فصلنامه سرامیک ایران

سنتز و ارزیابی خواص کامپوزیت شیشه‌های زیست‌فعال متخلخل چندجزئی (MBGs) دوپ‌شده با استرانسیوم و کبالت

رضوانه دوستی[۱]، گیتا باقری[۲]

[۱] گروه شیمی دارویی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهریار، شهریار، ایران

[۲] گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهریار، شهریار، ایران

نویسنده مسئول:
گیتا باقری
* Bagheri.gita@yahoo.Com

نوع مقاله: پژوهشی
صفحه‌های: ۸ تا ۱۷
شاپا چاپی: ۳۳۵۱-۱۷۳۵
شاپا الکترونیکی: ۳۰۹۷-۲۷۸۳
زبان نشریه: فارسی
دسترس‌پذیر در نشانی:
www.JICERS.ir
تاریخ دریافت:
۱۴۰۳/۰۹/۲۲
تاریخ پذیرش:
۱۴۰۳/۱۰/۳۰
DOR: 20.1001.1.17353351.1403.20.0.8.8

چکیده: *هدف: موضوع این تحقیق تهیه و مشخصه‌یابی شیشه‌های زیست‌فعال متخلخل چندجزئی (MBGs) به روش سل- ژل بر پایه یون‌های استرانسیم (Sr^{2+}) و کبالت (Co^{2+}) برای استراتژی‌های مهندسی بافت بوده است.*

نتایج اصلی: برای آنالیز MBGs از طیف‌های FTIR و XRD استفاده شد و آنالیز SEM توزیع یکنواخت کروی پراکنده را نشان داد همچنین رفتار حرارتی پلیمر توسط TGA مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج تست ضد باکتریایی MBGs نشان داد که کاملا در برابر مخمر کاندیدا آلبیکانس و باکتری اشریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس خاصیت ضدباکتریایی بسیارخوبی را نشان می‌دهند و عدم سمیت سلولی در مقایسه با نمونه شاهد دارای پتانسیل بالاتری بوده و می‌تواند به‌عنوان کاشتنی استخوانی دارای خواص ضدباکتریایی در کاربردهای مهندسی بافت استخوان مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه‌گیری مهم: Sr^{2+} و Co^{2+} به‌طور مشترک در MBGs جایگزین شدند تا پتانسیل استخوان‌سازی و خواص ضدباکتریایی را بدون تغییر اندازه، ریخت‌شناسی، بار سطحی منفی، ماهیت آمورف، ساختار متخلخل و اندازه منافذ ایجاد کنند.

کلمات کلیدی: *شیشه زیست‌فعال متخلخل، استرانسیم، کبالت، مهندسی بافت.*

۱- مقدمه و پیشینه

سنتز فرمولاسیون‌های پیچیده MBGs با چند ماده افزودنی هنوز یک چالش برای دانشمندان زیست‌مواد است. در سال‌های اخیر استفاده از روش‌هایی زیست‌فناورانه برای ترمیم و بازسازی دوباره بافت‌های زنده آغاز شده است. سرامیک‌های زیستی یک شاخه از سرامیک‌ها است که از آن‌ها در تهیه انواع مختلف موادزیستی برای کاربردهای پزشکی استفاده می‌شود. از میان آن‌ها، MBGs از لحاظ شیمیایی و ساختاری شباهت زیادی به مواد معدنی و غیرآلی استخوان دارند، MBGs در بدن کاشته‌شده و یا با مایعات زیستی در تماس قرار می‌گیرند و باعث ایجاد یک پیوند محکم مکانیکی با استخوان و یا بافت نرم می‌شوند و این اتصال با شکل‌گیری یک لایه نازک از هیدروکسی آپاتیت (HA) روی سطح شیشه انجام می‌گیرد [۱].

دلیل مناسب بودن MBGs برای استفاده‌های بالینی قابلیت رهایش یون‌ها و تخریب‌پذیربودن آن‌ها در بدن است. به دلیل این که ساختار MBGs محدود به استوکیومتری خاصی نبوده و امکان تغییر ترکیب وجود دارد. این موضوع موجب می‌شود که بتوان غلظت‌های مختلفی از یون‌ها که هرکدام خواص درمانی خاصی را به MBGs اضافه می‌کنند، ترکیب کرد. زمانی که MBGs در بدن حل می‌شود به‌طور پیوسته و کنترل‌شده این یون‌ها را آزاد می‌کنندکه یکی از جذابیت‌های MBGs همین خاصیت آن‌هاست.

یون‌های فلزی نه‌تنها برای سلامت انسان ضروری هستند، بلکه می‌توانند جایگزینی برای داروهای گران‌قیمت باشند. استفاده از چندین یون فعال‌زیستی در سال‌های اخیر رایج شده است، از جمله یون‌های فلزی Ag^{+}، Li^{+}، Co^{+2}، Ca^{2+}، Cu^{2+}، Zn^{2+}، Sr^{2+}، Fe^{2+}، Mg^{2+}، Ga^{3+} و B^{3+} است که برای ارتقای خواص عملکردی مانند استخوان‌زایی، رگ‌زایی، زیست‌فعالی، اثرات ضدباکتریایی و تعدیل ایمنی برای بازسازی بافت، و همچنین برای عفونت و درمان سرطان اضافه شده‌اند [۲]. MBGs را می‌توان برحسب نوع شبکه شیشه‌ای تشکیل‌دهنده و یا برحسب پایه‌های شیشه به سیلیکات (SiO_2)، فسفات (P_2O_5) یا بورات (B_2O_3) دسته‌بندی کرد.

استرانسیم (Sr^{2+}) مانند کلسیم یک عنصر جوینده استخوان است و عمدتاً در فاز معدنی استخوان و در نواحی متابولیک بالا وجود دارد [۳]. این عنصر قادر به ارتقاء تشکیل بافت استخوانی توسط استئوبلاست‌ها بوده و به تکثیر آن‌ها کمک کرده و فعالیت استئوکلاست‌ها را مهار می‌کند. آن‌ها حتی می‌توانند تمایز استخوانی را افزایش دهند و به تثبیت ساختار استخوان کمک کنند. به عبارتی Sr^{2+} می‌تواند تراکم استخوان را افزایش دهد و در نتیجه خطر شکستگی در پستانداران را از طریق دو مسیر افزایش فعالیت استئوبلاست و مهار عملکرد استئوکلاست‌ها را ارتقاء دهد [۶-۴]. کبالت (Co^{2+}) نیز به‌عنوان یک یون فلزی اغلب برای شرایط هیپوکسی القایی، رشد سلولی و رگزایی در نظر گرفته می‌شود و برای فعال‌سازی ژن‌های مرتبط با آنژیوژنز و در نتیجه ترویج بازسازی بافت استخوان استفاده می‌شود [۹-۷].

