG10M به ترتیب ۴/۶۲، ۲/۵۰، ۱۰ و ۳ (درصد) بود.

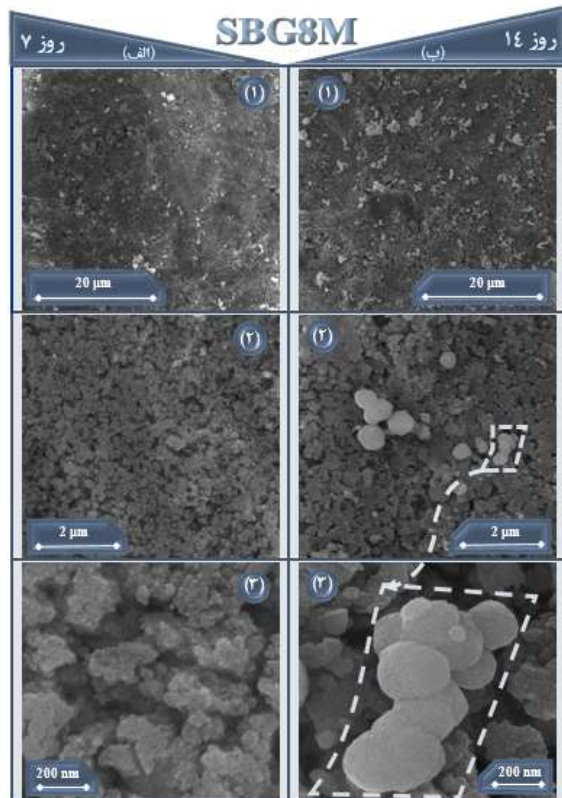


شکل (۱): ترکیب شیمیایی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی قبل و پس از سنتز به روش سل-ژل (برحسب درصد مولی).

ضمن اینکه میزان تغییر در مقدار عناصر به طور میانگین قبل و پس از سنتز، برای نمونه SBG8M و SBG10M به ترتیب برابر با  $4/08 \pm 4/202$  و  $4/99 \pm 2/66$  (درصد) بود که این امر حاکی از تأثیر گذاری ناچیز فرآیند سنتز به روش سل-ژل بر روی ترکیب شیمیایی نهایی شیشه‌های مورد پژوهش است. همچنین علاوه بر تشابه ترکیب شیمیایی نهایی نمونه‌ها با ترکیب شیمیایی پیش‌بینی شده، طبق نتایج حاصل از آزمون، حضور اکسید عناصر سیلیسیم، کلسیم، فسفر، استرانسیم و منیزیم در ترکیب شیمیایی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال مورد پژوهش مشاهده و تأیید گردید [۴۷-۴۸].

## ۲-۳- تحلیل طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس

الگوی پراش پرتو ایکس نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی اصلاح شده با استرانسیم اکسید در حضور مقادیر ۸ و ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید پس از ۷ و ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن، در محدوده ۲θ



شکل (۳): ریزساختار سطح نمونه SBG8M. الف) پس از ۷ روز و ب) پس از ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن در بزرگنمایی‌های ۱-۲۵۰۰، ۲-۲۰۰۰ و ۳-۱۳۵۰۰۰ برابر.

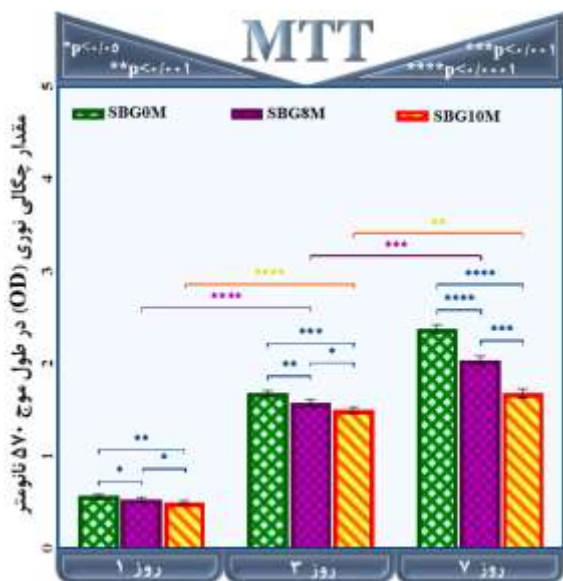
همچنین این امر حاکی از تأثیر تأخیری حضور استرانسیم اکسید و منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه‌های زیست‌فعال بر تشکیل لایه هیدروکسی‌آپاتایت و کاهش زیست‌فعالی شیشه زیست‌فعال مورد پژوهش در حضور مقادیر بالای منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی آن‌ها می‌باشد؛ به عبارت دیگر، حضور پیک‌های مشخصه هیدروکسی‌آپاتایت در زوایای ۲θ برابر با ۲۵/۸ و ۳۱/۸ درجه از صفحات اتمی (۲۰۰) و (۲۱۱) در آزمون پراش پرتو ایکس (توسط کارت مرجع (JCPDS (No. 09-432) در روز ۱۴ غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن در نمونه SBG8M، حاکی از تشکیل لایه هیدروکسی‌آپاتایت بر روی سطح نمونه SBG8M است که نتایج مذکور توسط مشاهده بلورهای کروی (به دلیل حضور پیش ماده کلسیم) هیدروکسی‌آپاتایت بر روی سطح نمونه SBG8M پس از ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده توسط آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی نیز تأیید گردید [۴۹].

