

بهینه‌سازی ساختارهای متخلخل بر پایه پلی‌پروپیلن فومارات/ هیدروکسی اتیل متاکریلات/ شیشه زیست‌فعال ساخته‌شده به روش زیست‌الهامی براساس استحکام مکانیکی و مورفولوژی سطحی

سارا شهبازی^۱، علی زمانیان^{۲*}، محمد پازوکی^۳، یاسر جعفری^۳

^۱ پژوهشگاه مواد و انرژی، پژوهشکده نانوتکنولوژی و مواد پیشرفته، گروه بیومواد، کرج، ایران.

^۲ پژوهشگاه مواد و انرژی، پژوهشکده انرژی، گروه محیط زیست و انرژی، کرج، ایران.

^۳ دانشگاه کاشان، دانشکده شیمی، گروه شیمی تجزیه، کاشان، ایران.

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۶/۶/۱۳، تاریخ دریافت نسخه اصلاح‌شده: ۱۳۹۶/۸/۵، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۶/۱۰/۱۷

چکیده این کار مربوط به بهینه‌سازی ساختارهای متخلخل بر پایه نانوکامپوزیت پلی‌پروپیلن فومارات/هیدروکسی اتیل متاکریلات/ نانوذرات شیشه زیست‌فعال است که با واکنش کاهش-اکسایش (پلیمریزاسیون رادیکال آزاد) در دمای اتاق شبکه‌ای شده‌اند. این ساختارها با غوطه‌وری نانوکامپوزیت‌های تهیه‌شده به مدت چهار هفته در محلول مشابه مایعات بدن ایجاد می‌شوند و براساس استحکام مکانیکی (استحکام فشاری) و مورفولوژی سطح (تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی) بهینه‌سازی می‌شوند. در این بهینه‌سازی اثرات نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما، میزان نانوذرات شیشه زیست‌فعال و درصد عامل جفت آغازگر بنزوئیل پروکساید و آن و آن دی‌متیل آنیلین، در ایجاد ساختارهای متخلخل و تغییرات استحکام مکانیکی، مشخص شد. در نهایت، بهترین فرمولاسیون نانوکامپوزیتی براساس عوامل مذکور نمونه‌ای که حاوی نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما معادل ۷۰/۳۰، نانوذرات شیشه زیست‌فعال به میزان ۲۰٪ وزنی و جفت آغازگر معادل ۱/۵٪ وزنی بود (SPHB.732/1.5)، به‌عنوان ساختار بهینه معرفی شد. این ساختار دارای مدول الاستیکی معادل ۵۷/۷ MPa، حفراتی به هم پیوسته و به‌طور کامل باز به ابعاد حدود ۱۰۰-۲۰۰ μm و دارای سطحی پوشیده شده با میکروذرات هیدروکسی‌کربنات آپاتیت بود. ساختار SPHB.732/1.5 تهیه‌شده به روش غوطه‌وری در مایع شبیه‌سازی شده بدن، علاوه بر زیست‌فعال بودن، زیست‌تخریب‌پذیر است و بنابراین می‌تواند به‌عنوان داربست سلول‌های استخوانی مورد ارزیابی‌های بیشتر مانند مطالعات سلولی قرار گیرد.

کلمات کلیدی: بهینه‌سازی، داربست استخوان، زیست‌الهامی، مورفولوژی سطحی، استحکام مکانیکی.

Optimization of Porous Structures Based on Polypropylene Fumarate /Hydroxy Ethyl Metacrylate/ Bioactive Glass Prepared by Biomimetic Methods with Mechanical Strength and Surface Morphology Analyses

Sara Shahbazi¹, Ali Zamanyan^{2*}, Mohammad Pazouki², Yaser jafari³

¹Material and Energy research Center, Department of Nanotechnology and Advanced Material, Karaj, Iran.

²Material and Energy research Center, Department of Energy, Karaj, Iran.

³University of Kashan, Department of Analytical Chemistry, Kashan, Iran

Abstract This work is related to optimize the porous structure nanocomposites based on polypropylene fumarate/hydroxyethyl methacrylate/ bioactive glass nanoparticles (PPF/HEMA/NBG) which are cross-linked through the Reduction-Oxidation reaction (free radical polymerization) at the room temperature. The porous structures prepared by immersion of the nanocomposites in simulated body fluid (SBF) for 4 weeks. The samples were optimized based on the PPF/HEMA ratio, the NBG content and percentage of the benzoyl peroxide and dimethyl aniline pairs (BPO+DMA) with mechanical strength (compressive strength) and surface morphology (SEM images) analyses. Finally, the best structure based on mentioned factors, SPHB.732/1.5, which contains the PPF/HEMA ratio at 30/70, NBG content at 20 wt% and BPO+DMA pairs at 1.5 wt% was introduced as the optimum structure. This structure has an elastic modulus of 57.7 Mpa, interconnected-open porous architecture with the pore size approximately 100-200μm and the surface coated with hydroxycarbonate apatite microparticles (HCA). The SPHB.732/1.5 structure prepared by soaking in SBF not only is a bioactive component but also is a biodegradable material and hence can be used as a bone scaffold when more evaluate for this application.

Keywords: Optimization, Bone scaffold, Biomimetic, Surface morphology, Mechanical strength.

۱- مقدمه

از دست رفتن بافت استخوانی می‌تواند توسط عواملی مانند تروما، خارج کردن تومور و یا نقص‌های اسکلتی در ابعاد و اشکال متفاوت ایجاد شود. مکان‌های خالی ایجاد شده طی فرآیند از دست رفتن بافت استخوانی، باید توسط یک ماده مناسب پر شوند تا ترمیم استخوان شتاب یابد. داربست‌های مهندسی بافت سه‌بعدی یکی از مناسب‌ترین جایگزین‌های استخوانی می‌باشند [۱-۳]. داربست ماده‌ای بسیار متخلخل است که محیط مناسب کوچکی را برای سلول‌های بازسازی‌کننده فراهم می‌کند و از چسبندگی، تکثیر، تمایز سلول‌ها و تشکیل بافت جدید حمایت می‌کند؛ بنابراین ترکیب شیمیایی، ساختار فیزیکی و بخش‌های عملگر بیولوژیکی همگی در مهندسی بافت و ساخت داربست دارای اهمیت می‌باشند. داربست‌های استخوانی اغلب موادی تخریب‌پذیر هستند که حمایت مکانیکی را در طول فرآیند ترمیم و بازسازی استخوان آسیب‌دیده فراهم می‌کنند [۴].

به‌تازگی تحقیقات گسترده‌ای در زمینه ترمیم و بازسازی استخوان در تلاش جهت الحاق زیست‌سازگاری کلسیم فسفات‌ها و خواص سودمند پلیمرها در ساختارهای کامپوزیتی برای ایجاد بیشترین شباهت با استخوان‌های طبیعی صورت گرفته است [۵، ۶]. بسترهای پلیمری قابلیت کشسانی (الاستیسیته) و یکپارچگی ساختار را ایجاد می‌کنند، درحالی‌که پرکننده‌های زیست‌فعال مانند سرامیک‌های کلسیم فسفاتی، رسوب زیستی (مینراله شدن) را تقویت کرده و استحکام مکانیکی را برای کاربردهای استخوانی بهبود می‌بخشند [۷، ۸]. از آنجایی‌که پرکننده‌های زیست‌فعال دارای قابلیت هدایت رشد استخوان (استئوکاندکتیویته) هستند بنابراین نانوذرات زیست‌فعال قادرند تکثیر و چسبندگی سلول را تقویت کنند و بدین جهت موضوع بسیاری از مطالعات پژوهشی بوده‌اند [۹-۱۱]. در میان مواد زیست‌فعال، شیشه زیست‌فعال یکی از بهترین ترکیبات معدنی است که می‌تواند در محیط‌های بیولوژیکی به یک ساختار بلوری و شیمیایی مشابه مواد معدنی استخوانی (هیدروکسی کربنات آپاتیت) تبدیل شود [۱۲]. نانوذرات شیشه زیست‌فعال (NBG) به‌عنوان یک ماده

بهبوددهنده خواص مکانیکی و تقویت‌کننده برهم‌کنش میان سلول و سطح، به‌صورت پرکننده در نانوکامپوزیت‌های برپایه پلیمر، بسیار مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [۱-۳، ۱۳].

یکی از پلیمرهای امیدبخش دارای خواص مکانیکی مناسب برای کاربردهای ارتوپدی، پلی‌پروپیلن فومارات (PPF) است که می‌تواند به‌عنوان بستری برای ساخت نانوکامپوزیت‌های استخوانی به‌کار رود. پلی‌پروپیلن فومارات یک پلی‌استر خطی غیراشباع است که می‌تواند به‌واسطه باندهای دوگانه در طول زنجیره پلیمری‌اش از طریق پلیمریزاسیون رادیکال آزاد یا پلیمریزاسیون نوری، شبکه‌ای شود. این پلیمر قادر است از طریق هیدرولیز ساده باندهای استری به محصولات غیرسمی پروپیلن‌گلیکول، پلی‌لاکتیک کوفوماریک‌اسید و فوماریک‌اسید، تخریب شود که به‌راحتی توسط بدن تحمل و از طریق کلیه‌ها دفع می‌شوند [۱۴، ۱۵]. هم‌چنین توانایی کنترل دقیق هندسه، تخلخل، تخریب و ویژگی‌های دیگر پلی‌پروپیلن فومارات قابل‌چاپ سه‌بعدی، منجر به طراحی و تولید داربست‌های مهندسی بافت متنوعی برپایه این پلیمر شده است [۱۶، ۱۷]. به‌منظور تقویت خواصی هم‌چون قابلیت هدایت رشد استخوان و استحکام مکانیکی، کلسیم فسفات‌هایی مانند بتا-تری کلسیم فسفات، کلسیم سولفات، آلوموکسان و هیدروکسی آپاتیت به پلی‌پروپیلن فومارات افزوده شده‌اند [۱۸، ۱۹]. هم‌چنین برای افزایش خواص مکانیکی و ایجاد قابلیت شکل‌پذیری، ترکیبات دیگری مانند ان-وینیل پیرولیدون به‌عنوان رقیق‌کننده‌ای واکنش‌پذیر و نیز عامل شبکه‌ای‌کننده به پلی‌پروپیلن فومارات افزوده شده است [۲۰، ۲۱]. دیگر مونومرهای غیراشباع مانند متیل متاکریلات، دی‌اتیل فومارات و پلی‌پروپیلن فومارات دی‌اکریلات نیز توانسته‌اند با پلی‌پروپیلن فومارات ترکیب شده و شبکه‌ای سه‌بعدی با گستره متنوعی از خواص مکانیکی ایجاد کنند [۲۲، ۲۳].