اخیراً MBGs در کاربردهای ترمیم زخم، حامل برای آزادسازی کنترل‌شده داروها، فاکتورهای رشد و یون‌های درمانی استفاده شده‌اند [۱۰]. ترکیبات MBGs معمولاً به سیستم‌های پایه ساده تعلق دارند (به‌عنوان مثال، سیستم‌های SiO_2-P_2O_5 دوتایی [۱۱] یا سه‌تایی (SiO_2-CaO-P_2O_5) [۱۲-۱۴] که می‌توان مقدار کمی از ناخالصی مورد نیاز را به آن اضافه کرد. مطالعات قبلی نشان داده است که حضور Co^{2+} در میکروسفرهای سیلیکات، مونتموریلونیت، هیدروکسی آپاتیت و سرامیک‌های اکسیدی منجر به فعالیت ضدباکتریایی عالی می‌شود [۱۵]. Co^{2+} همچنین نقش کلیدی را به‌عنوان عنصر فلزی در طیف وسیعی از مولکول‌ها از جمله ویتامین B12 و کوبالامین‌ها ایفا می‌کند [۱۶]. بااین‌حال، غلظت بالای این فلز سنگین ممکن است باعث آسیب شدید به اندام‌های مختلف مانند سیستم تنفسی، قلبی عروقی، عصبی و تولیدمثل شود [۱۷].

در سال‌های اخیر، تعداد فزاینده‌ای از مطالعات بر استفاده از Sr^{2+} و Co^{2+} در ساخت سازه‌های مهندسی بافت استخوان متخلخل متمرکز شده‌اند. اگرچه این مطالعات اطلاعات جدیدی در مورد اثر Sr^{2+} و Co^{2+} در شرایط in vitro و in vivo ارائه می‌دهند، تأثیر استفاده هم‌زمان از این دو یون بر استخوان‌زایی هنوز به خوبی درک نشده است. در مطالعه‌ای MBGs حاوی Sr^{2+} و Co^{2+} را در یک سیستم سیلیکات چندجزئی از طریق روش سل-ژل سنتز کردند و مهاجرت سلولی، سازگاری سلولی همه نمونه‌ها و همچنین اثرات مثبت آن‌ها را بر رده سلولی بررسی کرده و نتایج، توانایی بهبود عملکرد سلول‌های استئوبلاست را در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند [۱۸]. در مطالعات گذشته با استفاده از روش مشتق از مذاب، نمونه‌های مختلف با ترکیب متفاوت Sr^{2+} و Co^{2+} با Ca^{2+} جایگزین شده [۷] و وجود یون‌های Sr^{2+} و Co^{2+} باعث تاخیر در تشکیل لایه HCA می‌شود که در برخی از مطالعات قبلی نیز گزارش شده بود [۱۹]. در سال‌های اخیر از داربست‌های پلیمری به همراه MBGs برای کاربردهای بسیاری از جمله افزایش خواص باکتریایی، زخم‌پوش‌ها و یا القای تکثیر فیبروبلاست و اصلاح فعالیت‌زیستی و تمایز سلول‌های بنیادی استفاده شده است [۲۱-۲۰]. تجزیه و تحلیل NMR بیانگر کاهش پلیمریزاسیون شبکه شیشه‌ای با افزایش غلظت Sr^{2+} بوده و همچنین با افزایش غلظت Sr^{2+} توانایی تشکیل آپاتیت در شرایط آزمایشگاهی کاهش یافته و سطح ویژه نیز افزایش یافته است [۲۲]. در بسیاری از مطالعات نشان دادند که داربست‌های حاوی MBGs می‌توانند در بافر سدیم استات و سالین بافر فسفات تجزیه شوند و استئواکتیو بودن داربست‌ها نیز از طریق تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی پس از غوطه‌ورشدن آن‌ها در محلول بافر فسفات سالین، پتانسیل MBGs را برای ترمیم و بازسازی در مهندسی بافت استخوان تایید کرد [۲۱]. به عبارتی افزودن نانوذرات MBGs به داربست باعث بهبود سرعت مکانیکی و تخریب پلیمرهای آب‌گریز شده و علاوه‌بر آن چسبندگی، تکثیر و تمایز سلولی را تقویت کرده است [۲۴].

در این مطالعه، ترکیبات مختلف MBGS با درصدهای جدید حاوی یون‌های Sr^{2+} و Co^{2+} برای بررسی اثر هر یک از عناصر به تنهایی و همچنین تاثیرات هر دو آن‌ها بر ساختار شیمیایی و فیزیکی سنتز شده و در نهایت ترکیب بهینه مشخص شده است.

۲- روش تحقیق

۲-۱- مواد

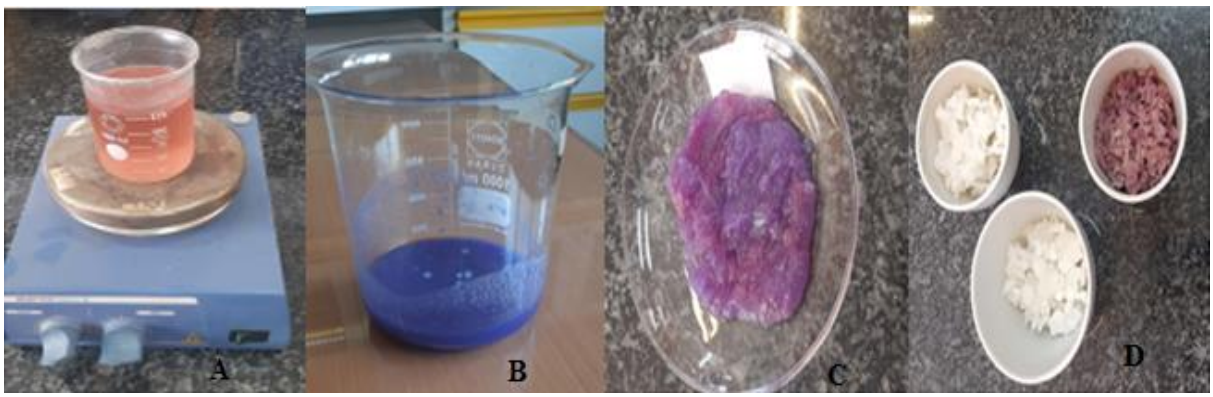
برای سنتز MBGs از ترکیبات شیمیایی، نیترات کبالت، نیترات استرانسیم، نیترات کلسیم، تترااتیل اورتوسیلیکات، تری‌اتیل فسفات، پلی‌کاپرولاکتون، کلرید سدیم، آمونیاک، اسید نیتریک، سود، کلروفرم، دی‌متیل سولفوکسید، آب دوبار تقطیر استفاده شده است. لازم به ذکر است تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک آلمان تهیه شده است.

