

بررسی تاثیر ترکیب بر رفتار زیست فعالی نانو ذرات شیشه زیست فعال در سیستم $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$

حامد ادريس^{۱*}، محمد حسين فتحی^۲ و حسين ادريس^۳

^۱ کارشناسی ارشد، موسسه آموزش عالی غیر انتفاعی فرزنانگان

^۲ استاد، دانشکده مهندسی مواد دانشگاه صنعتی اصفهان و موسسه آموزش عالی غیر انتفاعی فرزنانگان

^۳ استاد، دانشکده مهندسی مواد دانشگاه صنعتی اصفهان و موسسه آموزش عالی غیر انتفاعی فرزنانگان

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۸۹/۲/۷، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۱/۱۰/۴، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۱/۱۰/۲۰

چکیده در این تحقیق سه ترکیب مختلف به روش سل-ژل تهیه شد. از آزمون‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، فلورسانس اشعه ایکس (XRF) و روش پراش پرتو ایکس (XRD) به منظور مشخصه یابی اولیه نانو ذرات تهیه شده بهره گرفته شد. ارزیابی زیست فعالی نانو ذرات تهیه شده در مایع شبیه سازی شده بدن (SBF) انجام شد. بدین منظور نانو ذرات در دمای ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد به مدت سی روز در SBF غوطه ور گردید. پس از آن، از روش‌های طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)، میکروسکوپ الکترونی روبشی و روش پراش پرتو ایکس برای بررسی تشکیل لایه آپاتیت و تعیین زیست‌فعالیت نانو ذرات تهیه شده، استفاده شد.

واژه‌های کلیدی پودر شیشه زیست فعال، سل-ژل، زیست فعالی، نانو ذرات.

Investigation on the effect of chemical composition of the nano particles bioactive glass on the bioactivity behavior in the $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ system

Ha. Edris^{*1}, M. H. Fathi^{1,2}, H. Edris^{1,2}

¹ Department of Materials Engineering, Farzanegan Institute, Isfahan, Iran

² Department of Materials Engineering, Isfahan University of technology, Isfahan, Iran

Abstract Bioactive glasses with three different compositions (45S, 49S and 58S) were prepared via sol-gel technique. Scanning electron microscopy (SEM), Transition electron microscopy (TEM), X-ray fluorescent (XRF) and X-ray diffraction (XRD) were utilized to study characterization synthesized bioactive glass nanoparticles. Evaluation of bioactivity prepared bioactive glass was performing in the simulated body fluid (SBF). In order to nano particles were immersed in SBF at 37 °C for 30 days. Then Fourier transform infrared (FTIR), Scanning electron microscopy (SEM) and X-ray diffraction (XRD) were used to recognize and confirm the formation of apatite layer and bioactivity of prepared nano particles bioactive glass.

Keywords Bioactive glass particles, Sol-gel, Bioactivity, Nano particles.

*عهده‌دار مکاتبات

نشانی: موسسه آموزش عالی غیر انتفاعی فرزنانگان

تلفن: ۰۹۱۳۲۲۹۳۰۴۱، دورنگار: ۰۳۱۱۳۹۳۲۱۴۷، پیام نگار: ha_edris@yahoo.com

۱- مقدمه

بسیاری از بیومواد توانایی پیوند با بافت سخت را دارند اما توانایی تشکیل پیوند با بافت‌های نرم در آنها به اثبات نرسیده است [۵-۱]. شیشه‌های زیست‌فعال پایه سیلیکاتی تنها گروهی از بیومواد می‌باشند که توانایی پیوند شیمیایی با بافت‌های نرم و سخت را دارند [۶]. تشکیل سریع لایه هیدروکسی آپاتیت (بخش معدنی استخوان) بر روی شیشه‌های زیست‌فعال پس از قرارگیری در مایع شبیه سازی شده بدن اساس ایجاد پیوند شیمیایی قوی این نوع کاشتنی با بافت مجاور خود می‌باشد [۷].

شیشه‌های زیست‌فعال هیچ تاثیر سمی به صورت موضعی یا سیستماتیک در بدن ایجاد نمی‌کند و تا به حال هیچ اثر التهاب‌آور یا پاسخی خارج از بدن در نتیجه استفاده از شیشه‌های زیست‌فعال مشاهده نگردیده است [۸]. در میان همه مواد زیست‌فعال، بهترین رفتار زیست‌فعالی متعلق به ترکیباتی از شیشه‌های زیست‌فعال است که در زمان کوتاهتری با تشکیل لایه هیدروکسی آپاتیت بر روی سطح خود با بافت مجاور پیوند برقرار کنند [۹].