هیدروکسی اتیل متاکریلات (HEMA) یک مشتق غیراشباع متاکریلات و ماده‌ای فوق‌العاده آب‌دوست است که به‌عنوان یک ماده زیست‌سازگار در مهندسی بافت استخوان شناخته شده است و می‌تواند از طریق پلیمریزاسیون رادیکال

۲- روش تحقیق

۲-۱ مواد

پروپیلن گلیکول، هیدروکسی اتیل متاکریلات، تری اتیل ارتوسیلیکات، کلسیم نترات چهار آبه و تری اتیل فسفات از شرکت سیگما آلد ریچ خریداری شد. دی اتیل فومارات، ان و ان دی متیل آنیلین، نیتریک اسید و بنزوئیل پروکساید از شرکت مرک خریداری شد. تازه سازی ان و ان دی متیل آنیلین از طریق تقطیر ساده و هیما از روش تقطیر تحت خلاء انجام شد. هم چنین، ناخالصی های موجود در بنزوئیل پروکساید با استفاده از حلال های متانول و کلروفرم از طریق بلوری شدن مجدد، زدوده شد.

۲-۲ تهیه نانوکامپوزیت های پلی پروپیلن فومارات / هیما / نانوذرات شیشه زیست فعال

سنتز و مشخصه یابی پلی پروپیلن فومارات در مطالعات اخیر ما به تفصیل بررسی شده است [۲۶-۲۸] و به علت محدودیت در تعداد صفحات مقاله، در اینجا توضیحات مفصلی برای سنتز آن مطرح نشده است. به هر حال، پلی پروپیلن فومارات نهایی مورد استفاده از روش ترکیب رفلاکس- تقطیر سنتز شده است و دارای متوسط وزن مولکولی عددی $M_n = 1277 \text{ gr/mol}$ و متوسط وزن مولکولی جرمی $M_w = 2385 \text{ gr/mol}$ می باشد.

۲-۲-۱ تهیه و مشخصه یابی شیشه زیست فعال بی شکل

ذرات بی شکل شیشه زیست فعال با استفاده از روش سل- ژل از طریق فرآیند هیدرولیز و پلیمریزاسیون تراکمی با کاتالیزوری محلول اسید نیتریک (دو مولار)، سنتز شد. واکنش گره های تری اتیل ارتوسیلیکات، کلسیم نترات چهار آبه و تری اتیل فسفات به ترتیب با مقادیر مشخص [۲۹] در فواصل ۳۰ دقیقه ای، تحت شرایط هم زدن مغناطیسی مداوم و در دمای اتاق به محلول کاتالیزور اضافه شدند. سل به دست آمده به مدت ۱۰ روز در دمای اتاق باقی ماند. سپس ژل به دست آمده در دمای 70°C به مدت ۷۲ h پیرسازی شد و در نهایت در دمای 120°C به مدت ۷۲ h خشک و اجازه داده شد که محصولات فرعی گازی شکل واکنش خارج شوند. سپس محصول به دست آمده به مدت ۳ h در دمای 600°C و سپس ۲ h در $^\circ\text{C}$

آزاد، تبدیل به پلیمر شود. نشان داده شده است که ماتریس پلیمری پلی پروپیلن فومارات / هیما شبکه ای شده می تواند برای تقویت و حفظ شکل صفحات استخوانی پلی لاکتیک- گلایکولیک اسید به کار رود [۲۴]. هم چنین تولید داربست های متخلخل پلی پروپیلن فومارات / هیما برای استفاده در مهندسی بافت استخوان مورد مطالعه قرار گرفته است [۲۵].

هدف از انجام این تحقیق، بهینه سازی و مشخصه یابی یک داربست متخلخل زیست تخریب پذیر ساخته شده از ماتریس پلی پروپیلن فومارات / هیما، پوشش داده شده با هیدروکسی آپاتیت کربنات دار می باشد. روش به کار گرفته در این پژوهش جهت ساخت داربست، غوطه وری ماتریس پلیمری پلی پروپیلن فومارات / هیما تقویت شده با نانوذرات شیشه زیست فعال در مایع شبیه سازی شده بدن (SBF) برای مدت زمانی مشخص است. چنین داربستی با توجه به خاصیت زیست تخریب پذیری پلی پروپیلن فومارات به عنوان ماده ای استخوان سازگار، قدرت جذب آب بالای هیما به عنوان عامل شبکه ای کننده غیراشباع و خواص مکانیکی و زیست فعالی شیشه زیست فعال ساخته می شود. از این رو بهینه سازی عوامل مؤثر بر ویژگی های داربست مانند نسبت مونومر به عامل شبکه ای کننده، مقدار پرکننده زیست فعال و نیز نسبت آغازگر به ماتریس غیراشباع می تواند اندازه حفرات داخل داربست و ویژگی سطحی آن را کنترل کند و بنابراین در تعیین ویژگی های نهایی داربست مؤثر باشد. بهینه سازی ویژگی های داربست های تولید شده بعد از چهار هفته غوطه وری نانوکامپوزیت های اولیه پلی پروپیلن فومارات / هیما / نانوذرات شیشه زیست فعال (PPF/HEMA/NBG) در مایع شبیه سازی شده بدن براساس استحکام فشاری و مورفولوژی سطح داربست های تولید شده، انجام شده است. عوامل بررسی شده سه گانه برای بهینه سازی شامل (۱): نسبت پلی پروپیلن فومارات به هیما (درصد وزنی / درصد وزنی)، (۲) مقدار نانوذرات شیشه زیست فعال (درصد وزنی) و (۳) مقدار جفت آغازگر بنزوئیل پروکساید و ان و ان دی متیل آنیلین (PBO+DMA، درصد وزنی) است. پس از بهینه سازی نمونه ها، بهترین ساختار به عنوان داربست برای سلول های استخوانی معرفی می شود.

۲-۲-۳ شبکه‌ای شدن نانوکامپوزیت‌های پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما/ نانوذرات شیشه زیست‌فعال

نانوکامپوزیت‌های پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما/ نانوذرات شیشه زیست‌فعال، مطابق با روش زیر تهیه شدند. در ابتدا براساس فرمولاسیون، مقدار مشخصی شروع‌کننده بنزوئیل-پروکساید در هیما حل شد و سپس در ادامه مقدار مشخص پلی‌پروپیلن فومارات که پیش‌تر 50°C گرم شده است (جهت کاهش ویسکوزیته) به ترکیب فوق اضافه شد. محلول نهایی به منظور حذف حباب‌های حبس شده، به مدت ۱۰ min با دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. بعد از آن، مقدار مشخصی نانوذرات شیشه زیست‌فعال مربوط به هر فرمولاسیون به محلول افزوده شد. سپس، هریک از ترکیبات حاصل به خوبی توسط یک همزن مکانیکی کوچک به مدت ۱۰ min مخلوط شدند. بعد از ۳ min مخلوط کردن تحت امواج فراصوت قوی (هیچر 25KHz, 200W, UP400S) در دمای 0°C ، آن و آن دی‌متیل‌آنیلین به عنوان شتاب‌دهنده به مخلوط اضافه شد و سپس بلافاصله با همزن مکانیکی کوچک به طور کامل به مدت ۳۰s هم‌زده شد. ترکیب پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما/ نانوذرات شیشه زیست‌فعال نهایی پیش از شبکه‌ای شدن کامل در قالب‌های شیشه‌ای استوانه‌ای به قطر ۷/۳ mm و ارتفاع ۱۵ mm ریخته شدند و اجازه داده شد تا هر یک از مخلوط‌ها به شکل قالب شبکه‌ای شود. قالب‌های بارگذاری شده در یک خشک‌کن همرفتی در دمای 60°C به مدت ۱ h قرار داده شده تا شبکه‌ای شدن به طور کامل انجام شود و سپس، قالب‌ها با نرخ $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ تا دمای اتاق سرد شدند. در نهایت نمونه‌های نانوکامپوزیتی پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما/ نانوذرات شیشه زیست‌فعال با شکستن جداره شیشه‌ای از قالب‌ها خارج شدند و سپس جهت غوطه‌ور شدن در محلول شبیه‌سازی شده بدن و تهیه داربست به کار رفتند.

۲-۲-۴ غوطه‌وری نانوکامپوزیت‌های پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما/ نانوذرات شیشه زیست‌فعال در محلول شبیه‌سازی شده بدن

تبدیل شدن یک نانوکامپوزیت به یک داربست زیست‌فعال و تشکیل یک ساختار متخلخل که تخلخل‌های آن به هم راه دارند، از طریق تخریب نانوکامپوزیت و رسوب

با 700°C با نرخ حرارت دهی $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ کلسینه شد و در پایان با نرخ سردسازی $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ، به دمای محیط بازگشت. در نهایت از یک دستگاه آسیاب سیاره‌ای برای رسیدن به درجه بالایی از پراکندگی یکنواخت ابعاد ذرات، استفاده شد.

۲-۲-۲ طراحی آزمایش

همان‌طور که پیش‌تر گفته شد، برای بهینه‌سازی نانوکامپوزیت‌ها براساس خواص مکانیکی و مورفولوژی سطح سه عامل متغیر شامل (۱) نسبت پلی‌پروپیلن فومارات به هیما، (۲) مقدار نانوذرات شیشه زیست‌فعال و (۳) مقدار جفت آغازگر بنزوئیل پروکساید و آن‌وان دی‌متیل آنیلین بودند. دو عامل اول هر کدام با پنج فرمولاسیون مختلف مطالعه شدند، درحالی‌که عامل سوم در سه فرمولاسیون بررسی شد و آزمایش‌ها برای هر نمونه نیز سه مرتبه تکرار شد ($n=3$)؛ بنابراین، تأثیرات سه عامل مختلف در مجموع با ۱۱ نوع فرمولاسیون، مورد مطالعه قرار گرفت. جدول ۱، ترکیب همه فرمولاسیون‌ها را ارائه می‌کند. در نام‌گذاری نمونه‌ها از اصطلاح SPHB استفاده شده است که در واقع H, P, S, B به ترتیب مخفف Structure, PPF, HEMA, NBG هستند.