۲-۲- آماده‌سازی MBGs

برای سنتز ابتدا آب مقطر را با اسید نیتریک ۰/۱ مولار به مدت ۱۵ دقیقه با استفاده از همزن مغناطیسی در دمای اتاق مخلوط کرده، سپس TEOS به محلول اضافه شده و به مدت ۱۱ ساعت در دمای اتاق همزده شد. TEP (۱/۲ گرم)، کلسیم نیترات ۴ هیدرات (۲۹/۱۸ گرم)، کبالت نیترات (۱/۲۸۳ گرم) و استرانسیم نیترات (۱/۳۷۶ گرم) به ترتیب اضافه شده و ۴۵ دقیقه برای انجام و تکمیل واکنش زمان داده شد و مخلوط نهایی به مدت ۶۰ دقیقه با استفاده از همزن مغناطیسی برای تکمیل روند هیدرولیز همزده شده است. برای ایجاد ژل، می‌توان از روش‌های مختلفی مانند تبخیر حرارتی یا افزودن ماده‌ای مانند آمونیاک به محلول استفاده کرد. سل حاصله در یک ظرف تفلون قرار داده شده و به مدت ۳ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. ژل خشک‌شده سپس در یک کوره در دمای ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت کلسینه شد تا نیترات‌ها و مواد آلی حذف شوند. شیشه تهیه‌شده را در داخل یک ظرف درب‌دار ریخته شد [۱۰]. نمونه‌های سنتزشده MBGs براساس ترکیباتشان که در جدول ۱ فهرست شده است، تهیه و برچسب‌گذاری شده‌اند. مراحل سنتز MBGs نیز در شکل ۱ آورده شده است.

جدول ۱: مقدار ترکیبات موجود MBGs

کدگذاری نمونه‌ها	ساختار MBGs	SiO_2 mol.%	CaO mol.%	P_2O_5 mol.%	SrO mol.%	CoO mol.%
MBG_1	58S-5% SrO	۶۰	۳۱	۴	۵	۰
MBG_2	58S-5% CoO	۶۰	۳۱	۴	۰	۵
MBG_3	58S-4% SrO-1% mol CoO	۶۰	۳۱	۴	۴	۱
MBG_4	58S-1% SrO-4% mol CoO	۶۰	۳۱	۴	۱	۴
MBG_5	58S-1% SrO-4% mol CoO	۶۰	۳۱	۴	۲/۵	۲/۵



شکل ۱: مراحل سنتز MBGs

۲-۳- ارزیابی و مشخصه‌یابی MBGs

۲-۳-۱- طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) MBGs

آنالیز FTIR (Thermo Avatar) برای بررسی شناسایی گروه‌های عاملی ترکیبات نمونه‌ها انجام شد تا ساختار و پیوند شیمیایی و پیک‌های حاصل در محدوده طیف cm^{-1} (۴۰۰۰ تا۴۰۰) مورد بررسی قرار گیرند.

۲-۳-۲-طیف‌سنجی پراش اشعه ایکس (XRD) MBGs

یکی از روش‌های متداول برای مشخصه‌یابی مواد پراش پودری پرتو ایکس است. همان‌طور که از نام آن پیداست نمونه معمولاً به‌صورت پودر و شامل دانه‌های خالص از مواد تک‌بلور است. این روش به‌طور گسترده برای بررسی ذرات در سوسپانسیون‌های مایع و جامدات پلی‌کریستال کاربرد دارد. موقعیت و شدت قله‌ها و پیک‌های حاصل از نمونه برای شناسایی ساختار یا فاز مواد مورد استفاده قرار می‌گیرند. به‌عنوان مثال خطوط پراش گرافیت متفاوت از الماس است درحالی‌که هر دو از اتم‌های کربن ساخته شده‌اند. داده‌های حاصل از پراش پودری را می‌توان با روش انتقال یا انعکاس جمع‌آوری نمود. برای نمونه‌های که به‌صورت جامد هستند معمولا پراش انعکاسی و برای نمونه‌های که مایع هستند پراش به‌صورت انتقال بررسی و آنالیز می‌شود.

۲-۳-۳- آنالیز حرارتی (TGA) MBGs

آنالیز TGA روشی برای بررسی رفتار ماده در مقابل حرارت است. ابتدا مقدار کمی از نمونه را در دستگاه قرار داده، سپس دستگاه به‌صورت تناوبی به نمونه حرارت می‌دهد. دستگاه جرم نمونه را در دماهای مختلف ثبت کرده و به‌صورت یک نمودار نمایش می‌دهد. در آنالیز TGA محور عمودی نشان‌دهنده جرم نمونه و محور افقی نشانگر دما است. نمودار از جرم اولیه نمونه شروع شده و افقی است. با افزایش دما به‌وسیله دستگاه، نمودار دیگر افقی نخواهد بود. این دما، دمای تخریب ماده است. دمای تخریب برای اهمیت دارد که تا چه محدوده دمایی با نمونه می‌توان کار کرد. درصورتی‌که دما، از دمای تخریب بالاتر رود، نمونه تخریب خواهد شد.

۲-۳-۴- آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) MBGs

آزمون SEM (TESCAN-MIRA) برای تعیین اندازه و ریخت‌شناسی نمونه‌های تهیه‌شده استفاده گردید. در این دستگاه یک دسته پرتو الکترونی به نمونه تابیده می‌شود. منبع الکترونی از نوع انتشار ترمودینامیکی رشته تنگستنی می‌باشد، معمولا الکترون‌ها بین ۳۰-۱ KeV شتاب می‌یابند. سپس با دو یا سه عدسی متمرکز، پرتو الکترونی را تاحدی کوچک می‌کنند تا موقع برخورد با نمونه، قطر آن حدودا بین ۱تا ۲ نانومتر شود.

