

# ساخت و بررسی خواص مکانیکی کامپوزیت هیدروکسی آپاتیت / ذرات شیشه زیست فعال تهیه شده به روش سل - ژل

مازیار عاشوری<sup>\*</sup>، فتح‌ا... مضطرزاده<sup>\*\*</sup>، نادرنظافتی<sup>\*\*\*</sup>، علی انصاری همدانی<sup>\*\*\*\*</sup> و محمدرضا تحریری<sup>\*</sup>  
گروه بیومواد، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر (پلی تکنیک تهران)  
گروه متالورژی و مهندسی مواد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر

(دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۷/۱۰ - دریافت نسخه نهایی: ۱۳۹۰/۱۰/۲۷)

چکیده -

(64SiO<sub>2</sub>-26CaO-5MgO-5ZnO) - (HA)  
(STA) (LPSA) °C  
MPa )  
(ICP) (SBF) ( )  
(SEM) (XRD) SBF SBF  
(FTIR)  
واژگان کلیدی :

\*\*\*\* - کارشناسی ارشد

\*\*\* - مربی

\*\* - استاد

\* - دانشجوی دکتری

# Synthesis and Evaluation of Mechanical Properties of Hydroxyapatite/ Sol-gel Derived Bioactive Glass Particles Composites

M. Ashuri, F. Moztarzadeh, N. Nezafati, A. Ansari Hamedani, and M. R. Tahriri

Biomaterials Group, Faculty of Biomedical Engineering, Amirkabir University of Technology (Tehran Polytechnic)  
Department of Materials Science & Engineering, Ahar Branch, Islamic Azad University

**Abstract:** *In the present study, a bioceramic-based composite with remarkable mechanical properties and in vitro apatite forming ability was synthesized by sintering compacts made up of mixtures of hydroxyapatite (HA) and sol-gel derived bioactive glass (64SiO<sub>2</sub>-26CaO-5MgO-5ZnO) (based on mole %). HA was synthesized through co-precipitation method. The stabilization temperature of the bioactive glass was set to be 700 °C according to simultaneous thermal analysis (STA). Laser Particle Size Analysis (LPSA) was used to compare the particle size distributions of the synthetic powders. HA matrix was mixed with different weight percentages of bioactive glass (5, 10, 15, 20, 25 and 30 wt. %) and compressed by 80 MPa pressure. After sintering the uniaxial compression test of the samples was done and the specimen with the highest compressive strength (20 wt. % bioactive glass) was selected to be immersed in the Simulated Body Fluid (SBF) for 3, 7 and 14 days. The results showed that the compressive strength of the sample decreased after keeping it in the SBF. Also, inductively coupled plasma analysis (ICP) was used to study the ion release behavior of the sample in the SBF. Finally, phase composition, microstructure and functional groups in the composite were characterized by X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), and Fourier transform infra-red spectroscopy (FTIR) techniques, respectively.*

**Keywords:** hydroxyapatite, bioactive glass, sol-gel, magnesium, zinc, sintering.

## ۱- مقدمه

کرده‌اند و وظایف بسیار مهمی را در بدن به عهده دارد. در واقع استخوان یک کامپوزیت طبیعی است که بخش معدنی آن را هیدروکسی آپاتیت کربناته با بلورینگی کم تشکیل داده و الیاف کلاژن آن را تقویت کرده‌اند [۴].

در بسیاری از شکستگیها و صدمات استخوانی نیاز به مواد جایگزین یا پرکننده برای ترمیم بافت استخوانی وجود دارد. امروزه نمی‌توان ماده‌ای را یافت که به تنهایی خواص مکانیکی استخوان را دارا باشد. آلیاژهای مستحکم فلزی و یا بیوسرامیکها نسبت به استخوان بسیار سخت‌تر بوده و مدول الاستیک آنها ۱۰۰-۳۰۰ برابر استخوان است. بنابراین هنگامی که این مواد در کنار استخوان قرار گیرند، در اثر اعمال بخش اعظم تنش وارده به زیست‌ماده، فرایند بازسازی طبیعی بافت استخوانی<sup>۳</sup> به مرور دچار اختلال می‌شود و استخوان به مرور تخریب می‌شود که این امر موجب عدم موفقیت در کاشتن زیست‌ماده می‌شود. یک راه برای مهار آثار سوء ناشی از اعمال این گونه تنشها استفاده از مواد کامپوزیتی با زمینه دارای مدول الاستیسیته پایینتر از استخوان نظیر پلی اتیلن (برای مثال در زیست‌ماده HAPEX<sup>TM</sup>) و یک فاز پراکنده با مدول الاستیسیته بالاتر از استخوان نظیر