می‌توان بیان کرد که حضور مقادیر بالای منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه‌های زیست‌فعال، منجر به عدم/کاهش تشکیل لایه هیدروکسی‌آپاتایت بر روی سطح شیشه‌ها و به تبع آن عدم/کاهش زیست‌فعالی آن‌ها می‌گردد [۴۰ و ۴۵].

### ۳-۳- ریخت‌شناسی سطح

با توجه به نتایج آزمون طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس، تصاویر حاصل از بررسی ریزساختار سطح نمونه SBG8M شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی آرایش یافته با ۸ درصد مولی منیزیم اکسید، پس از ۷ و ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن در شکل (۳) ارائه شده است. همچنین طبق بررسی تصاویر حاصل از سطح نمونه SBG8M، بلورهای کروی هیدروکسی‌آپاتایت بر روی سطح نمونه مذکور پس از ۷ روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن (شکل (۳-الف))، مشاهده نگردید که این امر با نتایج حاصل از آزمون پراش پرتو ایکس مبنی بر عدم مشاهده پیک در الگو نمونه SBG8M و به تبع آن عدم تشکیل لایه هیدروکسی‌آپاتایت بر روی سطح آن در تطابق است [۴۰ و ۴۵]. ضمن اینکه با توجه نتایج حاصل از بررسی، پس از ۱۴ روز غوطه‌وری نمونه SBG8M در محلول شبیه‌سازی شده بدن (شکل (۳-ب))، تنها تعداد محدودی بلورهای کروی هیدروکسی‌آپاتایت (به‌عنوان معیاری از زیست‌فعالی آن‌ها) بر روی سطح نمونه مذکور مشاهده گردید که نتیجه مذکور به‌صورت پیک‌های مشخصه کم شدت هیدروکسی‌آپاتایت در الگو طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس نمونه SBG8M (شکل (۲)) در روز ۱۴ غوطه‌وری نیز، قابل مشاهده است.

همچنین افزایش مقدار منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه‌های زیست‌فعال، به دلیل کاهش فوق اشباع و به تبع آن کاهش جوانه‌زنی، منجر به افزایش اندازه ذرات هیدروکسی آپاتایت می‌گردد [۴۵، ۴۹ و ۴۹]. علاوه بر این در مطالعه‌ای نیز کاهش تشکیل لایه هیدروکسی آپاتایت بر روی شیشه‌های زیست‌فعال حاوی مقادیر بالاتر از ۷ درصد مولی منیزیم اکسید و به تبع آن کاهش زیست‌فعالی آن‌ها گزارش شده است [۵۰]. ذکر این نکته ضروری است که طبق مطالعات پیشین، شکل کروی بلورهای هیدروکسی آپاتایت به دلیل حضور کلسیم اکسید در ترکیب شیشه‌های زیست‌فعال است که در شکل (۳-ب) قسمت ۳ به وضوح قابل مشاهده است [۲۷].



زمان کشت در محیط حاوی سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1  
شکل (۴): نتایج رشد، تکثیر و عدم سمیت سلولی MC3T3-E1  
نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی پس از ۱، ۳ و ۷ روز کشت  
در محیط حاوی سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1.

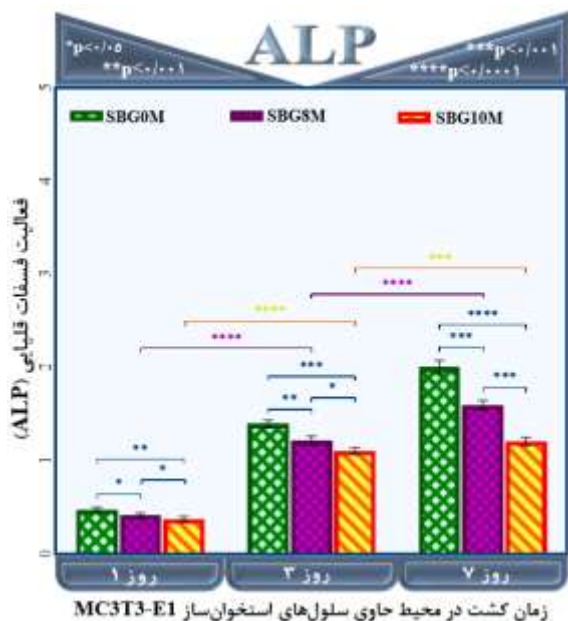
با این وجود، با افزایش زمان کشت از ۳ روز به ۷ روز، کاهش قابل‌ملاحظه آماری در تشکیل فرومازون برای نمونه SBG10M و SBG8M نسبت به گذشت ۳ روز از زمان کشت نمونه‌ها نمایان شد ( $p < 0.001$  و  $p < 0.01$ ) که این نتیجه حاکی از کاهش میزان رشد و تکثیر سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1 با افزایش زمان کشت از ۳ روز به ۷ روز است. همچنین در روز ۷ کشت، کاهش قابل‌ملاحظه آماری در میزان چگالی نوری SBG10M و SBG8M در مقایسه با نمونه SBG0M مشاهده گردید که احتمالاً به دلیل ایجاد اثر سمیت سلولی در حضور مقادیر بالای منیزیم اکسید (۸ و ۱۰ درصد مولی) در ترکیب شیمیایی شیشه زیست‌فعال مورد پژوهش با افزایش زمان کشت در محیط کشت برون‌تنی می‌باشد ( $p < 0.001$ ). ضمن اینکه کاهش قابل‌ملاحظه‌ای در میزان رشد و تکثیر سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1 در روز ۷ کشت با افزایش مقدار منیزیم اکسید از ۸ به ۱۰ درصد مولی در ترکیب شیمیایی نمونه‌های شیشه مشاهده گردید ( $p < 0.001$ ) که مطابق با مطالعات پیشین