۲-۳-۵- آنالیز خاصیت ضدباکتریایی MBGs

برای بررسی اثر ضدباکتریایی MBGs بر مخمر کاندیدا آلبیکانس و باکتری اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس از محیط کشت مولر هینتون آگار استفاده شد. مخمر کاندیدا آلبیکانس (ATCC10231) و باکتری اشریشیاکلی (ATCC 1388) و استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC11778) هرکدام جداگانه ۴۸ ساعت قبل از شروع آزمایش کشت داده شد، سپس ۲تا ۳ کلن از آن را به سرم فیزیولوژی استریل اضافه کرده و در کدورت ۰/۵ مک فارلند تنظیم گردید. سوسپانسیون مورد نظر با سوآپ استریل روی محیط سابور و دکستروز آگار کشت داده شده، سپس دیسک حاوی MBGs بارگذاری‌شده با آمفوتریسین B حل‌شده در دی‌متیل سولفوکساید و دیسک حاوی دی‌متیل سولفوکساید به‌عنوان کنترل و شاهد استفاده شد و همه نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرماگذاری شدند و قطر هاله عدم رشد توسط کولیس برحسب میلی‌متر خوانده شد [۲۵].

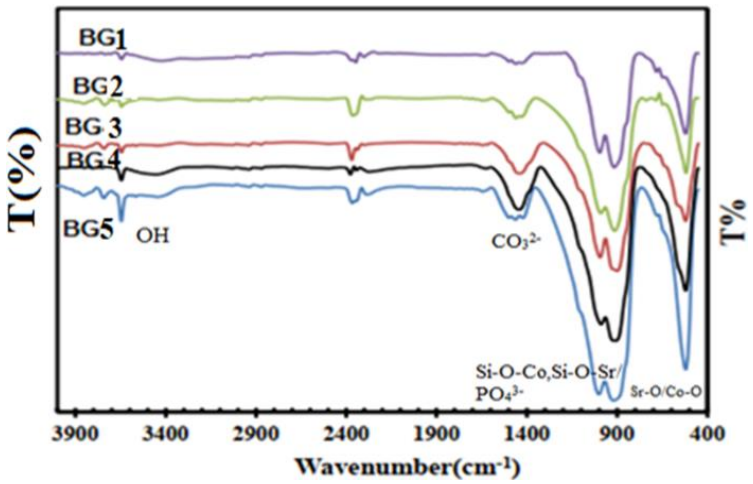
۲-۴- نتایج

۲-۴-۱- تفسیر طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) MBGs

شناسائی کیفی و کمی ترکیبات آلی که در ساختار MBGs، تعیین نوع گروه عاملی و پیوندهای موجود در مولکول‌های آن، توسط طیف FTIR مورد بررسی قرار می‌گیرد. آنالیز طیف‌های FTIR نمونه‌های سنتزشده MBGs در جدول ۲ و نمودار FTIR در شکل ۲ ارائه شده است.

جدول ۲: آنالیز طیف‌های FTIR نمونه‌های سنتزشده MBGs

کدگذاری نمونه‌ها	ساختار MBGs	Sr^{2+}/Co^{2+}	$Si-O-Si/PO_4^{3}$	CO_2^{2-}	CO_2	OH	COH	$Si-O-Co/ Si-O-Sr/PO_4^{3}$
MBG۱	58S-5% SrO	۵۲۰	۹۱۹	۱۴۶۲	۲۳۶۷	۳۶۴۶	۳۷۴۲	
MBG۲	58S-5% CoO	۵۲۰	۹۹۴	۱۴۳۳	----	۳۶۴۶	۳۷۴۰	۸۹۹
MBG۳	58S-4% SrO-1% mol CoO	۵۱۸	۹۹۰	۱۴۵۹	----	۳۶۴۵	۳۷۳۸	۹۱۳
MBG٤	58S-1% SrO-4% mol CoO	۵۲۰	۹۹۴	۱۴۳۳	----	۳۶۴۶	۳۷۴۰	۸۹۹
MBG٥	58S-1% SrO-4% mol CoO	۵۲۱	۹۹۶	۱۴۶۱	----	۳۴۲۶	۳۶۴۴	۹۱۵



شکل ۲: نمودار طیف‌های FTIR نمونه‌های سنتزشده MBGs

با افزودن Sr^{2+} به ترکیب مورد نظر پیک در ناحیه cm^{-1} ۵۱۸–۵۲۱ ظاهر شده که مربوط به پیوند Sr-O می‌باشد. پیک پهن موجود در ناحیه cm^{-1} ۹۲۰ نشان‌دهنده حضور ساختار SiO_2 و پیک ناحیه cm^{-1} ۱۴۵۹–۱۴۶۲ نشان از حضور گروه‌های کربنات در ترکیب مورد نظر می‌باشد. در مطالعات گذشته نیز باند وسیع مشاهده شده در محدوده cm^{-1} ۱۴۶۰–۱۵۶۰ در تمام نمونه‌ها مربوط به ادغام گروه‌های کربناته در لایه (HCA) آپاتیت هیدروکسی کربنات بود [۷]. پیک‌هایی در ناحیهcm^{-1} ۳۶۴۵ و cm^{-1} ۳۷۴۰ ظاهر شده که دلالت بر حضور گروه‌های هیدروکسیل در ترکیب مورد نظر است. علاوه‌بر این، نوارهای cm^{-1} ۳۴۳۴ با رزونانس O-H مطابقت دارد و پیک موجود در ناحیه cm^{-1} ۲۳۶۷ نیز به حضور گروه دی‌اکسید کربن موجود در هوا مربوط می‌شود [۲۶]. ظهور پیک‌ها در نواحی cm^{-1} ۸۹۹ و cm^{-1} ۹۹۰–۹۹۶ به‌ترتیب ناشی از ارتعاشات پیوندهای Si-O-Co و Si-O-Si (حضور ارتعاشات کششی Si-O با فلزات) می‌باشد و تاییدی بر صحت سنتز ترکیب مورد نظر بوده است، همچنین به دلیل تداخل پیک سلیس یا گروهای همچون فسفات پیک از پهن‌شدگی بالایی برخوردار است. پیوند طیف کربنات در ناحیه cm^{-1} ۱۴۳۳–۱۴۶۲ و گروه‌های هیدروکسیل در نواحی cm^{-1} ۳۶۴۶ و cm^{-1} ۳۷۴۰ ظاهر شده است. با افزودن هم‌زمان کبالت و Sr^{2+} پیک موجود در ناحیه cm^{-1} ۵۱۸ با شدت بالاتری ظاهر می‌شود که مربوط به پیوندهای Co-O و Sr-O بوده است. پهن‌شدگی پیک‌های نواحی cm^{-1} ۹۱۳ و ۹۹۰ به دلیل تداخل پیک ارتعاش پیوندهای Si-O با فلزات کبالت و Sr^{2+} و همچنین ارتعاشات گروه فسفات می‌باشد.