ایجاد ساختار نانو در شیشه‌های زیست‌فعال علاوه بر بهبود خواص فیزیکی و مکانیکی، خاصیت زیست‌فعالی این شیشه‌ها را نیز بهبود می‌بخشد که این امری ضروری به منظور استفاده از آنها به عنوان کاشتنی در بدن می‌باشد. فرآیند سل-ژل روشی ایده‌آل برای به دست آوردن ترکیبات شیشه زیست‌فعال و کنترل ساختار آنها می‌باشد [۱۰]. با استفاده از کنترل ساختار و اندازه ذرات در حد نانومتر در بیوسرامیک‌های زیست‌فعال می‌توان به زیست‌فعالی مطلوب‌تر و خواص فیزیکی و مکانیکی مطلوب‌تری دست پیدا کرد [۱۱، ۱۲]. در این تحقیق سه نوع نانو پودر شیشه زیستی با ترکیب‌های ۴۵S، ۴۹S و ۵۸S تولید و مناسب‌ترین ترکیب از نظر زیست‌فعالی جهت کاربردهای کلینیکی معرفی شد. با انتخاب ترکیب شیمیایی مناسب از نانو پودرهای شیشه زیست‌فعال می‌توان از آنها در کاربردهایی همچون بازسازی گوش میانی، بازسازی فک و صورت و ترمیم عیوب دندانی استفاده نمود.

۲- روش آزمایش

۱-۲- مواد اولیه

مواد اولیه به کار برده شده در این پژوهش شامل تترا اتیل اورتوسیلیکات (TEOS)، تترا اتیل فسفات (TEP) و کلسیم نیترات (CaN) به عنوان پیش سازهای سیلیس، فسفات و اکسید کلسیم به ترتیب بود. همچنین از اتانول و آب دی یونیزه شده به عنوان حلال و از اسیدکلریدریک به عنوان کاتالیزور استفاده گردید. جدول ۱ نشان‌های تجاری و خلوص مواد به کار برده شده را نشان می‌دهد.

جدول ۱. مواد اولیه مورد استفاده در پژوهش.

ماده	نشان تجاری
تترا اتیل اورتو سیلیکات ($\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$)	Aldrich 99.999%-33859
تری اتیل فسفات ($(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_3\text{PO}$)	Aldrich >99.8%-538728
کلسیم نیترات ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	Aldrich >99.99%-470880
اتانول ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)	Merck
هیدروکلریک اسید (HCl)، ۲ نرمال	Merck
آب دیوار تقطیر (بدون یون)	----

۲-۲- آماده سازی

فرآیند سل-ژل جهت تولید نانو پودر شیشه‌های زیست‌فعال مورد نظر در این تحقیق، به کار برده شد. در ابتدا، آب دی یونیزه و اسیدکلریدریک که به عنوان کاتالیزور جهت کاهش زمان ژله ای شدن و افزایش سرعت واکنش‌ها به کار برده شده بود به مدت ۱۰ دقیقه بر روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. سپس تترا اتیل اورتوسیلیکات (TEOS) و اتانول که در ظرف دیگر آماده گردیده بود به محلول قبلی اضافه گردید. از اتانول به عنوان توزیع کننده استفاده گردید تا از تشکیل ذرات کلونیدی در طول ژل شدن جلوگیری گردد. پس از ۲۰ دقیقه تترا اتیل فسفات (TEP) اضافه گردید و عملیات مخلوط کردن به مدت ۳۰ دقیقه به اجرا در آمد و در نهایت کلسیم نیترات اضافه گردید و به مدت ۱ ساعت جهت تکمیل شدن هیدرولیز فرصت داده شد. به منظور آماده سازی ژل، سل حاصل به یک ظرف تفلونی منتقل گردید. سپس عملیات پیرسازی در گرمکن با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۴

سوئیس استفاده شد.

۲-۳-۲- ارزیابی زیست‌فعالی

به منظور ارزیابی زیست‌فعالی سه ترکیب تولیدی، نانوپودرهای به دست آمده در محلول شبیه سازی شده بدن (SBF) که ترکیبی مشابه با پلاسما انسانی داشت و طبق استاندارد بررسی فعالیت زیستی [۱۳] تهیه گردیده بود، به مدت سی روز در دمای ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد که کنترل آن به کمک حمام بن‌ماری (Eyela Thermistor Tempet T-80) صورت می‌گرفت، غوطه‌ور شد. پس از سی روز غوطه‌وری پودرهای تولیدی با سه ترکیب مورد نظر، تحت آزمون طیف سنجی مادون قرمز (FTIR) (Bomem, MB 100 System) جهت بررسی تشکیل لایه آپاتیت قرار گرفت.

در ادامه به منظور مقایسه رفتار زیست‌فعالی، نمونه‌های تولیدی مورد نظر پس از غوطه‌وری نیز تحت آزمون‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و پراش پرتو ایکس (XRD) قرار گرفت.