یک ماده کامپوزیتی ترکیبی از دو یا چند فاز است که دارای فصل مشترک قابل تمایز از یکدیگرند. کامپوزیت‌ها فقط برای خواص ساختاری مورد استفاده قرار نمی‌گیرند بلکه دارای کاربردهای الکتریکی، حرارتی و زیست‌محیطی نیز هستند. مواد کامپوزیتی پیشرفته معمولاً برای طیف وسیعی از کاربردهای ویژه بهینه‌سازی می‌شوند.

با توجه به تعریف کامپوزیت، می‌توان زیست‌مواد کامپوزیتی را نیز تعریف نمود. نکته قابل توجه در این مورد این است که هر یک از اجزای سازنده کامپوزیت بایستی زیست‌سازگار باشند و فصل مشترک بین اجزای سازنده نیز تا زمانی که بافت میزبان به استحکام مناسب نرسیده است، توسط محیط بدن قابل تجزیه و از هم پاشیدگی نباشد. به طور کلی کامپوزیتهایی که دارای حداقل یک جزء زیست‌فعال باشند، را می‌توان در گروه کامپوزیتهای زیست‌فعال قرارداد [۱-۳].

استخوان یکی از سخت‌ترین انواع بافت همبند است که دانسیته بالایی داشته و از نظر متابولیک فعال است. در ساختار آن کلاژن، هیدروکسی آپاتیت و زمینه استخوانی<sup>۲</sup> شرکت

هیدروکسی آپاتیت یا شیشه‌های زیست‌فعال است، به گونه‌ای که مدول الاستیسیته نهایی حتی‌الامکان به مدول الاستیسیته استخوان نزدیک باشد. محدوده مدول الاستیک این کامپوزیتها به جزء حجمی فاز پراکنده بستگی دارد [۵-۷].

شیشه‌های زیست‌فعال مواد پایه‌سیلیکاتی آمورفی هستند که با بافت استخوانی اتصال برقرار می‌کنند و علاوه بر آن در ضمن انحلال می‌توانند باعث تحریک رشد استخوان جدید شوند که این دو خاصیت، این مواد را نامزدهای مناسبی برای مقاصد مهندسی بافت می‌سازد [۴]. به دلیل خواص مکانیکی پایین و استحکام کم شیشه‌های زیست‌فعال، استفاده از آنها در مناطقی که تحت بار هستند معمولاً مطلوب نیست. برای رفع این مشکل، کامپوزیت‌هایی از این شیشه‌ها با موادی که دارای چقرمگی شکست بالاتری هستند مانند پلیمرها ساخته شده‌اند. همچنین این مشکل می‌تواند توسط کامپوزیت‌هایی که بخش معدنی آنها از هیدروکسی آپاتیت تشکیل شده است، برطرف شود.

