

Bioactive rod-like nanoparticles as novel filler for improving the properties of supramolecular polyester: synthesis and application

Mehdi Sadat-Shojai , Saeed Ghadiri-Ghalenazeri

Department of Chemistry, College of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

Abstract

Research subject: The use of hydroxyapatite nanoparticles (HAp) in traditional polymers as reinforcing agent has been reported. While there are a limited number of reports regarding the effect of HAp morphology on the mechanical properties of the polymeric matrix, no research on this effect on supermolecular polymers has been reported so far. This study investigates a hypothesis that incorporation of unidirectionally grown HAp nanoparticles (rod-like nanoparticles, rHAp) into supramolecular polycaprolactone (SPCL) leads to the synthesis of a new bioactive construct.

Research approach: For this, rHAp nanoparticles were first synthesized by microemulsion method and then functionalized with 2-ureido-4[1H]-pyrimidinone (UPy) groups. Moreover, PCL was functionalized and converted to supramolecular structures by reacting the hydroxyl terminal groups with UPy groups. Finally, SPCL/rHAp nanocomposites were synthesized by solution casting method and their structure and properties were examined using attenuated total reflection-Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM), universal testing machine and simulated body fluid (SBF).

Main results: According to the results, microemulsion is an efficient procedure for the synthesis of rod-like nanoparticles with high phase purity. On the other hand, based on the results, it is possible to functionalize these nanoparticles with UPy. Tensile test showed that by incorporation of these modified nanoparticles into SPCL, a significant increase in both elastic modulus and tensile strength can be observed. In fact, while the initial PCL was a waxy solid, modification with UPy and then incorporation of modified nanoparticles made it an elastic material. Finally, the obtained results indicated high bioactivity of supramolecular nanocomposites compared to the sample without filler. Therefore, supramolecular SPCL/rHAp nanocomposites with bioactive properties and dynamic character can be used as a suitable replacement for bone tissue defects.

key words

nanocomposite
rod-like nanoparticles
hydroxyapatite
polycaprolactone
bioactivity

*To whom correspondence should be addressed:
ms.shojai@shirazu.ac.ir

نانوذرات میله‌ای زیست‌فعال به‌عنوان پرکننده جدید برای بهبود خواص پلی‌استر
ابرمولکولی: سنتز و کاربرد

مهدی سادات شجاعی، سعید قدیری قلعه ناظری

شیراز، دانشگاه شیراز، دانشکده علوم، بخش شیمی

چکیده

موضوع تحقیق: استفاده از نانوذرات هیدروکسی‌آپاتیت (HAp) در پلیمرهای سنتی به‌عنوان فاز تقویت‌کننده گزارش شده است. در حالی که تعداد گزارش‌ها در رابطه با تأثیر ریختار HAp بر روی خواص مکانیکی زمینه پلیمری محدود است، تاکنون تحقیقی در رابطه با این اثر بر روی پلیمرهای ابرمولکولی ارائه نشده است. این مطالعه این فرضیه را بررسی می‌کند که واردسازی نانوذرات HAp رشدیافته از یک جهت (نانوذرات میله‌ای، rHAp) به درون پلی‌کاپرولاکتون ابرمولکولی (SPCL) منجر به سنتز ساختمان جدید زیست‌فعال می‌شود.

روش تحقیق: برای این منظور، ابتدا نانوذرات rHAp با روش ریزنامیزه سنتز شدند و سپس با گروه‌های ۲-یوریدو-۴-۱-هیدروژن‌آپیریمیدینون (UPy) عامل‌دار شدند. همچنین عامل‌دار کردن PCL و تبدیل آن به ساختارهای ابرمولکولی با واکنش دادن گروه‌های انتهایی هیدروکسیل با گروه‌های UPy انجام گرفت. در نهایت با روش ریخته‌گری محلول نانوکامپوزیت‌های SPCL/rHAp سنتز شدند و ساختار و خواص آن‌ها با طیف‌سنجی فرسرخ تبدیل فوریه بازتاب کلی تضعیف‌شده (ATR-FTIR)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، دستگاه آزمون عمومی و مایع شبیه‌سازی‌شده بدن (SBF) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج اصلی: بر اساس نتایج به‌دست آمده، ریزنامیزه، روشی کارآمد برای سنتز نانوذرات میله‌ای با خلوص فازی زیاد است. از طرف دیگر بر اساس نتایج، عامل‌دار کردن این نانوذرات با UPy امکان‌پذیر است. آزمون کشش نشان داد که با واردسازی این نانوذرات اصلاح شده به SPCL افزایش معنی‌دار هم در مدول کشسانی و هم در استحکام کششی مشاهده می‌شود. در واقع در حالی که PCL اولیه جامد مومی شکل بود، اصلاح با UPy و سپس واردسازی نانوذرات اصلاح‌شده، آن را به ماده کشسان تبدیل کرد. در نهایت، نتایج به‌دست آمده فعالیت زیاد زیستی نانوکامپوزیت‌های ابرمولکولی را در مقایسه با نمونه فاقد پرکننده نشان داد. بنابراین نانوکامپوزیت‌های ابرمولکولی SPCL/rHAp با خواص زیست‌فعالی و ماهیت پویا می‌توانند به‌عنوان جایگزینی مناسب برای ضایعه‌های بافت استخوانی مورد استفاده قرار گیرند.

فصلنامه علمی - پژوهشی بین‌رشته‌ای
سال پنجم، شماره ۳، نسخه ۱
پاییز ۱۴۰۰، صفحه ۶۹-۵۷

کلمات کلیدی

نانوکامپوزیت
نانوذرات میله‌ای
هیدروکسی‌آپاتیت
پلی‌کاپرولاکتون
زیست‌فعالی

*مسئول مکاتبات:

ms.shojai@shirazu.ac.ir

۱ مقدمه

از عوامل مهم در تحقیقات زیست‌مواد، قابلیت تنظیم خواص مواد از نظر تجزیه‌پذیری، فعالیت زیستی و رفتار مکانیکی است. به‌طور خاص در پزشکی ترمیمی و مهندسی بافت به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین زمینه‌های تحقیقاتی زیست‌مواد، مهم‌ترین چالش، توسعه داربست‌های مهندسی‌شده متخلخل در تقلید از زمینه برون‌سلولی (ECM) بافت هدف است، [۱،۲] تاکنون طیف گسترده‌ای از پلیمرهای سنتزی و طبیعی زیست‌تخریب‌پذیر همچون پلی(لاکتیک اسید) (PLA)، پلی‌کاپرولاکتون (PCL)، کلاژن، کیتوسان و سلولوز برای کاربردهای پزشکی مهندسی بافت معرفی شده‌اند [۳-۵]. برای مهندسی بافت موفق و در نتیجه امکان ایجاد بافت شبیه‌سازی شده، داربست بایستی علاوه بر زیست‌تخریب‌پذیری متناسب با سرعت بازتولید بافت هدف، دارای پایداری مکانیکی مطلوب و هماهنگ با بافت‌های اطراف کاشتنی باشد به‌طوری‌که تا زمانی که بافت جدید بالغ درون داربست متخلخل تشکیل شود بتواند عملکرد مکانیکی کاشتنی را پشتیبانی کند [۶]. با این حال، داربست‌هایی که تاکنون معرفی شده‌اند عمدتاً مشکل کم بودن خواص مکانیکی را دارند و به همین دلیل تحقیقات در یک دهه اخیر بر روی این چالش متمرکز بوده‌اند.

PCL یکی از پلی‌استرهای است که به‌طور گسترده به‌عنوان زیست‌ماده برای اهداف مهندسی پزشکی به‌خصوص ساخت داربست در مهندسی بافت استخوان استفاده شده است. طبقه جدیدی از پلیمرهای بر پایه ساختارهای استری قدیمی از جمله PCL که اخیراً توسعه یافته‌اند بر پایه‌ی ساختارهای ابرمولکولی با برهم‌کنش‌های ثانویه هستند که می‌توانند به ساختارهای مولکولی پیچیده تبدیل شوند [۷،۸]. در حالی که در پلیمرهای سنتی، واحدهای مونومری با یکدیگر توسط پیوندهای کوالانسی نگه داشته می‌شوند، واحدهای تشکیل‌دهنده ساختارهای ابرمولکولی با برهم‌کنش‌های ثانویه همچون پیوند میزبان-مهمان یا هیدروژنی نگه داشته می‌شوند. ماهیت برگشت‌پذیر و غیرکوالانسی برهم‌کنش‌های ابرمولکولی اجازه می‌دهد تا PCL ابرمولکولی (SPCL) به‌عنوان ساختار پویا مشابه با بافت طبیعی انسان عمل کند [۸،۹]. جایگزینی پیوندهای دائمی با پیوندهای پویا در پلیمرهای ابرمولکولی منجر به ویژگی‌های بسیار منحصر به فرد از جمله فعالیت الکتریکی، پاسخ به محرک‌ها و خودترمیم‌شوندگی می‌شود [۷-۱۰]. بعلاوه، واحدهای ساختاری پلیمرهای ابرمولکولی دارای وزن مولکولی نسبتاً کمی هستند و در نتیجه خواص پردازش‌پذیری زیادی از جمله انحلال آسان در حلال‌های آلی و دمای ذوب پایین دارند [۷،۹]. به‌دلیل این ویژگی‌ها، این مواد

گزینه بسیار خوبی برای استفاده در مهندسی بافت هستند، هرچند خواص مکانیکی نه چندان مطلوب، کاربرد آن‌ها را به‌شدت محدود می‌کند.