همچنین به منظور بررسی بهتر، محلول شبیه سازی شده بدن (SBF) مربوط به هر سه نمونه تولیدی در زمانهای متفاوت با استفاده از دستگاه pH متر مورد آزمون قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مشخصه یابی شیشه‌های زیست‌فعال تولیدی

تصاویر گرفته شده با میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) در شکل ۱ حصول ذرات تولیدی در اندازه‌های زیر ۱۰۰ نانومتر را تأیید می‌کند که این امر لازمه به دست آوردن زیست‌فعالی بالاتر می‌باشد.

نتایج آزمون فلورسانس پرتو ایکس (XRF) نشان می‌دهد (جدول ۲) که ترکیب شیمیایی سه نوع شیشه زیست‌فعال تولیدی با درصد خطای قابل قبولی با نمونه‌های استاندارد [۱۴] مطابقت دارد.

ساعت انجام گرفت. در ادامه ژل تولیدی به منظور حذف آب و اتانول به صورت تعادلی، در حضور بخار آب در دمای ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک گردید و در نهایت عملیات کلسینه کردن در دمای مختلف ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت بر روی پودرهای تولیدی انجام شد. در ادامه مقداری از سه نوع پودر تولیدی به منظور مشخصه یابی اولیه تحت آزمون‌های آزمایشگاهی متفاوت قرار گرفت.

۲-۳-۳- آزمون‌های آزمایشگاهی

آزمون‌های آزمایشگاهی در دو بخش مشتمل بر مشخصه‌یابی ساختاری و ارزیابی زیست‌فعالی سه ترکیب شیشه زیستی تولیدی انجام شد.

۲-۳-۱- مشخصه یابی شیشه‌های زیست‌فعال تولیدی

الف- آنالیز عنصری

در ابتدا جهت اطمینان از تطابق ترکیب شیمیایی ذرات تولیدی با سه ترکیب انتخابی و مورد نظر، تحت آزمون فلورسانس پرتو ایکس (XRF) (S4Pioneer System) واقع در آزمایشگاه مرکزی دانشکده فیزیک دانشگاه اصفهان قرار گرفت.

ب- مطالعه ساختاری

با استفاده از روش پراش پرتو ایکس (XRD)، (Philips Xpert-MPD System) پودرهای خام اولیه سه ترکیب شیشه زیست‌فعال تولیدی قبل و پس از عملیات کلسینه کردن در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد، به منظور بررسی ساختار شیشه ای و آمورف مورد آزمایش قرار گرفت.

همچنین از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، (Philips XL30) برای مطالعه ریزساختار و مورفولوژی سطح سه ترکیب تولیدی استفاده شد.

ج- ارزیابی ذرات پودر به کمک میکروسکوپ الکترونی عبوری

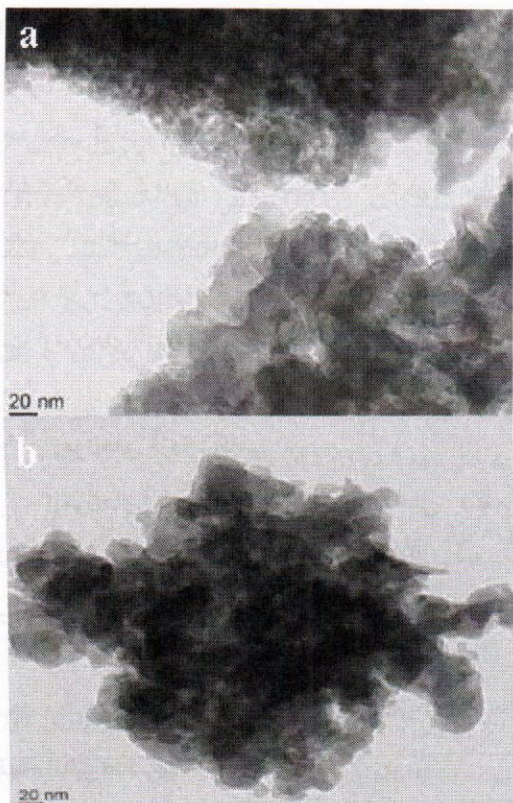
به منظور بررسی اندازه و شکل ذرات پودرهای تولیدی، از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (Philips CM200) واقع در آزمایشگاه مرکزی میکروسکوپ الکترونی کشور

جدول ۲. ترکیب شیمیایی سه نوع شیشه زیست‌فعال تولیدی که با استفاده از فلورسانس پرتو ایکس تعیین شده است.

