

## ساخت و مقایسه داربست‌های هیدروکسی آپاتیت طبیعی و مصنوعی ساخته شده به روش فشار ایزواستاتیک سرد

فاطمه حیدری\*<sup>۱</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۱۴، ش.ص: ۱۲۴-۱۱۳، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۱۷)

### چکیده

هیدروکسی آپاتیت با ترکیب  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$  به دلیل خاصیت زیست سازگاری و زیست فعالی که دارد، به صورت گسترده در کاربردهای درمان استخوان و دندان و به عنوان بافت سخت مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این پژوهش، هیدروکسی آپاتیت به دو روش طبیعی (استخراج از استخوان قلم گاو) و سل-ژل تهیه شد. پودر هیدروکسی آپاتیت استخراج شده طبیعی ابعادی در حدود ۵ میکرومتر و پودر هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به روش سل-ژل ابعادی در حدود زیر ۱۰۰ نانومتر داشت. داربست‌ها به روش فشار ایزواستاتیک سرد ساخته شدند و در دمای  $130^\circ\text{C}$  تحت عملیات تف جوشی قرار گرفتند. به منظور بررسی ویژگی‌های هیدروکسی آپاتیت تولید شده و تعیین مورفولوژی آن، از آنالیز تفرق اشعه ایکس (XRD)، طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) کمک گرفته شد. تست‌های فشار روی داربست‌های استاندارد ساخته شده انجام گرفت و چگالی آن‌ها اندازه‌گیری شد. استحکام فشاری و چگالی نمونه ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به روش سل-ژل بیشتر از نمونه ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت طبیعی بود. همچنین به منظور بررسی زیست سازگاری داربست‌ها کشت سلولی با سلول‌های بنیادی استخوان انسان انجام شد. به این صورت که داربست‌ها به مدت ۱۴ روز در محیط کشت قرار گرفتند و بر اساس نتایج به دست آمده، تکثیر سلول‌ها روی داربست‌های ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت ساخته شده به روش سل-ژل بیش‌تر از داربست‌های ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت طبیعی بود.

**واژه‌های کلیدی:** فشار ایزواستاتیک سرد، هیدروکسی آپاتیت، سل-ژل، تست فشار، چگالی.

<sup>۱</sup> - استادیار، گروه مهندسی مواد، دانشکده مهندسی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، کهگیلویه و بویر احمد، ایران.

\*- نویسنده مسئول مقاله: f.heidari@yu.ac.ir

## پیشگفتار

کاشتنی‌های فلزی به‌طور گسترده به منظور معالجه استخوان به کار می‌روند؛ اما برخی مشکلات خاص از قبیل تنش‌های ناشی از بهبود استخوان، تورم مزمن به‌دلیل خوردگی، خستگی و سست شدن کاشتنی با استفاده از آن-ها به وجود خواهد آمد. در نتیجه اغلب عمل جراحی ثانویه برای بیرون آوردن کاشتنی فلزی بعد از بهبود استخوان لازم است که این عمل برای بیمار، سخت و هزینه بر است [۱]. با توجه به اینکه مهندسی بافت، علم طراحی و تولید بافت-های جدید برای ترمیم اندام‌های آسیب دیده و جایگزینی قسمت‌های از دست رفته به علت عوامل مختلف می-باشد [۲]. همچنین در بین بافت‌های بدن استخوان پتانسیل بالایی برای تولید مجدد دارد، از این رو استخوان یک نمونه مناسب برای مهندسی بافت به شمار می‌رود. در شکستگی‌ها و عیوب بزرگ روند درمان که توسط بدن انجام می‌شود، کارساز نبوده و پیوند استخوان لازم می‌شود [۲]. بنابراین، امروزه استفاده از آپاتیت‌ها مانند هیدروکسی آپاتیت زیست فعال به گونه گسترده در کاربرد 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 می‌دهد [۳].

در حقیقت، مواد مطلوب در استفاده‌های اورتوپدی مواد زیست-تقلیدی زیست تخریب پذیر هستند که به‌توانند تشکیل استخوان جدید توسط سلول‌های استئوجنیک در بافت آسیب دیده را ترغیب کنند. به طور ایده آل، این مواد باید به صورت داربست‌های متخلخل باشند که مکانی برای پیشرفت و توسعه بافت را فراهم آورند و همچنین به‌توانند یک محافظ مکانیکی باشند. مواد زیستی مناسب برای بافت‌های استخوانی سخت شامل زیست-سرامیک‌هایی از قبیل هیدروکسی آپاتیت و یا تری کلسیم فسفات و پلیمرهایی چون پلی هیدروکسیل اسید، پلی لاکتیک اسید، پلی گلایکولیک اسید یا کوپلیمر آن‌ها پلی لاکتیک اسید-گلایکولیک اسید می‌باشد [۴]. دو راه برای ساخت هیدروکسی آپاتیت وجود دارد به وسیله فرآیندهای شیمیایی یا استخراج از منابع طبیعی شامل استخوان قلم گاو، پوسته تخم مرغ، مرجان، استخوان ماهی و دیگر حیوانات. هیدروکسی آپاتیت استخراج شده از مواد طبیعی

با نوع مصنوعی آن فرق دارد که شامل گروه‌های کربنات، سترات و معمولاً کمی منیزیم، پتاسیم، استرانسیم و سدیم می‌باشد. نسبت کلسیم به فسفر در این مواد معمولاً بیش‌تر از ترکیب استوکیومتری آن در حالت مصنوعی است [۵].

داربست‌های سرامیکی فوق متخلخل می‌توانند به عنوان یک الگو برای رشد استخوان در سه جهت عمل کنند چرا که سلول‌های اجدادی استخوان می‌توانند ۴۰۰ میکرومتر حفره را در طول دو هفته پر کنند [۶]. از جمله کاربردهای کلینیکی هیدروکسی آپاتیت شامل تعمیر عیوب استخوان، افزایش رشد استخوان، همچنین پوشش‌های ایمپلنت‌های فلزی مورد استفاده در بدن می‌باشد. لازم به ذکر است، خواص مکانیکی ضعیف، از قبیل تردی، چقرمگی کم، مقاومت به خستگی پایین و .. از جمله فاکتورهای محدود کننده استفاده از این ماده هستند. همچنین عدم توانایی در متخلخل کردن جهت رشد سلول‌های استخوانی، محققین را به این فکر انداخت تا خواص مکانیکی و بیولوژیکی آن را به کمک تغییر مورفولوژی و کامپوزیت سازی با مواد مختلف ارتقا دهند.