با وجود اینکه SPCL پلیمری با دوره تخریب طولانی مدت و مناسب برای مهندسی بافت استخوان است اما به‌تنهایی خواص مورد نیاز برای الگوبرداری و شبیه‌سازی بافت طبیعی استخوان را ندارد. از آنجا که بخش اصلی مواد معدنی استخوان هیدروکسی‌آپاتیت (HAP) است، ممکن است کامپوزیت SPCL با نانوذرات HAP، ترکیبی امیدوارکننده برای تهیه داربست‌های پلیمری با خواص مکانیکی و زیستی بهبود یافته باشد. HAP سنتزی، ماده معدنی بسیار آب‌دوستی است که قادر به افزایش آب‌دوستی بسیاری از پلیمرهای سنتزی از جمله PCL است که ماهیت آب‌گریز دارند [۱۱]. نانوذرات HAP همچنین دارای زیست‌سازگاری، استحکام مکانیکی و قابلیت استخوان‌سازی عالی هستند. در نتیجه، استفاده از نانوبلورهای HAP کمک قابل توجه‌ای به افزایش کارایی داربست‌های مورد استفاده در مهندسی بافت از نظر خواص مکانیکی، تمایز سلولی و تکثیر استئوبلاست می‌کنند [۱۱-۱۳]. هرچند مقاله‌های متعددی در رابطه با کامپوزیت‌های پلیمری HAP ارائه شده‌اند، اما در حال حاضر گزارش‌چندانی در رابطه با ساخت نانوکامپوزیت‌های ابرمولکولی بر پایه HAP در دست نیست.

برخی مطالعات نشان می‌دهند که اندازه بلور و ناهمسانگردی ابعادی و در نتیجه ریختار نهایی ذرات پرکننده از جمله HAP به‌شدت بر خصوصیات فیزیکی-شیمیایی و کاربردهای بالقوه آن‌ها تأثیر می‌گذارند [۱۴،۱۵]. از این رو، روش‌های سنتز، کنترل‌کننده اندازه و شکل HAP از اهمیت قابل توجهی برخوردار هستند. تاکنون روش‌های مختلفی از قبیل هم‌رسوبی [۱۶]، سل-ژل [۱۷]، سنتز الکتروشیمیایی [۱۸]، آبکافت [۱۹]، هیدروترومال [۲۰] و ریزنامیزه (microemulsion) [۲۱] برای سنتز کنترل‌شده نانوذرات HAP استفاده شده‌اند که در میان همه این فرایندها، فرآیند ریزنامیزه به‌دلیل کارایی بالا و قابلیت زیاد در کنترل ریختار بسیار مورد توجه است [۲۱،۲۲]. از آنجا که ذرات HAP طبیعی دارای ریختار میله‌ای و با ابعاد نانومتری هستند لذا بسیار جالب خواهد بود که در سنتز کامپوزیت‌های PCL/HAP از نانوذرات دارای رشد یک بعدی یعنی نانومیل‌های HAP استفاده شود. در واقع در این حالت می‌توان انتظار داشت که ذرات با ریختار میله‌ای شکل در مقایسه با ذرات با ریختار کروی یا بی‌شکل خواص مکانیکی زمینه‌های پلیمری را به‌طور قابل توجه‌ای افزایش دهند. اگرچه چندین گزارش در رابطه با استفاده از نانوذرات HAP با ریختار میله‌ای شکل در نانوکامپوزیت‌های پلیمری و داربست‌ها ارائه شده‌اند،

۲-۲ سنتز UPy

برای سنتز UPy، در مرحله اول ۱/۲ گرم ۲-آمینو-۴-هیدروکسی-۶-متیل پیریمیدینون به ۴۰ میلی‌لیتر هگزامتیلن دی‌ایزوسیانات اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه به‌طور متناوب فراصوت و با حداکثر سرعت چرخش مگنت هم‌زده شد. سپس، تعلیق حاصل شده به تدریج پس از ۱ ساعت حرارت‌دهی در دمای ۴۰ °C حل شد. در نهایت مخلوط فوق برای کامل شدن واکنش، در دمای ۱۰۰ °C به مدت ۱۶ ساعت حرارت داده شد. بعد از انجام واکنش، مخلوط سرد شد و هگزان نرمال به‌عنوان ضدحلال اضافه شد؛ رسوب حاصل با استفاده از سانتریفیوژ برای حذف هگزامتیلن دی‌ایزوسیانات اضافی فیلتر شده و ۵ بار با هگزان نرمال خشک شسته شد. رسوب سفیدرنگ به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ °C تحت فشار کاهش‌یافته خشک شد. گروه‌های عاملی UPy با استفاده از دستگاه طیف-سنج تبدیل فوریه (FTIR) مدل 8300 ساخت شرکت Shimadzu ژاپن شناسایی شدند و در نهایت ساختار شیمیایی آن توسط دستگاه طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته هیدروژن (¹H NMR) ۴۰۰ مگاهرتز مدل Avance III ساخت شرکت Bruker آلمان در حلال کلروفرم دوتره تأیید شد.

۲-۳ سنتز PCL ابرمولکولی (SPCL)

برای سنتز SPCL، در مرحله اول ۱/۲ گرم از واکنشگر UPy سنتز شده در بخش ۲-۲ در ۶۰ میلی‌لیتر کلروفرم خشک توسط هم‌زن مغناطیسی و فراصوت به مدت ۳۰ دقیقه به حالت تعلیق درآمد. از آنجا که UPy به راحتی در اکثر حلال‌ها حل نمی‌شود، سامانه تعلیق به تدریج طی ۲ ساعت در دمای ۱۰۰ °C و حداکثر چرخش هم‌زن در یک ظرف در بسته حل می‌شود. سپس ۰/۸۳۷ گرم از PCL جداگانه در ۱۲ میلی‌لیتر کلروفرم خشک حل شد و محلول UPy به محلول پلیمر اضافه شد. پس از افزودن ۱۸۱ میکرولیتر DBTDL، مخلوط حاصل در دمای ۷۵ °C به مدت ۱۶ ساعت بازروانی شد. سپس ۱/۵ گرم سیلیکاژل و مجدداً ۱۸۱ میکرولیتر DBTDL اضافه شد و واکنش به مدت ۴ ساعت دیگر در دمای ۷۵ °C دنبال شد. سرانجام مخلوط واکنش سرد شد، سیلیکاژل و UPy واکنش‌نکرده فیلتر شدند و فیلم SPCL با استفاده از روش ریخته‌گری محلول در قالبی با سطح مقطع دایره‌ای تشکیل شد. در نهایت PCL واکنش‌نکرده از داخل فیلم تشکیل شده با به‌کارگیری دی‌کلرومتان خشک از SPCL حذف شد. SPCL سنتز شده با استفاده از دستگاه FTIR شناسایی شد و سپس به کمک آزمون ¹H NMR در حلال کلروفرم دوتره تأیید شد. برای ارزیابی مقدار گروه‌های هیدروکسیل واکنش‌کرده PCL با UPy و در نتیجه میزان پیشرفت واکنش از آنالیز عنصری توسط دستگاه CHN مدل ECS 4010 ساخت

اما تاکنون نانومیله‌های HAp به‌عنوان تقویت‌کننده در زمینه PCL به خصوص SPCL استفاده نشده‌اند. بنابراین در مطالعه حاضر بررسی می‌شود که چگونه نانوذرات HAp با هندسه میله‌ای (rHAp) در سامانه SPCL خواص فیزیکی و شیمیایی نظیر خواص مکانیکی و زیست‌فعالی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. برای این منظور، در ابتدا، نانومیله‌های HAp با استفاده از روش امولسیون سنتز شدند. سپس با به‌کارگیری گروه‌های ۲-یوریدو-۴-۱-هیدروژن [پیریمیدینون (UPy)، ساختارهای PCL و نانوذرات سنتزی اصلاح شدند. در حالی که اصلاح سطحی نانوذرات برای بهبود توزیع و پخش‌شدگی آن‌ها در زمینه پلیمری لازم است، اصلاح گروه‌های انتهایی PCL برای تبدیل آن‌ها به ساختار ابرمولکولی لازم بود. از آنجا که موتیف‌های UPy ثابت دایمر شدن زیادی در حلال‌هایی مثل کلروفرم دارند، سامانه نانوکامپوزیت‌های ابرمولکولی با ترکیب کردن نانوذرات HAp اصلاح سطحی شده و SPCL در کلروفرم سنتز شدند و در نهایت خواص ساختاری و زیستی آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفتند. رویکرد ابرمولکولی در مقاله حاضر، فاصله بین پیوند کووالانسی میان ذرات و مولکول‌ها و اختلاط ساده ذرات و پلیمرها را از بین می‌برد که روش اول منجر به ساختارهای بسیار پایدار می‌شود که فاقد پویایی هستند و در مقابل، روش دوم ساختارهای بسیار پویایی را ایجاد می‌کند که فاقد پایداری هستند. در واقع، با استفاده از این رویکرد امکان کنترل پایداری و پویایی سامانه هم‌زمان وجود خواهد داشت.