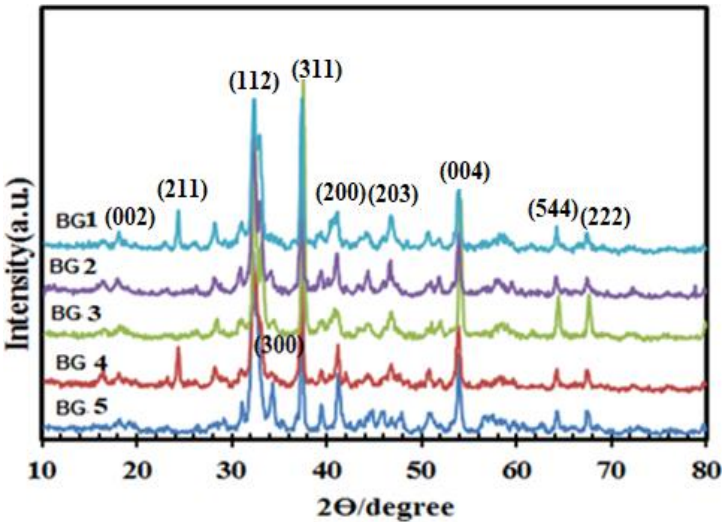
۲-۴-۲-تفسیر طیف پراش اشعه ایکس (XRD) MBGs

پیک‌های شاخص در MBG1 در ۲۲، ۳۱، ۳۲، ۳۷، ۴۱، ۵۳، ۶۷، ۷۲ و در MBG2 به‌ترتیب ۲۴، ۳۲، ۳۷، ۴۱، ۵۰، ۵۳، ۶۴، ۶۷ و در MBG3 به‌ترتیب ۳۲، ۳۷، ۴۰، ۵۴، ۶۴، ۶۷ و در MBG4 به ترتیب ۲۸، ۳۱، ۳۲، ۳۳، ۴۱، ۵۳، ۶۴، ۶۷ و در MBG5 به‌ترتیب ۲۴، ۲۸، ۳۲، ۳۷، ۴۰، ۴۶، ۵۳ گزارش شده است. در تمامی نمونه‌ها پیک‌های شاخص مربوط به ناحیه ۲۲ و ۲۴ و ۳۲ و ۳۳ درجه نشان داده شده که به ترتیب مربوط به صفحات (۰۰۲) و (۲۱۱) و (۱۱۲) و (۳۰۰) هستند. و پیک‌های شاخص در ۴۶ و ۵۳ و ۶۴ و ۶۷

درجه به صفحه‌های کریستالی (۲۰۳) و (۰۰۴) و (۵۴۴) و (۲۲۲) مربوط به ساختار استرانسیم هستند. از آنالیز طیف‌ها اندازه نانوذرات به‌ترتیب MBG1 مقدار ۸۴ نانومتر و MBG2 مقدار ۲۷ نانومتر و MBG3 مقدار ۸۲ نانومتر و MBG4 مقدار ۳۲ نانومتر و MBG4 مقدار ۲۹ نانومتر به‌دست آمده است. آنالیز طیف‌های XRD نمونه‌های سنتزشده MBGs در جدول ۳ و نمودار XRD در شکل ۳ ارائه شده است. در برخی مطالعات گذشته نتایج XRD نشان داد که تمام MBGs تولیدشده بی‌شکل بوده‌اند [۲۶]. در مطالعه دیگر نیز پیک وسیع بین ۱۸ تا ۳۵ درجه بیانگر حالت شیشه‌ای نمونه‌ها بوده و افزودن یون‌های Cu^{2+} و Co^{2+} موجب کاهش بلورینگی یا افزایش حالت‌های آمورف شبکه MBGs شده است [۲۷].

جدول ۳: آنالیز طیف‌های XRD نمونه‌های سنتزشده MBGs

کدگذاری نمونه‌ها	ساختار MBGs	FWHML	Peak Pos [2 Θ]	Size (nm)
MBG۱	58S-۵ % SrO	۰,۲۷۳۰	۰,۳۲۷۶	۸۴,۲۷
MBG۲	58S-5 % CoO	۰,۳۲۷۵	۰,۳۹۳۰	۲۷,۳۷
MBG۳	58S-4% SrO- 1% mol CoO	۰,۲۷۲۱	۰,۳۲۶۶	۸۲,۳۴
MBG٤	58S-1% SrO- 4% mol CoO	۰,۵۰۵۷	۰,۶۰۶۸	۳۲,۰۲
MBG٥	58S-1% SrO- 4% mol CoO	۰/۴۳۹۸	۰/۵۲۷۸	۲۹,۶۸

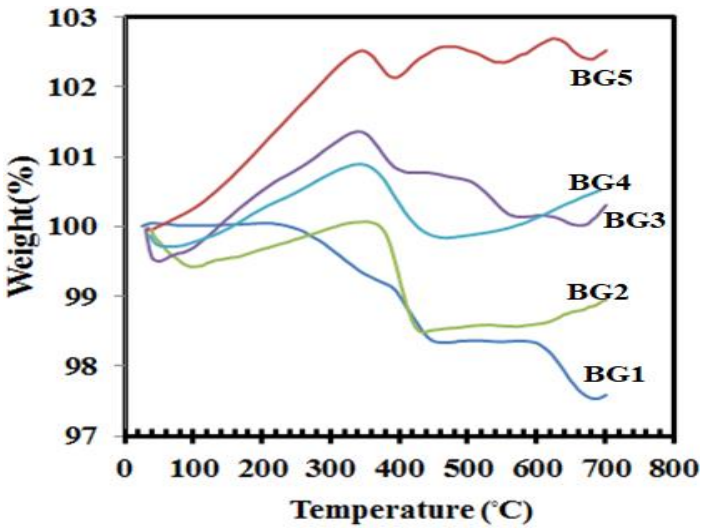


شکل ۳: نمودارطیف‌های XRD نمونه‌های سنتزشده MBGs

۲-۴-۳- آنالیز حرارتی (TGA) MBGs

در تست TGA نمونه‌ها در رنج دمای ۴۰۰-۳۹۰ درجه سانتی‌گراد، هر یک از نمونه‌ها درصد مشخصی کاهش وزن داشته اند. این مقادیر برای MBG1= ۲۴%، MBG1= ۳۱%، MBG1= ۶۳%، MBG1= ۱۰%، MBG1= ۲۵% بوده است. این مهم نشان‌دهنده حضور درصد بیش‌تر یک نوع مونومر در ساختار BG3 است. نمودار TGA نمونه‌های سنتزشده MBGs در شکل ۴ ارائه شده است.