اولین گزارش از بررسی‌های درون‌تنی شیشه‌های زیست‌فعال در سال ۱۹۷۱ به چاپ رسید [۸] که در آن قطعات یکپارچه از جنس شیشه‌های زیست‌فعال بیوگلاس 45S5 در استخوان ران موش صحرایی قرار داده شدند و نه تنها هیچ گونه اثر التهابی ایجاد نکردند، بلکه اتصال قابل توجهی نیز با بافت استخوانی اطراف خود ایجاد کردند. از طرف دیگر از ترکیب‌های به دست آمده از روش سل-ژل، مانند 58S و 77S، نیز در آزمون کشت سلولی رفتاری مشابه بیوگلاس مشاهده شده است [۹]. مطالعات کشت سلولی و اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز<sup>۴</sup> در مورد شیشه‌های زیست‌فعال حاوی ۵ درصد مولی روی [۱۰] و ۱۳ درصد مولی منیزیم [۱۱] زیست‌سازگاری شیشه زیست‌فعال به کار رفته در پژوهش حاضر را تأیید می‌کنند. همچنین نتایج پژوهشی جدید روی نمونه‌هایی از شیشه‌های زیست‌فعال حاوی روی و منیزیم امکانپذیر بودن کاربرد آنها را در مهندسی بافت غضروف تأیید می‌کند [۱۲].

پژوهشگران مطالعات بسیاری درباره اثر حضور مقادیر کم یونهای فلزی روی و منیزیم بر متابولیسم استخوان انجام داده‌اند.

منیزیم موجب تحریک رشد استخوانی می‌شود و از طرفی می‌تواند باعث افزایش چسبندگی و ثبات سلولهای استخوانی روی زیست‌ماده شود [۱۳ و ۱۴]. در مورد یون روی نیز در حالت برون‌تنی<sup>۵</sup> نشانه‌هایی از رفتار ضد التهابی و تحریک رشد استخوانی با فعال‌سازی مسیرهای سنتز پروتئین در سلولهای استخوان‌ساز<sup>۶</sup> مشاهده شده است [۱۳، ۱۵]. از طرف دیگر نشان داده شده است که حضور عناصر یاد شده در ساختار شیشه‌های زیست‌فعال می‌تواند موجب کاهش آهنگ ایجاد هیدروکسی کربنات آپاتیت در محیطهای فیزیولوژیک شود [۱۶-۱۹]. تأخیر یا عدم ایجاد آپاتیت در مورد شیشه‌های زیست‌فعال مورد کاربرد در مهندسی بافت سخت یک نکته منفی است ولی از منظر مهندسی بافتهای نرم (غضروف) این نکته می‌تواند حتی یک مزیت باشد و به تازگی با این هدف درباره شیشه‌های حاوی روی و منیزیم مطالعاتی انجام گرفته است.

فرض پژوهش حاضر این بود که وقتی شیشه‌های حاوی روی و منیزیم به صورت کامپوزیت با جزء زمینه‌ای کاملاً زیست‌فعال نظیر هیدروکسی آپاتیت به کار بروند، می‌توان: (۱) به علت حضور زمینه هیدروکسی آپاتیتی، خاصیت هدایت رشد استخوانی<sup>۷</sup> قابل قبولی داشت و (۲) می‌توان از این کامپوزیتها رفتار رهایش یونی با دوامتری انتظار داشت زیرا لایه هیدروکسی آپاتیتی که روی کامپوزیت رسوب می‌کند، می‌تواند به مرور مانند سدی موجب کندی رهایش یونها شود.

در این پژوهش یک شیشه زیست‌فعال حاوی روی و منیزیم (سیستم چهارجزئی SiO<sub>2</sub>-CaO-MgO-ZnO) به زمینه هیدروکسی آپاتیت افزوده شد و خواص کامپوزیت حاصله با تکیه بر رفتار مکانیکی و تخریب آن در محلول SBF مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲- مواد و روشها

برای تولید کامپوزیت هیدروکسی آپاتیت - شیشه زیست فعال در ابتدا پودرهای هر یک به طور مجزا سنتز شدند. برای اطمینان از یکنواختی اندازه دانه پودرها پس از سنتز، آنها از

سرند با مش شماره ۳۲۵ (اندازه چشمه ۴۵ میکرون طبق استاندارد ASTM E11-04) عبور داده شدند.