۲-۲ تجربی

۲-۱ مواد

در این تحقیق از پلی‌کاپرولاکتون با گروه‌های انتهایی OH و وزن مولکولی متوسط عددی ۲۰۰۰ g/mol، ۲-آمینو-۴-هیدروکسی-۶-متیل پیریمیدین، ۱-۶-هگزامتیلن دی‌ایزوسیانات و دی‌بوتیل قلع دی‌لورات (DBTDL) که از شرکت سیگما آلدریج خریداری شده بودند در سنتز SPCL استفاده شدند. دی‌آمونوم هیدروژن فسفات، کلسیم نترات چهارآبه و ۲- [۴- (۲،۴،۴-تری متیل پنتان-۲-یل) فنوکسی] اتانول (TX-100) ساخت شرکت مرک برای سنتز rHAp استفاده شد. حلال‌های کلروفرم، دی‌کلرومتان، دی‌متیل فرمامید، اتانول، سیلیکوهگزان و هگزان نرمال از شرکت مرک تهیه و به‌صورت خشک استفاده شدند. سیلیکاژل (۴۰۰-۲۳۰ مش) از شرکت فلوکا خریداری شد. از کلسیم کلرید، سدیم برانش‌شده، بنزوفنون و غربال مولکولی ساخت شرکت فلوکا برای خشک کردن حلال‌ها استفاده شد. در طول آزمایش‌ها از آب یون‌زدایی شده استفاده شد.

شرکت Costech استفاده شد.

۲-۴ سنتز نانوذرات HAp با هندسه میله‌ای و گروه‌های سطحی UPy

برای تهیه rHAp از طریق روش امولسیون، TX-100، بوتانول و سیکلوهگزان به‌عنوان قالب نرم در شرایط حلال گرمایی استفاده شدند. برای این منظور، ۸ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ مولار کلسیم‌نیترات چهارآبه به‌صورت قطره‌ای به مخلوط روغنی متشکل از ۴/۸ میلی‌لیتر سیکلوهگزان، ۱۲/۸ میلی‌لیتر TX-100 و ۴/۸ میلی‌لیتر بوتانول اضافه شد. سپس، ۸ میلی‌لیتر محلول ۰/۳ مولار دی‌آمونیم‌هیدروژن‌فسفات با هم‌زدن و به‌طور مداوم به ریزنامیزه فوق در دمای محیط اضافه شد و pH با استفاده از محلول رقیق آمونیاک بر روی ۷/۸ تنظیم شد. سرانجام، ریزنامیزه شفاف حاصل‌شده در اتوکلاو در دمای ۱۶۰ °C به‌مدت ۱۲ ساعت حرارت داده شد. در نهایت، پودر سفید به‌دست آمده ابتدا سه بار با مخلوطی از اتانول-آتر (۵۰:۵۰) شسته شد تا محصولات جانبی محلول در آن حذف شوند و سپس در دمای ۶۰ °C خشک شد. ساختار بلوری و شیمیایی پودر نهایی به‌ترتیب با استفاده از پراش اشعه ایکس (XRD) مدل D8 advanced شرکت بروکر آلمان تحت تابش CuK α با طول موج ۱/۵۴۱۸ Å در محدوده ۲ θ از ۶۰-۲۰ با اندازه گام ۰/۰۵° و FTIR با استفاده از روش قرص پتاسیم‌برمید شناسایی شدند. ریختار و اندازه نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل Vega3 ساخت شرکت Tescan جمهوری چک و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مدل CM10 ساخت شرکت فیلیپس هلند مورد ارزیابی قرار گرفتند. ابعاد متوسط ذرات از طریق تحلیل شش عکس TEM تخمین زده شدند. در نهایت نیز زیست‌فعالی نانوذرات سنتز شده در مایع شبیه‌سازی شده بدن (SBF) در دمای ۳۷ °C مورد بررسی قرار گرفت.

به‌منظور دستیابی به پراکندگی و توزیع بهتر نانوذرات rHAp در زمینه پلیمری و بهبود فصل مشترک زمینه/پرکننده، گروه‌های هیدروکسیل در سطح rHAp با به‌کارگیری UPy سنتز شده در بخش ۲-۲ اصلاح شدند. برای این منظور، ۰/۲ گرم UPy در ۲۳ میلی‌لیتر کلروفرم خشک با حرارت‌دهی در دمای ۱۰۰ °C در حداکثر ۳ ساعت حل شد. سپس، ۰/۱ گرم از نانوذرات در ۷ میلی‌لیتر کلروفرم خشک به‌کمک حمام فراصوت، پخش شده و به محلول UPy اضافه شد. در نهایت چند قطره DBTDL اضافه شده و مخلوط واکنش در دمای ۷۵ °C به مدت ۵ ساعت تحت گاز نیتروژن خشک بازروانی شد. نانوذرات rHAp اصلاح‌شده ابتدا چندین بار با کلروفرم و دی‌متیل‌فرماید خشک، شسته شدند و سرانجام محصول نهایی در دمای ۵۰ °C خشک شد. برای تعیین مقدار اصلاح سطحی، تحلیل عنصری CHN

۲-۵ ساخت نانوکامپوزیت ابرمولکولی SPCL/rHAp و همچنین FTIR مورد استفاده قرار گرفتند.

برای ساخت نانوکامپوزیت‌های SPCL/rHAp، PCL ابرمولکولی سنتز شده در بخش ۲-۳ ابتدا در کلروفرم خشک در دمای اتاق حل شد. سپس، نانوذرات rHAp اصلاح شده در بخش ۲-۴ با غلظت ۱۵ درصد وزنی نسبت به پلیمر با به‌کارگیری حمام فراصوت در محلول حاصل به‌طور همگن معلق شدند. مخلوط/محلول حاصل‌شده در دمای ۶۰ °C به‌مدت ۴ ساعت قرار داده شد و سپس مخلوط مجدداً فراصوت شد. سرانجام، مخلوط به‌منظور ریخته‌گری به قالبی با سطح مقطع دایره‌ای منتقل شد تا در نهایت بعد از تبخیر حلال، فیلم یکنواختی ایجاد شود. از دستگاه طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه بازتاب کلی تضعیف‌شده (ATR-FTIR) برای تعیین گروه‌های عاملی نانوکامپوزیت‌های SPCL/rHAp در مقایسه با PCL ابرمولکولی و rHAp اصلاح‌شده استفاده شد. سپس برای مقایسه سطح فیلم‌های SPCL، PCL و نانوکامپوزیت آن از آزمون SEM استفاده شد. تعیین مدول و استحکام کششی فیلم‌های مورد نظر توسط دستگاه آزمون عمومی مدل Z020 ساخت شرکت Zwick/Roell آلمان انجام گرفت. همچنین زیست‌فعالی نانوکامپوزیت‌های ابرمولکولی در مایع SBF در دمای ۳۷ °C و در شرایطی مشابه با آنچه در منابع گزارش شده است [۲۳] مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۶ تحلیل آماری

همه داده‌های کمی، حاصل سه بار تکرار بودند و به‌صورت میانگین \pm انحراف از استاندارد گزارش شدند. همچنین داده‌های فوق با استفاده از آزمون Tukey و تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) با یکدیگر مقایسه شدند. تفاوت برای مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