از این رو بیش‌تر مطالعات در زمینه بهبود خواص مکانیکی هیدروکسی آپاتیت انجام شده است. به این منظور هم مواد مختلف از جمله انواع پلیمر و سرامیک‌های مختلف به آن افزوده شده و هم روش‌های مختلف ساخت و تفجوشی آن مورد بررسی قرار گرفته است [۷].

در این مطالعه هدف مقایسه خواص مکانیکی داربست-های ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به روش سل-ژل با داربست‌های ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت طبیعی می‌باشد. یکی از روش‌های شکل‌دهی به پودر هیدروکسی آپاتیت، استفاده از روش فشار ایزواستاتیک (Cold Isostatic Pressing) می‌باشد. با این روش فشار یکسانی در همه جهات به پودر اعمال می‌گردد که منجر به شکل‌دهی ثانویه و متراکم شدن پودر به شکل دلخواه می-گردد. مرحله تف جوشی بعد از شکل‌دهی هیدروکسی آپاتیت در دمای ۱۳۰۰ °C انجام شده است. بنابراین خواص مکانیکی و زیستی این ماده با به کارگیری این روش ساخت تحت تاثیر قرار خواهد گرفت [۵].

ایکس تک طول موج ۱/۵۴۰۶ آنگستروم به نمونه تابیده شد. نمودار کیفی رسم شده زوایای بین ۱۵ تا ۹۰ درجه را پوشش داد.

میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM): توپوگرافی و زبری سطح و بررسی اندازه ذرات پودر تولید شده با میکروسکوپ نیروی اتمی مدل Alpha 300A WITec Germany مورد بررسی قرار گرفت. حالت دستگاه غیر تماسی در نظر گرفته شد و تصاویر دو بعدی و سه بعدی در ناحیه اندازه گیری ۱\*۱ میکرومتر مربع ارائه شد. توپوگرافی حاصل با تصویر SEM مقایسه شد. همچنین بررسی تخلخل نمونه-ها با SEM مورد بررسی قرار گرفت.

با استفاده از طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) گروه‌های فسفاتی و هیدروکسیل موجود در هیدروکسی آپاتیت مطالعه شد. دستگاه مورد استفاده مدل Shimadzu 8300 بود. طول موج بین ۴۰۰ تا ۴۰۰۰  $\text{cm}^{-1}$  را پوشش داد. به منظور ثبت طیف IR هر نمونه ۳ میلی گرم از پودر با ۳۰۰ میلی گرم KBr مخلوط شده و فشرده می‌شود تا به صورت یک قرص با ضخامت کم برای انجام آنالیز مورد استفاده قرار گیرد.

زیست سازگاری نمونه با سلول‌های بنیادی استخوان انسان به مدت ۱۴ روز در محیط کشت مورد بررسی قرار گرفت. انجام کشت سلولی روی نمونه‌ها با استفاده از PrestoBlue cell انجام شد. شمارش سلول‌های بنیادی مزنکیمال (Mesenchymal stem cells) در نور فلورسنس انجام شد. نمونه‌های غوطه ور شده در محیط بدون سلول به عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شدند. درصد سلول‌های زنده مانده به مدت ۱۴ روز با استفاده از معادله دانسیته اپتیکی متوسط نمونه در ۱۴ روز غوطه وری تقسیم بر دانسیته اپتیکی نمونه کنترل به دست آمد.

### خواص مکانیکی

خواص مکانیکی نمونه‌ها با تست فشار مورد بررسی قرار گرفت. تست فشار با دستگاه تست تک محوره مدل zwick, material prufung, 1446e60 انجام شد. نیروی دستگاه ۱۰ کیلو نیوتن و سرعت حرکت فک دستگاه ۰/۵ میلیمتر بر دقیقه بود.

### مواد و روش‌ها

#### سنتز هیدروکسی آپاتیت به روش سل-ژل

نانوهیدروکسی آپاتیت به روش رسوب شیمی تر ساخته شد. در این روش  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (0.1 M) و  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  (0.06 M) به طور جداگانه در آب دیونیزه شده حل شدند. و pH هر دو محلول با افزودن محلول آمونیا به ۱۱ رسانده شد. سپس محلول  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  قطره قطره به مدت یک ساعت به محلول  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  افزوده شد. در نتیجه افزودن این محلول، سوسپانسیون سفید رنگی با رسوب ژلی شکل حاصل شد. پس از آن به سوسپانسیون ۲۴ ساعت در دمای اتاق استراحت داده شد. رسوب‌ها فیلتر شدند و چندین بار با آب مقطر شسته شدند. سپس در دمای  $80^\circ\text{C}$  خشک شده و در دمای  $800^\circ\text{C}$  به مدت ۲ ساعت کلسینه شدند [۸].

#### استخراج هیدروکسی آپاتیت از استخوان قلم گاو

ابتدا استخوان‌های قلم گاو شسته شدند و در هوای آزاد سوزانده شدند. سپس خاکستر بجا مانده به صورت پودر درآمده و در کوره در دمای  $800^\circ\text{C}$  به مدت ۲ ساعت حرارت داده شد. در نهایت پودر سفید رنگی تولید شده در آسیاب سیاره‌ای آسیاب شد [۹].

#### ساخت نمونه به روش فشار ایزواستاتیک سرد

پودرهای سنتز شده با استفاده از روش فشار ایزواستاتیک سرد تحت فشار ۲۵۰ مگاپاسکال به شکل استوانه-هایی به قطر ۱۰ میلیمتر و ارتفاع ۱۰ میلیمتر به منظور تست فشار ساخته شدند. این استوانه‌ها در دمای  $1300^\circ\text{C}$  به مدت ۲/۵ ساعت و با نرخ گرمایش  $5^\circ\text{C}/\text{min}$  تحت تف جوشی قرار گرفتند.