جدول ۱. ساختارهای تشکیل شده با استفاده از مقادیر مختلف نسبت

PPF/HEMA, مقدار NBG و درصد BPO+DMA

(BPO+DMA/PPF+HEMA) (wt%)	NBG (wt%)	HEMA (wt%)	PPF (wt%)	PPF/HEMA ratio	Sample name
1.5	20	0	100	100/0	SPHB.1002
1.5	20	10	90	90/10	SPHB.912
1.5	20	20	80	80/20	SPHB.822
1.5	20	30	70	70/30	SPHB.732
1.5	20	40	60	60/40	SPHB.642
1.5	40	30	70	70/30	SPHB.734
1.5	30	30	70	70/30	SPHB.733
1.5	20	30	70	70/30	SPHB.732
1.5	10	30	70	70/30	SPHB.731
1.5	0	30	70	70/30	SPHB.730
0.5	20	30	70	70/30	SPHB.732/0.5
1.5	20	30	70	70/30	SPHB.732/1.5
2.5	20	30	70	70/30	SPHB.732/2.5

شکل گرفته بعد از چهار هفته غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن نیز توسط تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (تسکان مدل VEGA3) مورد بررسی قرار گرفت. در تمامی مراحل بهینه‌سازی، نمونه‌ها براساس سه عامل متغیر شامل نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما، نانوذرات شیشه زیست‌فعال و جفت آغازگر در گستره مقادیر مختلف (جدول ۱) دسته‌بندی و مورد بررسی قرار گرفتند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱ مشخصه‌یابی نانوذرات شیشه زیست‌فعال

مشخصه‌یابی نانوذرات شیشه زیست‌فعال کلسینه شده در دمای 700°C و خرد شده با آسیاب سیاره‌ای با استفاده از آزمون‌های FTIR، XRD، FESEM و DLS انجام شد. شکل ۱ (a) طیف FTIR نانوذرات شیشه زیست‌فعال کلسینه شده در دمای 700°C را نشان می‌دهد. باند ارتعاشی در 740 cm^{-1} و شانه در 1200 cm^{-1} ، به پیوندهای خمشی Si-O-Si اختصاص دارند، همچنین شانه در 958 cm^{-1} مربوط به باندهای ارتعاشی Si-O-Ca می‌باشد [۳۱]. باند ارتعاشی در 1070 cm^{-1} و باند دوتایی در 670 cm^{-1} و 567 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوندهای گروه‌های فسفات می‌باشند [۳۲]. شکل ۱ (b) الگوی XRD پودر نانوذرات شیشه زیست‌فعال کلسینه شده در 700°C را نشان می‌دهد. طیف XRD تأیید می‌کند که شیشه کلسینه شده بیشتر در حالت بی‌شکل است و پیک پراش مشخصی که نشان‌دهنده بلوری بودن آن باشد مشاهده نمی‌شود. پیک پهن در ناحیه بین زوایای (2θ) ۱۵ تا 40° درجه، ماهیت بی‌شکل نانوذرات شیشه زیست‌فعال را تأیید می‌کند [۳۱، ۳۳].

اندازه ذرات شیشه زیست‌فعال و توزیع اندازه ذرات از طریق آزمون DLS بعد از هموژن سازی پودر با امواج فراصوت در محیط آبی به‌دست آمد. الگوی پراکندگی ذرات شیشه زیست‌فعال ارائه‌شده در شکل ۱ (c) نشان می‌دهد که حدود ۹۹٪ از ذرات شیشه زیست‌فعال دارای متوسط قطری به اندازه 40 nm هستند. همچنین شکل ۱ (d) تصویر FESEM از ذرات شیشه زیست‌فعال خرد شده است. این تصویر نشان می‌دهد که کلوخه‌ای شدن ذرات شیشه زیست‌فعال اندک است

زیستی در محلول شبیه‌سازی شده بدن ایجاد می‌شود. برای این هدف، چندین دیسک یک شکل از نمونه‌های استوانه‌ای تهیه شده (به وزن تقریبی 200 mg ، ارتفاع 5 mm و قطر 7.3 mm) بریده و پس از استریل شدن تحت لامپ ماوراء بنفش به مدت 1 h ، در 10 ml محلول شبیه‌سازی شده بدن (تهیه‌شده مطابق دستورالعمل آقای کوکوبو [۳۰]) غوطه‌ور شدند. محلول شبیه‌سازی شده بدن به‌طور منظم هر 48 ساعت یک‌بار در طول مدت غوطه‌وری تعویض شد تا به ثابت ماندن نسبت یون‌های موجود در محلول کمک شود. جهت شتاب دادن به فرآیند شکل‌گیری داربست، نمونه‌ها درون لوله‌های درب‌دار به حجم 15 میلی‌لیتری غوطه‌ور شدند و سپس به‌طور افقی بر روی صفحات چرخش‌گر در یک گرم‌خانه (وایس کوب، DH.WIS0301) با دور 120 rpm و در دمای 37°C قرار گرفتند. پس از چهار هفته غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن، نمونه‌ها طی فرآیندی مشابه در 20 ml آب دو بار تقطیر در لوله‌هایی به حجم 50 ml به مدت 24 h شسته شدند و سپس در دمای 20°C منجمد شده و توسط دستگاه خشک‌کایش انجمادی به مدت 16 h خشک شدند. استفاده از دستگاه خشک‌کایش انجمادی به‌منظور به حداقل رساندن آثار چروکیدگی نمونه‌ها و حفظ ساختار متخلخل داربست طی فرآیند خشک‌کایش است. نمونه‌ها خشک‌شده تا زمان انجام آزمون‌های شناسایی، درون مخزن رطوبت‌گیر حاوی سیلیکاژل نگه‌داری شدند.

۲-۲-۵ بهینه‌سازی و مشخصه‌یابی نانوکامپوزیت‌های

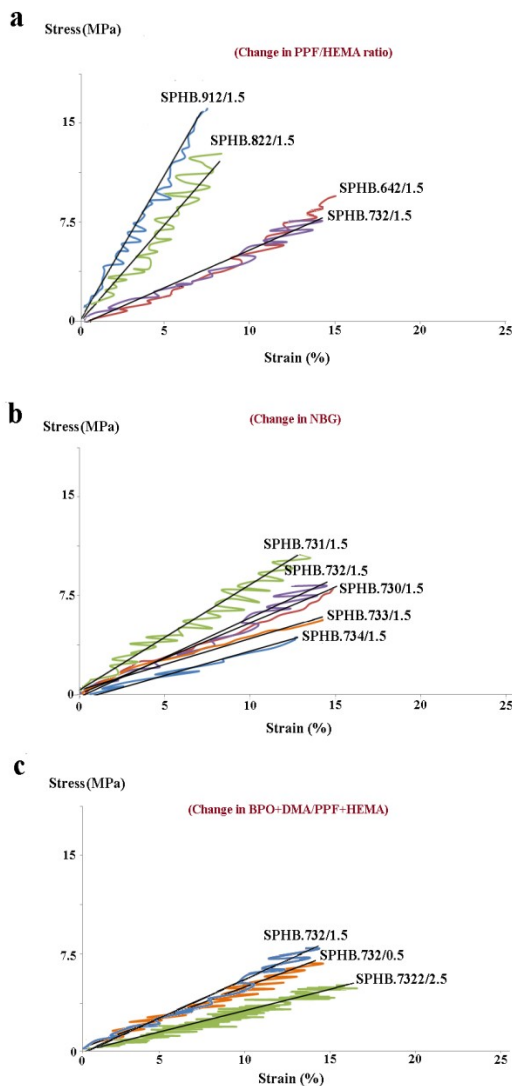
پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما/ نانوذرات شیشه زیست‌فعال

آزمون‌های استحکام فشاری با یک دستگاه آزمون فشاری (زوئیک رول، مدل Z100) مطابق با دستورالعمل کلی ASTM(D695-96) انجام شد. این آزمون‌ها با استفاده از وزنه بارگذاری 5 kN و سرعت خزش 1 mm/min در دمای اتاق انجام شدند. نمونه‌های داربست تهیه شده بر پایه پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما/ نانوذرات شیشه زیست‌فعال به شکل استوانه (با قطر تقریباً 6 mm و ارتفاع 12 mm) مورد بررسی قرار گرفتند ($n=3$). در ادامه مدول الاستیک استحکام فشاری هر یک نیز از طریق شیب ناحیه خطی در نمودار تنش-کرنش، محاسبه شد. همچنین مورفولوژی سطح نمونه‌ها و تخلخل‌های

بعد از چهار هفته غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن از لحاظ استحکام مکانیکی و مورفولوژی ساختار انجام شد. برای این بهینه‌سازی هریک از عوامل سازنده نانوکامپوزیت‌ها به‌طور مجزا مورد ارزیابی قرار گرفتند. در زمان بررسی یک عامل، سایر عوامل ثابت در نظر گرفته می‌شدند. پس از یافتن بهترین نسبت برای عامل اول، با در نظر گرفتن آن در مرحله بعد، عوامل دیگر به همین ترتیب بهینه‌سازی شدند.

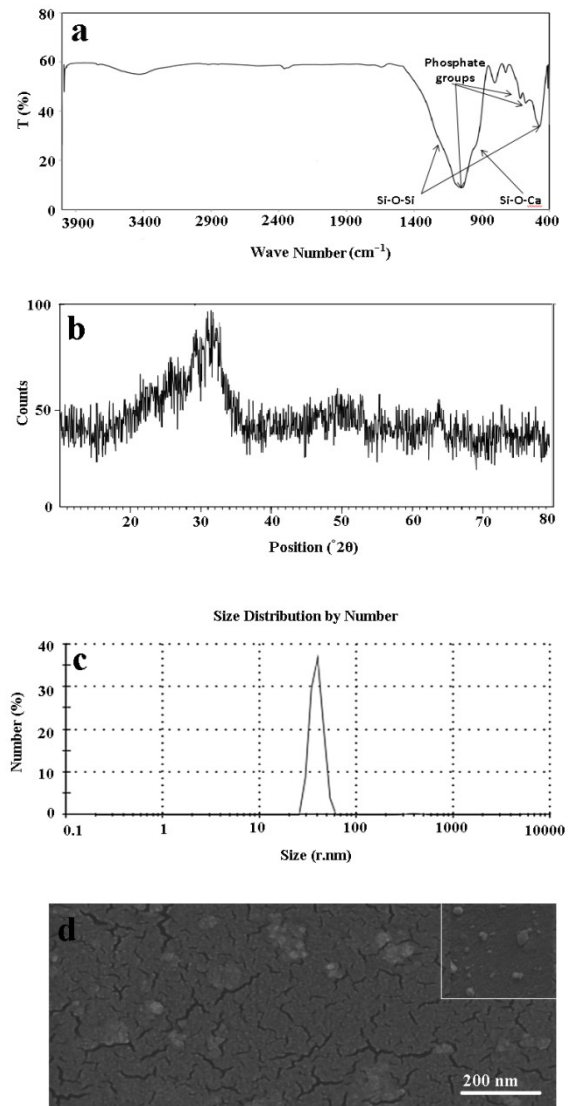
۱-۲-۳ بهینه‌سازی نسبت پلی پروپیلن فومارات/هیما

شکل ۲ (a) نمودارهای استحکام فشاری نمونه‌های ساختارهای نهایی تولید شده بعد از غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن را با تغییر نسبت پلی پروپیلن فومارات/هیما نشان می‌دهد.