۳ نتایج و بحث

۳-۱ شناسایی نانوذرات rHAp

با هدف افزایش اثر تقویت‌کنندگی نانوذرات معدنی HAp بر خواص مکانیکی نانوکامپوزیت‌های ابرمولکولی، سعی شد ذرات HAp با هندسه دوبعدی سنتز شوند. در این تلاش مطابق با نتایج XRD (شکل ۱-الف) و مقایسه بین الگوهای استاندارد ICDD مربوط به HAp و دی‌کلسیم‌فسفات (DCPA)، یعنی کارت‌های استاندارد ICDD شماره ۰۴۳۲-۰۹-۰۰ و ۰۰۸۰-۰۹-۰۰، مشخص شد درحالی‌که نانوذرات میله‌ای به‌طور عمده از فاز HAp تشکیل شده‌اند به‌دلیل استفاده از روش سنتز نامیزه مقداری فاز ناخالصی DCPA نیز وجود دارد. در واقع از داده‌های استخراج شده از طیف شکل ۱،

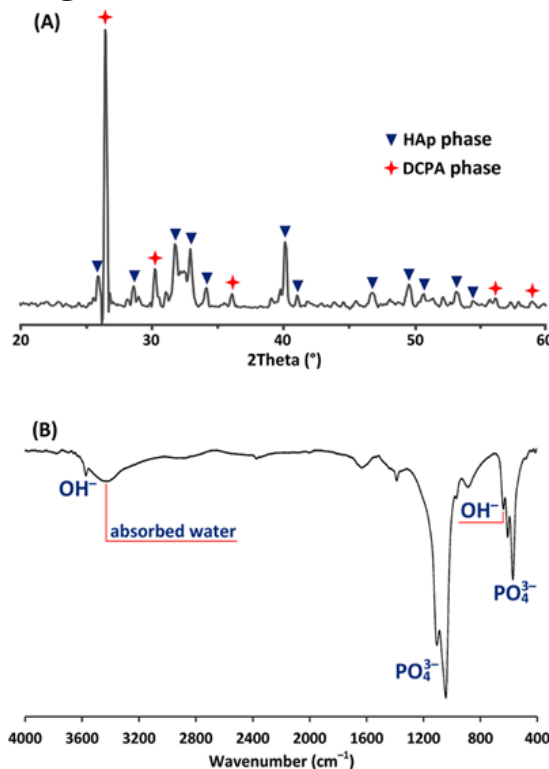
که در آن h (j k l) ارتفاع صفحه (j k l) است. مطابق با داده‌های استخراج شده از طیف XRD، شاخص تبلور بلورها ۱/۰۶ بود که نزدیک به شاخص تبلور HAp طبیعی است. برای بررسی بیشتر نانوذرات سنتز شده، گروه‌های عاملی با استفاده از روش FTIR مورد ارزیابی قرار گرفتند (شکل ۱-ب). بر اساس طیف به‌دست آمده، حضور گروه‌های فسفات و هیدروکسیل (هم بلوری و هم مربوط به آب جذب سطحی شده) اثبات شد [۱۶-۲۰].

ریختار نانوذرات سنتز شده ابتدا با روش SEM مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس شکل ۲-الف، نانوذرات rHAp سنتز شده با روش نامیزه به‌طور عمده به صورت میله‌های کشیده هستند که طول به قطر نسبتاً زیادی دارند. تشکیل ذرات با ریختار میله‌ای شکل نتیجه مستقیم روش نامیزه است که مبتنی بر استفاده از دو فاز غیرقابل اختلاط، یعنی محلول‌های کلسیم و فسفات (فاز آبی) همراه با حلال سیکلوهاگزان (فاز

می‌توان دریافت که سازگاری خوبی بین 2θ و فاصله بین صفحات در نمونه با کارتهای استاندارد فوق وجود دارد. مطابق طیف به‌دست آمده، از قله اختصاص داده شده به صفحه ۲۰ 2θ منطبق با $2\theta = 26.5^\circ$ برای تخمین اندازه بلورکها (D) با به‌کارگیری فرمول معروف شرر به شرح زیر استفاده شد [۲۴]:

$$D = \frac{k\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (1)$$

که در آن k فاکتور شکل برابر با ۰/۹، λ طول موج اشعه X ، β کل پهنای در نیمه حداکثر و θ زاویه پراش مربوط به تفکیک پراش پرتو X در نظر گرفته شده است. بر اساس فرمول فوق و طیف شکل ۱-الف اندازه بلورکها برای نمونه سنتز شده برابر با ۶۰/۵ نانومتر محاسبه شد. همچنین، تخمین درجه تبلور برای نانوذرات سنتز شده با اندازه‌گیری شاخص تبلور (CI) بر اساس درجه تفکیک چهار بازتاب اشعه X بین 2θ برابر با 30° و



شکل ۱ طیف XRD (A) و طیف FTIR نانوذرات معدنی rHAp. Fig. 1. XRD spectrum (A) and FTIR spectrum (B) of rHAp inorganic nanoparticles.

روغن) است. این فازها به‌ترتیب توسط TX-100 و بوتانول به‌عنوان مولکول‌های عامل سطح‌فعال و کمک-سطح‌فعال تثبیت می‌شوند. ریز قطرات حاوی یون‌های کلسیم و فسفات را می‌توان در سیکلوهاگزان تشکیل داد، و هنگامی که این ریز قطرات پراکنده می‌شوند، می‌توانند توسط یک لایه TX-100 و بوتانول احاطه شوند. در این مرحله، مولکول‌های TX-100 و بوتانول تشکیل نانوراکتور می‌دهند که در آن واکنش

35° درجه انجام گرفت. از آنجا که قله‌های HAp میله‌ای می‌توانند با قله‌های ناخالصی DCPA هم‌پوشانی داشته باشند، محاسبه شاخص تبلور با استفاده از صفحه‌های بلندتر در مقایسه با سایر روش‌ها، محاسبه دقیق‌تری است. برای این منظور، روش نیمه‌کمی Person و همکاران مورد استفاده قرار گرفت [۲۵،۲۶]:

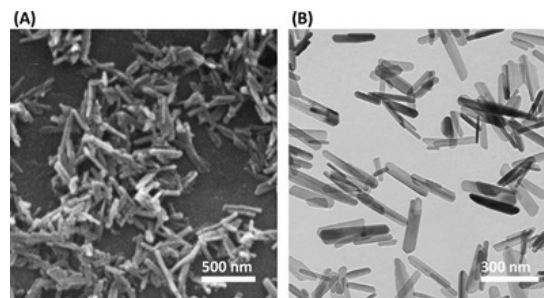
$$CI = \frac{h(202) + h(300) + h(112)}{h(211)} \quad (2)$$

انتظار می‌رود چنین فعالیت زیستی زیادی، نانوذرات فوق را به پرکننده ایده‌آلی برای نانوکامپوزیت‌های پلیمری تبدیل کند؛ موضوعی که در بخش‌های بعدی مورد ارزیابی قرار گرفت.

۳-۲ اصلاح نانوذرات rHAp با گروه‌های UPy

برای اصلاح نانوذرات rHAp، ابتدا گروه‌های UPy توسط واکنش بین هگزامتیلن دی‌ایزوسیانات و ۲-آمینو-۴-هیدروکسی-۶-متیل پیریمیدینون سنتز شدند. شکل ۴-الف نتایج به‌دست آمده از طیف‌سنجی $^1\text{H NMR}$ در کلروفرم دوتره را نشان می‌دهد. در حالی که طیف فوق ساختار شیمیایی UPy را تأیید می‌کند [۲۷]، وجود قله‌های تک در ۱۰/۲، ۱۱/۹ و ۱۳/۱ ppm بخش‌های

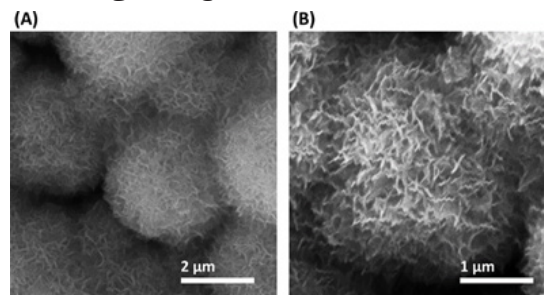
تشکیل rHAp انجام می‌شود. برای تأیید بیشتر نتایج و اندازه‌گیری ابعاد ذره‌ای، تصویر TEM مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۲-ب) که نشان داد در حالی که ذرات همگن هستند، قطر ذرات 50 ± 10 nm و طول آن‌ها 210 ± 40 nm است. همچنین نسبت طول به قطر تقریباً ۴ بود. علاوه بر این، تصویر TEM به‌وضوح توزیع اندازه نسبتاً یکنواختی را برای ذرات rHAp نشان داد، که نشان‌دهنده این است که روش نامیزه می‌تواند به‌طور موثر اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات را کنترل کند. این ویژگی به‌ویژه هنگامی مهم است که قرار است این نانوذرات برای به‌دست آوردن نانوکامپوزیت یکنواخت با خواص ساختاری همگن در یک پلیمر وارد شوند.