#### ویژگی‌های نمونه ساخته شده

آنالیز تفرق اشعه ایکس (XRD): به منظور بررسی ساختاری ترکیب هیدروکسی آپاتیت سنتز شده از آنالیز تفرق اشعه ایکس استفاده شد (Bruker-AXS-D8-Discover). این سیستم با ولتاژ و جریان ۴۰ کیلو ولت و ۴۰ میلی آمپر تنظیم شد. اشعه

نمودار شکل ۲-a مربوط به داربست ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت طبیعی و نمودار شکل ۲-b مربوط به داربست ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به روش سل-ژل می باشد. الگوی XRD مربوط به شکل ۲ نیز با شکل ۱ منطبق بوده و موید تشکیل هیدروکسی آپاتیت می باشد. در نمودار شکل ۲ نسبت به شکل ۱ پیک جدیدی مشاهده نمی شود و این تطابق نشان دهنده آن است که در هر دو نمونه، در این دما هیدروکسی آپاتیت به تری کلسیم فسفات تبدیل نشده است.

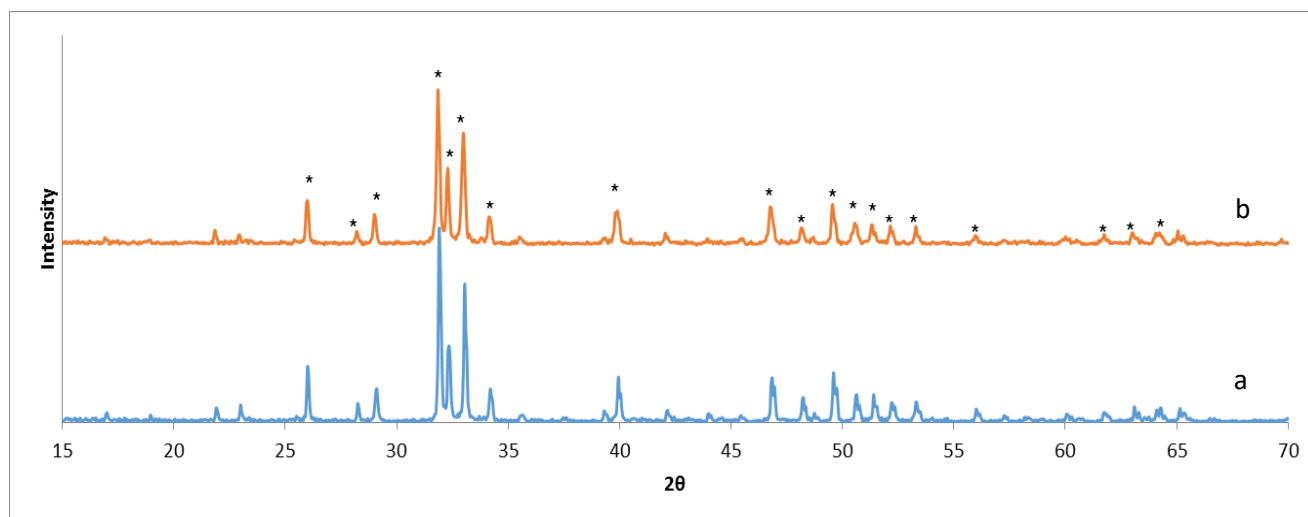
کاهش شدت الگوی تفرق اشعه ایکس در نمونه های فشرده شده و تف جوشی شده (شکل ۲) نسبت به نمونه پودری (شکل ۱) می تواند به دلیل رشد دانه ها در نمونه های ساخته شده در دمای تف جوشی برابر با  $1300^{\circ}\text{C}$  باشد [۱۱ و ۹].

## نتایج و بحث

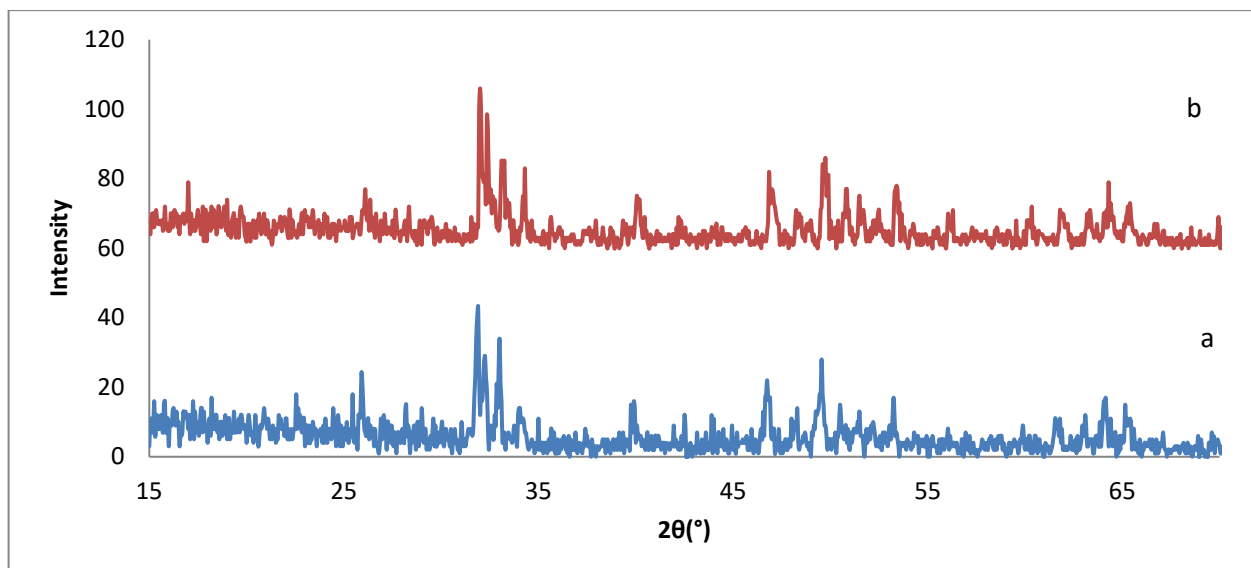
### نتایج مربوط به آنالیز تفرق اشعه ایکس

نمودار شکل های ۱-a و ۱-b به ترتیب نتایج XRD مربوط به هیدروکسی آپاتیت ساخته شده به روش استخراج از استخوان قلم گاو و سل ژل را نشان می دهد. با توجه به اینکه پیک های اصلی هیدروکسی آپاتیت مطابق با شماره مرجع (JCPDS.No.09-0432) در زوایای تفرق  $26/172$ ،  $46/185$ ،  $48/25$ ،  $50/65$ ،  $51/4$ ،  $52/35$ ،  $63/1$  و  $53/38$  دیده می شود [۲ و ۳ و ۱۰]، هر دو الگوی حاصل تطابق خوبی با هیدروکسی آپاتیت دارند. بنابراین نمودار هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به روش سل-ژل و هیدروکسی آپاتیت طبیعی بر هم منطبق است.