شکل ۲. ۲. آزمون‌های مربوط به NBG. (a): طیف FTIR پودر نهایی، (b): طیف XRD پودر نهایی، (c): نمودار توزیع اندازه پودر و (d): تصویر FESEM از پودر نهایی.

و هر کلوخه حاوی نانوذراتی با ابعاد تقریبی ۴۰ nm می‌باشند. این تصویر تأییدکننده ابعاد ذرات به‌دست‌آمده از طریق آزمون DLS می‌باشد. چنین ابعادی می‌تواند قابلیت زیادی را برای هسته‌زایی هیدروکسی‌آپاتیت کربنات‌دار بر روی سطح نانوذرات شیشه زیست‌فعال غوطه‌ور درون محلول شبیه‌سازی شده بدن ایجاد کند و بنابراین زیست‌فعالی سطح داریست را به‌شدت تقویت کند.

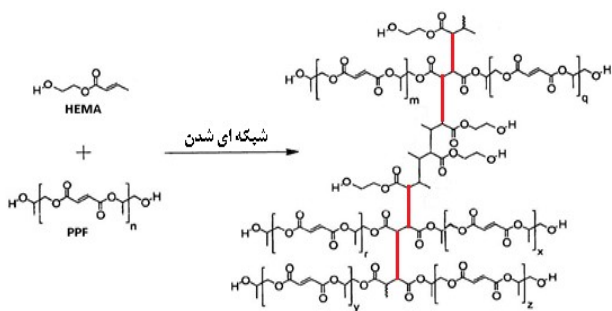


شکل ۳. ۱. آزمون‌های مربوط به NBG. (a): طیف FTIR پودر نهایی، (b): طیف XRD پودر نهایی، (c): نمودار توزیع اندازه پودر و (d): تصویر FESEM از پودر نهایی.

۲-۳ بهینه‌سازی نانوکامپوزیت‌های پلی پروپیلن فومارات/هیما/نانوذرات شیشه زیست‌فعال براساس استحکام مکانیکی و مورفولوژی سطحی

بهینه‌سازی نانوکامپوزیت‌های پلی پروپیلن فومارات/هیما/نانوذرات شیشه زیست‌فعال جهت تولید بهترین ساختار

ارائه می‌دهد [۳۴-۳۶]، بنابراین چنانچه نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما کنترل شود، می‌تواند منجر به افزایش استحکام مکانیکی داربست نهایی گردد. لازم به ذکر است که پلی‌پروپیلن فومارات بدون حضور هیما قادر به تشکیل شبکه نیست و نقش این مونومرها به‌عنوان عامل شبکه‌ای کننده بسیار حائز اهمیت است. پیش‌سازهای هیما به یکدیگر متصل شده و سپس از طریق باز کردن پیوندهای دوگانه پلی‌پروپیلن فومارات، به آن‌ها متصل شده و با ایجاد پل مابین این زنجیره‌ها شبکه را تشکیل می‌دهند (شکل ۳)؛ بنابراین در نمونه (SPHB.1002) هیچ شبکه سه‌بعدی که دارای استحکام مکانیکی قابل اندازه‌گیری در مقایسه با نمونه‌های دیگر باشد، شکل نمی‌گیرد [۳۷] و داده‌ای برای آن در شکل ۲ (a) و اشکال بعدی موجود در مقاله ارائه نشده است. بنابراین عدم وجود هیما و یا افزایش بیش از حد آن، هر دو منجر به کاهش استحکام فشاری داربست نهایی می‌گردند. به‌رحال مطالعات و نتیجه‌گیری دقیق‌تر را بررسی‌های مورفولوژی ساختار نشان می‌دهد.



شکل ۳. شبکه تشکیل شده میان زنجیره‌های PPF و واحدهای HEMA طی واکنش بازشدن پیوندهای دوگانه و پلیمریزاسیون رادیکالی.

به منظور بررسی مورفولوژی سطح ساختارهای نمونه‌های مربوط به بهینه‌سازی نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما بعد از چهار هفته غوطه‌وری در محلول مایع شبیه‌سازی شده بدن، از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شده است که تصاویر حاصل از آن در شکل ۴ (a-d) نشان داده شده است. با توجه به این تصاویر به‌نظر می‌رسد که تغییر نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما از جمله مهم‌ترین عواملی است که می‌تواند در شکل‌گیری داربست و نیز بر خواص آن مؤثر باشد. همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، با کاهش نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما از ۹۰/۱۰ (SPHB.912/1.5) تا

برای این منظور نانوذرات شیشه زیست‌فعال معادل ۲۰٪ وزنی و جفت آغازگر معادل ۱/۵٪ به‌طور پیش‌فرض و ثابت در نظر گرفته شده‌اند. با توجه به شکل ۲ (a) بهبود قابل‌توجهی در استحکام فشاری داربست‌های نانوکامپوزیتی در هنگام افزایش نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما مشهود است. استحکام فشاری بالا در نمونه‌های حاوی نسبت بالای پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما به ماهیت مولکولی ساختار برمی‌گردد. به‌عنوان مثال نمونه SPHB.642/1.5 که دارای نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیمای کمتری در مقایسه با SPHB.912/1.5 است، از استحکام فشاری بسیار پایین‌تری (۱۲/۵۶ MPa) نیز برخوردار است.

استحکام فشاری بالای SPHB.912/1.5 (۱۷/۹۱ MPa) شاید به دلیل حضور مقادیر کمتر هیما در میان زنجیره‌های پلی‌پروپیلن فومارات است که در نتیجه آن زنجیره‌های پلی‌پروپیلن فومارات به هم نزدیک‌تر و فاصله میان آن‌ها نیز کمتر است. در این صورت نیروی فشاری صرف غلبه بر مقاومت زنجیره‌های پلی‌پروپیلن فومارات می‌شود که بر روی یکدیگر فشرده می‌شوند. در مقابل در SPHB.642/1.5 فواصل میان زنجیره‌های پلی‌پروپیلن فومارات توسط پل‌های بیشتر و بلندتری از هیما پر شده است و شاید تخلخل‌ها و فضای بیشتری نیز مابین زنجیره‌های پلی‌پروپیلن فومارات به‌وجود می‌آید؛ بنابراین، نیروی فشاری صرف پر کردن فضاهای خالی و به هم نزدیک کردن زنجیره‌های پلی‌پروپیلن فومارات می‌گردد و از این‌رو در SPHB.642/1.5 استحکام و مقاومت فشاری کمتری وجود دارد.

هم‌چنین افزایش نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما می‌تواند رفتار انیزتروپی و جهت‌گیری مولکول‌های داربست نهایی را تحت تأثیر قرار دهد و از این طریق خواص مکانیکی و به‌خصوص استحکام کششی را نیز تقویت کند. با افزایش مقدار پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما زنجیره‌های پلی‌پروپیلن فومارات به یکدیگر نزدیک‌تر شده و با اعمال نیروی فشاری، جهت‌گیری آن‌ها در یک راستای خاص افزایش می‌یابد و چنین فرآیندی استحکام پلیمر را در یک جهت خاص تقویت می‌کند (نمونه SPHB.822/1.5، شکل ۴ (b)، استحکام فشاری: ۱۵/۱۱ MPa). با توجه به اینکه استخوان طبیعی دارای رفتار انیزتروپی است و در جهات مختلف مدول‌های مختلفی

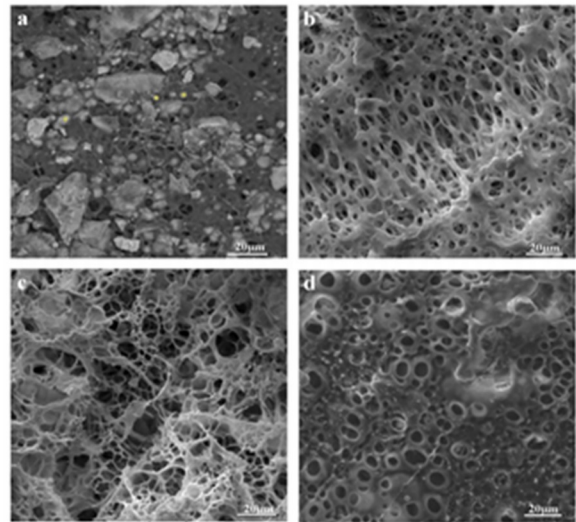
فواصل میان زنجیره‌های پلی‌پروپیلن فومارات نیز به واسطه پل‌های هیما افزایش می‌یابد؛ بنابراین خاصیت زیست‌تخریب‌پذیری پلی‌پروپیلن فومارات در کنار قابلیت جذب و حبس آب توسط گروه‌های هیدروکسیل (OH) فعال موجود در پل‌های هیما، منجر به ایجاد ساختاری متخلخل با حفراتی با ابعاد یکسان می‌گردد. این ترکیب مناسب پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما علاوه بر این‌که اندازه تخلخل‌های میکرونی را در سه بعد افزایش داده، ارتباط حفرات با بخش‌های داخلی‌تر را نیز افزایش داده و ساختاری متخلخل به‌هم‌پیوسته داخلی ایجاد کرده است که می‌تواند زمینه هدایت مناسب سلول‌های استخوانی را به سمت داخل شبکه فراهم کند. بنابراین به‌طور کلی با توجه به وجود تخلخل‌های میکرونی به‌هم‌پیوسته و استحکام مکانیکی قابل‌قبول برای SPHB.732/1.5 (۸/۳۱ MPa)، این ساختار به‌عنوان بهینه این گروه معرفی شده و در مراحل بعدی بهینه‌سازی، نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما معادل ۷۰/۳۰ در نظر گرفته می‌شود و سایر عوامل براساس آن بهینه‌سازی می‌شوند.