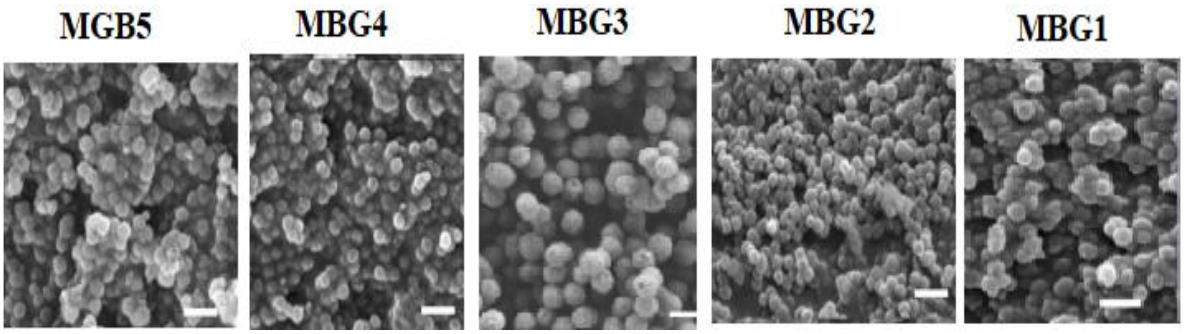
با توجه به نمودار می‌توان دریافت که برای نمونه MBG1 در اثر افزایش دما تجزیه نمونه در چند مرحله با حدواسطهای نسبتا پایدار صورت گرفته است. نمودار نمونه‌های MBG2 و MBG3 بیانگر واکنش اکسیداسیون بوده و در این نوع اکسیداسیون، نمونه در دماهای بالاتر دوباره تجزیه شده است. نمودار MBG4 و MBG5 نیز نشان می‌دهد که واکنش بین نمونه و اتمسفر رخ داده و اکسیداسیون فلزات صورت گرفته است.



شکل ۴: نمودار TGA نمونه‌های سنتزشده MBGs

۲-۴-۴-تفسیر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) MBGs

آنالیز SEM مورفولوژی، اندازه، شکل و ویژگی‌های سطحی تک‌تک نانوذرات را ارائه می‌دهد. الگوهای منافذ روی سطح ذرات همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده است. یک توزیع یکنواخت کروی حاوی منافذ با ظاهر نامنظم و داخل برخی از مناطق حفره‌های به‌هم‌پیوسته قابل مشاهده است. سطوح از دیواره‌های منافذ ناهمگن هستند و با افزایش آن ناهموارتر می‌شوند. همان‌طور که مشاهده می‌شود ادغام Co^{2+} منجر به تجمع نانوذرات گردید. با توجه به اینکه Co^{2+} شعاع کم‌تر و قدرت میدان بیش‌تری نسبت به Sr^{2+} دارد، جذب آن بر روی سطح MBGs آسان‌تر است و جایگزینی Sr^{2+} توسط Co^{2+} محتوای کاتیون فلزی را در شبکه سیلیکات افزایش داده، که به‌نوبه خود با بار سطحی منفی MBGsها مقابله کرده و تمایل آن‌ها به آگلومره را افزایش داده است.



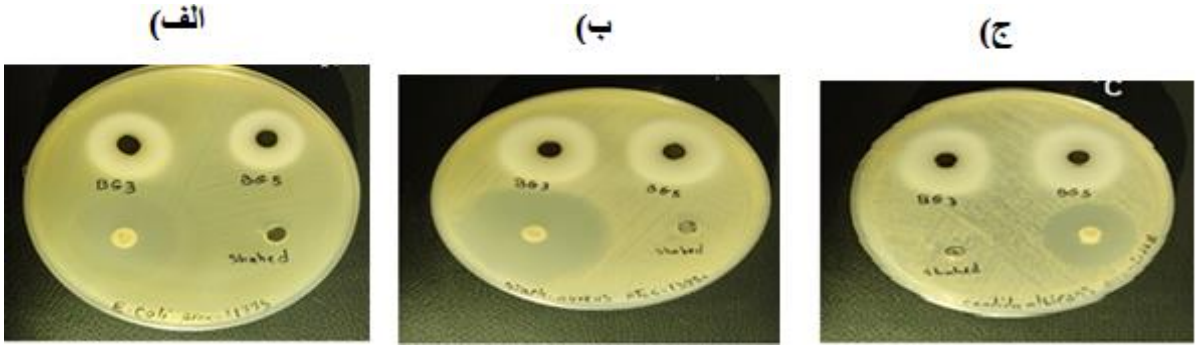
شکل ۵: تصاویر SEM نمونه‌های سنتزشده MBGs

۲-۴-۵-تفسیر خاصیت ضدباکتریایی MBGs

نتایج آزمون خاصیت ضدباکتریایی MBG2 و MBG4 بررسی و نتایج منطقه مهار در برابر باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلیکانس در مقایسه با دو آنتی‌بیوتیک Nb، NS، CTX در جدول ۴ گزارش شده است. با توجه به شکل ۶ خاصیت ضدباکتریایی MBG2 و MBG4 در برابر باکتری گرم مثبت و گرم منفی و مخمر بسیارقابل‌قبول بوده است.

جدول ۴: نتایج منطقه مهار در برابر باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلیکانس

نام باکتری/مخمر	MBG2	MBG4	AB	DMSO
اشریشیاکلی	۱۵ میلی‌متر	۱۳ میلی‌متر	CTX30= 28 mm	.....
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۷ میلی‌متر	۱۵ میلی‌متر	Nb30= 34 mm	.....
کاندیدا آلیکانس	۱۶ میلی‌متر	۱۴ میلی‌متر	NS100= 25 mm	.....