شکل ۲ نمودار XRD مربوط به داربست های ساخته شده به روش فشار ایزواستاتیک سرد را نشان می دهد.



شکل ۱- (a) نمودار آنالیز XRD مربوط به پودر هیدروکسی آپاتیت استخراج شده از استخوان قلم گاو، (b) نمودار آنالیز XRD مربوط به پودر هیدروکسی آپاتیت تولید شده به روش سل-ژل



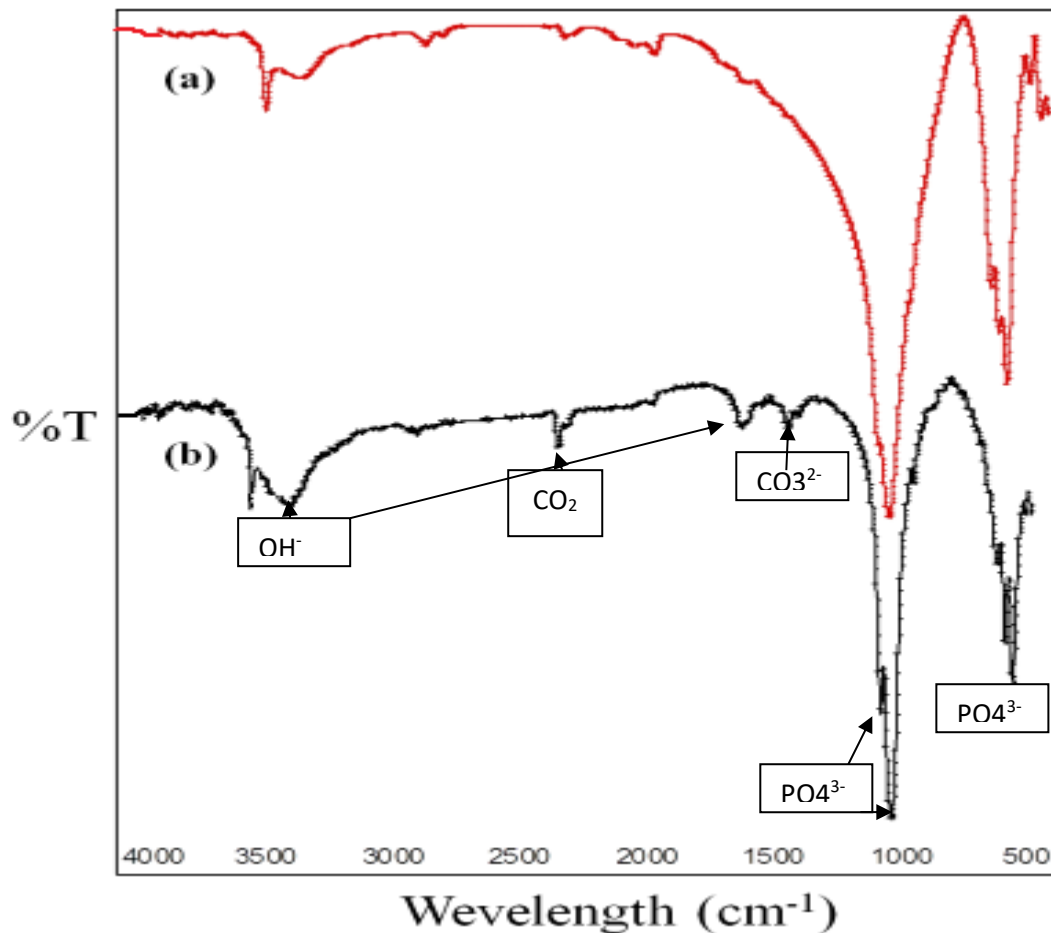
شکل ۲- نمودار آنالیز XRD مربوط به داربست های هیدروکسی آپاتیت تولید شده به روش فشار ایزواستاتیک سرد. (a) پودر هیدروکسی آپاتیت نمونه تولیدی به روش طبیعی استخراج شده است، (b) پودر هیدروکسی آپاتیت نمونه تولیدی به روش سل-ژل تولید شده است

#### تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نمونه هیدروکسی آپاتیت تف جوشی شده

شکل‌های ۴-a و ۴-b تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مربوط به داربست ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت سنتزی و طبیعی تف جوشی شده در دمای ۱۳۰۰ درجه سانتی گراد را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در تصاویر مشخص است، سطح مقطع شکست نمونه ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به روش سل-ژل تخلخل کمتری داشته و اندازه این تخلخل‌ها نیز نسبت به نمونه ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت طبیعی کمتر است. این تفاوت را می‌توان به ریز بودن اندازه دانه در نمونه اول نسبت به نمونه دوم نسبت داد. چرا که ریزتر بودن دانه، باعث می‌شود مرز دانه بیشتری وجود داشته باشد که خود نیرو محرکه برای حذف تخلخل در تف جوشی به شمار می‌رود [۱۲]. شکل ۴-c تصویر SEM سطح داربست ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت سنتزی را نشان می‌دهد. این تصویر پستی و بلندی سطح را که در ابعاد زیر ۵ میکرومتر است نشان می‌دهد.

#### نتایج مربوط به آنالیز تبدیل فوریه مادون قرمز

شکل‌های ۳-a و ۳-b نمودارهای FTIR مربوط به هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به روش سل-ژل و هیدروکسی آپاتیت طبیعی را نشان می‌دهد. پیک‌های موجود در محدوده طول موج ۵۰۰ و ۱۰۰۰  $\text{cm}^{-1}$  مربوط به گروه فسفات است [۱۱] که این دو محدوده طول موج در نمودار شکل ۳ وجود دارد. پیک‌های موجود در محدوده طول موج بیش‌تر از ۳۰۰۰ و ۱۶۸۰  $\text{cm}^{-1}$  گروه هیدروکسیل را نشان می‌دهد [۹ و ۱۱] که در هر دو نمودار شکل ۳ مشاهده می‌شوند. تنها تفاوت دو نمودار در پیک‌های موجود در طول موج‌های ۱۴۱۵ و ۱۴۶۰  $\text{cm}^{-1}$  مربوط به گروه کربنات می‌باشد که در نمودار ۳-a قابل رویت است [۱۱]. همچنین پیک موجود در طول موج ۲۳۶۵ مربوط به دی اکسید کربن آزاد است و در نمودار ۳-a مشاهده می‌شود. یکی از متداول‌ترین ناخالصی‌های موجود در کنار هیدروکسی آپاتیت سنتز شده یا طبیعی، گروه کربناتی می‌باشد. این گروه کربناتی می‌تواند یا به همان صورت کربنات باقی بماند و یا اینکه به دی اکسید کربن آزاد تبدیل شود [۱۴-۱۵].