سنجش سمیت سلولی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال اصلاح شده با استرانسیم اکسید در حضور مقادیر ۸ و ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید، با توجه به اندازه‌گیری میزان چگالی نوری<sup>۳۷</sup> حاصل از فعالیت سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1 پس از ۱، ۳ و ۷ روز کشت در محیط کشت برون‌تنی، انجام گردید و نتایج حاصل از آن پس از تکمیل توسط بررسی‌های آماری، در شکل (۴) ارائه شده است. ضمن اینکه در مطالعات پیشین، افزایش رشد، تکثیر و فعالیت سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1 در کنار عدم سمیت سلولی در حضور مقادیر بهینه‌ای از عناصر استرانسیم و منیزیم گزارش شده است [۳۴، ۳۹ و ۴۵]. همچنین با توجه به نتایج حاصل از بررسی، در روز اول کشت، تفاوت قابل‌ملاحظه آماری در میزان چگالی نوری بین نمونه SBG10M و SBG8M با نمونه SBG0M مشاهده نگردید ( $p < 0.05$  و  $p < 0.01$ ). ضمن اینکه با افزایش زمان کشت از ۱ روز به ۳ روز، علاوه بر افزایش قابل‌ملاحظه در میزان فرومازون تشکیل شده برای نمونه SBG10M و SBG8M نسبت به نمونه SBG0M ( $p < 0.01$  و  $p < 0.001$ )، تفاوت قابل‌ملاحظه آماری نیز در میزان چگالی نوری برای نمونه SBG10M و SBG8M در روز ۱ کشت نسبت به روز ۳ کشت به دست آمد

#### ۴-۳- سنجش سمیت سلولی

فرآیندهای نوین در مهندسی مواد، تابستان ۱۴۰۳، شماره ۲





شکل (۵): نتایج فعالیت فسفات قلیایی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی پس از ۱، ۳ و ۷ روز کشت در محیط حاوی سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1.

در روز ۷ کشت نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی در محیط کشت برون‌تنی، با وجود افزایش فعالیت فسفات قلیایی نمونه‌ها نسبت به روز ۱ و ۳ کشت، اما کاهش قابل ملاحظه‌ای در رشد و تکثیر سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1 در نمونه SBG0M و SBG8M در مقایسه با نمونه SBG10M ( $p < 0.001$  و  $p < 0.0001$ ) و نیز با افزایش زمان کشت از ۳ روز به ۷ روز در نمونه SBG8M و SBG10M مشاهده گردید ( $p < 0.001$  و  $p < 0.0001$ ). ضمن اینکه نتایج مذکور در راستا مطالعات پیشین مبنی بر افزایش رشد و تکثیر سلولی با افزایش زمان کشت و نیز کاهش فعالیت فسفات قلیایی در حضور مقادیر بالای منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه‌های زیست‌فعال می‌باشد [۲۹-۳۰ و ۴۳-۴۵]. همچنین خواص زیستی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی پس از ۱، ۳ و ۷ روز کشت در محیط حاوی سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1 در شکل (۶) ارائه شده است.

مبنی بر کاهش رشد و تکثیر سلولی در حضور مقدار ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه‌های زیست‌فعال، ایجاد سمیت سلولی در آن‌ها و به تبع آن ناکارآمدی شیشه‌ها به‌منظور استفاده در کاربردهای درمانی مهندسی بافت می‌باشد [۴۲-۴۵، ۴۱].