شکل ۶: خاصیت ضدباکتریایی BG3 و BG5 در برابر الف) باکتری‌های اشریشیاکلی و ب) استافیلوکوکوس اورئوس و ج) کاندیدا آلیکانس

۳- نتیجه‌گیری

شیشه‌های زیست‌فعال به‌عنوان دسته مجزایی از مواد زیستی بوده که دارای برهم‌کنش مخصوصی در حد فاصل با بافت میزبان بوده و موجب تشکیل بافت شیمیایی می‌شود. به‌ویژه، کامپوزیت‌های متشکل از شیشه‌های زیست‌فعال، در تماس با مایع زیستی در سطح خود تشکیل هیدروکسی کربنات آپاتیت می‌دهند که منجر به تشکیل پیوند با بافت‌های معدنی و در برخی ترکیب‌های به‌خصوص، موجب تشکیل پیوند با بافت کلاژنی می‌شود. در این مطالعه MBGهای دوپ‌شده با Sr^{2+}، Co^{2+} در یک سیستم چندجزئی $SiO2-P_2O_5-CaO$ سنتز شدند. همه مواد دارای سطح ویژه بالایی (بیش از ۶۰ مترمربع بر گرم) بودند که برای اجازه‌دادن به زیست‌فعالی MBGs کلیدی است. تفاوت در ترکیب منجر به تفاوت در ساختار شبکه سیلیکات می‌شود که منجر به تغییرات در فعالیت زیستی و آزادسازی یون MBGsها می‌گردد. نتایج نشان داد که ادغام Sr^{2+} و Co^{2+} به‌طور قابل توجهی درجه پلیمریزاسیون و اتصال شبکه سیلیکات MBGsها را کاهش داد. بااین‌حال، طیف FTIR تفاوت معنی‌داری را بین پنج نوع MBGs نشان نداد که با مطالعات قبلی مطابقت داشت. بااین‌حال، همان‌طور که توسط تصاویر SEM و نتایج XRD نشان داده شده است، توده‌ها به‌صورت فراصوت در مقیاس نانو با توزیع یکنواخت کروی پراکنده شدند. ادغام Co^{2+} منجر به تجمع نانوذرات گردید و با توجه به اینکه Co^{2+} شعاع کم‌تر و قدرت میدان بیش‌تری نسبت به Sr^{2+} دارد، جذب آن بر روی سطح MBGs آسان‌تر است و جایگزینی Sr^{2+} توسط Co^{2+} محتوای کاتیون فلزی را در شبکه سیلیکات افزایش داده، که به‌نوبه خود با بار سطحی منفی MBGsها مقابله کرده و تمایل آن‌ها به آگلومره را افزایش داده است. با توجه به آنکه با افزایش مقدار Sr^{2+} سایز ذرات به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش پیدا کرد، دو نمونه MBG2 و MBG4 به‌عنوان نمونه‌های بهینه در نظر گرفته شدند و بررسی اثر ضدباکتریایی MBGs بر مخمر کاندیدا آلبیکانس و باکتری اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از روش تماس مستقیم بر روی این دو نمونه انجام شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که اثرات ضدباکتریایی MBG2 و MBG4 در برابر باکتری گرم مثبت و گرم منفی و مخمر بسیارقابل‌قبول بوده است و نمونه MBG4 نتایج بهتری داشته است بنابراین می‌توان این نمونه را به‌عنوان ترکیب بهینه و گزینه خوبی برای مهندسی بافت استخوان در نظر گرفت.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

مراجع

[1]. M. Cannio, D. Bellucci, JA. Roether, DN. Boccaccini, V. Cannillo, “Bioactive glass applications: A literature review of human clinical trials”, Materials., 2021, 14[18] 5440.

[2]. O. Kędzia, M. Lubas, A. Dudek, “Glass and glass-ceramic porous materials for biomedical applications”, Syst. Safety., 2023, 5[1] 302-10.

[3]. P. Naruphontjirakul, M. Li, AR. Boccaccini, “Strontium and Zinc Co^{2+}-Doped Mesoporous Bioactive Glass Nanoparticles for Potential Use in Bone Tissue Engineering Applications”, Nanomate., 2024, 14[7] 575.

[4]. S. Kargozar, F. Baino, S. Banijamali, M. Mozafari, “Synthesis and physiCo^{2+}-chemical characterization of

fluoride (F)-and silver (Ag)-substituted sol-gel mesoporous bioactive glasses", Biomedical glass., 2019, 5[1] 185-92.

[5]. A. Anand, S. Sengupta, H. Kaňková, A. Švančárková, AM. Beltrán, D. Galusek, AR. Boccaccini, D. Galusková D, "Influence of Co^{2+} pper-strontium Co^{2+}-doping on bioactivity, cytotoxicity and antibacterial activity of mesoporous bioactive glass", Gels., 2022, 8[11] 743.

[6]. D. Bahati, M. Bricha, K. Mabrouk, "Synthesis, characterization, and in vitro apatite formation of strontium-doped sol-gel-derived bioactive glass nanoparticles for bone regeneration applications", Ceram Int., 2023, 49[14] 23020-34.

[7]. S. Kargozar, N. Lotfibakhshaiesh, J. Ai, A. Samadikuchaksaraie, RG. Hill, PA. Shah, PB. Milan, M. Mozafari, M. Fathi, MT. Joghataei, "Synthesis, physiCo^{2+}-chemical and biological characterization of strontium and Co^{2+}balt substituted bioactive glasses for bone tissue engineering", J. Non-Cryst. Solids., 2016, 449[2]133-40.

[8]. F. Baino, M. Montazerian, E. Verné, "Co^{2+}balt-doped bioactive glasses for biomedical applications: A review", Materials., 2023,16[14] 4994.

[9]. N. Mandakhbayar, Y. Ji, A. El-Fiqi, KD. Patel, DS.Yoon, K. Dashnyam, O. Bayaraa, G. Jin, K. Tsogtbaatar, TH. Kim, JH. Lee, "Double hits with bioactive nanozyme based on Co^{2+}balt-doped nanoglass for acute and diabetic wound therapies through anti-inflammatory and pro-angiogenic functions", Bioact. Mater., 2024, 31[1]298-311.

[10]. F. Kermani, S. Mollazadeh Beidokhti, F. Baino, Z. Gholamzadeh-Virany, M. Mozafari, S. Kargozar S, "Strontium-and Co^{2+}balt-doped multi Co^{2+}mponent mesoporous bioactive glasses (MBGs) for potential use in bone tissue engineering applications", Materials., 2020, 13[6] 1348.

[11]. I. Rajzer, A. Kurowska, J. Frankova, R. Sklenářová, A. Nikodem, M. Dziadek, A. Jabłoński, J. Janusz, P. Szczygieł, M. Ziąbka M, "3D-printed polycaprolactone implants modified with bioglass and Zn-doped bioglass", Materials., 2023, 16[3] 1061.