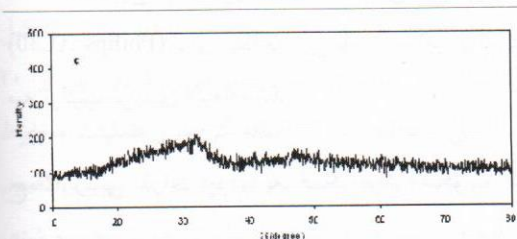
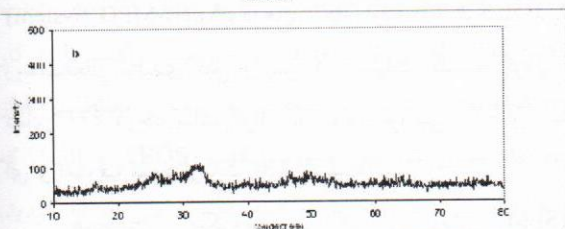
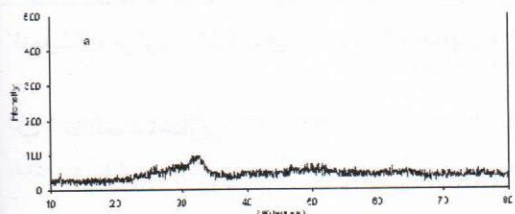
ترکیب ۴۵S	نمونه تهیه شده	استاندارد هنج [۱۴]
SiO ₂	۴۲/۳۰	۴۵
CaO	۵۲/۵۸	۴۹
P ₂ O ₅	۵/۰۰	۶
جمع	۹۹/۸۸	۱۰۰

ترکیب ۴۹S	نمونه تهیه شده	استاندارد هنج [۱۴]
SiO ₂	۴۹/۵۹	۴۹
CaO	۴۱/۵۵	۴۲
P ₂ O ₅	۸/۷۶	۹
جمع	۹۹/۹۰	۱۰۰

ترکیب ۵۸S	نمونه تهیه شده	استاندارد هنج [۱۴]
SiO ₂	۵۷/۷۲	۵۸
CaO	۳۵/۰۹	۳۳
P ₂ O ₅	۷/۱	۹
جمع	۹۹/۹۱	۱۰۰

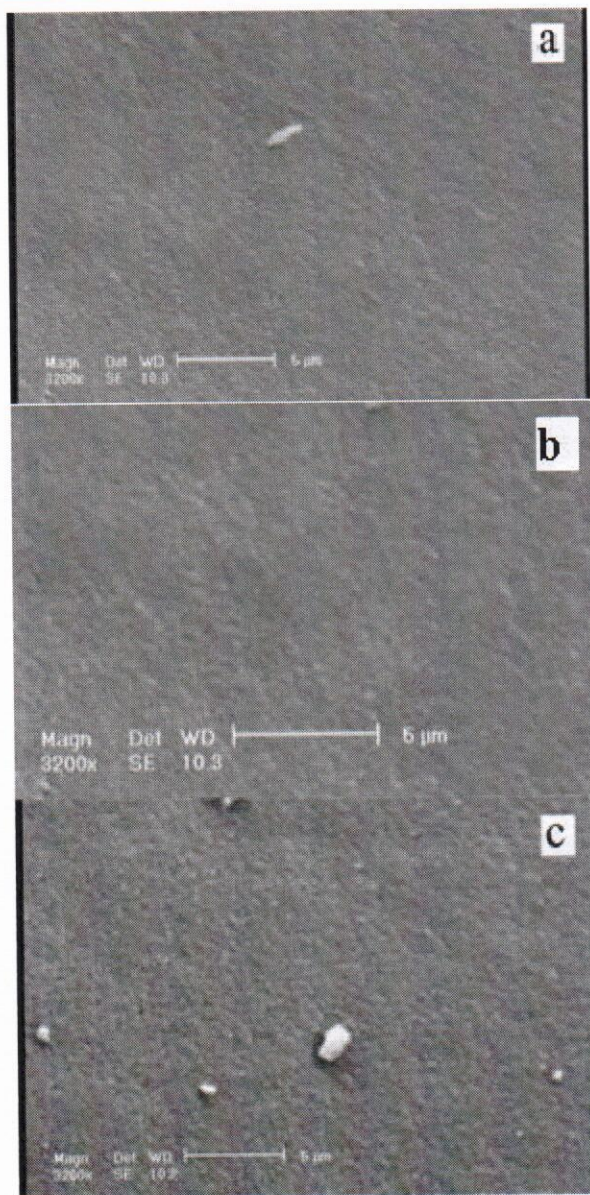


شکل ۱. تصاویر تهیه شده توسط TEM از نانو ذرات تولیدی کلسینه شده در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد.



شکل ۲. الگوهای پراش پرتو ایکس سه نوع شیشه زیست‌فعال تولیدی کلسینه شده در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد (a) ۴۵S (b) ۴۹S (c) ۵۸S. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌گردد هر سه نوع

ارزیابی ساختار فازی با استفاده از روش پراش پرتو ایکس (XRD) بر روی ذرات خام اولیه سه نوع شیشه زیست‌فعال تولیدی کلسینه شده در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد، به عمل آمد. شکل ۲ الگوهای پراش پرتو ایکس سه نمونه متفاوت را نشان می‌دهد.