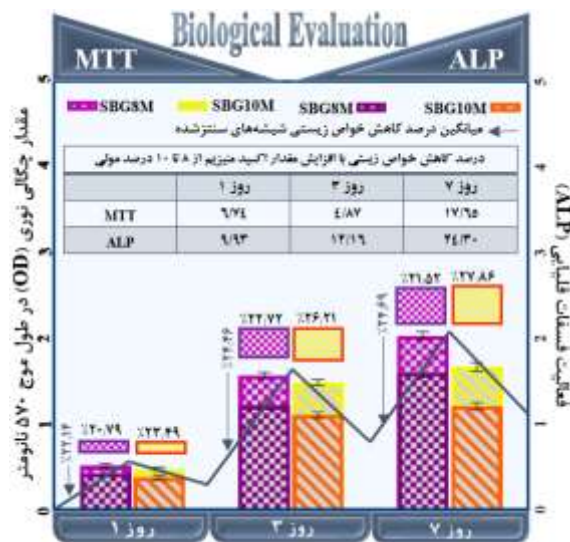
### ۳-۵- فعالیت فسفات قلیایی

ارزیابی میزان فعالیت فسفات قلیایی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی اصلاح شده با استرانسیم اکسید در حضور مقادیر ۸ و ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید، به‌وسیله بررسی میزان رشد و تکثیر سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1 در محیط کشت برون‌تنی، در بازه‌های زمانی ۱، ۳ و ۷ روز کشت بر روی سطح نمونه‌ها در شکل (۵) ارائه شده است. طبق مطالعات پیشین، فعالیت فسفات قلیایی به‌عنوان معیاری از میزان رشد، تکثیر و فعالیت سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1 است که رابطه معکوسی با میزان مرگ سلولی دارد؛ به عبارت دیگر افزایش تحریک تمایز اولیه سلول‌های استخوانی و به تبع آن کاهش مرگ سلولی، منجر به افزایش میزان فعالیت فسفات قلیایی سلول‌های استخوان‌ساز رشد یافته روی سطح شیشه‌های زیست‌فعال می‌باشد [۹-۱۲]. همچنین گزارش‌ها حاکی از افزایش فعالیت فسفات قلیایی در حضور مقادیر بهینه‌ای از عناصر استرانسیم و منیزیم بوده است [۳۴، ۳۹ و ۴۵]. با این وجود طبق نتایج حاصل از بررسی، در روز ۱ کشت، تفاوت قابل ملاحظه آماری در میزان فعالیت فسفات قلیایی در نمونه SBG8M و SBG10M با نمونه SBG0M مشاهده نشد ( $p < 0.05$  و  $p < 0.01$ ). این در حالی است که با افزایش زمان کشت از ۱ روز به ۷ روز، با وجود کاهش قابل ملاحظه‌ای در میزان فعالیت فسفات قلیایی در نمونه SBG8M و SBG10M با نمونه SBG0M ( $p < 0.01$ ) و اما میزان رشد و تکثیر سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1 در نمونه SBG8M و SBG10M نسبت به روز ۱ کشت به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت ( $p < 0.0001$ ) که نتایج مذکور در تطابق با پژوهش‌های پیشین است [۴۲-۴۱].

زیست‌فعال مورد پژوهش، میزان چگالی نوری و فعالیت فسفات قلیایی نمونه‌ها کاهش یافت و در روز ۷ کشت، نرخ کاهشی خواص زیستی نمونه‌ها، به بیشترین مقدار خود در بین روزهای مورد بررسی رسید ( $p < 0.0001$ ). ضمن اینکه به طور میانگین خواص زیستی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال مورد پژوهش با افزایش مقدار منیزیم اکسید از ۸ به ۱۰ درصد مولی در ترکیب شیمیایی آن‌ها، در روز ۱، ۳ و ۷ کشت به ترتیب ۲۲/۱۴، ۲۴/۴۶ و ۲۴/۶۹ (درصد) کاهش یافته است که این امر حاکی از کاهش رشد و تکثیر سلولی و ایجاد سمیت سلولی در حضور مقادیر بالای منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه‌های زیست‌فعال می‌باشد [۴۵].

### ۳-۶- خواص ضدباکتریایی

نتایج آزمون ضدباکتریایی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی اصلاح شده با استرانسیم اکسید در حضور مقادیر ۸ و ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید در مقابل باکتری مرسا، در شکل (۷) ارائه شده است. ضمن اینکه طبق نتایج تفاوت قابل‌ملاحظه آماری برای نمونه SBG8M و SBG10M با داشتن به ترتیب  $3/41 \pm 49/22$  و  $40/1 \pm 1/22$  (درصد) خواص ضدباکتریایی، برابر با  $p < 0.01$  محاسبه گردید. همچنین افزایش مقدار منیزیم اکسید از ۸ به ۱۰ درصد مولی در ترکیب شیمیایی شیشه‌های مورد پژوهش، منجر به کاهش ۱۸/۵۳ (درصد) خواص ضدباکتریایی در مقابل باکتری مرسا گردید. ضمن اینکه طبق مطالعات پیشین سازوکار دقیقی به‌منظور تشخیص عملکرد ضدباکتریایی شیشه‌های زیست‌فعال مشخص نشده است. با این وجود به نظر می‌رسد حضور مقادیر بهینه‌ای از اکسید عناصری نظیر کلسیم و فسفر در ترکیب شیمیایی شیشه‌های زیست‌فعال با داشتن خواص قلیایی، منجر به ایجاد خواص ضدباکتریایی در شیشه‌ها گردد [۳۵]؛ به عبارت دیگر رهایش یون‌هایی نظیر کلسیم و فسفر پس از قرارگیری شیشه‌ها در محلول شبیه‌سازی شده بدن و به تبع آن افزایش pH محلول به دلیل رهایش یون‌ها با خاصیت قلیایی، منجر به ایجاد اثر کشنده بر روی باکتری‌ها می‌شود. با این وجود طبق مطالعات پیشین، به نظر می‌رسد حضور مقادیر بالای ۸ و ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی



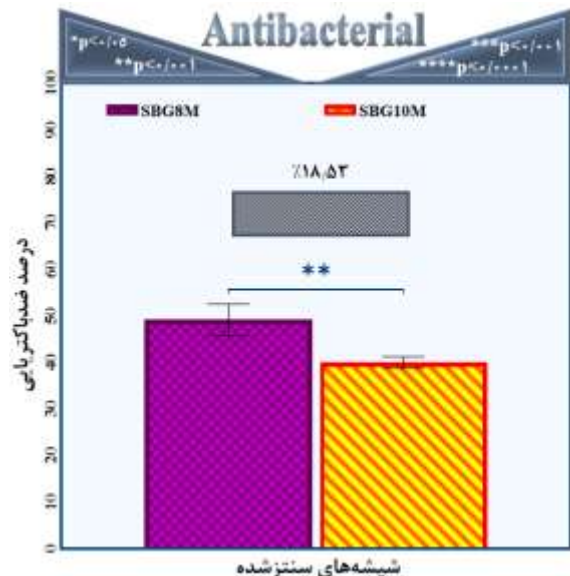
شکل (۶): نتایج رشد، تکثیر و عدم سمیت سلولی MC3T3-E1 و فعالیت فسفات قلیایی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی پس از ۱، ۳ و ۷ روز کشت در محیط حاوی سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1.