شکل ۳- نمودار FTIR مربوط به (a) هیدروکسی آپاتیت ساخته شده به روش سل-ژل، (b) هیدروکسی آپاتیت طبیعی استخراج شده از استخوان قلم گاو

### تصاویر توپوگرافی سطحی نمونه ساخته شده به روش

#### AFM

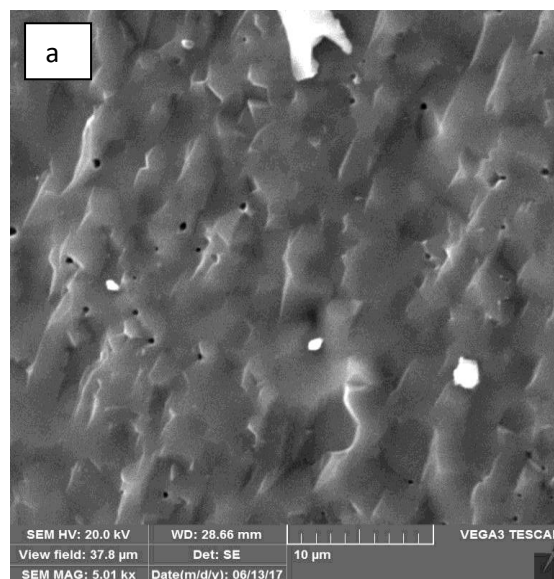
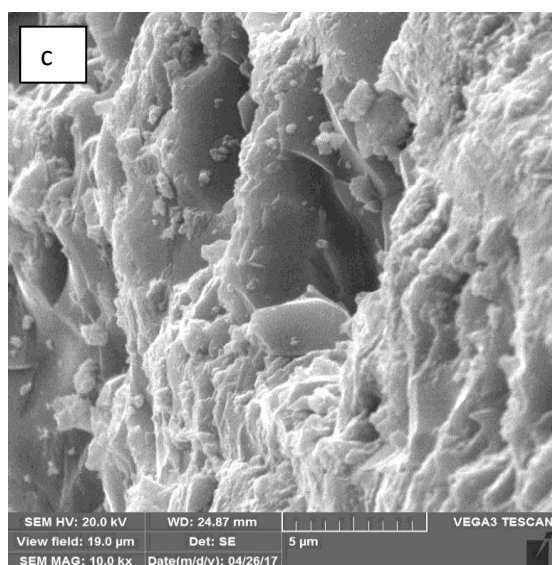
که رسوب لایه آپاتیت از محلول SBF روی سطح کاشتنی دی میتول گلیسرو تری فوسفاتیدیلکولین (DPPC)/کلاژن زبری معادل با ۱۳۴ نانومتر می‌دهد [۱۳] و هیدروکسی آپاتیت استخراج شده از دندان گوسفند و پوشش داده شده روی سطح ایمپلنت تیتانیومی زبری معادل با ۱۲ نانومتر دارد [۱۷]. تصویر AFM شکل ۵ با تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح نمونه (شکل ۳) مطابقت دارد.

شکل ۵-۳ تصویر AFM مربوط به پودر هیدروکسی آپاتیت تولید شده به روش سل-ژل می‌باشد. مقدار ۰/۱ گرم از این پودر در ۲۰ میلی لیتر اتانول توسط دستگاه آلتراسونیک پراکنده شد و روی لام دستگاه ریخته شد تا در دمای محیط اتانول تبخیر شده و پودر پراکنده شده روی سطح باقی بماند. سپس با AFM اندازه دانه پودر مورد

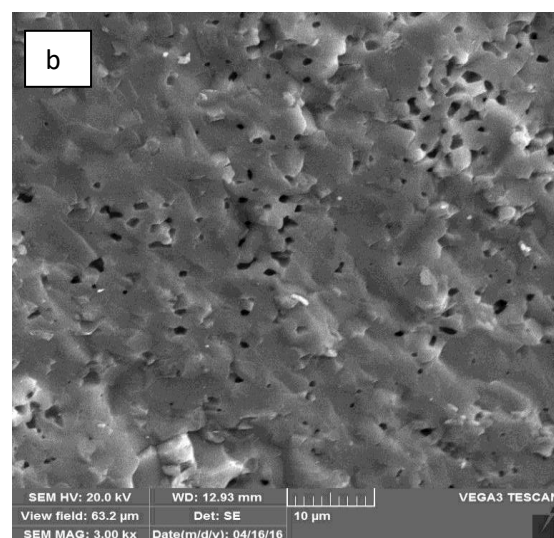
با توجه به اینکه زبری سطح نقش موثری در چسبندگی سلول‌ها به ویژه سلول‌های استخوانی به سطح کاشتنی دارد، در این پژوهش توپوگرافی سطح نمونه‌های ساخته شده نیز به کمک AFM مورد بررسی قرار گرفت. شایان ذکر است افزایش زبری سطح، باعث ترشوندگی بهتر سطح کاشتنی شده و در نتیجه چسبندگی سلول‌های استخوانی را افزایش می‌دهد [۱۳]. زبری سطح نمونه‌های هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به روش سل-ژل و ساخته شده به روش فشار ایزواستاتیک سرد در شکل‌های ۵-a و ۵-b نشان داده شده است. با توجه به نمودارهای AFM میانگین زبری سطح نمونه ۵۶۸/۵۰ نانومتر است. این میزان زبری معادل با زبری پوشش هیدروکسی آپاتیت تولید شده به روش هیدروترمال روی سطح کاشتنی‌های تیتانیومی می‌باشد [۱۶]، در حالی