به منظور سنتز ۱۵ گرم هیدروکسی آپاتیت، مقدار ۳۶/۱۵ گرم از پودر کلسیم نیترات تتراهیدرات را در ۵۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و سپس محلول حاوی ۱۲ گرم دی‌آمونیم هیدروژن فسفات حل شده در ۳۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر به صورت قطره‌قطره به آن افزوده شد. سپس pH محلول به کمک سود سوزآور به ۱۱ رسانده شد [۲۰]. محلول به مدت یک شبانه‌روز در دمای اتاق قرار داده شد و سپس با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه تحت سانتریفیوژ قرار گرفت و با آب مقطر شسته شد. فرایند سانتریفیوژ و شستشو با آب مقطر ۳ بار تکرار شد. پس از آن پودر حاصل در کوره با دمای ۱۰۰۰ °C به مدت ۲ ساعت کلسینه شد. نرخ افزایش دما ۵ °C در هر دقیقه بود. پودر کلسینه‌شده در آسیاب سیاره‌ای به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰ دور بر دقیقه آسیاب شد [۲۱].

برای سنتز ۵۰ گرم شیشه زیست‌فعال به روش سل-ژل، ابتدا ۱۲۰/۹۴ میلی‌لیتر تترا اتوکسی سیلان (Merck reagent grade) به ۱۹/۵۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک (Prolab 68%) ۲ نرمال که در ۱۱۶/۹۶ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده بود، افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه روی همزن برای انجام هیدرولیز، قرار داده شد. در این مرحله از محلول اسید نیتریک در آب به عنوان محیط حاوی کاتالیزور هیدرولیز و از تترا اتوکسی سیلان به عنوان منبع تأمین  $\text{SiO}_2$  استفاده شد. سپس ۵۱/۹۵۳ گرم کلسیم نیترات تتراهیدرات به سیستم اضافه شد و سیستم به مدت ۴۵ دقیقه هم زده شد. کلسیم نیترات تتراهیدرات به عنوان منبع تأمین  $\text{CaO}$  استفاده شد. سپس ۱۰/۷۶۹ گرم منیزیم نیترات هگزاهیدرات (Merck 99.99%) به عنوان منبع تأمین  $\text{MgO}$  به سیستم اضافه شد و به مدت ۱ ساعت مواد مذکور برای انجام کامل هیدرولیز بر روی همزن قرار گرفتند. پس از آن ۱۲/۴۹۵ گرم روی نیترات تتراهیدرات (Scharlau 99.99%) به عنوان منبع تأمین  $\text{ZnO}$  به سیستم اضافه شد و به مدت ۱ ساعت مواد مذکور برای انجام کامل انحلال و هیدرولیز روی همزن قرار گرفتند.

در این پژوهش نسبت مولی آب به تترا اتوکسی سیلان ۱۲:۱ و نسبت حجمی آب به اسید نیتریک ۶:۱ در نظر گرفته شد [۲۲]. سل به دست آمده به مدت ۷۲ ساعت درون انکوباتور در دمای ۳۷ °C قرار گرفت تا سل به ژل تبدیل شود (پیرسازی). برای خشک شدن ژلها، آنها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۵۰ °C قرار داده شدند و پس از آن برای همگنی بیشتر، ژلهای خشک‌شده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰ دور بر دقیقه در آسیاب ماهواره‌ای آسیاب شدند [۱۹]. برای پایدارسازی شیشه، پودر حاصل به مدت ۱ ساعت در دمای ۷۰۰ °C نگه داشته شد و سپس در کوره سرد شد. سرعت افزایش دما در کوره ۵ °C در هر دقیقه بود.

شایان ذکر است در تعیین دمای پایدارسازی شیشه زیست‌فعال، نمونه‌ای از آن پیش از خشک کردن، با دستگاه PL-STA 1600, England مورد آزمون همزمان TG/DTA با آهنگ افزایش دمای ۵ °C در هر دقیقه بین دمای محیط تا ۱۲۰۰ °C قرار گرفت. با پایان مراحل سنتز پودرها، برای بررسی توزیع اندازه ذرات پودرهای فوق، از روش تحلیلی لیزری اندازه ذره (LPSA) و دستگاه LPSA- CILAS 1064 در حالت مایع با قابلیت اندازه‌گیری ذرات در محدوده ۰/۰۴ الی ۵۰۰ میکرومتر استفاده شد.