طبق نتایج حاصل از سنجش سمیت سلولی و فعالیت فسفات قلیایی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال مورد پژوهش، علاوه بر کاهش خواص زیستی مذکور در حضور مقادیر بالای منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه‌ها زیست‌فعال، کاهش قابل‌ملاحظه‌ای در رشد و تکثیر سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1 در حضور مقدار ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه زیست‌فعال نیز مشاهده گردید؛ به عبارت دیگر افزایش مقدار منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه‌های زیست‌فعال مورد پژوهش از ۸ به ۱۰ درصد مولی، منجر به کاهش ۶/۷۴، ۴/۸۷ و ۱۷/۶۵ (درصد) در میزان چگالی نوری و نیز کاهش ۹/۹۳، ۱۲/۱۶ و ۲۴/۳۰ (درصد) در فعالیت فسفات قلیایی به ترتیب در روزهای ۱، ۳ و ۷ کشت در محیط کشت برون‌تنی گردید. علاوه بر این در روز اول کشت، میزان فعالیت فسفات قلیایی نسبت به مقدار چگالی نوری برای SBG8M و SBG10M به ترتیب ۲۰/۷۹ و ۲۳/۴۹ (درصد)، در روز سوم کشت به ترتیب ۲۲/۷۲ و ۲۶/۲۱ (درصد) و در روز هفتم کشت به ترتیب ۲۱/۵۲ و ۲۷/۸۶ (درصد) کاهش یافته است. همچنین با توجه به شکل (۶) با افزایش روزهای کشت از ۱ روز به ۷ روز و افزایش مقدار منیزیم اکسید از ۸ به ۱۰ درصد مولی در نمونه‌های شیشه

کشت در محیط کشت برون تنی انجام گردید و خواص ضدباکتریایی آن‌ها در مقابل باکتری مرسا بررسی گردید. طبق نتایج حاصل از طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس تغییر در مقدار عناصر به طور میانگین قبل و بعد سنتز، برای نمونه SBG8M و SBG10M به ترتیب برابر با  $4/08 \pm 6/202$  و  $2/66 \pm 4/99$  (درصد) بود که بیانگر تشابه مقدار عناصر پیش‌بینی شده با مقدار سنتز شده است. همچنین طبق نتایج طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس، پیک‌های مشخصه هیدروکسی آپاتایت تنها در نمونه SBG8M پس از ۱۴ روز غوطه‌وری مشاهده گردید که این نتیجه توسط مشاهده بلورهای کروی هیدروکسی آپاتایت در تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نیز تأیید شد. ضمن اینکه با توجه به نتایج آزمون‌های سمیت سلولی و فعالیت فسفات قلیایی، به طور میانگین میزان رشد و تکثیر سلول‌های استخوان‌ساز MC3T3-E1 با افزایش مقدار منیزیم اکسید از ۸ به ۱۰ درصد مولی در ترکیب شیمیایی نمونه‌ها، در روز ۱، ۳ و ۷ کشت به ترتیب  $22/14$ ،  $24/46$  و  $24/69$  (درصد) کاهش یافته است که این امر حاکی از کاهش رشد و تکثیر سلولی و ایجاد سمیت سلولی در حضور مقادیر بالای منیزیم اکسید در ترکیب شیشه‌های زیست‌فعال می‌باشد ( $p < 0/0001$ )). علاوه بر این طبق نتایج آزمون ضدباکتریایی، تفاوت قابل‌ملاحظه آماری برای نمونه SBG8M و SBG10M با داشتن به ترتیب  $3/41 \pm 49/22$  و  $1/22 \pm 40/1$  (درصد) خواص ضدباکتریایی در مقابل باکتری مرسا، برابر با  $p < 0/01$  محاسبه گردید و خواص ضدباکتریایی با افزایش مقدار منیزیم اکسید از ۸ به ۱۰ درصد مولی در ترکیب شیمیایی نمونه‌های مورد پژوهش،  $18/53$  درصد کاهش یافت؛ بنابراین با توجه به نتایج آزمون‌های زیست‌فعالی برون تنی مذکور و نیز مطالعات پیشین، می‌توان نتیجه گرفت که حضور مقادیر بالای ۸ و ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید در ترکیب شیمیایی شیشه‌های زیست‌فعال پایه سیلیکاتی اصلاح شده با استرانسیم اکسید، منجر به کاهش زیست‌فعالی برون تنی و خواص ضدباکتریایی آن‌ها می‌گردد.

## ۵- مراجع

نمونه‌های شیشه زیست‌فعال مورد پژوهش، به دلیل شعاع یونی کوچک‌تر منیزیم نسبت به کلسیم و به تبع آن افزایش فشردگی و انسجام شبکه شیشه و کاهش انحلال آن، منجر به کاهش نرخ رهایش یون‌ها با خاصیت قلیایی و کاهش pH محلول و در نتیجه کاهش خواص ضدباکتریایی نمونه‌ها گردیده است [۱۷-۱۸ و ۴۳-۴۵].



شکل (۷): فعالیت ضدباکتریایی نمونه‌های شیشه زیست‌فعال پایه سیلیکاتی در مقابل باکتری مرسا.

## ۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش شیشه‌های زیست‌فعال پایه سیلیکاتی اصلاح شده با استرانسیم اکسید در حضور مقادیر بالای ۸ و ۱۰ درصد مولی منیزیم اکسید با ترکیب شیمیایی بر پایه  $60SiO_2 - (36-x)CaO - 4P_2O_5 - 5SrO - (8,10)MgO$  (درصد مولی) در شرایط برون تنی به روش سل-ژل سنتز گردیدند. همچنین خواص زیست‌فعالی برون تنی نمونه‌های آن، به وسیله مشخصه‌یابی‌های طیف‌سنجی فلورسانس پرتو ایکس، طیف‌سنجی پراش پرتو ایکس و بررسی ریزساختار هیدروکسی آپاتایت تشکیل شده بر روی سطح آن‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی پس از ۷ و ۱۴ روز غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن مورد مطالعه قرار گرفت. ضمن اینکه ارزیابی‌های زیستی سمیت سلولی و فعالیت فسفات قلیایی بر روی نمونه‌ها پس از ۱، ۳ و ۷ روز

- [12] L. Yan, H. Li & W. Xia, "Bioglass could increase cell membrane fluidity with ion products to develop its bioactivity", *Cell Prolif*, vol. 53, pp. 1–16, 2020.
- [13] S. Saha, A. Bhattacharjee, S. H. Rahaman, S. Ray, M. K. Marei, H. Jain & et al, "Prospects of antibacterial bioactive glass nanofibers for wound healing: an in vitro study", *Int J Appl Glas Sci*, vol. 11, pp.320–8, 2020.
- [14] L. L. Dai, M. L. Mei, C. H. Chu & E.C. M. Lo, "Antibacterial effect of a new bioactive glass on cariogenic bacteria", *Arch Oral Biol*, vol. 117, p. 104833, 2020.
- [15] K. Zheng, X. Dai, M. Lu, N. Hüser, N. Taccardi & A. R. Boccaccini, "Synthesis of copper-containing bioactive glass nanoparticles using a modified Stöber method for biomedical applications", *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 150, pp. 159–67, 2017.
- [16] S. Kargozar, M. Montazerian, S. Hamzehlou, H. W. Kim & F. Baino, "Mesoporous bioactive glasses (MBGs): promising platforms for antibacterial strategies Saeid", *Acta Biomater*, vol. 81, pp. 1–19, 2018.
- [17] S. Majumdar, S. K. Hira, H. Tripathi, A. S. Kumar, P. P. Manna, S. P. Singh & et al, "Synthesis and characterization of barium-doped bioactive glass with potential anti-inflammatory activity", *Ceram Int*, vol. 47, pp. 7143–58, 2021.
- [18] R. Björkenheim, E. Jämsen, E. Eriksson, P. Uppstu, L. Aalto-Setälä, L. Hupa & et al, "Sintered S53P4 bioactive glass scaffolds have anti-inflammatory properties and stimulate osteogenesis in vitro", *Eur Cells Mater*, vol. 41, pp. 15–30, 2021.
- [19] S. Kargozar, F. Baino, S. Hamzehlou, R. G. Hill & M. Mozafari, "Bioactive glasses: sprouting angiogenesis in tissue engineering", *Trends Biotechnol*, vol. 36, pp. 430–44, 2018.
- [20] V. Miguez-Pacheco, L. L. Hench & A. R. Boccaccini, "Bioactive glasses beyond bone and teeth: emerging applications in contact with soft tissues", *Acta Biomater*, vol. 13, pp. 1–15, 2015.
- [21] ا. بی‌غم، س.ع. حسن‌زاده تبریزی، م. رفیعی‌نیا و ح. صالحی، "تولید و مشخصه‌یابی منیزیم سیلیکات مزوحفره جهت کاربردهای رهایش کنترل شده دارو"، فرآیندهای نوین در مهندسی مواد، دوره ۱۲، شماره ۱، صفحه ۸۲–۷۴، ۱۳۹۷.
- [1] Q. Wu, L. Hu, R Yan & et al. "Strontium-incorporated bioceramic scaffolds for enhanced osteoporosis bone regeneration", *Bone Res*, vol. 10, p. 55, 2022.
- [2] E. Rezabeigi, P. M. Wood-Adams & R. A. Drew, "Synthesis of 45S5 Bioglass® via a straightforward organic, nitrate-free sol-gel process", *Materials Science and Engineering: C*, vol. 40, pp. 248-252, 2014.
- [3] L. L. Hench & J. R. Jones, "Bioactive Glasses: Frontiers and Challenges", *Bioeng. Biotechnol*, Vol. 3, pp. 1-12, 2015.
- [4] D. S. Brauer, "Bioactive Glasses—Structure and Properties", *Angew. Chemi – Int. ed*, vol. 54, pp. 4160-4181, 2015.
- [5] M. Ruslan, Ch. Kang, G. Shen & F. Fang, "Study on Surface Roughness Generated by Micro-Blasting on Co-Cr-Mo Bio-Implant", *Wear*, vol. 428–429, pp. 111–26, 2019.
- [6] Q. Nawaz, M. A. Ur Rehman, J. A. Roether, L. Yufei, A. Grünewald, R. Detsch & A. R. Boccaccini, "Bioactive glass based scaffolds incorporating gelatin/manganese doped mesoporous bioactive glass nanoparticle coating", *Ceramics International*, vol. 45, pp. 14608-14613. 2019.
- [7] R. G. Ribas, V. M. Schatkoski, T. L. Do Amaral Montanheiro, B. R. C. De Menezes, C. Stegemann, D. M. G. Leite & G. P. Thim, "Current Advances in Bone Tissue Engineering Concerning Ceramic and Bioglass Scaffolds: A Review", *Ceramics International*, vol. 45, pp. 21051–61, 2019.
- [8] م. حاجیان، م. محمودی و ر. ایمانی، "ساخت و مشخصه‌یابی هیدروژل پلی‌وینیل‌الکل / آلوراباروش ریخته‌گری حلال جهت کاربرد به‌عنوان زخم‌پوش"، فرآیندهای نوین در مهندسی مواد، دوره ۱۱، شماره ۳، صفحه ۴۶–۳۶، ۱۳۹۶.
- [9] A. R. Boccaccini, D. S. Brauer & L. Hupa, Editors. "Bioactive glasses (Smart Materials Series)", Cambridge: Royal Society of Chemistry, vol. 3, pp. P001–530, 2016.
- [10] J. R. Jones, "Review of bioactive glass: from hench to hybrids", *Acta Biomater*, vol. 9, pp. 4457–86, 2013.
- [11] J. J. Kim, A. El-Fiqi & H. W. Kim, "Synergetic cues of bioactive nanoparticles and nanofibrous structure in bone scaffolds to stimulate osteogenesis and angiogenesis", *ACS Appl Mater Inter- faces*, vol. 9, pp. 2059–73, 2017.