۳-۲-۲ بهینه‌سازی نانوذرات شیشه زیست‌فعال

اثر تقویت‌کنندگی نانوذرات شیشه زیست‌فعال بر استحکام مکانیکی به علت ماهیت سرامیکی آن‌ها می‌باشد که نسبت به ماتریس پلیمری دارای سفتی بیشتری هستند. هم‌چنین، پیوندهای هیدروژنی شکل گرفته میان گروه‌های هیدروکسیل ساختار هیما و گروه‌های فعال سطح نانوذرات شیشه زیست‌فعال [۳۹] در محل اشتراک این دو (ناحیه واکنشی) به افزایش استحکام کمک کرده و ابعاد نانویی ذرات شیشه زیست‌فعال که منجر به افزایش سطح ویژه آن‌ها می‌شود نیز، این برهم‌کنش را تقویت می‌کند. افزایش میزان نانوذرات شیشه زیست‌فعال در فرمولاسیون‌های پایه ساخت داربست اغلب منجر به افزایش استحکام فشاری می‌گردد که به دلیل شکل‌گیری داربستی کامپوزیتی با سفتی بیشتر نسبت به داربستی به‌بستری پلیمری خالص است [۴۰].

نمودارهای مربوط به استحکام فشاری ساختارهای تهیه‌شده به روش زیست‌الهامی با تغییر نسبت نانوذرات شیشه زیست‌فعال در شکل ۲ (b) نشان داده شده‌اند. مقایسه ساختارهای حاوی مقادیر مختلف نانوذرات شیشه زیست‌فعال

درصد تخلخل و ابعاد حفرات افزایش یافته است، با افزایش نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما، قابلیت تخریب پیوندهای استری و برهم‌کنش‌های محیطی تنها از طریق سطح افزایش می‌یابد و به دلیل اینکه شبکه‌ای شکل نگرفته است، تخلخلی هم در سه بعد ایجاد نمی‌شود. در شکل ۴ (a) SPHB.912/1.5 جوانه‌های آپاتیت ایجاد شده تنها در سطح ساختار با علامت + قابل مشاهده‌اند. از طرفی آب‌گریزی بیشتر ساختارهای حاوی نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیمای بالاتر، جذب آب را کم کرده که هم بر کاهش ایجاد تخلخل و هم بر قابلیت زیست‌سازگاری مؤثر خواهد بود [۳۸].

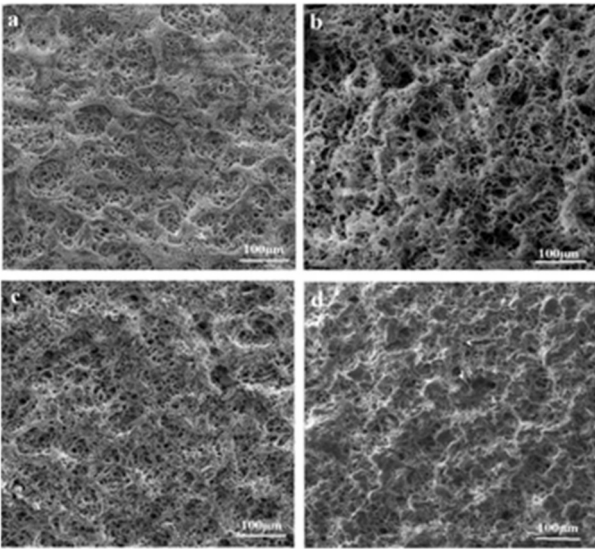


شکل ۴. تصاویر SEM ساختارهای ایجاد شده پس از چهار هفته غوطه‌وری در SBF هنگام تغییر دادن نسبت PPF/HEMA (a): SPHB.912/1.5، (b): SPHB.822/1.5، (c): SPHB.732/1.5 و (d): SPHB.642/1.5

علاوه بر مطالب ذکر شده، افزایش بیش از حد مونومر هیما منجر به کاهش سرعت تخریب به دلیل کاهش تعداد پیوندهای استری قابل‌تخریب در ساختار پلی‌پروپیلن فومارات می‌گردد؛ بنابراین نمونه SPHB.642/1.5 نیز اگرچه دارای یک شبکه سه‌بعدی کامل است، اما تخریب چندانی در آن رخ نمی‌دهد و قابلیت ایجاد تخلخل مناسبی ندارد (شکل ۴ (d))؛ مطالعه تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی این گروه نشان می‌دهد که نمونه SPHB.732/1.5 (شکل ۴ (c)) دارای بیشترین تخلخل با یکنواختی مناسب در سطح نسبت به سایر نمونه‌ها است. چنین پدیده‌ای قابل‌انتظار است، چراکه با افزایش مقدار هیما، شبکه کامل و منظم‌تری شکل می‌گیرد و

درصد و اندازه حفرات، مناسب‌ترین ساختار که تعادلی را میان استحکام و تخلخل ارائه می‌دهد، انتخاب شود؛ اما به‌هرحال بررسی مقادیر مدول الاستیک به‌دست آمده (شکل ۷) نشان می‌دهد که به‌طور تقریبی همه ساختارهای این گروه در گستره قابل‌قبولی برای کاربرد در استخوان‌های اسفنجی با مدول الاستیکی در گستره ۲۰-۵۰۰ MPa قرار گرفته‌اند [۴۶، ۴۷].

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی تهیه شده به‌منظور بررسی ساختار متخلخل متأثر از مقدار نانوذرات شیشه زیست‌فعال با مقادیر مختلف ۱۰-۴۰٪ پس از غوطه‌وری در مایع شبیه‌سازی شده بدن در شکل ۵ (a-d) نشان داده شده است.



شکل ۵. تصاویر SEM ساختارهای ایجادشده پس از چهار هفته غوطه‌وری در SBF هنگام تغییر دادن مقدار (a): NBG، (b): SPHB.731/1.5، (c): SPHB.732/1.5، (d): SPHB.733/1.5 و (d): SPHB.734/1.5.

همان‌طور که مشاهده می‌شود مورفولوژی ساختار به‌شدت متأثر از میزان نانوذرات است. ساختار فاقد نانوذرات شیشه زیست‌فعال خالص (SPHB.730/1.5) دارای حفراتی با ابعاد، شکل و توزیع یکنواخت است که اندازه حفرات در حدود ۲۰ میکرون است (شکل ۶ (a))، در حالی‌که نمونه‌های حاوی نانوذرات شیشه زیست‌فعال دارای مورفولوژی بسیار متفاوت و ابعاد حفرات بسیار بزرگ‌تر و گاهی نامتقارنی می‌باشند. این تغییرات می‌تواند ناشی از تغییر در آبدوستی سطح به‌واسطه حضور نانوذرات شیشه زیست‌فعال باشد که تخریب را تحت تأثیر قرار خواهد داد. اگرچه هیما منجر به افزایش آبدوستی ساختار می‌شود، اما حضور نانوذرات شیشه

(۴۰-۱۰ wt %) نسبت به ساختار فاقد نانوذرات شیشه زیست‌فعال (SPHB.730/1.5) نشان می‌دهد که حضور نانوذرات شیشه زیست‌فعال هنگام ثابت ماندن نسبت‌های وزنی سایر عوامل مؤثر بر ساخت داربست (نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما معادل ۷۰/۳۰ و جفت آغازگر به‌طور پیش‌فرض معادل ۱/۵٪)، تفاوت‌های قابل‌توجهی را در استحکام فشاری ایجاد می‌کند. استحکام فشاری نمونه‌های SPHB.734-731/1.5 به ترتیب از چپ به راست و از مقدار نانوذرات بیشتر به کمتر معادل: ۱۲/۶۴ MPa، ۸/۳۱، ۷/۳۹ و ۵/۲۲ است. بررسی این نمونه‌ها نشان می‌دهد که افزایش نانوذرات شیشه زیست‌فعال به بیش از ۲۰٪ وزنی منجر به کاهش استحکام فشاری داربست‌ها می‌گردد. شاید این پدیده به دلیل توزیع هتروژن نانوذرات در بستر پلیمری ناشی از تجمع و فزونی نانوذرات باشد که قابلیت ایجاد مکان‌هایی را برای تمرکز بیش از حد تنش فشاری و کاهش استحکام فشاری فراهم می‌کند [۴۱، ۴۲]. از طرفی با افزایش نسبت فاز غیرآلی به فاز آلی، ویژگی‌های کامپوزیت و در ادامه داربست تشکیل شده از آن، به ویژگی‌های فاز معدنی نزدیک‌تر است. این پدیده در کنار تخلخل‌های موجود در ساختار، می‌تواند زمینه را برای کاهش استحکام مکانیکی داربست فراهم کند. در حقیقت، افزایش نانوذرات شیشه زیست‌فعال به بیش از ۲۰٪ وزنی، منجر به کاهش چقرمگی داربست نهایی شده و تحمل ساختار را در برابر نیروهای فشاری کاهش می‌دهد و منجر به انهدام ساختار در تنش‌های کمتری می‌گردد [۴۳]. به‌طور مثال SPHB.734/1.5 دارای استحکامی (۵/۲۲ MPa) کمتر از نمونه پلیمری خالص SPHB.730/1.5 (۸/۱۱ MPa) است.

نتایج استحکام فشاری ساختارهای متخلخل ساخته‌شده بر پایه پلی‌پروپیلن فومارات تا حدودی نتایج حاصل از مطالعات گذشته را پیرامون افزایش استحکام فشاری ساختار هنگام افزودن ذرات سرامیکی مانند بتا-تری‌کلسیم فسفات‌ها، تأیید می‌کند [۴۴، ۴۵]، اما با توجه به اینکه در اینجا یک ساختار متخلخل وجود دارد، افزایش بیش از حد مقدار مطلوب نانوذرات شیشه زیست‌فعال، می‌تواند منجر به کاهش استحکام فشاری شود. در هر حال، جهت تعیین ساختار بهینه جهت کاربرد به‌عنوان داربست استخوانی، لازم است بررسی مورفولوژیکی ساختار نیز انجام شود و با توجه به توزیع،

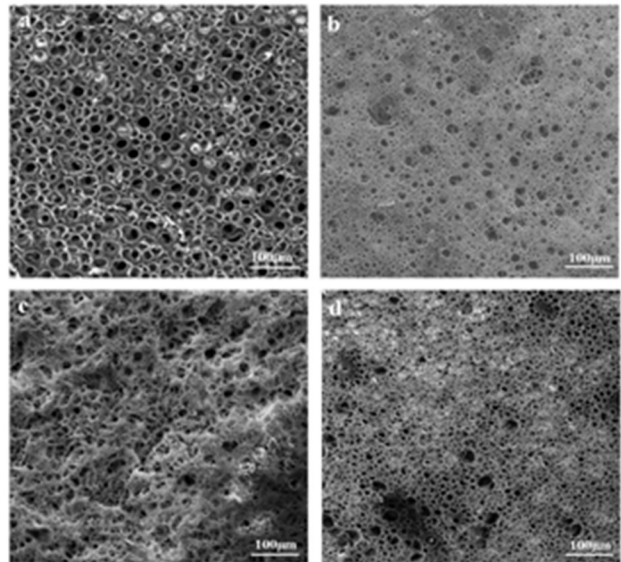
و دارای حفراتی مناسب جهت حمایت از رفتارهای سلول‌های استخوانی است. بنابراین با در نظر گرفتن استحکام فشاری و تخلخل‌های شکل گرفته می‌توان این نمونه را به‌عنوان بهینه در این مرحله در نظر گرفت. در ادامه ماتریس حاوی نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما معادل ۷۰/۳۰ و مقدار نانوذرات شیشه زیست‌فعال معادل ۲۰٪ وزنی به‌عنوان بهینه در مراحل قبلی در نظر گرفته شده و مرحله آخر بهینه‌سازی که مربوط به جفت آغازگر است، انجام شده است.