شکل ۲ تصاویر (A) SEM و (B) TEM نانوذرات معدنی rHAp.
Fig. 2. SEM (A) and TEM (B) images of rHAp inorganic nanoparticles.

مربوط به پیوندهای هیدروژنی را نشان می‌دهند و بنابراین نشان‌دهنده دوپاراش (dimerization) گروه‌های UPy از طریق خودمونتاژی در کلروفرم است. علاوه بر این، یک قله شدید پیریمیدینیل در ۵/۸ ppm نشان می‌دهد که گروه‌های UPy به صورت دوپاره هستند و مولکول‌ها منحصراً به صورت توتومر کتو وجود دارند. به‌منظور دستیابی به پراکندگی و توزیع بهتر نانوذرات در زمینه پلیمری و بهبود فصل مشترک زمینه/پرکننده، اصلاح سطحی گروه‌های هیدروکسیل موجود در سطح

اگرچه فعالیت زیستی مواد بر پایه کلسیم‌فسفات به‌طور گسترده‌ای گزارش شده است، اما گزارش معتبری در رابطه با زیست‌فعالیت نانوذرات میله‌ای HAp در دست نیست. در این تحقیق، نانوذرات rHAp در SBF برای مدت ۳۰ روز در دمای 37°C قرار گرفتند و سپس تصویربرداری SEM انجام گرفت. شکل ۳ تصاویر SEM را در دو بزرگ‌نمایی مختلف نشان می‌دهد. بر اساس ریزنگارهای فوق بعد از ۳۰ روز خواباندن نانوذرات در SBF، تبدیل جالب ریختار از هندسه میله‌ای شکل



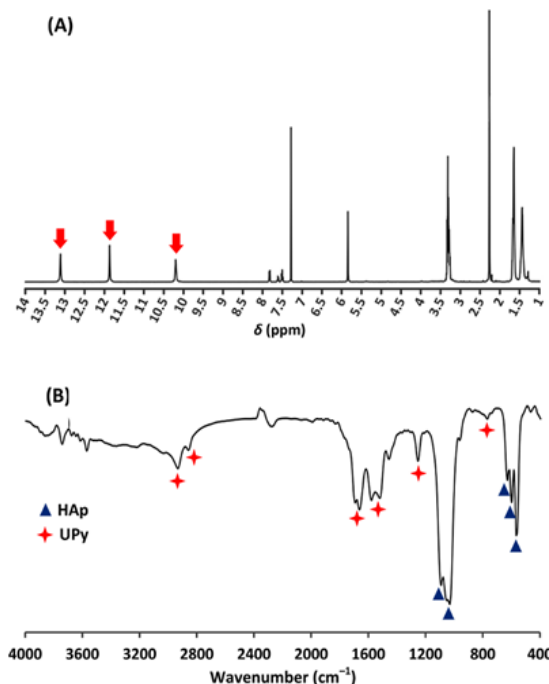
شکل ۳ تصاویر SEM نانوذرات معدنی rHAp در بزرگ‌نمایی کم (A) و بزرگ‌نمایی زیاد (B) بعد از ۳۰ روز خواباندن در محلول SBF.
Fig. 3. SEM images of rHAp inorganic nanoparticles at low magnification (A) and high magnification (B) after 30 days of incubation in SBF solution.

rHAp با استفاده از گروه‌های UPy سنتزی انجام شد. شکل ۴-ب طیف FTIR نمونه نانوذرات اصلاح سطحی شده را نشان می‌دهد. در این طیف علاوه بر قله‌های مشخصه HAp در ناحیه زیر 1400 cm^{-1} (مربوط به گروه‌های فسفات و هیدروکسیل در ساختار بلوری)،

به ساختار پوسته مانند صورت می‌گیرد که به‌وضوح نشان دهنده زیست‌فعالیت زیاد نانوذرات سنتز شده است. در واقع این تغییر شکل ریختار مربوط به تشکیل فاز جدید آپاتیت زیستی و به‌طور همزمان فرایند حل شدن-بلورزایی در طی خواباندن در محلول SBF می‌شود.

۲۹۱۰ و ۲۸۵۰)، C=O یورتانی (1720 cm^{-1}) UPy (1720 cm^{-1}) و ۱۶۵۰، ۱۶۲۰، ۱۵۸۰ و ۱۵۲۰ (1520 cm^{-1})، C-N (1240 cm^{-1}) و C-O-C (1172 cm^{-1}) هستند. به‌علاوه همان‌طور که در طیف فوق‌مشخص است قله NCO در ناحیه حدود 2280 cm^{-1} مشاهده نمی‌شود که بیانگر واکنش کامل گروه‌های فوق‌در UPy با گروه‌های هیدروکسیل در PCL است. در طیف $^1\text{H NMR}$ مربوط به SPCL مطابق با شکل ۵-ب چندین قله ظاهر می‌شود که از بین آن‌ها سیگنال‌ها در ۱۳/۱، ۱۱/۹، ۱۰/۱ و ۵/۹ ppm مربوط به بخش‌های موجود در گروه UPy هستند. همچنین رزونانس در ۴/۹ ppm مربوط به اتصالات یورتانی است

حضور گروه‌های UPy با برقراری پیوند کووالانسی با rHAp توسط ارتعاشات کششی نامتقارن و متقارن گروه‌های CH_2 و CH_3 در ناحیه $2840\text{--}3000 \text{ cm}^{-1}$ تأیید شد. همچنین قله‌هایی در 1580 ، 1520 ، 1257 cm^{-1} دیده می‌شوند همگی مربوط به حضور UPy بر روی سطح نانوبلورهای rHAp هستند. مهم‌تر اینکه همان‌طور که در طیف فوق‌مشخص است هیچ قله جذبی برای گروه‌های ایزوسیانات در ناحیه حدود 2200 cm^{-1} دیده نمی‌شود که بیانگر واکنش کامل گروه‌های فوق و برقراری اتصال کووالانسی UPy با سطح نانوذرات rHAp می‌باشد. به‌منظور تأیید بیشتر موفقیت



شکل ۴ (A) طیف $^1\text{H NMR}$ گروه UPy در کلروفرم دوتره؛ (B) طیف FTIR نانوذرات معدنی rHAp اصلاح‌سطحی شده.
Fig. 4. (A) $^1\text{H NMR}$ spectrum of UPy group in deuteriochloroform; (B) FTIR spectrum of surface-modified rHAp inorganic nanoparticles.

که به وضوح واکنش بین گروه‌های UPy و OH را تأیید می‌کند [۸،۲۸]. بنابراین طیف‌های FTIR و NMR نشان می‌دهند که PCL ابرمولکولی با موفقیت سنتز شده است. در نهایت، تجزیه و تحلیل نتایج عنصری CHN نشان داد که حدود ۶۶٪ از گروه‌های هیدروکسیل PCL با گروه‌های UPy واکنش داده‌اند که در واقع معادل با میزان پیشرفت واکنش است. نکته قابل توجه اینکه اصلاح پلیمر PCL با گروه‌های UPy منجر به تغییر بسیار شگرف در خواص ظاهری آن شد. در حالی که PCL اولیه جامد مومی شکل و نرم است، اصلاح با UPy آن را به ماده‌ای قوی، کشسان و انعطاف‌پذیر تبدیل می‌کند که به‌وضوح تشکیل پیوندهای هیدروژنی زنجیره‌ای ابرمولکولی را بعد از اصلاح نشان می‌دهد.