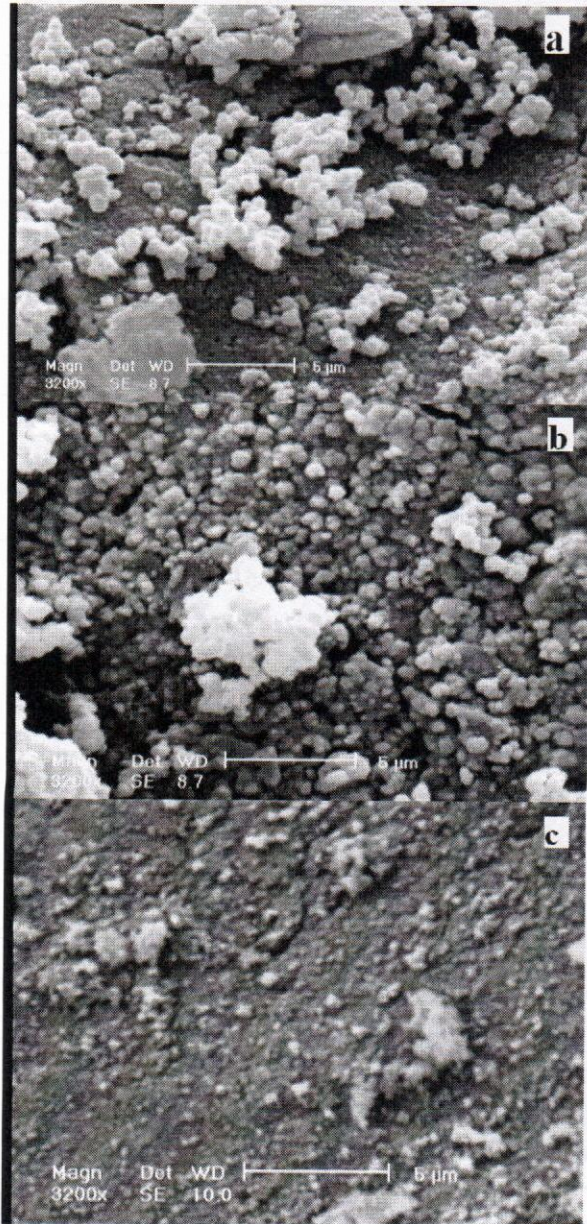
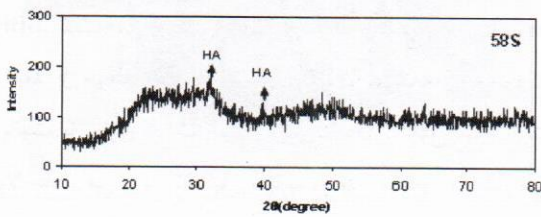
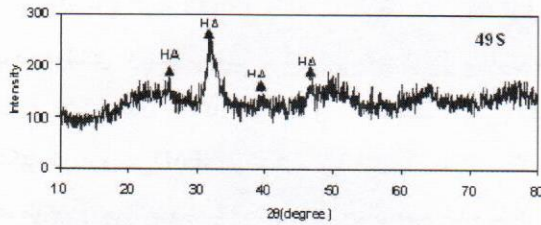
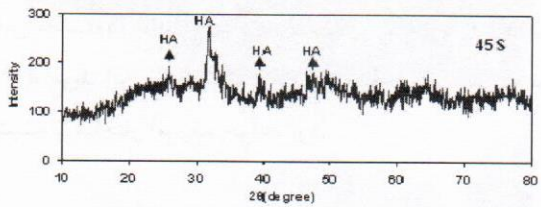
شکل ۳. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سه ترکیب شیشه زیست‌فعال تولیدی قبل از غوطه‌وری در محلول SBF (a) ۴۵S، (b) ۴۹S و (c) ۵۸S.

ترکیب تولیدی شیشه زیست‌فعال به صورت آمورف می‌باشند این مطلب که با نتایج سایر محققان نیز تطابق دارد [۷، ۱۵ و ۱۶]، موید این نکته است که روش سل-ژل قادر به تولید شیشه با ساختار آمورف خواهد بود.