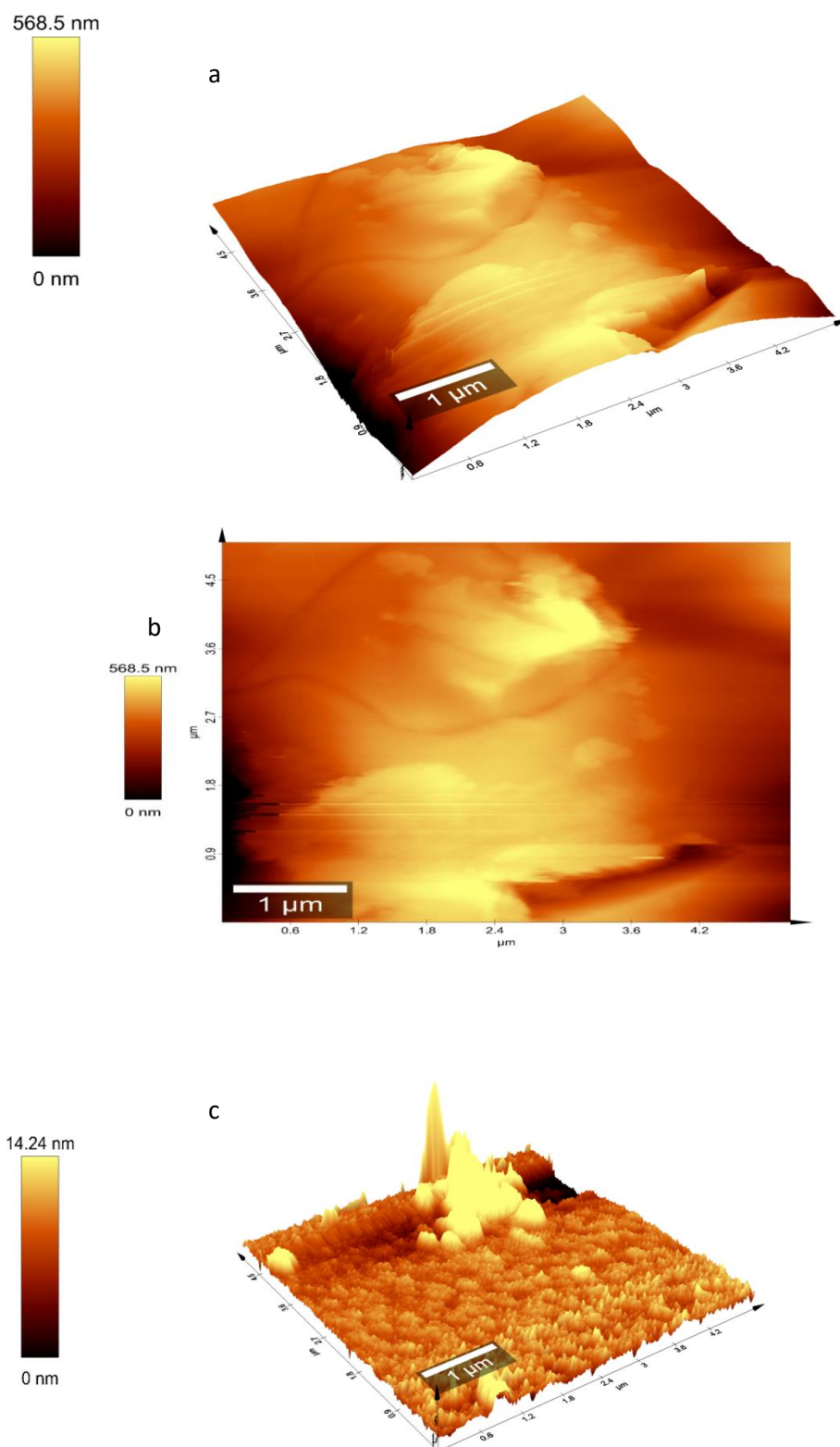
اتمی قادر به جدا کردن ذرات آگلومره پودر از یکدیگر نمی- باشد. به هر صورت آنچه مسلم است این است که این محدوده از اندازه ذرات از محدوده اندازه ذرات مربوط به پودر هیدروکسی آپاتیت مستخرج از استخوان قلم گاو بسیار کوچکتر است. حیدری و همکاران این محدوده اندازه ذره را حدود ۵ میکرومتر گزارش کردند [۹].

بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده از آنالیز AFM نشان داد که اندازه ذرات در محدوده ۹۰ تا ۱۱۰ نانومتر قرار دارد. لازم به ذکر است که این اندازه ذرات با احتساب آگلومره- هایی است که تشکیل شدن آنها اجتناب ناپذیر است؛ چرا که به هر حال در حین خشک شدن پودر روی لام، ذرات ممکن است به هم بچسبند و سوزن میکروسکوپ نیروی



شکل ۴- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی  
 (a) سطح مقطع شکست داربست ساخته شده از  
 هیدروکسی آپاتیت سنتزی، (b) سطح مقطع شکست  
 داربست ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت طبیعی، (c)  
 سطح داربست ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت  
 سنتزی





شکل ۵- تصویر میکروسکوپ نیروی اتمی (a) تصویر دو بعدی مربوط به نمونه هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به روش سل-ژل و ساخته شده به روش فشار ایزواستاتیک سرد با دمای تف جوشی  $1300^{\circ}\text{C}$  (b) تصویر سه بعدی مربوط به نمونه هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به روش سل-ژل و ساخته شده به روش فشار ایزواستاتیک سرد با دمای تف جوشی  $1300^{\circ}\text{C}$  (c) تصویر دوبعدی از ذرات پودر هیدروکسی آپاتیت تولید شده به روش سل-ژل



## بررسی خواص مکانیکی داربست هیدروکسی آپاتیت خالص

با اندازه‌گیری دقیق وزن نمونه‌ها و تعیین حجم آن‌ها دانسیته نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. میانگین اندازه دانسیته نمونه‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. طبق نتایج به-دست آمده، مقدار دانسیته نسبت به هیدروکسی آپاتیت طبیعی افزایش یافته است. با بهبود فرایند تف جوشی و در نتیجه ریزتر شدن پودر هیدروکسی آپاتیت سنتز شده نسبت به نوع طبیعی، این رفتار قابل توجه است. همچنین استحکام فشاری نمونه هیدروکسی آپاتیت سنتز شده بسیار بیش‌تر از حالت طبیعی آن است. شریف‌السلام و همکارانش [۱۸] استحکام شکست هیدروکسی آپاتیت تهیه شده از کمپانی سانچی که به روش فریز درآینگ تهیه شده بود را برابر با ۰/۰۵ مگاپاسگال گزارش کردند که نسبت به نتایجی که در این پژوهش برای داربست‌های ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به روش سل-ژل به دست آمد، بسیار کم‌تر است.