- and osteogenic properties of composites based on polymer and silicate or borosilicate bioactive glass", *Mater Sci Eng C*, vol. 107, p. 110340, 2020.
- [32] R. Moonesi Rad, D. Atila, Z. Evis, D. Keskin & A. Tezcaner, "Development of a novel functionally graded membrane containing boron-modified bioactive glass nanoparticles for guided bone regeneration", *Tissue Eng Regen Med*, vol. 13, pp. 1331-45, 2019.
- [33] L. Xia, W. Ma, Y. Zhou, Z. Gui, A. Yao, D. Wang & et al. "Stimulatory effects of boron containing bioactive glass on osteogenesis and angiogenesis of polycaprolactone: in vitro study", *Biomed Res Int*, vol. 2019, p. 8961409, 2019.
- [34] S. S. Prasad, S. Datta, T. Adarsh, P. Diwan, K. Annapurna, B. Kundu & et al. "Effect of boron oxide addition on structural, thermal, in vitro bioactivity and antibacterial properties of bioactive glasses in the base S53P4 composition", *Non Cryst Solids*, vol. 498, pp. 204-15, 2018.
- [35] S. Gomes, C. Vichery, S. Descamps, H. Martinez, A. Kaur, A. Jacobs, J. M. Nedelec & G. Renaudin, "Cu-doping of calcium phosphate bioceramics: From mechanism to the control of cytotoxicity", *Acta Biomater*, vol. 65, pp. 462-474, 2018.
- [36] S. Chen, M. Michálek, D. Galusková, M. Michálková, P. Švancárek, A. Talimian & et al. "Multi-targeted B and Co co-doped 45S5 bioactive glasses with angiogenic potential for bone regeneration", *Mater Sci Eng C*, vol. 112, p. 110909, 2020.
- [37] L. A. Haro Durand, G. E. Vargas, N. M. Romero, R. Vera-Mesones, J. M. Porto-López, A. R. Boccaccini & et al. "Angiogenic effects of ionic dissolution products released from a boron-doped 45S5 bioactive glass", *Mater Chem B*, vol. 3, pp. 1142-8, 2015.
- [38] E. O'Neill, G. Awale, L. Daneshmandi, O. Umerah & K. W. H. Lo, "The roles of ions on bone regeneration", *Drug Disco Today*, vol. 23, pp. 879-90, 2018.
- [39] Z. Goudarzi, A. Ijadi, A. Bakhtiari, S. Eskandarinezhad, N. Azizabadi & M. Asgari Jazi, "Sr-doped bioactive glasses for biological applications", *Composites and Compounds*, vol. 2, pp. 105-109, 2020.
- [40] J. M. Tainioa, D. A. AvilaSalazar, A. Nommeots-Nomma, Roilandc, Bureau, D. R. Neuville, D. S. Brauer & J. Masseraa, "Structure and in vitro dissolution of Mg and Sr containing borosilicate bioactive glasses for bone tissue
- [22] F. Baino, E. Fiume, M. Miola, F. Leone, B. Onida & E. Verné, "Fe-doped bioactive glass-derived scaffolds produced by sol-gel foaming", *Materials Letters*, vol. 235, pp. 207-211, 2019.
- [23] N. Pajares-Chamorro, J. Shook, N. D. Hammer & X. Chatzistavrou, "Resurrection of antibiotics that methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resists by silver-doped bioactive glass-ceramic microparticles", *Acta Biomaterialia*, vol. 96, pp. 537-546, 2019.
- [۲۴] م. خورسندقانی، ع. صادقی اول شهر، س. نوحاسته، ا. م. مولوی و ح. امینی مشهدی، "بررسی خصوصیات حرارتی کامپوزیت پلی الکتیک اسید با ذرات شیشه زیست‌فعال 45S5 و هیدروکسی‌آپاتیت (HA) به‌منظور استفاده در پیچ‌های تداخلی قابل جذب"، فرآیندهای نوین در مهندسی مواد، دوره ۱۱، شماره ۴، صفحه ۶۵-۵۶، ۱۳۹۶.
- [25] L. L. Hench, R. J. Splinter, W. C. Allen & T. K. Greenlee, "Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials", *Biomed Mater Res*, vol. 5, pp. 117-41, 1971.
- [26] F. Sharifianjazi, N. Parvin & M. Tahriri, "Synthesis and characteristics of sol-gel bioactive SiO<sub>2</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-CaO-Ag<sub>2</sub>O glasses". *Non-Crystalline Solids*, vol. 476, pp. 108-113, 2017.
- [27] F. Sharifianjazi, N. Parvin & M. Tahriri, "Formation of apatite nano-needles on novel gel derived SiO<sub>2</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-CaO-SrO-Ag<sub>2</sub>O bioactive glasses". *Ceramics International*, vol. 43, pp. 15214-15220, 2017.
- [۲۸] ع. شافعی و س. شیبانی، "تأثیر حضور آب، بنزیل الکل و درصد CNT بر روی خواص نانو کامپوزیت CNT-TiO<sub>2</sub> تولید شده به روش سل-ژل درجا"، فرآیندهای نوین در مهندسی مواد، دوره ۱۲، شماره ۴، صفحه ۱۵۹-۱۵۰، ۱۳۹۷.
- [29] A. Pal, P. Nasker, S. Paul, A. R. Chowdhury, A. Sinha & M. Das, "Strontium Doped Hydroxyapatite from Mercenaria Clam Shells: Synthesis, Mechanical and Bioactivity Study", *mechanical behavior of biomedical materials*, vol. 90, pp. 328-36, 2019.
- [30] T. Mehrabi, A. S. Mesgar & Z. Mohammadi, "Bioactive Glasses: A Promising Therapeutic Ion Release Strategy for Enhancing Wound Healing. *ACS Biomater*". *Sci. Eng.* vol. 6, pp. 5399-5430, 2020.
- [31] A. Houaoui, I. Lyyra, R. Agniel, E. Pauthe, J. Massera & M. Boissière, "Dissolution, bioactivity