۳-۲-۳ بهینه‌سازی نسبت جفت آغازگر بنزوئیل پروکساید و ان و ان دی‌متیل آنیلین

نمودارهای استحکام فشاری مربوط به ساختارهایی که با تغییر جفت آغازگر بنزوئیل پروکساید و ان و ان دی‌متیل آنیلین بعد از چهار هفته غوطه‌وری در مایع شبیه‌سازی شده بدن تشکیل شده‌اند در شکل ۲ (c) نشان داده شده است. استحکام فشاری در نمونه‌ای که حاوی مقادیر کمتری جفت آغازگر است (SPHB.732/0.5؛ ۵,۹۸ MPa)، نسبت به مقادیر بالاتر تا ۱/۵٪ (SPHB.732/1.5؛ ۸,۳۱ MPa)، کمتر است که شاید به دلیل شبکه‌ای شدن ناکافی ساختار می‌باشد. در واقع مقدار کمتر جفت آغازگر، رادیکال‌های آزاد کمتری برای گشودن پیوندهای دوگانه پلی‌پروپیلن فومارات و ایجاد واحدهای فعال هیما فراهم می‌کند و همین امر موجب باز نشدن تمام پیوندهای دوگانه پلی‌پروپیلن فومارات می‌شود و همواره مقادیری از مواد شبکه‌ای نشده می‌تواند در نانوکامپوزیت پایه داربست باقی بماند. زمانی که چنین نانوکامپوزیتی در مایع شبیه‌سازی شده بدن غوطه‌ور می‌شود، تخریب به شدت افزایش یافته و شاید تخلخل‌های نامنظم‌تری نیز ایجاد می‌گردند [۳۷]. چنین ساختاری که شاید در آن ابعاد تخلخل‌ها می‌توانند بسیار متغیر باشند، دارای استحکام فشاری کمی خواهد بود.

با افزایش میزان جفت آغازگر تا ۱/۵٪ (SPHB.732/1.5)، شاید میزان رادیکال‌های آزاد تشکیل شده برای ایجاد شبکه و تشکیل پل‌های هیما کافی بوده و شبکه منظم‌تری شکل گرفته است، چرا که استحکام آن نسبت به SPHB.732/0.5 به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است. هم‌چنین افزایش مقدار جفت آغازگر تا ۲/۵٪ (SPHB.732/2.5) منجر

زیست‌فعال در سطح، می‌تواند علاوه بر تقویت آب‌دوستی سطح، قلیایی بودن محیط را نیز تحت تأثیر قرار دهد و بنابراین با افزایش میزان نانوذرات شیشه زیست‌فعال میزان تخریب در نانوکامپوزیت‌ها نیز افزایش می‌یابد [۴۸، ۴۹]؛



شکل ۶. تصاویر SEM از ساختار فاقد NBG و ساختارهای ایجاد شده پس از چهار هفته غوطه‌وری در SBF هنگام تغییر دادن درصد جفت آغازگر BPO+DMA (a)، SPHB.732/2.5 (b)، SPHB.732/1.5 (c)، و SPHB.732/0.5 (d).

اما افزایش نانوذرات شیشه زیست‌فعال تنها تا ۲۰٪ وزنی (SPHB.732/1.5) می‌تواند منجر به افزایش ایده‌آل تخریب و در ادامه ایجاد تخلخل مطلوب در ساختار گردد. با افزایش بیشتر میزان نانوذرات شیشه زیست‌فعال تا ۳۰ و ۴۰٪ وزنی (SPHB.733 و SPHB.731/1.5)، اندازه و تعداد تخلخل‌ها کاهش می‌یابد. این پدیده شاید به دلیل افزایش برهم‌کنش میان ذرات نانوذرات شیشه زیست‌فعال و ماتریس پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما می‌باشد [۴۱]. از طرف دیگر، افزایش مقدار نانوذرات شیشه زیست‌فعال منجر به افزایش چگالی هیدروکسی‌کربنات آپاتیت تشکیل‌شده روی سطح شیشه می‌گردد که می‌تواند فعالیت سطحی و آب‌دوستی نانوذرات شیشه زیست‌فعال را کاهش دهد؛ بنابراین با افزایش نانوذرات شیشه زیست‌فعال به بیش از ۲۰٪ وزنی، ابعاد حفرات و درصد تخلخل نیز کاهش می‌یابد.

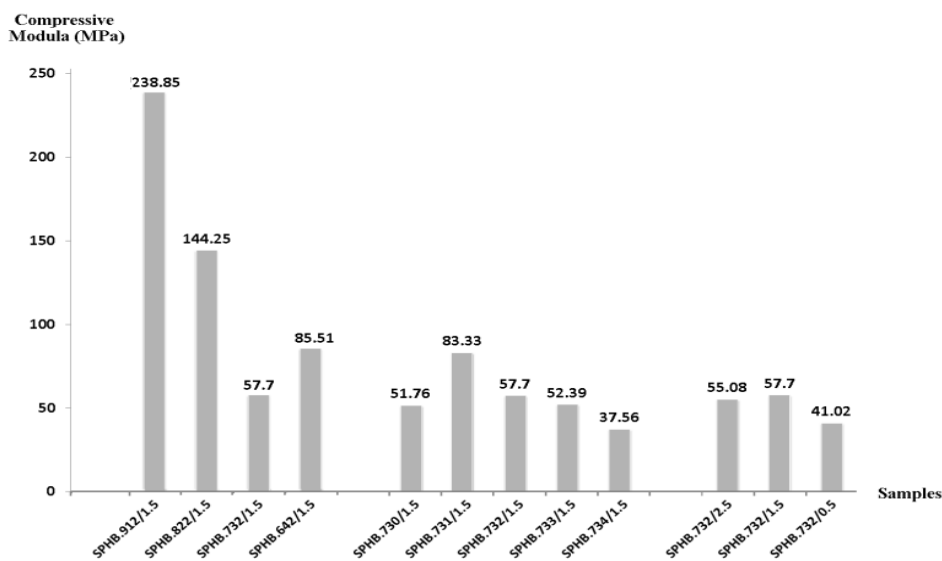
به‌هرحال با توجه به تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مربوط به تغییر مقادیر نانوذرات شیشه زیست‌فعال، به نظر می‌رسد که SPHB.732/1.5 از لحاظ ساختار یکنواخت‌تر

مونومرهای واکنش نکرده غیراشباع در ساختار وجود دارند؛ بنابراین در مدت زمان غوطه‌وری به دلیل شبکه ناقص ایجاد شده و از هم گسستگی داخلی ساختار، تخریب سرعت می‌یابد و در نهایت حفراتی به‌طور کامل بسته و غیرقابل نفوذ در سطح دیده می‌شوند. این ساختار نه تنها تخلخل مناسبی ندارد بلکه شاید به دلیل نقص در شبکه‌ای شدن نانوکامپوزیت اولیه‌اش، رهایش مونومرها و الیگومرهای واکنش نداده آن نسبت به سایر نمونه‌ها بسیار بیشتر است [۳۷] که می‌تواند تأثیرات نامطلوبی بر زیست‌سازگاری داشته باشد.

به‌هرحال، با افزایش درصد جفت آغازگر بنزوئیل پروکساید و آن و آن دی‌متیل آنیلین تا ۱/۵٪ (SPHB.732.1.5%)، ساختار دارای شبکه تقریبی کاملی است که بخش‌های بلندتر الیگومرهای هیما موجب ایجاد فاصله بیشتر میان زنجیره‌های پلی‌پروپیلن فومارات می‌شوند و شبکه قابل تخریب وسیع‌تری را می‌سازند و در نهایت تخلخل‌هایی مطلوب با توزیعی یکنواخت ایجاد می‌گردد. به‌طوری‌که الیگومرهای فعال هیما علاوه بر واکنش با زنجیره‌های پلی‌پروپیلن فومارات، فرصت ایجاد واکنش‌های عرضی بسیار زیادی را با یکدیگر پیدا می‌کنند؛ بنابراین ساختاری فوق‌العاده متخلخل ایجاد می‌شود که به دلیل ماهیت آب‌دوست هیما، جذب آب آن نیز به شدت افزایش می‌یابد [۵۱، ۵۲]؛

به شتاب گرفتن تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد واحدهای هیما بلندتر به دلیل افزایش واکنش میان پیش‌سازهای هیما می‌گردد [۳۷، ۵۰]؛ بنابراین پل‌های هیما با طول بیشتر مابین زنجیره‌های پلی‌پروپیلن فومارات قرار خواهند گرفت که در نهایت منجر به کاهش استحکام مکانیکی (SPHB.732/2.5؛ ۶/۸۸ MPa) می‌گردد. به‌نظر می‌رسد که مقدار جفت آغازگر ۱/۵٪ نسبت به ۰/۵٪ و ۲/۵٪ بسیار مؤثرتر عمل کرده و استحکام فشاری بالاتری را ارائه می‌دهد. برای تأیید مطالب بیان شده باید ساختارهای تولید شده با تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی بیشتر مورد بررسی قرار گیرند و قابلیت تشکیل تخلخل آن‌ها نیز ارزیابی گردد.