پودر شیشه سنتز شده به نسبت‌های وزنی ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درصد با پودر هیدروکسی آپاتیت مخلوط شده و مخلوط حاصل با فشار ۵۰ MPa به صورت استوانه با ارتفاع ۱۲ و قطر ۶ میلیمتر پرس و در دمای ۱۱۰۰ °C به مدت یک ساعت تف-جوشی شد. نمونه با بیشترین استحکام (نمونه حاوی ۲۰٪ شیشه زیست‌فعال) در محلول شبیه‌سازی شده بدن (SBF) به مدت زمانهای ۳، ۷ و ۱۴ روز قرار گرفت.

به منظور بررسی استحکام فشاری نمونه‌های کامپوزیتی از دستگاه Zwick/Roell Universal Testing Machine با سرعت جابه‌جایی فک ۰/۰۵ mm/sec استفاده شد. برای هر آزمون ۱۰ نمونه ساخته شد و مقدار میانگین آنها به عنوان استحکام فشاری گزارش شد.

جدول ۱- غلظت‌های یونی اسمی در SBF و مقایسه آنها با مقادیر این یونها در پلاسمای خون انسان.

یون	غلظت (mmol/dm <sup>3</sup> )	
	محلول شبیه‌سازی‌شده بدن انسان (SBF)	پلاسمای خون انسان
Na <sup>+</sup>	۱۴۲/۰	۱۴۲/۰
K <sup>+</sup>	۵/۰	۵/۰
Mg <sup>2+</sup>	۱/۵	۱/۵
Ca <sup>2+</sup>	۲/۵	۲/۵
Cl <sup>-</sup>	۱۴۷/۸	۱۰۳/۰
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	۴/۲	۲۷/۰
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	۱/۰	۱/۰
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	۰/۵	۰/۵

آزمون‌های آماری این مقاله توسط نرم‌افزار اکسل با روش One-Way ANOVA انجام شد.

### ۳- نتایج و بحث

#### تحلیل حرارتی شیشه زیست‌فعال

شکل (۱) نتایج آزمون همزمان TG/DTA شیشه زیست‌فعال سنتز شده به روش سل-ژل را نشان می‌دهد. با توجه به استفاده از نمونه‌های خشک نشده، بین دماهای ۱۷۵-۵۰ °C شاهد واکنشی گرماگیر هستیم که خروج رطوبت و Pore-Liquor موجود در ژل محتمل‌ترین واکنش ممکن است. در دماهای بین ۴۰۰-۱۷۵ °C شاهد چندین واکنش عمدتاً گرماگیر و گاهی گرمازا (با گرمای واکنش به نسبت کم) هستیم که می‌تواند مربوط به تخریب حرارتی عوامل آلی سنگینتر از اتانول یا شروع واکنش تجزیه نیتراتها باشد (تجزیه نیتراتها معمولاً واکنشی مرحله به مرحله<sup>۸</sup> می‌باشد و از نظر ترمودینامیکی در دماهایی کمتر از ۵۵۰ °C نیز امکانپذیر است). بین دماهای ۵۵۰-۴۰۰ °C تجزیه حرارتی نیتراتها و گروه‌های سیلانول را داریم [۲۴] که بخش اعظم آن بین ۵۵۰-۵۲۵ °C رخ می‌دهد. با توجه به منحنی TGA با اتمام تجزیه حرارتی نیتراتها (دماهایی حدود ۵۷۰ °C) تغییرات جرم در نمونه در حال حرارت دیدن