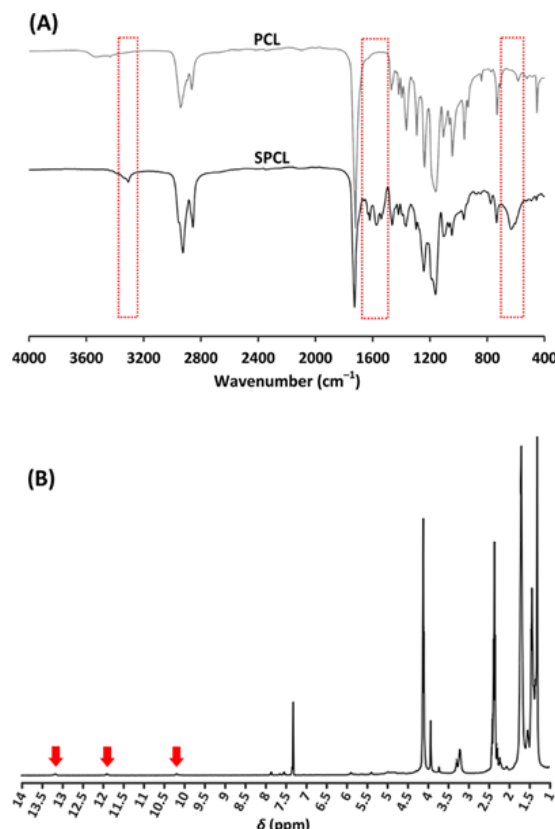
۳-۴ نانوکامپوزیت ابرمولکولی SPCL/rHAp

بعد از سنتز نانوذرات rHAp اصلاح‌سطحی شده با گروه‌های UPy و همچنین سنتز پلیمر ابرمولکولی

روند اصلاح سطحی با گروه‌های UPy، تجزیه و تحلیل عنصری نیز انجام گرفت. نتایج تحلیل عنصری قبل و بعد از اصلاح حضور عنصر نیتروژن را در نتیجه اصلاح نشان داد که مربوط به گروه شیمیایی UPy متصل شده به گروه‌های هیدروکسیل سطح rHAp است. بر اساس نتایج CHN، غلظت متوسط گروه‌های UPy بر روی سطح نانوذرات در حدود $1/05 \text{ mmol g}^{-1}$ تخمین زده شد که نشان‌دهنده درصد بالای اصلاح سطحی است.

۳-۳ شناسایی PCL ابرمولکولی

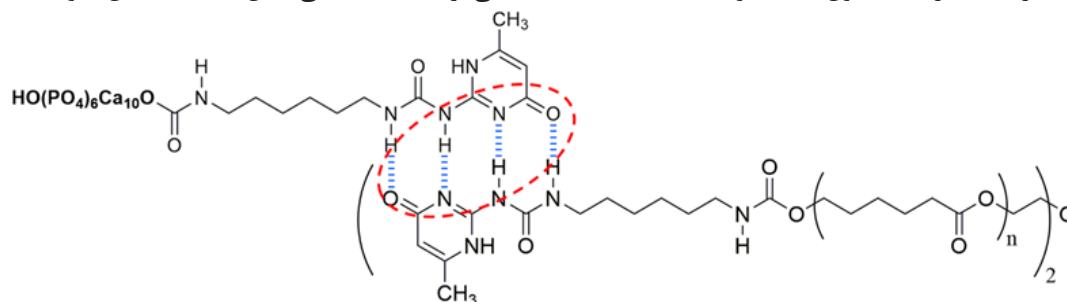
SPCL سنتز شده با روش‌های FTIR، NMR و CHN مورد شناسایی قرار گرفت. شکل ۵-الف طیف FTIR را برای SPCL (یعنی بعد از اصلاح) را در مقایسه با PCL (یعنی قبل از اصلاح) نشان می‌دهد. بر اساس شکل فوق همه گروه‌های عاملی SPCL در طیف FTIR به‌صورت قله‌های مشخص ظاهر شده‌اند. این قله‌ها شامل جذب برای N-H آمیدی (3200 cm^{-1})، CH_2 و CH_3 (cm^{-1})



شکل ۵ (A) طیف‌های FTIR برای نمونه PCL (کنترل) و نمونه SPCL؛ (B) طیف 1H NMR برای SPCL در کلروفرم دوتره.
 Fig. 5. (A) FTIR spectra of PCL (control) and SPCL; (B) 1H NMR spectrum of SPCL in deuteriochloroform.

مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس شکل ۷-الف همه قله‌های مشخصه مواد rHAp معدنی و PCL ابرمولکولی را می‌توان در طیف ATR-FTIR تأیید و تشکیل نانوکامپوزیت موردنظر را مشاهده کرد. به‌طور مشخص در حالی‌که جذب‌های مربوط به فاز معدنی در نواحی 1094 ، 1028 ، 962 ، 633 ، 603 و 562 cm^{-1} مشاهده می‌شوند، جذب‌های مربوط به فاز پلیمری ابرمولکولی در نواحی 1720 ، 1575 ، 1201 و 1146 cm^{-1} قرار می‌گیرند. همچنین قله‌های جذبی ناشی از گروه اصلاح‌کننده UPy که می‌تواند به سطح نانوذرات یا به انتهای زنجیرهای پلیمری متصل باشد و فصل مشترک پلیمر/پرکننده را تشکیل دهد در نواحی 1625 ، 1620 ، 1554 و 1520 cm^{-1} ظاهر شدند. یکی از اهداف اصلی این مطالعه این بود که نشان

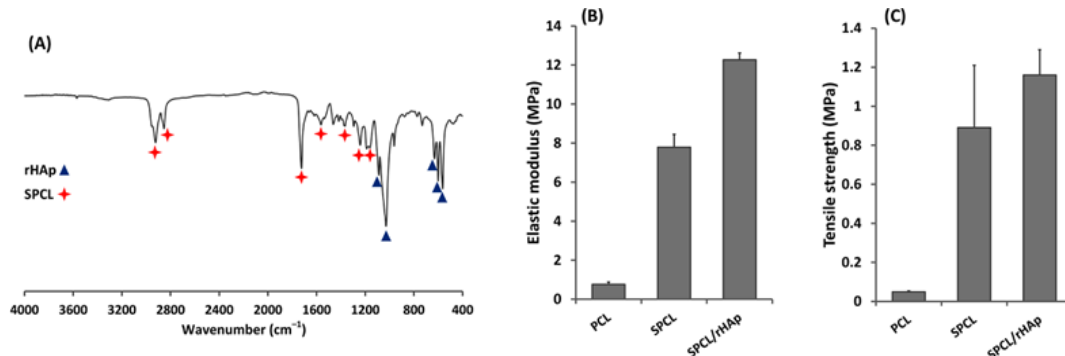
SPCL، نانوکامپوزیت ابرمولکولی SPCL/rHAp با هدف ایجاد ساختار فعال زیستی با خواص زیستی و مکانیکی مناسب برای بازسازی بافت طبیعی استخوان ساخته شد. در این نانوکامپوزیت همان‌طور که در شکل ۶ نشان داده شده است برهم‌کنش‌های هیدروژنی در فصل مشترک فاز تقویت‌کننده (یعنی rHAp) و زمینه پلیمری (یعنی SPCL) نقش کلیدی در تقویت خواص فیزیکی و مکانیکی ایفا می‌کنند. در واقع در اینجا ساختار به‌هم پیوسته‌ای ساخته شده است که در عین حال که به‌دلیل برگشت‌پذیر بودن پیوندهای هیدروژنی دارای ماهیت دینامیک است می‌تواند خواص فیزیکی و مکانیکی نانوکامپوزیت‌های سنتی را دارا باشد. فیلم نانوکامپوزیت ابرمولکولی ساخته‌شده با فرایند ریخته‌گری محلول ابتدا توسط ATR-FTIR



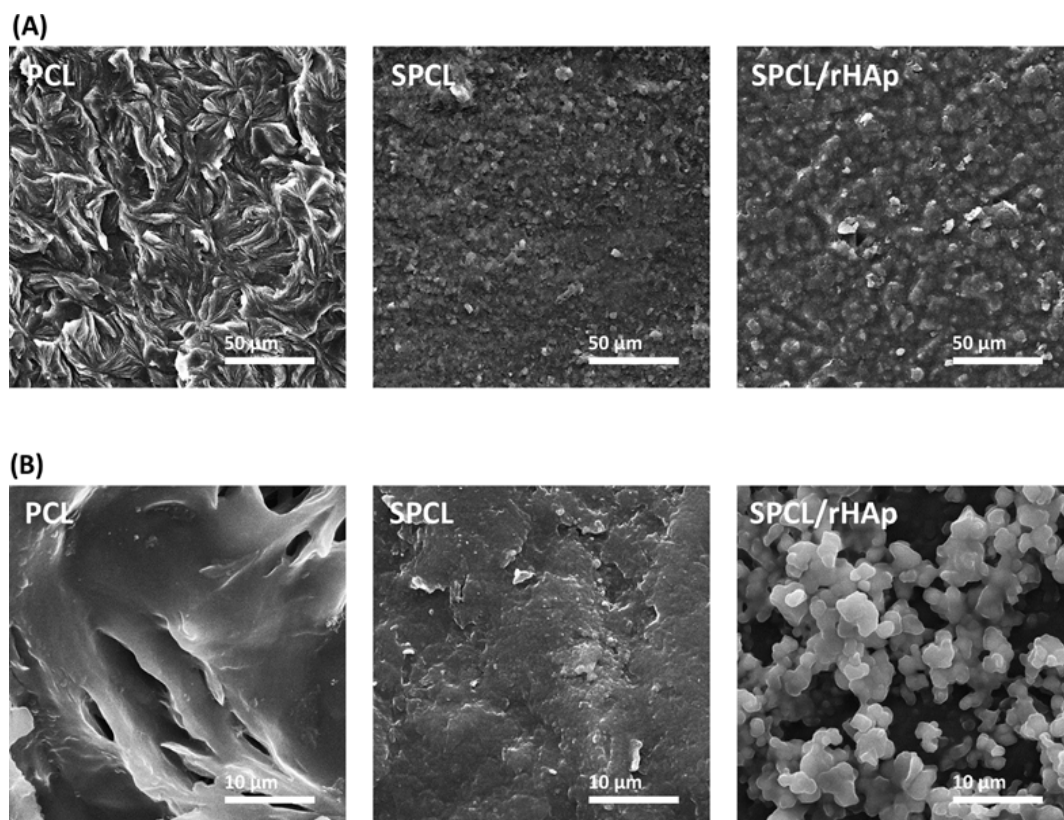
شکل ۶-طرح‌واره برهم‌کنش‌های هیدروژنی در فصل مشترک فاز تقویت‌کننده و زمینه پلیمری در نانوکامپوزیت سنتزی SPCL/rHAp.
 Fig. 6. Schematic representation of hydrogen interactions at the interface of reinforcing phase and polymeric matrix in the synthesized SPCL/rHAp nanocomposite.