[50] A. Saboori, M. Rabiee, F. Moztarzadeh, M. Sheikhi, M. Tahriri & M. Karimi, "Sol-Gel Preparation, Characterisation and in Vitro Bioactivity of Mg Containing Bioactive Glass", *Advances in Applied Ceramics: Structural, Functional and Bioceramics*, vol. 108, p. 155, 2009.

## ۶- پی‌نوشت

- [1] Osteoporosis
- [2] Regenerative medicine
- [3] Bone grafting
- [4] Implant
- [5] Biocompatibility
- [6] Tissue engineering
- [7] Bioactive glasses
- [8] Ossification
- [9] Bone conduction
- [10] Bioactivity
- [11] Simulated body fluid (SBF)
- [12] In vitro
- [13] Hydroxyapatite (HA)
- [14] Angiogenesis
- [15] Anti-bacterial
- [16] Anti-inflammatory
- [17] Regeneration
- [18] Drug delivery
- [19] Wound healing
- [20] Hench et al
- [21] Melting method
- [22] Sol-gel method
- [23] Specific surface area (SA)
- [24] Immunomodulation
- [25] Tainio et al
- [26] X-ray Fluorescence Spectroscopy (XRF)
- [27] X-ray diffraction (XRD)
- [28] Scanning electron microscope (SEM)
- [29] 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay
- [30] Alkaline phosphatase (ALP)
- [31] Methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA)
- [32] Kokubo
- [33] Hydrolysis
- [34] Natural aging
- [35] Artificial aging
- [36] Stabilization
- [37] Optical Density (OD)

engineering", *Non-Crystalline Solids*, vol. 533, p. 119893, 2020.

[41] D. Bellucci, A. Sola, R. Salvatori, A. Anesi, Lu. Chiarini & V. Cannillo, "Role of magnesium oxide and strontium oxide as modifiers in silicate-based bioactive glasses: Effects on thermal behaviour, mechanical properties and in-vitro bioactivity", *Materials Science and Engineering: C*, vol. 72, pp. 566-575, 2017.

[42] Ö. Demir-Oğuz, A. R. Boccaccini & D. Loca, "Injectable bone cements: What benefits the combination of calcium phosphates and bioactive glasses could bring?", *Bioactive Materials*, vol. 19, pp. 217-236, 2023.

[43] M. Jiménez, C. Abradelo, J. San Román & L. Rojo, "Bibliographic review on the state of the art of strontium and zinc based regenerative therapies. Recent developments and clinical applications", *Materials Chemistry B*, vol. 7, pp. 1974-1985, 2019.

[44] F. Sharifianjazi, N. Parvin & M. R. Tahriri, "Formation of Apatite Nano-Needles on Novel Gel Derived SiO<sub>2</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-CaO-SrO-Ag<sub>2</sub>O Bioactive Glasses", *Ceramics International*, vol. 43, pp. 15214-20, 2017.

[45] R. L. Doiphode, N. Murty Svs, N. Prabhu & B. P. Kashyap, "Effects of Caliber Rolling on Microstructure and Room Temperature Tensile Properties of Mg-3Al-1Zn Alloy", *Magnesium and Alloys*, vol. 1, pp. 169-75, 2013.

[46] T. Kokubo & H. Takadama, "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity", *Biomaterials*, vol. 27, pp. 2907-2915, 2006.

[47] J. Ma, C. Z. Chen, D. G. Wang, X. G. Meng & J. Z. Shi, "Influence of the sintering temperature on the structural feature and bioactivity of sol-gel derived SiO<sub>2</sub>-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bioglass", *Ceramics International*, vol. 36, pp. 1911-1916, 2010.

[48] A. Balamurugan, G. Balossier, J. Michel, S. Kannan, H. Benhayoune, A. H. S. Rebelo & J. M. F. Ferreira, "Sol-gel derived SiO<sub>2</sub>-CaO-MgO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bioglass system—preparation and in vitro characterization", *Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater*, vol. 83, pp. 546-553, 2007.

[49] J. Ma, C. Z. Chen, D. G. Wang, Y. Jiao & J. Z. Shi, "Effect of magnesia on the degradability and bioactivity of sol-gel derived SiO<sub>2</sub>-CaO-MgO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> system glasses", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 81.1, pp. 87-95, 2010.