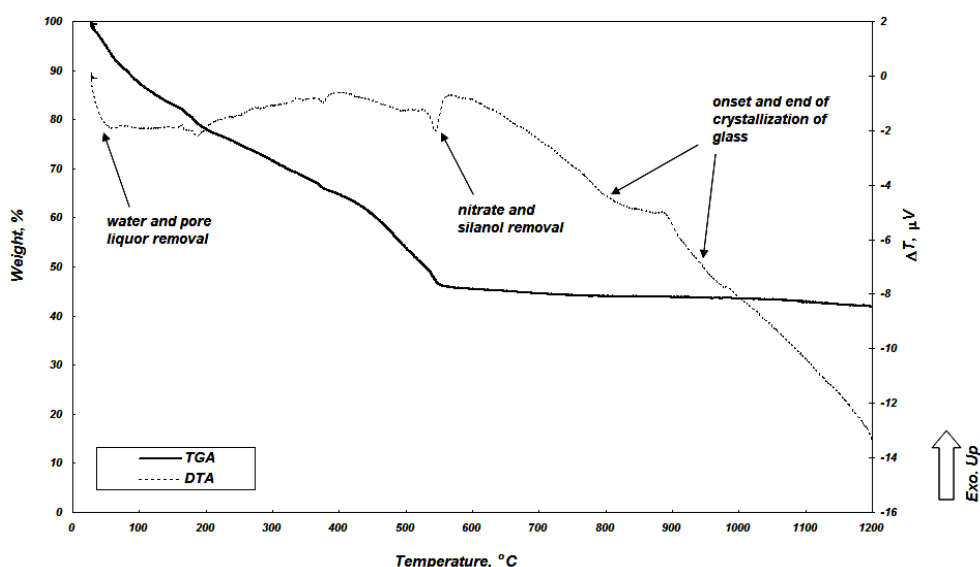
محلول SBF از روی دستورالعمل پیشنهادی کوکوبو تهیه شد [۲۳]. غلظت یونهای مختلف موجود در محلول SBF در مقایسه با پلاسمای خون انسان در جدول (۱) آمده است.

برای بررسی فازهای موجود در نمونه بهینه قبل و بعد از غوطه‌وری در SBF به مدت زمانهای معین، از دستگاه پراش پرتو ایکس فیلیپس PW1800 استفاده شد. محدوده 2θ بین ۱۰ تا ۷۰ درجه انتخاب شد.

نمونه بهینه قبل و بعد از گذشت زمانهای مشخص در SBF تحت طیف‌سنجی فروسرخ (FTIR) با استفاده از دستگاه FTIR, Bruker Equinox 55 قرار گرفت.

برای هر یک از زمانهای مورد نظر، ۳ نمونه در محلول SBF گذاشته شد و پس از اتمام زمانهای مذکور، نمونه‌ها از محلول SBF خارج شده و محلولها به منظور بررسی و اندازه‌گیری غلظت یونها توسط Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES, Perkin Elmer) مورد تحلیل کمی قرار گرفتند. این کار در مورد SBF خالص به عنوان نمونه شاهد نیز انجام شد.

مطالعه ریخت‌شناسی نمونه بهینه قبل و بعد از قرارگیری در SBF با استفاده از دستگاه Scanning Micro Analyzer JEOL (JXA-840) انجام گرفت.



شکل ۱- نمودار آزمون TG/DTA شیشه زیست فعال.

اول مکانیزم زیست فعالی (نرخ انحلال) کاملاً اثرگذار است (با افزایش اندازه ذرات زیست فعالی کم می شود)، برای اطمینان از اینکه توزیع اندازه ذرات پودرها پس از الک کردن ( $<45 \mu\text{m}$ ) در یک محدوده است، تحلیل اندازه ذرات برای هر دو پودر انجام شد که هیستوگرامهای مربوطه در شکل‌های (۲) و (۳) دیده می شود که در آنها متوسط اندازه ذرات برای شیشه ۱۳/۳۴ میکرون و برای هیدروکسی آپاتیت ۲/۳۹ میکرون است.