اصلاح گروه‌های انتهایی هیدروکسیل در PCL با استفاده از UPy تأثیر شگرفی بر روی افزایش مشخصات مکانیکی دارد، واردسازی نانوذرات میله‌ای rHAp با گروه‌های سطحی UPy این افزایش در مشخصات مکانیکی را برجسته‌تر می‌کند. منطقی است که انتظار داشته باشیم هنگام بهبود فصل مشترک پرکننده با زمینه پلیمری چه از نظر گروه‌های شیمیایی و چه

داده شود استفاده هم‌زمان از نانوپرکننده‌های دوبعدی میله‌ای و اصلاح سطحی این نانوذرات تأثیر قابل توجهی بر روی خواص مکانیکی ساختارهای ابرمولکولی دارد. شکل‌های ۷-ب و ۷-ج به ترتیب نمودارهای مدول کشسانی و استحکام کششی را برای نمونه اصلاح نشده، نمونه SPCL و نمونه SPCL/rHAp نشان می‌دهند. نمودارهای فوق به روشنی نشان می‌دهند درحالی‌که



شکل ۷ (A) طیف ATR-FTIR برای نانوکامپوزیت سنتزی SPCL/rHAp؛ نمودار مدول کشسانی، (B) و نمودار استحکام کششی (C) نانوکامپوزیت سنتزی SPCL/rHAp در مقایسه با کنترل‌ها (یعنی PCL و SPCL)؛ نتایج به صورت میانگین \pm انحراف از استاندارد سه بار اندازه‌گیری هستند.
 Fig. 8. (A) ATR-FTIR spectrum of synthesized SPCL/rHAp nanocomposite; elastic modulus diagram (B) and tensile strength diagram (C) of synthesized SPCL/rHAp nanocomposite in comparison with the controls (i.e. PCL and SPCL); results are mean \pm standard deviation of three measurements



شکل ۸- (A) تصاویر SEM از ریختار سطح نانوکامپوزیت سنتزی SPCL/rHAp در مقایسه با کنترل‌ها (یعنی PCL و SPCL)؛ (B) تصاویر SEM نانوکامپوزیت سنتزی SPCL/rHAp و نمونه‌های کنترل (PCL و SPCL) بعد از ۳۰ روز خواباندن در محلول SBF.

Fig. 8. (A) SEM images of surface morphology of synthesized SPCL/rHAp nanocomposite in comparison with the controls (i.e. PCL and SPCL); (B) SEM images of synthesized SPCL/rHAp nanocomposite and control samples (PCL and SPCL) after 30 days of incubation in SBF solution.

نانوکامپوزیت ابرمولکولی PCL و پرکننده زیست‌فعال دوبعدی اصلاح‌شده به‌عنوان جایگزین‌های بافت استخوانی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نانوپرکننده‌های دوبعدی rHAp با توزیع اندازه ذرات باریک می‌توانند توسط روش ریزنامیزه سنتز شوند. به‌علاوه خلوص فازی و درجه بلورینگی زیاد همراه با زیست‌فعالیت بالای این نانوذرات اثبات شد. در نهایت پلیمر ابرمولکولی SPCL با موفقیت از طریق اصلاح گروه‌های انتهایی با UPy سنتز شد و با به‌کارگیری روش ریخته‌گری محلول با واردسازی نانوذرات rHAp که قبلاً با گروه‌های UPy اصلاح شده‌اند فیلم نانوکامپوزیتی ساخته شد. بر اساس خواص فیزیکی و مکانیکی اندازه‌گیری شده، نانوکامپوزیت‌های ساخته شده افزایش استحکام مکانیکی قابل‌توجهی را در مقایسه با نمونه PCL نشان دادند. در واقع در حالی که PCL اولیه، جامد مومی شکل و نرمی بود، اصلاح با UPy و سپس واردسازی نانوذرات اصلاح شده آن را به ماده‌ای قوی، کشسان و انعطاف‌پذیر تبدیل می‌کند. در نهایت نتایج آزمایشات زیستی، فعالیت زیاد زیستی نانوکامپوزیت‌های ابرمولکولی را در مقایسه با نمونه فاقد پرکننده نشان داد. با توجه به این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که نانوکامپوزیت‌های ابرمولکولی SPCL/rHAp با خواص زیست‌فعالی و پویایی ترمودینامیکی می‌توانند به‌عنوان جایگزینی مناسب برای ضایعه‌های بافت استخوانی مورد استفاده قرار گیرند. البته استحکام این نانوکامپوزیت‌ها هنوز فاصله قابل‌توجهی با استخوان طبیعی دارد و به همین دلیل افزایش بیشتر خواص مکانیکی از طریق راهکارهایی همچون استفاده از پرکننده‌های زیست‌فعال با ریختار پیچیده‌تر را می‌توان به‌عنوان پیشنهاد برای تحقیقات آتی مطرح کرد.

قدردانی

نویسندگان از دانشگاه شیراز به‌منظور تخصیص بودجه (شماره 97GCU1M256440) به طرح حاضر، تشکر و قدردانی می‌کنند.

از نظر مساحت سطح ویژه زیاد، توانایی پرکننده در حمل تنش افزایش می‌یابد و منجر به مدول زیادتر می‌شود. در واقع در اینجا وجود هم‌زمان چندین عامل از جمله ریختار میله‌ای نانوذرات rHAp، اصلاح سطحی آن‌ها و تقویت فصل مشترک زمینه/پرکننده به واسطه پیوندهای هیدروژنی اثر شگرفی در تقویت خواص مکانیکی فیلم نانوکامپوزیت ابرمولکولی گذاشته‌اند. بنابراین همان‌طور که قبلاً گزارش‌هایی در رابطه با اثر تقویت‌کنندگی ذرات با ریختار میله‌ای بر روی خواص فیزیکی زمینه‌های پلیمری سنتی وجود داشته است [۱۴، ۱۵]، در مقاله حاضر تأثیر این ریختار بر روی ساختارهای ابرمولکولی به اثبات می‌رسد.

ریختار و یکنواختی فیلم نانوکامپوزیت ابرمولکولی پارامترهای مهم هستند زیرا به‌شدت بر خصوصیات و عملکرد نهایی تأثیر می‌گذارند. شکل ۸-الف نشان می‌دهد که ریختار سطح فیلم‌ها هم در اثر اصلاح گروه‌های انتهایی PCL و هم در اثر واردسازی نانوذرات rHAp به‌طور معنی‌داری تغییر می‌کند که به نوبه خود نشانگر تغییر در خواص فیلم نهایی از جمله خواص مکانیکی است (شکل‌های ۷-ب و ۷-ج). در واقع این تفاوت‌ها به پیوندهای هیدروژنی بین زنجیره‌های ابرمولکولی و همچنین پیوندهای هیدروژنی بین زمینه و پرکننده نسبت داده می‌شوند به‌طوری‌که پلیمر PCL ماهیت شکننده و نرم دارد و سطح آن غیرمترکم است، در حالی که نانوکامپوزیت ابرمولکولی به‌صورت فیلمی با ساختار سخت و انعطاف‌پذیر و سطح مترکم است. در این تحقیق نانوکامپوزیت‌های SPCL/rHAp با هدف نهایی کاربرد در مهندسی بافت ساخته شدند و به همین دلیل بررسی خواص زیستی آن‌ها از جمله زیست-فعالیت ضروری به‌نظر می‌رسد. تصاویر SEM فیلم نانوکامپوزیت ابرمولکولی و نمونه‌های کنترل که به مدت ۳۰ روز در مایع SBF خوابانده شده‌اند در شکل ۸-ب نشان داده شده‌اند. همان‌طور که مشاهده می‌شود در حالیکه نمونه‌های کنترل (یعنی PCL و SPCL) فاقد هر گونه فعالیت زیستی هستند، نمونه SPCL/rHAp به‌وضوح رشد بلورهای همگن استخوانی را روی سطح خود نشان می‌دهد. بر اساس بررسی‌های EDX، بلورهای تشکیل‌شده عمدتاً از نوع کلسیم‌آپاتیت هستند. تشکیل این بلورها تنها به‌دلیل حضور نانوذرات زیست‌فعال HAp است که جذب یون‌های کلسیم و فسفات را از مایع SBF امکان‌پذیر می‌کند. بنابراین، نتایج این تحقیق به وضوح قابلیت بالای نانوکامپوزیت‌های SPCL/rHAp را برای کاربرد در کاشتنی‌های استخوانی و همچنین مهندسی بافت استخوان نشان می‌دهند.