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی ساختارهای تهیه شده با مقادیر مختلف جفت آغازگر (۲/۵-۰/۵٪) پس از غوطه‌وری در مایع شبیه‌سازی شده بدن در شکل ۶ (b-d) نشان داده شده است. در نمونه حاوی کمترین مقدار جفت آغازگر (SPHB.732/0.5)، شکل ۶ (b) اگرچه حفرات اندکی بر سطح نمونه ایجاد شده است، اما تخلخل‌هایی با ابعاد مناسب (با توجه میله مقیاس تصویر) و به هم پیوستگی لازم برای کاربرد به‌عنوان داربست ایجاد نشده‌اند. همان‌طور که پیش‌تر گفته شد، مقدار کم جفت آغازگر منجر به شبکه‌ای شدن ناکافی ماتریس غیراشباع شده است، به‌طوری‌که هم‌چنان

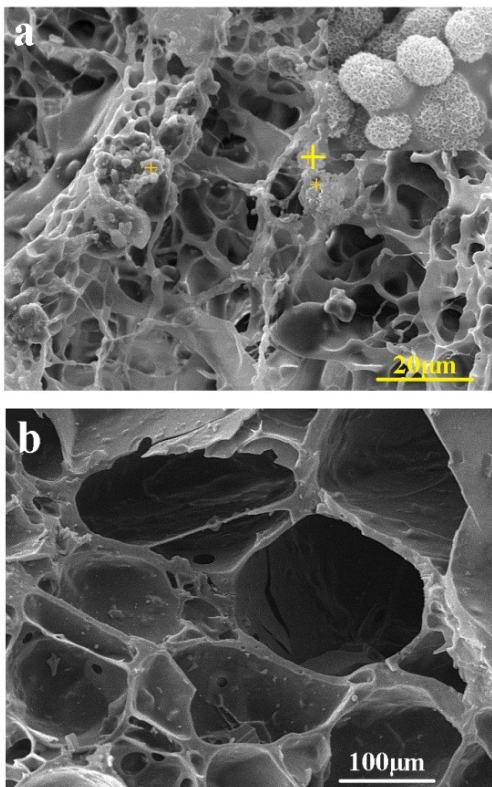


شکل ۷. نمودارهای مستطیلی مدول‌های الاستیک ساختارهای ایجاد شده پس از چهار هفته غوطه‌وری در SBF.

که بتواند از رفتارهای سلولی حمایت کند و هم‌چنین به علت تخلخل بسیار زیاد، ساختار نهایی از استحکام کمی برخوردار است. در چنین ساختاری احتمال نشت ماکرومرهای آلی

اما در این ساختار به دلیل واکنش‌های پلیمریزاسیون فراوان میان الیگومرهای هیما بسیار فعال، ابعاد تخلخل‌های ایجاد شده (با توجه به میله مقیاس تصویر) به اندازه‌ای نیست

ساختار را به خوبی نشان می‌دهد که ناشی از نفوذ موفق مایع شبیه‌سازی شده بدن به درون توده نانوکامپوزیت اولیه بوده که توانسته چنین حفرات باز و بهم‌پیوسته‌ای را ایجاد کند. حفرات داخلی دارای ابعادی در حدود $200 - 100 \mu\text{m}$ هستند که برای نفوذ سلول‌های استخوانی ایده‌آل به نظر می‌آیند. از این رو با توجه به تمامی آزمون‌های انجام شده به نظر می‌رسد که ساختار SPHB.732/1.5 دارای ساختاری با شباهت بسیار به استخوان طبیعی است و مدولی مناسبی را نیز جهت کاربرد به عنوان داربست ارائه می‌دهد (57.7 MPa)؛ بنابراین با توجه به تعادل مناسب میان تخلخل و استحکام فشاری در SPHB.732/1.5، این ساختار به عنوان بهینه انتخاب شده و برای کاربردهای داربست استخوانی معرفی می‌گردد.



شکل ۸. تصاویر SEM نمونه بهینه (SPHB.732/1.5). (a): ساختار سطحی و میکروذرات HCA تشکیل شده بر روی واحدهای پلیمری و (b): تصویر مقطع عرضی از درون توده ماده.

۴ - نتیجه گیری

به طور خلاصه، ما در این پژوهش نانوکامپوزیت‌های پلی‌پروپیلن فومارات/هیما/نانوذرات شیشه زیست‌فعال را با نسبت‌های مختلف پلی‌پروپیلن فومارات/هیما، نانوذرات شیشه زیست‌فعال و جفت آغازگر بنزوئیل پروکساید و ان وان دی-متیل آنیلین تهیه کردیم که پس از چهار هفته غوطه‌وری در

حاصل از تخریب که حاوی زنجیره‌های بلند هیمای متصل به واحدهای فوماریک اسید می‌باشند نیز دشوار است؛ بنابراین با توجه به داده‌های موجود، نمونه SPHB.732/1.5 به عنوان نمونه بهینه در این گروه نیز معرفی می‌شود.

نمودار هیستوگرام مدول الاستیک تمامی ساختارهای تشکیل شده به منظور مقایسه بهتر میان نمونه‌ها، در شکل ۷ نشان داده شده است.

مقایسه مدول‌های الاستیک حاصل از نمودارهای تنش- کرنش استحکام فشاری ساختارهای متخلخل سنتز شده بر پایه نانوکامپوزیت‌های پلی‌پروپیلن فومارات/هیما/نانوذرات شیشه زیست‌فعال با روش غوطه‌وری در مایع شبیه‌سازی شده بدن با مدول‌های گزارش شده از استخوان‌های اسفنجی انسان (MP ۵۰۰-۲۰) نشان می‌دهد که اغلب این ساختارهای متخلخل قابلیت کاربرد در استخوان به عنوان داربست را خواهند داشت. همان‌طور که مشاهده می‌شود بیشترین مدول مربوط به داربست‌هایی با مقادیر بالای نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/هیما است. به عنوان مثال، مدول الاستیک نمونه SPHB.912/0.5 (238.85 MPa) از تمامی نمونه‌ها بیشتر است، اما برای کاربرد به عنوان داربست استخوان مناسب نیست، چرا که لازمه استفاده از یک ساختار به عنوان داربست علاوه بر استحکام مکانیکی کافی، وجود تخلخل، توزیع تخلخل و ابعاد حفرات مناسب برای حمایت از رفتارهای سلولی است.

در شکل ۸ (a) میکروذرات هیدروکسی‌کربنات آپاتیت (با + نشان داده شده است) تشکیل بر روی سطوح ساختار متخلخل به خوبی قابل مشاهده است که نشان از زیست‌فعالیت ساختار نهایی به واسطه حضور نانوذرات شیشه زیست‌فعال است. میکروذرات آپاتیتی با منظره گل‌کلمی معروف، اتصال سلول‌های استخوانی را به سطح داربست افزایش داده و به پذیرش داربست توسط بدن کمک می‌کنند. رسوب ذرات هیدروکسی‌کربنات آپاتیت می‌تواند به دلیل ویژگی آب‌دوستی فرمولاسیون‌های پایه نانوکامپوزیتی زیست‌فعال باشد که اجازه نفوذ محلول را به درون ساختار پلیمری فراهم کرده و امکان ایجاد مکان‌های جوانه‌زنی برای شکل‌گیری لایه کلسیم فسفات را بر روی سطح نانوذرات شیشه زیست‌فعال میسر می‌سازد.

تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از مقطع عرضی SPHB.732/1.5 (شکل ۸ (b)) به هم پیوستگی داخلی