### بررسی استحکام فشاری نمونه‌های کامپوزیتی پس از تفجوشی

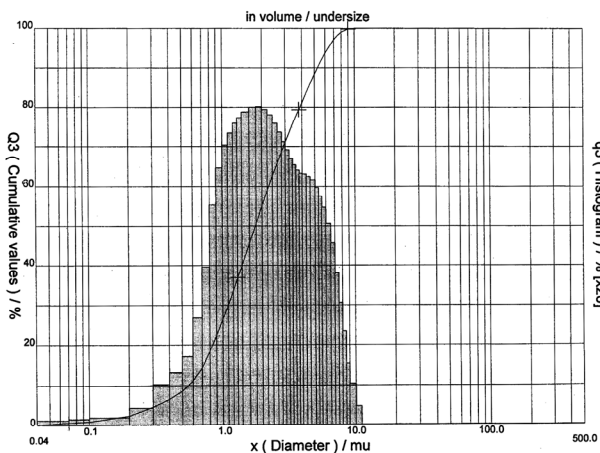
در شکل (۴) نمودار استحکام فشاری نمونه‌های کامپوزیتی پس از تفجوشی در دمای  $1100^\circ\text{C}$  به مدت ۱ ساعت آورده شده است. مقادیر انرژی شکست نیز از محاسبه سطح زیر نمودار بار-جابجایی محاسبه و در جدول (۲) آورده شده است. استحکام فشاری اندازه‌گیری شده برای نمونه‌های کنترل هیدروکسی آپاتیت و شیشه زیست فعال سنتز شده به ترتیب برابر  $16/5 \text{ MPa}$  و  $2/5 \text{ MPa}$  است. مطابق نمودار، در ابتدا با افزودن شیشه زیست فعال به هیدروکسی آپاتیت، استحکام به علت قانون مخلوطها<sup>۹</sup> کاهش می یابد. در ضمن میزان پایین شیشه

به پایان می رسد و این به معنی پایان واکنشهای حذفی است. با نرخ افزایش دمای آزمایش ( $5^\circ\text{C}$  در هر دقیقه) در دمای  $850^\circ\text{C}$  شروع تبلور شیشه مذکور را داریم که این واکنش تبلور در دمایی حدود  $925^\circ\text{C}$  به پایان می رسد.

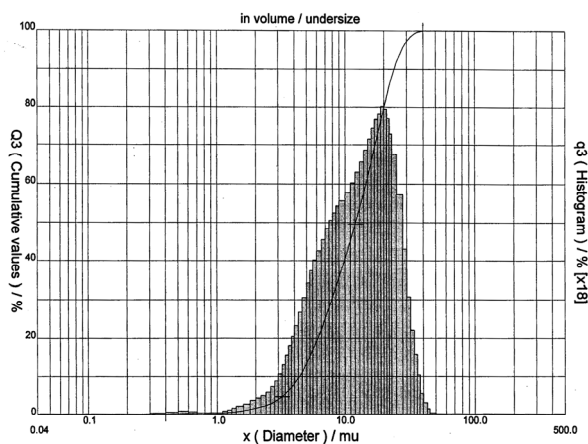
یکی از مراحل که در مکانیزم زیست فعالی شیشه‌های زیست فعال باید مورد توجه واقع شود، ایجاد گروههای Si-OH سطحی است که در واقع مکانهای جوانه‌زنی آپاتیت به شمار می روند [۲۵]. همچنین شیشه‌های سنتز شده به روش سل-ژل به طور ذاتی حاوی گروههای هیدروکسیل در شبکه‌شان هستند [۴]. از طرفی با افزایش دمای پایدارسازی، میزان سطح ویژه (سطح واحد جرم) و میزان گروههای هیدروکسیل هر دو کاهش می یابند [۲۶، ۲۷]. لازم به ذکر است که اندازه‌گیری گروههای هیدروکسیل ساختاری در مراجع آورده شده با روش MAS NMR انجام شده است. با توجه به نمودار تحلیل حرارتی شیشه، در دمای  $700^\circ\text{C}$  تمامی نیترات‌ها از شبکه شیشه خارج شده‌اند و با توجه به مطالب ذکر شده، این دما به عنوان دمای پایدارسازی مناسب برای شیشه انتخاب شد.