۴ نتیجه‌گیری

در این مطالعه، سنتز، برهم‌کنش‌ها و خواص کاربردی

مراجع

- [1] Weigel T., Schinkel G., Lendlein A., Design and Preparation of Polymeric Scaffolds for Tissue Engineering, *Expert Review of Medical Devices*, 3, 835-851, 2006.
- [2] Sadat-Shojai M., Controlled Pattern of Cell Growth in Modulated Protein Nanocomplexes: Regulating Cells Spreading in Three Dimensions, *Materials Today*, 21, 686-688, 2018.
- [3] Nair L.S., Laurencin C.T., Biodegradable Polymers As Biomaterials, *Progress in Polymer Science*, 32, 762-798, 2007.
- [4] Kouya T., Tada S.I., Minbu H., Nakajima Y., Horimizu M., Kawase T., Lloyd D.R., Tanaka T., Microporous Membranes of PLLA/PCL Blends for Periosteal Tissue Scaffold, *Materials Letters*, 95, 103-106, 2013.
- [5] Hooshmand-Ardakani A., Talaei-Khozani T., Sadat-Shojai M., Bahmanpour S., and Zarei-fard N., In Vitro Characterization of Multilamellar Fibers with Uniaxially Oriented Electrospun Type I Collagen Scaffolds, *Advances in Materials Science and Engineering*, 2020, 1-13, 2020.
- [6] Sahoo N.G., Pan Y.Z., Li L., He C.B., Nanocomposites for Bone Tissue Regeneration, *Nanomedicine*, 8, 639-653, 2013.
- [7] Bosman A.W., Sijbesma R.P., Meijer E.W., Supramolecular Polymers At Work, *Materials Today*, 7, 34-39, 2004.
- [8] Mehmanchi M., Shokrollahi P., Atai M., Omidian H., Bagheri R., Supramolecular Polycaprolactone Nanocomposite Based on Functionalized Hydroxyapatite, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 27, 467-480, 2012.
- [9] Sadat-Shojai M., Ghadiri-Ghalenazeri S., A Modular Strategy for Fabrication of Responsive Nanocomposites Using Functionalized Oligocaprolactones and Hydroxyapatite Nanoparticles, *New Journal of Chemistry*, 44, 20155-20166, 2020.
- [10] Folmer B.J., Sijbesma R.P., Versteegen R.M., Van der Rijt J.A.J., Meijer E.W., Supramolecular Polymer Materials: Chain Extension of Telechelic Polymers Using a Reactive Hydrogen-Bonding Synthron, *Advanced Materials*, 12, 874-878, 2000.
- [11] Cho Y.S., Choi S., Lee S.H., Kim K.K., Cho Y.S., Assessments of Polycaprolactone/Hydroxyapatite Composite Scaffold with Enhanced Biomimetic Mineralization by Exposure to Hydroxyapatite via a 3D-Printing System and Alkaline Erosion, *European Polymer Journal*, 113, 340-348, 2019.
- [12] Sadat-Shojai M., Calcium Phosphate Reinforced Polyester Nanocomposites for Bone Regeneration Applications, in: Depan, D. (Ed.), *Biodegradable Polymeric Nanocomposites: Advances in Biomedical Applications*, Taylor & Francis Publisher (CRC Press), USA, 1-34, 2015.
- [13] Wutticharoenmongkol P., Pavasant P., Supaphol P., Osteoblastic Phenotype Expression of MC3T3-E1 Cultured on Electrospun Polycaprolactone Fiber Mats Filled With Hydroxyapatite Nanoparticles, *Biomacromolecules*, 8, 2602-2610, 2007.
- [14] Thomas P.C., Thomas S.P., George G., Thomas S., Kuruvilla J., Impact of Filler Geometry and Surface Chemistry on the Degree of Reinforcement and Rhermal Stability of Nitrile Rubber Nanocomposites, *Journal of Polymer Research*, 18, 2367-2378, 2011.
- [15] Sadat-Shojai M., Moghaddas, H., How Geometry, Size, and Surface Properties of Tailor-Made Particles Control The Efficiency of Poly (3-Hydroxybutyrate-Co-3-Hydroxyvalerate)/Hydroxyapatite Nanocomposites, *Journal of Applied Polymer Science*, 137, 49810, 2020.
- [16] Catros S., Guillemot F., Lebraud E., Chanseau C., Perez S., Bareille R., Amédée J., Fricain J.C., Physico-Chemical and Biological Properties of a Nano-Hydroxyapatite Powder Synthesized at Room Temperature, *Innovation and Research in BioMedical engineering*, 31, 226-233, 2010.
- [17] Padmanabhan S.K., Balakrishnan A., Chu M.C., Lee Y.J., Kim T.N., Cho S.J., Sol-gel Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Nanorods, *Particuology*, 7, 466-470, 2009.
- [18] Blackwood D, Seah K., Electrochemical Cathodic Deposition of Hydroxyapatite: Improvements in Adhesion and Crystallinity, *Materials Science and Engineering C*, 29, 1233-1238, 2009.
- [19] Štulajterova R, Medvecký L, Effect of Calcium Ions on Transformation Brushite to Hydroxyapatite in Aqueous Solutions, *Colloids and Surfaces A*, 316, 104-9, 2008.
- [20] Ali A.F., Alrowaili Z.A., El-Giar E.M., Ahmed M.M., El-Kady A.M., Novel Green Synthesis of Hydroxyapatite Uniform Nanorods via Microwave-Hydrothermal Route Using licorice Root Extract as Template, *Ceramics International*, 47, 3928-3937, 2021.
- [21] Prakash V.C.A., Venda I., Thamizharasi V.,

Sathya E., A New Attempt on Synthesis of Spherical Nano Hydroxyapatite Powders Prepared by Dimethyl Sulfoxide-Poly Vinyl Alcohol Assisted Microemulsion Method, *Materials Chemistry and Physics*, 259, 124097, 2021.

[22] Sun Y., Guo G., Tao D., Wang Z., Reverse Microemulsion-Directed Synthesis of Hydroxyapatite Nanoparticles Under Hydrothermal Conditions, *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 68, 373-377, 2007.

[23] Kokubo T., Takadama H., How Useful is SBF in Predicting in Vivo Bone Bioactivity? *Biomaterials*, 27, 2907-2915, 2006.

[24] Pang Y.X., Bao X., Influence of Temperature, Ripening Time and Calcination on the Morphology and Crystallinity of Hydroxyapatite Nanoparticles, *Journal of the European Ceramic Society*, 23, 1697-1704, 2003.

[25] Person A., Bocherens H., Mariotti A., Renard M., Diagenetic Evolution and Experimental Heating of Bone Phosphate, *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 126, 135-149, 1996.

[26] Sadat-Shojai M., Moghaddas H., Modulated Composite Nanofibers with Enhanced Structural Stability for Promotion of Hard Tissue Healing, *Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A, Science*, 45, 529-537, 2021.

[27] Li G., Wie J.J., Nguyen N.A., Chung W.J., Kim E.T., Char K., Mackay M.E., Pyun J., Synthesis, Self-Assembly and Reversible Healing of Supramolecular Perfluoropolyethers, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 51, 3598-3606, 2013.

[28] Xu S., Chang P., Zhao B., Adeel M., Zheng S., Formation of Poly(ϵ -Caprolactone) Networks via Supramolecular Hydrogen Bonding Interactions, *Chinese Journal of Polymer Science*, 37, 197-207, 2019.