۳-۲- ارزیابی زیست‌فعالی نانو ذرات تولیدی

تصاویر تهیه شده قبل و بعد از غوطه‌وری سه نوع نانو پودر تولیدی از سه ترکیب شیشه زیست‌فعال در محلول شیشه سازی شده بدن (شکل‌های ۳ و ۴) توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، تشکیل آپاتیت را بعد از ۳۰ روز غوطه‌وری بر سطح شیشه‌های زیست‌فعال تهیه شده نشان داد. همانطور که مشاهده می‌گردد قبل از غوطه‌وری در محلول SBF، شیشه‌های تولیدی سطحی صاف و بدون کریستالی دارند و بعد از غوطه‌وری در محلول SBF، خوشه‌های هیدروکسی آپاتیت بر روی ذرات شیشه زیست‌فعال تشکیل شده است و ملاحظه می‌شود تشکیل آپاتیت بر سطح ذرات شیشه زیست‌فعال با ترکیب ۴۵S نسبت به دو ترکیب دیگر ۴۹S و ۵۸S به میزان بیشتری صورت گرفته است. این نتیجه موید این نکته است که با افزایش درصد SiO_2 در شیشه‌های زیستی، سرعت و تشکیل لایه آپاتیت کند و کمتر می‌گردد [۱۴ و ۱۷].

الگوهای تهیه شده به روش پراش پرتو ایکس (XRD) بعد از غوطه‌وری در شکل ۵ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌گردد بعد از ۳۰ روز غوطه‌وری، لایه هیدروکسی آپاتیت با ترکیب $(\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH})$ (JCPDS# 09-0432) بر روی هر سه نمونه زیست‌فعال تولیدی ایجاد گردیده است. در ۲۵ حدود ۲۵/۹ و ۳۱/۸ درجه با اندیس صفحات (۰۰۲) و (۲۱۱) و شدت ۴۰ و ۱۰۰ درصد، ترکیب مذکور به خوبی مشخص است و در ۲۵ حدود ۳۹/۸، ۴۶/۷ و ۴۹/۵ درجه نیز این ترکیب دیده می‌شود. این نتیجه نیز تاییدی بر زیست‌فعالی شیشه‌های تولیدی می‌باشد که با نتایج سایر محققان نیز تطابق دارد [۱۰، ۱۸ و ۱۹].

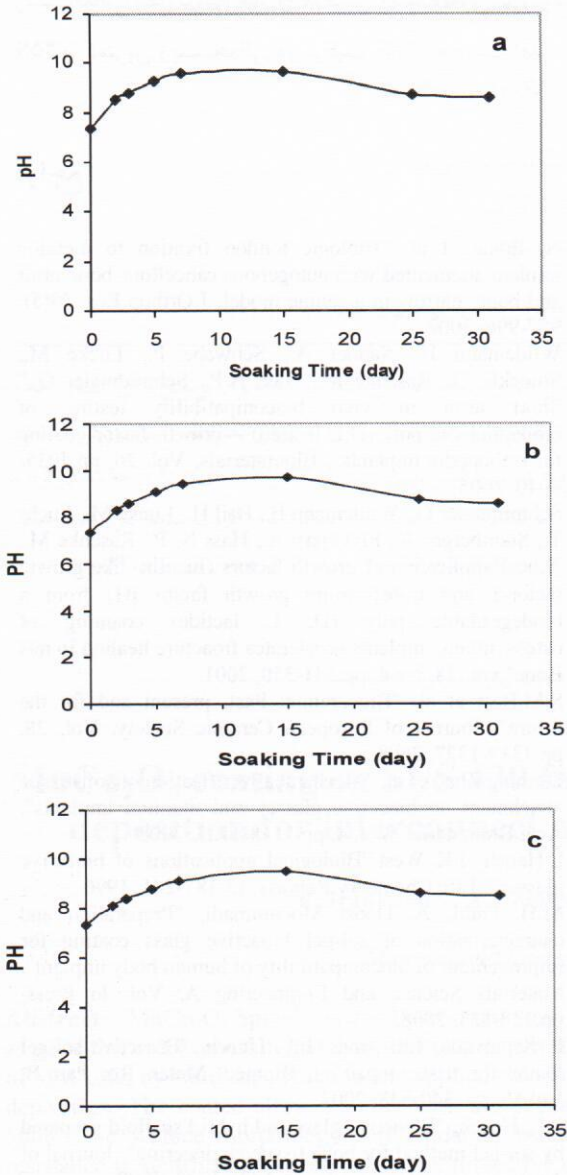


شکل ۴. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سه ترکیب شیشه زیست‌فعال تولیدی بعد از ۳۰ روز غوطه‌وری در محلول SBF (a) ۴۵S، (b) ۴۹S (c) ۵۸S.

شکل ۵. الگوهای پراش پرتو ایکس از سه نوع شیشه زیست‌فعال تولیدی بعد از ۳۰ روز غوطه‌وری در محلول SBF.