11. Schneider, O.D., Loher, S., Brunner, T.J., Uebersax, L., Simonet, M., Grass, R.N., Merkle, H.P. and Stark, W.J., Cotton wool-like nanocomposite biomaterials prepared by electrospinning: In vitro bioactivity and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 84 (2008) 350-362.
 12. Khera, R.A. and Iqbal, M., Nanoscale bioactive glasses and their composites with biocompatible polymers, *Chemistry International*, 1 (2015) 17-34.
 13. Foppiano, S. Marshall, S.J. Marshall, G.W., Saiz, E. and Tomsia, A.P., Bioactive glass coatings affect the behavior of osteoblast-like cells, *Acta biomaterialia*, 3 (2007) 765-771.
 14. Shi, X. and Mikos, A.G., Poly (propylene fumarate), CRC Press: Boca Raton, FL, (2006).
 15. Mikos, A.G., Payne, R.G. and Yaszemski, M.J., Poly (propylene fumarate), Google Patents, (1998).
 16. Shao, F., Yang, Q., Li, L. and Lu, D., Self-cross-linking kinetics of unsaturated polyester poly (fumaric-co-itaconic-co-butenediol), *Journal of Elastomers and Plastics*, 47 (2015) 293-305.
 17. Liu, X., Miller II, A.L., Waletzki, B.E., Yaszemski, M.J. and Lu, L., Novel biodegradable poly (propylene fumarate)-co-poly (L-lactic acid) porous scaffolds fabricated by phase separation for tissue engineering applications, *RSC advances*, 5 (2015) 21301-21309.
 18. Mistry, A.S., Pham, Q.P., Schouten, C., Yeh, T., Christenson, E.M., Mikos, A.G. and Jansen, J.A., In vivo bone biocompatibility and degradation of porous fumarate-based polymer/alumoxane nanocomposites for bone tissue engineering, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 92 (2010) 451-462.
 19. Cai, Z.-Y., Yang, D.-A., Zhang, N., Ji, C.-G., Zhu, L. and Zhang, T., Poly (propylene fumarate)/(calcium sulphate/ β -tricalcium phosphate) composites: Preparation, characterization and in vitro degradation, *Acta biomaterialia*, 5 (2009) 628-635.
 20. Peter, S.J., Miller, M.J., Yaszemski, M.J. and Mikos, A.G., POLYPROPYLENE FUMARATE), *Handbook of biodegradable polymers*, 7 (1998), 87.
 21. Henslee, A.M., Yoon, D.M., Lu, B.Y., Yu, J., Arango, A.A., Marruffo, L.P., Seng, L., Anver, T.D., Ather, H. and Nair, M.B., haracterization of an injectable, degradable polymer for mechanical stabilization of mandibular fractures, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 103 (2015) 529-538.
 22. He, S., Timmer, M., Yaszemski, M., Yasko, A., Engel, P. and Mikos, A., ynthesis of biodegradable poly (propylene fumarate) networks with poly (propylene fumarate)-diacrylate macromers as crosslinking agents and characterization of their degradation products, *Polymer*, 42 (2001) 1251-1260.
 23. Lan, P.X., Lee, J.W., Seol, Y.-J. and Cho, D.-W., Development of 3D PPF/DEF scaffolds using micro-stereolithography and surface modification, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20 (2009) 271-279.
 24. Hasirci, V., Litman, A., Trantolo, D., Gresser, J. and Wise, D., Margolis, H., PLGA bone plates reinforced with crosslinked PPF, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 13 (2002) 159-167.
 25. Xifeng, Liu., A. Lee, Miller. II., Brian. E, Waletzki., Yaszemski, Michael. j. and Lichun, Lu., Novel biodegradable poly (propylene fumarate)-co-poly (L-malic acid)-co-poly (L-glutamic acid) porous scaffolds fabricated by phase separation for tissue engineering applications, *RSC advances*, 5 (2015) 21301-21309.
- مایع شبیه‌سازی شده بدن، به ساختارهای متخلخلی تبدیل شدند. این ساختارهای متخلخل براساس خواص مکانیکی و مورفولوژی سطح، برپایه سه عامل سازنده فرمولاسیون نانوکامپوزیت‌ها بهینه‌سازی شدند. بهترین ساختار براساس توزیع تخلخل، ابعاد حفره و استحکام مکانیکی، به‌عنوان نمونه بهینه معرفی شد و خواص زیست‌فعالی آن مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت، نمونه SPHB.732/1.5 که بر پایه نانوکامپوزیت حاوی نسبت پلی‌پروپیلن فومارات/ هیما معادل ۷۰/۳۰، میزان نانوذرات شیشه زیست‌فعال معادل ۲۰٪ و جفت آغازگر بنزوئیل پروکساید و ان‌وان دی‌متیل آنیلین معادل ۱/۵٪ ساخته شده و در آزمون‌های درون آزمایشگاهی خواص خوبی را از خود ارائه کرده بود، به‌عنوان داربست استخوانی زیست‌فعال معرفی شد.
- ### مراجع
1. Yao, C.H., Tsai, H.M., Chen, Y.S. and Liu, B.S., Fabrication and evaluation of a new composite composed of tricalcium phosphate, gelatin, and Chinese medicine as a bone substitute, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 75 (2005) 277-288.
 2. Jones, J.R., Review of bioactive glass: from Hench to hybrids, *Acta biomaterialia*, 9 (2013) 4457-4486.
 3. Boccaccini, A.R., Erol, M., Stark, W.J., Mohn, D., Hong, Z. and Mano, J.F., Polymer/bioactive glass nanocomposites for biomedical applications: a review, *Composites Science and Technology*, 70 (2010) 1764-1776.
 4. Shin, H., Jo, S. and Mikos, A.G., Biomimetic materials for tissue engineering, *Biomaterials*, 24 (2003) 4353-4364.
 5. Rezwani, K., Chen, Q., Blaker, J. and Boccaccini, A.R., Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering, *Biomaterials*, 24 (2003) 4353-4364.
 6. Kokubo, T., Kim, H.-M. and Kawashita, M., Novel bioactive materials with different mechanical properties, *Biomaterials*, 24 (2003) 2161-2175.
 7. Jarcho, M., Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics, *Clinical orthopaedics and related research*, 157 (1981) 259-278.
 8. Le Geros, R.Z., Calcium phosphate-based osteoinductive materials, *Chemical reviews*, 108 (2008) 4742-4753.
 9. Loher, S., Reboul, V., Brunner, T.J., Simonet, M., Dora, C., Neuenschwander, P. and Stark, W.J., Improved degradation and bioactivity of amorphous aerosol derived tricalcium phosphate nanoparticles in poly (lactide-co-glycolide), *Nanotechnology*, 17 (2006) 2054.
 10. Misra, S.K., Mohn, D., Brunner, T.J., Stark, W.J., Philip, S.E., Roy, I., Salih, V., Knowles, J.C. and Boccaccini, A.R., Comparison of nanoscale and microscale bioactive glass on the properties of P (3HB)/Bioglass composites, *Biomaterials*, 29 (2008) 1750-1761.

- improved mechanical properties support collagen synthesis and mineralization of human osteoblast-like cells in vitro, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 64 (2003) 465-474.
41. Lei, B., Shin, K.-H., Noh, D.-Y., Jo, I.-H., Koh, Y.-H., Kim, H.-E. and Kim, S.E., Sol-gel derived nanoscale bioactive glass (NBG) particles reinforced poly (ϵ -caprolactone) composites for bone tissue engineering, *Materials Science and Engineering: C*, 33 (2013) 1102-1108.
 42. Zou, H., Wu, S. and Shen, J., Polymer/silica nanocomposites: preparation, characterization, properties, and applications, 2008, *Chemical Reviews*, 108 (2008) 3893-3.957.
 43. Yunos, D.M., Bretcanu, O. and Boccaccini, A.R., Polymer-bioceramic composites for tissue engineering scaffolds, *Journal of Materials Science*, 43 (2008) 4433.
 44. Peter, S.J., Kim, P., Yasko, A.W., Yaszemski, M.J. and Mikos, A.G., Crosslinking characteristics of an injectable poly (propylene fumarate)/ β -tricalcium phosphate paste and mechanical properties of the crosslinked composite for use as a biodegradable bone cement, *MRS Online Proceedings Library Archive*, 530 (1998).
 45. Peter, S.J., Lu, L., Kim, D.J. and Mikos, A.G., Marrow stromal osteoblast function on a poly (propylene fumarate)/ β -tricalcium phosphate biodegradable orthopaedic composite, *Biomaterials*, 21 (2000) 1207-1213.
 46. Athanasiou, K.A., Zhu, C.-F., Lanctot, D., Agrawal, C. and Wang, X., Fundamentals of biomechanics in tissue engineering of bone, *Tissue engineering*, 6 (2000) 361-381.
 47. Murugan, R. and Ramakrishna, S., Development of nanocomposites for bone grafting, *Composites Science and Technology*, 65 (2005) 2385-2406.
 48. Lei, B., Shin, K.H., Noh, D.Y., Koh, Y.H., Choi, W.Y. and Kim, H.E., Bioactive glass microspheres as reinforcement for improving the mechanical properties and biological performance of poly (ϵ -caprolactone) polymer for bone tissue regeneration, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 100 (2012) 967-975.
 49. Muster, T.H., Prestidge, C.A. and Hayes, R.A., Water adsorption kinetics and contact angles of silica particles, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 176 (2001) 226-253.
 50. Kabiri, K. and Zohuriaan-Mehr, M.J., Superabsorbent hydrogels from concentrated solution terpolymerization, *Iranian Polymer Journal*, 13 (2004) 423-430.
 51. Kiatkamjornwong, S. and Phunchareon, P., Influence of reaction parameters on water absorption of neutralized poly (acrylic acid-co-acrylamide) synthesized by inverse suspension polymerization, *Journal of applied polymer science*, 72 (1999) 1349-1366.
 52. Omidian, H., Hashemi, S., Sammes, P. and Meldrum, I., A model for the swelling of superabsorbent polymers, *Polymer*, 39 (1998) 6697-6704.
 - lactic acid) porous scaffolds fabricated by phase separation for tissue engineering applications, *RSC Advances*, 27 (2015) 21301-21309.
 26. Shahbazi, S., Jafari, Y. Moztarzadeh, F. and M.M. Sadeghi, G., Evaluation of effective parameters for the synthesis of poly (propylene fumarate) by response surface methodology, *Journal of Applied Polymer Science*, 131 (2014) 1-8.
 27. Shahbazi, S., Moztarzadeh, F., M.M. Sadeghi, G. and Jafari, Y., In vitro study of a new biodegradable nanocomposite based on poly propylene fumarate as bone glue, *Materials Science and Engineering: C*, 69 (2016) 1201-1209.
 28. Shahbazi, S., Jafari, Y. Moztarzadeh, F. and M.M.Sadeghi, G., Two novel methods for synthesizing poly (propylene fumarate): Technical aspects and role of vacuum and N2 purging effects, *Polyolefins Journal*, 4 (2016) 27-41.
 29. Mozafari, M., Salahinejad, E., Shabafrooz, V., Yazdimamaghani, M., Vashae, D. and Tayebi, L., Multilayer bioactive glass/zirconium titanate thin films in bone tissue engineering and regenerative dentistry, *International Journal of Nanomedicine*, 8 (2013) 1665-1672.
 30. Kokubo, T., Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment, *Acta Materialia*, 46 (1998) 2519-2527.
 31. Xia, W. and Chang, J., Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment, *Materials letters*, 61 (2007) 3251-3253.
 32. Elliott, J., Structure, crystal chemistry and density of enamel apatites, Ciba Foundation Symposium 205-Dental Enamel, Wiley Online Library, (1997) 54-72.
 33. Gao, C., Liu, T., Shuai, C. and Peng, S., Enhancement mechanisms of graphene in nano-58S bioactive glass scaffold: mechanical and biological performance, *Scientific reports*, 4 (2014).
 34. Townsend, P., Raux, P., Rose, R., Miegel, R. and Radin, E., The distribution and anisotropy of the stiffness of cancellous bone in the human patella, *Journal of biomechanics*, 8 (1975) 363-364 IN3 365-367.
 35. Gibson, L.J., The mechanical behaviour of cancellous bone, *Journal of biomechanics*, 18 (1985) 317-328.
 36. O'mahony, A.M., Williams, J.L. and Spencer, P., Anisotropic elasticity of cortical and cancellous bone in the posterior mandible increases peri-implant stress and strain under oblique loading, *Clinical Oral Implants Research*, 12 (2001) 648-657.
 37. Kabiri, K., Omidian, H., Hashemi, S. and Zohuriaan-Mehr, M., Synthesis of fast-swelling superabsorbent hydrogels: effect of crosslinker type and concentration on porosity and absorption rate, *European Polymer Journal*, 39 (2003) 1341-1348.
 38. Gorna, K. and Gogolewski, S., Invitro degradation and calcification of materials from poly (ϵ -caprolactone)-poly (ethylene oxide) diols and various chain extenders, *Journal of biomedical materials research*, 60 (2002) 592-606.
 39. Pishbin, F., Mouriño, V., Flor, S., Kreppel, S., Salih, V., Ryan, M.P. and Boccaccini, A.R., Electrophoretic deposition of gentamicin-loaded bioactive glass/chitosan composite coatings for orthopaedic implants, *ACS applied materials & interfaces*, 6 (2014) 8796-8806.
 40. Lu, H.H., El-Amin, S.F., Scott, K.D. and Laurencin, C.T., Three-dimensional, bioactive, biodegradable, polymer-bioactive glass composite scaffolds with