همان‌گونه که در این پژوهش گزارش شد، هیدروکسی آپاتیت سنتزی به روش سل ژل خواص مکانیکی بسیار بهتری نسبت به هیدروکسی آپاتیت طبیعی از خود نشان داد. بنابراین روش سنتز هیدروکسی آپاتیت یکی از پارامتر-های تاثیرگذار در خواص مکانیکی آن به حساب می‌آید. به عنایتی جزئی و همکاران با استفاده از روش رسوب گذاری درجا در دمای پایین، پودر هیدروکسی آپاتیت را سنتز

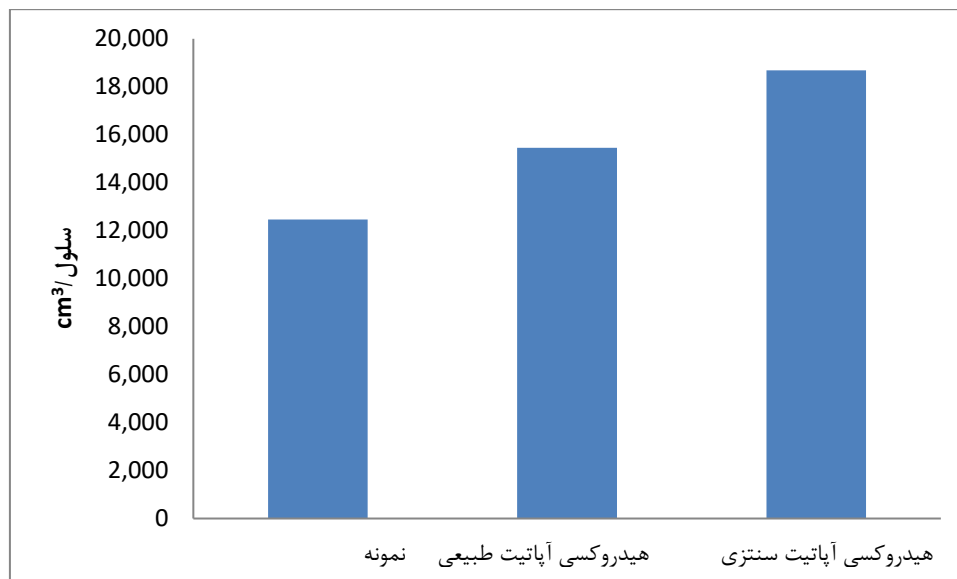
کردند و سپس با استفاده از فشار ایزواستاتیک گرم داربست‌های مربوطه را تهیه نموده و استحکام فشاری معادل با ۴۱۰ مگاپاسگال برای هیدروکسی آپاتیت خالص گزارش کردند که این استحکام با افزودن تیتانیا افزایش یافت [۱۹]. روش ساخت داربست نیز اهمیت بسزایی در تعیین خواص مکانیک مواد دارد؛ اما باید توجه کرد که روش فشار ایزواستاتیک گرم روشی گران و با استهلاک بالاست. بنابراین در صنعتی شدن روش پرس ایزواستاتیک سرد برتری دارد.

### نتایج کشت سلولی داربست‌ها

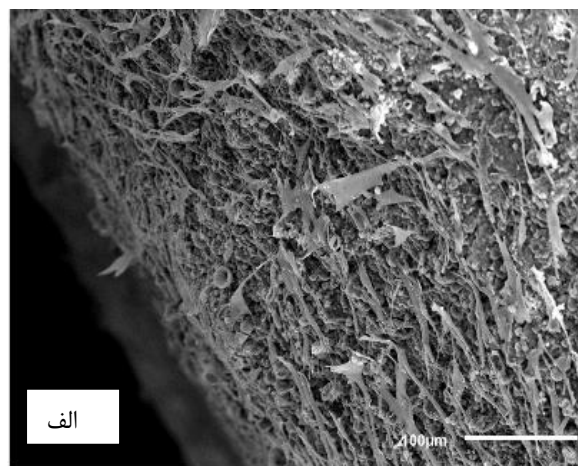
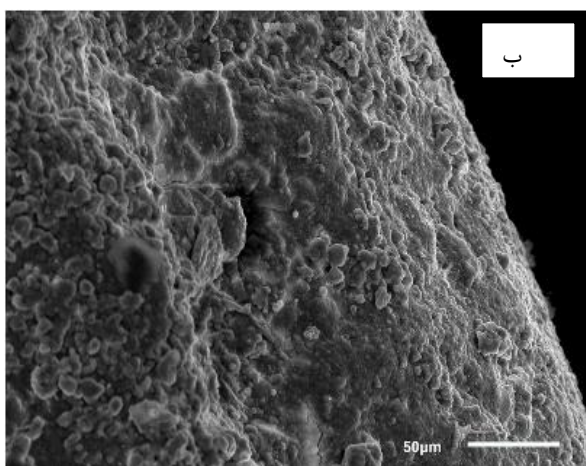
نمودار شکل ۶ نتایج تکثیر سلول‌ها روی داربست‌های هیدروکسی آپاتیت طبیعی و سنتزی را به مدت ۱۴ روز غوطه‌وری در محیط کشت نشان می‌دهد. تعداد سلول‌های تکثیر شده روی داربست هیدروکسی آپاتیت طبیعی ۱۵۴۶۱ و روی داربست هیدروکسی آپاتیت سنتزی به روش سل-ژل ۱۸۶۸۱ سلول بر واحد سانتی متر مکعب بود. بنابراین نرخ تکثیر سلولی روی هیدروکسی آپاتیت طبیعی کم‌تر از هیدروکسی آپاتیت سنتزی بود. شکل ۷ نیز تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح نمونه‌های تحت کشت قرار گرفته را نشان می‌دهد.