نتایج آزمون طیف سنجی تبدیل فوریه فرو سرخ (FTIR) بعد از غوطه‌وری شیشه‌های زیستی در مایع شبیه سازی شده بدن (SBF) در شکل ۶، نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌گردد لایه آپاتیت بر روی تمامی شیشه‌های زیستی تولیدی بعد از ۳۰ روز غوطه‌وری در SBF تشکیل گردیده است. مشاهده می‌شود پیک‌های مربوطه به لایه آپاتیت (پیوند P-O) در طول موجی بین $605-570\text{ cm}^{-1}$ برای هر سه نمونه تولیدی تشکیل و یا شدت یافته است و همچنین پیک دیگری از گروه پیوندهای فسفات (پیوند P-O) در طول موج بین $1030-1040\text{ cm}^{-1}$ نیز مشاهده می‌گردد، که این نتایج با پژوهش‌های دیگران نیز سازگاری دارد [۱۶، ۱۹ و ۲۰].

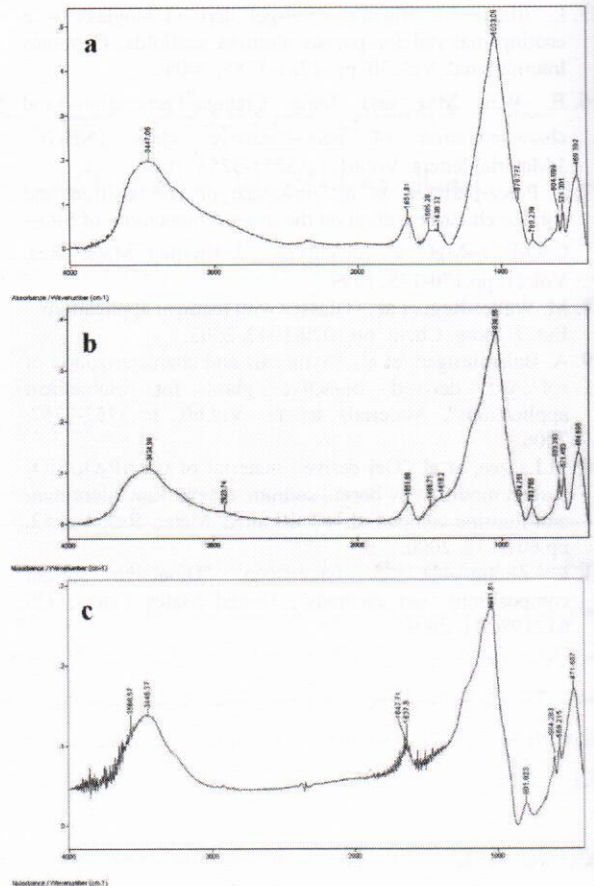
مقایسه آزمون برون محیطی سه ترکیب ۵۸S و ۶۸S و ۷۷S نشان داده است ترکیبات با سیلیس کمتر بعد از ۸ هفته به طور کامل می‌تواند با استخوان جایگزین گردد [۲۱].



شکل ۷. اندازه گیری pH بر حسب زمان از مایع شبیه سازی شده بدن پس از قرارگیری سه ترکیب شیشه زیست فعال تولیدی (a) ۴۵S (b) ۴۹S (c) ۵۸S.

۴- نتیجه گیری

نانو ذرات شیشه‌های زیست فعال با سه ترکیب ۴۵S، ۴۹S و ۵۸S به روش سل-ژل قابل تولید است. با قرارگیری نانو پودر شیشه‌های زیست فعال تولیدی در محلول شبیه سازی شده بدن، لایه آپاتیت بر روی سطح آنها تشکیل گردید که این



شکل ۶. منحنی‌های FTIR بعد از غوطه وری سه نوع شیشه زیست فعال تولیدی در محلول SBF (a) ۴۵S (b) ۴۹S (c) ۵۸S.

به منظور بررسی دقیق تر از تغییرات pH محلول SBF نسبت به زمان قرارگیری نمونه‌های تولیدی که در شکل ۷ نشان داده شده، استفاده شد. همانطور که مشاهده می‌گردد با قرارگیری هر سه نمونه در محلول SBF (با $pH = 7.33$), pH مربوط در طی مدت ۱۵ روز سریع افزایش پیدا کرده و بعد از آن با شیب ملایمی کاهش می‌یابد. افزایش pH در محلول SBF نیز نشانگر کاهش یون هیدروژن در محلول SBF و تشکیل گروه‌های Si-OH در مجاورت با شیشه‌های زیست فعال می‌باشد که این خود نشان از زیست‌فعالی شیشه‌های تولیدی می‌باشد [۱۷]. با مقایسه این سه نمودار، می‌توان مشاهده نمود که بیشترین تغییرات pH در ترکیب ۴۵S می‌باشد. و این در نتیجه تشکیل گروه‌های Si-OH بیشتری بر روی سطح این نمونه تولیدی و در نتیجه مقدار لایه آپاتیت بر روی سطح این ترکیب نسبت به دو ترکیب دیگر بیشتر می‌باشد.