[12]. S. Zare, M. Mohammadpour, Z. Izadi, S. Ghazanfari, S. Nadri, "HNanofibrous hydrogel nanoCo^{2+}mposite based on strontium-doped bioglass nanofibers for bone tissue engineering applications", Biology., 2022, 11[10] 1472.

[13]. D. Bahati, M. Bricha, K. El. Mabrouk, "Synthesis, characterization, and in vitro apatite formation of strontium-doped sol-gel-derived bioactive glass nanoparticles for bone regeneration applications", Ceram. Int., 2023, 49[14] 23020-23034.

[14]. E. M. Mohamady, D. Bayoumi, El. Korashy, S. El-Shahid, M. Moussa, "Fabrication and Characterization of Polycaprolactone/Zein and Polycaprolactone/Zein/Bioglass Co2+mposite Scaffolds for BoneTissue Engineering", DSU., 2022, 3[2] 139-154.

[15]. A. García, I. Izquierdo-Barba, M. Co^{2+}lilla, CL. De Laorden, M. Vallet-Regí, "Preparation of 3-D scaffolds in the SiO_2–P_2O_5 system with tailored hierarchical meso-macroporosity", Acta biomaterialia., 2011, 7[3] 1265-73.

[16]. C. Wu, W. Fan, Y. Zhu, M. Gelinsky, J. Chang, G. Cuniberti, V. Albrecht, T. Friis, Y. Xiao, "Multifunctional magnetic mesoporous bioactive glass scaffolds with a hierarchical pore structure", Acta. Biomater., 2011, 7[2] 3563–3572.

[17]. P. Han, C. Wu, J. Chang, Y. Xiao, "The cementogenic differentiation of periodontal ligament cells via the activation of Wnt/β-catenin signalling pathway by Li+ ions released from bioactive scaffolds", Biomaterials., 2012, 33[1] 6370–6379.

[18]. C. Wu, Y. Zhou, M. Xu, P. Han, L. Chen, J. Chang, Y. Xiao, "Co^{2+}pper-Co^{2+}ntaining mesoporous bioactive glass scaffolds with multifunctional properties of angiogenesis capacity, osteostimulation and antibacterial activity", Biomaterials., 2013, 34[3] 422–433.

[19]. N. Neves, D. Linhares, G. Co2+sta, C. Ribeiro, M. Barbosa, "In vivo and clinical application of strontiumenriched biomaterials for bone regeneration: A systematic review", Bone Joint Res., 2017, 6[2] 366–375.

[20]. D. Lindsay, W. Kerr, "Co^{2+}balt close-up", Nat. Chem., 2011, 3[1] 494.

[21]. JJ. Kim, YS. Kim, V. Kumar, "Heavy metal toxicity: An update of chelating therapeutic strategies", J. Trace Elem. Med. Biol., 2019, 54[4] 226–231.

[22]. S. Yang, Y. Ji, F. Deng, X. Sun, C. Ning, "Co^{2+}-exchanged montmorillonite: a potential antibacterial agent with good antibacterial activity and cytoCo^{2+}mpatibility", J. Mater. Chem. B., 2022, 10[19] 3705-15.

[23]. M. M. Azevedo, G. Jell, M. D. O'donnell, R. V. Law, R. G. Hill, M. M. Stevens MM, "Synthesis and characterization of hypoxia-mimicking bioactive glasses for skeletal regeneration", J. Mater. Chem., 2010, 20[40] 8854-64.

[24]. ET. Hwang, JH. Lee, YJ. Chae, YS. Kim, BC. Kim, BI. Sang, MB.Gu, "Analysis of the toxic mode of action of silver nanoparticles using stress-specific bioluminescent bacteria", Small., 2008, 4(6) 746-50.

[25]. N. Alasvand, S. Simorgh, M. M. Kebria, A. Bozorgi, S. Moradi, V. H. Sarmadi, K. Ebrahimzadeh, N. Amini, F. Kermani, S. Kargozar, P. B. Milan, "Co^{2+}pper/Co^{2+}balt doped strontium-bioactive glasses for bone tissue engineering applications", Open Ceram., 2023, 1[14] 100358.

[26]. H. Tripathi, C. Rath, A. S. Kumar, P. P. Manna, S. P.Singh, "Structural, physiCo^{2+}-mechanical and in-vitro bioactivity studies on SiO_2–CaO–P_2O_5–Sr_{2+}O–Al_2O_3 bioactive glasses", Mater. Sci. Eng. C., 2019, 1[94] 279-90.

[27]. Monirujjaman M, Jain S, Patel S, Hasan S, Daloji L, Gujjala R, Abdul Azeem P, Syam Prasad P, "Investigating the Mechanical and Tribological Properties of Biowaste Derived Bioactive Borosilicate Glass Incorporating Strontium Oxide", J. Eng. Sci. Med. Diagn. Ther., 2025, 8(2) 28-44.

Fabrication and evaluation of Composite properties of multi-component porous bioactive glasses (MBGs) doped with strontium and Cobalt

*** Rezvaneh Dosti[1], Gita Bagheri[2]**

Department of Medicinal Chemistry, Shahriar Branch, Islamic Azad University, Shahriar, Iran* [1]

Department of Chemical Engineering, Shahriar Branch, Islamic Azad University, Shahriar, Iran [2]

Bagheri.gita@yahoo.Com *

Abstract: Objective: The subject of this research is the preparation and characterization of porous bioactive glasses (MBGs) by sol-gel method based on strontium (Sr^{2+}) and Cobalt (Co^{2+}) for tissue engineering strategies.
Main results: FTIR and XRD spectra were used to analyze MBGs and SEM showed a uniform distribution of spheres with minimal agglomeration or scattered clumps and the thermal behavior of the polymer was investigated by TGA. Paying attention to the antibacterial test results of MBGs showed that they show very good antibacterial properties against Candida albicans and Escherichia Coli bacteria, Staphylo Coccus aureus, and the lack of cytotoxicity Compared to Control sample has a higher potential and can to be used as a bone implant with antibacterial properties in bone tissue engineering applications.
Important Conclusion: Sr^{2+} and Co^{2+} were cosubstituted in MBGs to develop osteogenic potential and antibacterial properties without changing the size, morphology, negative surface charge, amorphous nature, porous structure and pore size.

Keywords: Porous bioactive glass, Strontium, Cobalt, Tissue engineering.