جدول ۱- نتایج مربوط به استحکام فشاری و چگالی نمونه هیدروکسی آپاتیت تهیه شده به روش سل-ژل و فشرده شده به روش فشار ایزواستاتیک سرد

استحکام فشاری (MPa)	دانسیته (g/cm <sup>3</sup> )	دمای تف جوشی (°C)	روش ساخت	پودر
۵۵/۶	۲/۹۷	۱۳۰۰	فشار ایزواستاتیک سرد	هیدروکسی آپاتیت سنتزی به روش سل-ژل
۰/۳۵ [۱۱]	۲/۸۷ [۱۱]	۱۳۰۰	فشار ایزواستاتیک سرد	هیدروکسی آپاتیت استخراج شده از استخوان قلم گاو



شکل ۶- تکثیر سلول‌های بنیادی استخوان انسان روی داربست‌های ساخته شده در مقایسه با نمونه کنترل



شکل ۷- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح نمونه های تحت کشت سلولی (a) داربست ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت سنتزی ، (b) داربست ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت طبیعی

سلولی زیست سازگاری هر دو نمونه را تایید کرد. نرخ تکثیر سلول‌ها روی هیدروکسی آپاتیت سنتزی بیش تر بود.

#### تصدیق

این پژوهش بخشی از طرح تحقیقاتی تحت عنوان "ساخت داربست نانو هیدروکسی آپاتیت به منظور کاربرد در مهندسی بافت استخوان" بود که در دانشگاه یاسوج و با گرنت شماره Gryu-89111604 مربوط به دکتر فاطمه حیدری از گروه مهندسی مواد به انجام رسید.

#### نتیجه گیری

پودر هیدروکسی آپاتیت به دو روش سل-ژل و استخراج طبیعی از استخوان قلم گاو تهیه شد. ابعاد پودر سنتز شده در حد نانومتر و ابعاد پودر طبیعی در حد زیر میکرون بود. با استفاده از روش فشار ایزواستاتیک سرد نمونه‌هایی از این دو نوع پودر ساخته شد و این نمونه‌ها در دمای ۱۳۰۰ تف جوشی شد. استحکام فشاری و دانسیته نمونه ساخته شده با هیدروکسی آپاتیت سنتز شده بیش تر از نمونه ساخته شده با پودر طبیعی آن بود. نتایج کشت

**References:**

- ۱- مولایی، میرصالحی، "ساخت و بررسی پوشش نانوکامپوزیتی ۴ جزئی کیتوسان-شیشه زیست فعال 45s5-هیدروکسی آپاتیت-نانوتیوب هالوساید تولید شده به روش رسوب الکتروفوریتیکی بر زیر لایه تیتانیوم"، نانومواد، جلد ۸، شماره ۲۷، ص ۱۸۹-۱۳۹۵، ۱۸۱.
- ۲- فروغی، کرباسی، ابراهیمی، سعادت، "ارزیابی خواص فیزیکی داربست کامپوزیت نانوکریستال هیدروکسی آپاتیت/ پلی هیدروکسی بوتیرات برای کاربرد در مهندسی بافت استخوان"، فرایندهای نوین در مهندسی مواد، سال ششم، شماره دوم، صفحات ۶۰-۵۱، ۱۳۹۱.
- ۳- مظفری، جوهری، فتحی، "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"، مواد نوین، جلد ۵، شماره ۴، صفحات ۱۳۱-۱۴۲، ۱۳۹۴.
- 4- F. Zhao, Y. Yin, W. Lu, Ch. Leong, W. Zhang, J. Zhang, M. Zhang, K. Yao, *Biomaterials*, 23, 3227-3234, 2002.
- 5- S. Sakka, J. Bouaziz, FB. yed, *Advances in biomaterials science and biomedical applications in Biomedicine. Intech, Rijeka*, 23-50, 2013.
- 6- H. Ghomi, M.H. Fathi, H. Edris, *Materials Research Bulletin*, 47, 3523-3532, 2012.
- 7- M. Mazrooei Sebdani, M.H. Fathi, *Ceramics International*, 38, 1325-1330, 2012.
- 8- N. Monmaturapoj. *Journal of Metals, Materials and Minerals*, 18, 15-20, 2008.
- 9- F. Heidari, M. Razavi, M. E. Bahrololoom, R. Bazargan-Lari, D. Vashae, H. Kotturi, L. Tayebi *Materials Science and Engineering C*, 65, 338-344, 2016.
- ۱۰- فرنوش، فرایندهای نوین در مهندسی مواد، سال دهم، شماره اول، صفحات ۸۹-۷۱، ۱۳۹۵.
- 11- F. Heidari, M. Razavi, M. Ghaedi, M. Forooghi, M. Tahriri, L. Tayebi, *Journal of Alloys and Compounds*, 693, 1150-1156, 2017.
- ۱۲- پایدار، طراح، تمجیدی، فرایندهای نوین در مهندسی مواد، سال نهم، شماره اول، صفحات ۲۷-۱۷، ۱۳۹۴.
- 13- G. C.M. Ruiz, M. A.E. Cruz, A. N. Faria, D. C. Zancanela, P. Ciancaglini, A. P. Ramos, *Materials Science and Engineering C*, 77, 102-110, 2017.
- 14- S. Ramesh, A. Natasha, C. Tan, L. Bang, C. Ching, H. Chandran, *Direct conversion of eggshell to hydroxyapatite ceramic by a sintering method, Ceramic international*. 42, 7824-7829, 2016.
- 15- M. Markovic, B.O. Fowler, M.S. Tung, *Preparation and comprehensive characterization of a calcium hydroxyapatite reference material, J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.* 109, 553, 2004.
- 16- Z. Geng, R Wang, X. Zhuo, Zh Li, Y Huang, L. Ma, Zh. Cui, Sh Zhu, Y. Liang, Y Liu, H Bao, X Li, Q Huo, Zh. Liu, X. Yang, *Materials Science and Engineering C*, 71, 852-861, 2017.
- 17- L. Duta, N. Mihailescu, A.C. Popescu, C.R. Luculescu, I.N. Mihailescu, G. C. etin, O. Gunduz, F.N. Oktar, A.C. Popa, A. Kuncser, C. Besleaga, G.E. Stan, *Applied Surface Science*, 413, 129-139, 2017.
- 18- M.S. Islam, M. Todo, *Materials Letters*, 173, 231-234, 2016.
- ۱۹- عنایتی جزئی، صولتی هشتجین، نعمتی، امینیان و فرزادی، بررسی خواص مکانیکی نانوکامپوزیت هیدروکسی

آپاتیت/تیتانیا سنتز شده به روش رسوب گذاری درجا در  
دمای پایین، مواد پیشرفته در مهندسی، سال ۳۲، شماره  
اول، ۲۴-۹، ۱۳۹۲.