این نتایج تطابق قابل قبولی با اختراع ۶۱۷۱۹۸۶ دارد که

15. L. Jiliani, M. Xigeng., "Sol-gel derived bioglass as a coating material for porous alumina scaffolds. *Ceramics International*. Vol. 30, pp. 1781-1785, 2004.
 16. B. Wei Xiaa and Jiang Changa "Preparation and characterization of nano-bioactive glass (NBG)", *J. Material letters*, Vol.61, pp.3251-3253, 2007.
 17. J. Perez-pariente, et al., "Influence of composition and surface characterization on the in vitro bioactivity of SiO₂-CaO-P₂O₅-MgO sol-gel glasses", *J. Biomed. Mater. Res.* Vol.41, pp.170-175, 1999.
 18. M. Wallet-Regi et al., "Glasses with medical applications", *Eur. J. Inorg. Chem.* pp.1029-1042, 2003.
 19. A. Balamurugan, et al., "Synthesis and characterization of sol gel derived bioactive glass for biomedical applications", *Materials letters*, Vol.60, pp.3752-3757, 2006.
 20. M.Laszca, et al., "Gel derived material of CaO-P₂O₅-SiO₂ system modified by boron, sodium, magnesium, aluminum and fluorine compounds", *J. Biomed. Mater. Res.* Vol.52, pp.601-612, 2000.
 21. I. Zhong, D. C. Greenspan, "Bioactive sol-gel compositions and methods", United States Patent, US 6171986B1, 2001.
- نشان دهنده زیست‌فعالی هر سه ترکیب تولیدی در شرایط برون تنی به شمار می‌رود.
- همچنین با افزایش درصد SiO₂ در ترکیبات تولیدی از زیست‌فعالی آنها کاسته شد و بالاترین زیست‌فعالی در ترکیب ۴۵S و کمترین زیست‌فعالی در ترکیب ۵۸S به دست آمد.

مراجع

1. N. Inoue et al, "Biologic tendon fixation to metallic implant augmented with autogenous cancellous bone graft and bone marrow in a canine model. *J Orthop Res.* 20(5): 957-996, 2002.
2. Wildemann B., Sander A., Schwabe P., Lucke M., Shtockle U., Raschke M., Hass N.P., Schmidmaier G., "Short term in vivo biocompatibility testing of biodegradable poly (D,L lactide) – growth factor coating for orthopedic implants", *Biomaterials*, Vol. 26, pp.4035-4040, 2005.
3. Schmidmaier G., Wildemann B., Bail H., Lucke M., Fuchs T., Stemberger A., Flyvbjerg A., Hass N, P., Raschke M., "Local application of growth factors (Insulin- like growth factor-1 and transforming growth factor β1) from a biodegradable poly (D, L lactide) coating of osteosynthetic implants accelerates fracture healing in rats Bone" vol. 28, No.4, pp.341-350, 2001.
4. S.M.Best et al, "Bioceramic: Past, present and for the future", *Journal of European Ceramic Society*, Vol. 28, pp.1319-1327, 2008
5. Dashing Zhao et al, "Mechanical verification of soft-tissue attachment on bioactive glasses and titanium implants", *Acta Biomaterial*, Vol. 4, pp 1118-1122, 2008.
6. L.Hench, J.K West. "Biological applications of bioactive glasses". *Life Chemistry Reports*. 13:187-241. 1996
7. M.H. Fathi, A. Doost Mohammadi, "Preparation and characterization of sol-gel bioactive glass coating for improvement of biocompatibility of human body implant", *Materials Science and Engineering A*, Vol. In Press, pp.128-133, 2008.
8. P. Sepulveda, J.R. Jones, L.L. Hench, "Bioactive sol-gel foams for tissue repair" *J. Biomed. Mater. Res Part B*, Vol.59, pp. 340-348, 2002.
9. L.L. Hench, "Bioactive glass and hybrid scaffold prepared by sol-gel method for bone tissue engineering", *Journal of American Ceramic Society*, pp.1705-1728. 1998.
10. A. Saboori et al, "Synthesis, characterization and in vitro bioactivity of sol-gel derived SiO₂-CaO-P₂O₅-MgO bioglass," *Material Science and Engineering C*, 2008.
11. IF. Vasconcelos et al, "Optical properties of Bi₁₂SiO₂₀ (BSO) and Bi₁₂TiO₂₀ (BTO) obtained by mechanical alloying," *J. Mat. Sci.*, Vol.36, pp.587, 2001.
12. R. Murugan, K.P. Rao, T.S.S. Kumar, " Heat-deproteinated xenogeneic bone from slaughterhouse waste: physico-chemical properties", *Bull. Mater. Sci.* Vol.26 pp. 523-528, 2003.
13. T. Kokubo, et al, "Solution able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W", *J Biomed Mater Res.*, Vol.24, pp.721-734, 1990.
14. L.L. Hench., "An Introduction to Bioceramics", *Advanced series in ceramics*, University of Florida, World Scientific Publishing Co. Pte.Ltd., 1993.