### بررسی اندازه دانه پودرهای سنتز شده

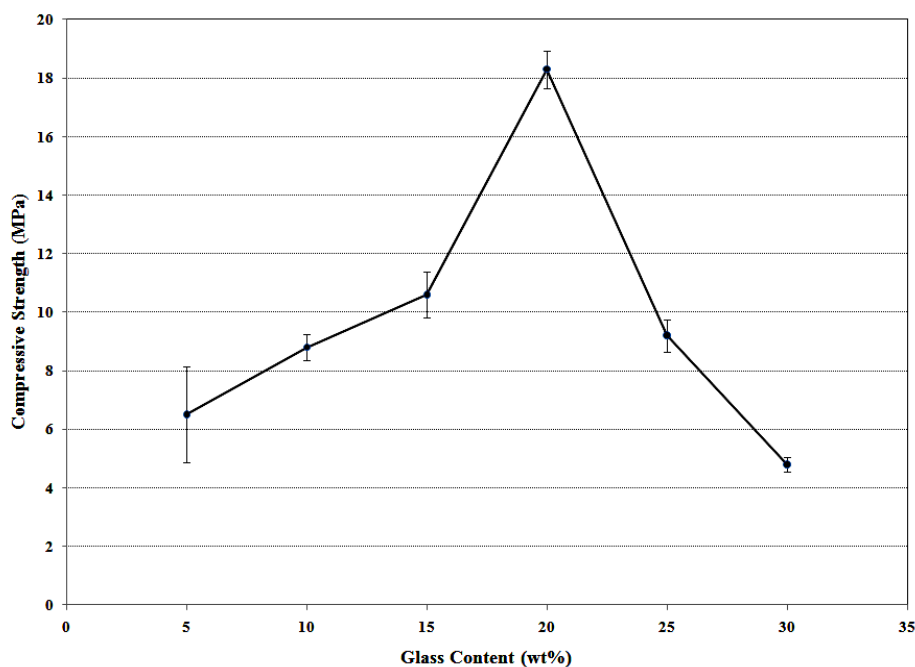
از آنجا که اندازه ذرات پودر شیشه زیست فعال بر مراحل



شکل ۳- هیستوگرام توزیع اندازه ذرات هیدروکسی آپاتیت.



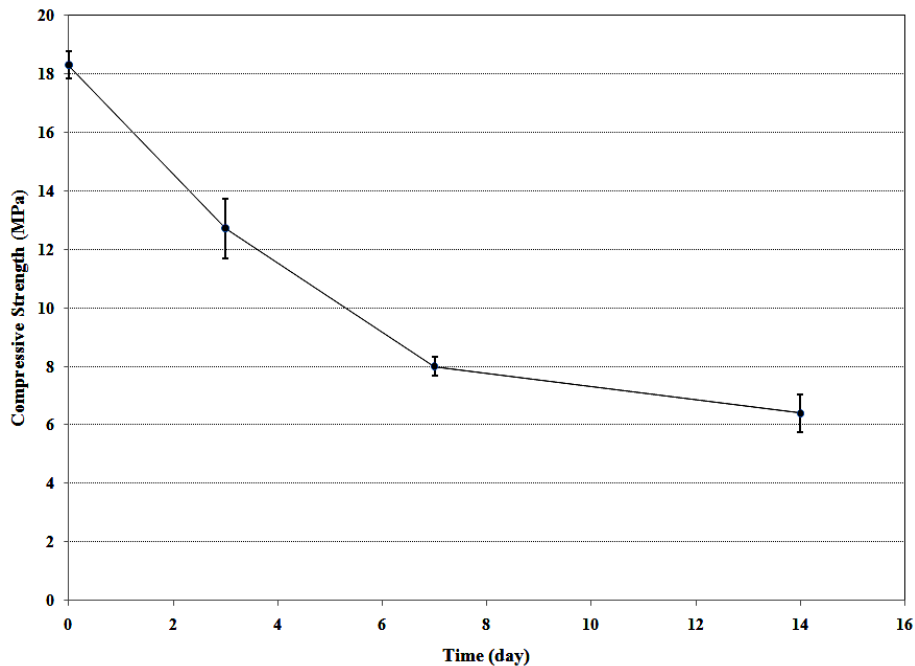
شکل ۲- هیستوگرام توزیع اندازه ذرات شیشه زیست فعال.



شکل ۴- نتایج آزمون استحکام فشاری نمونه‌های کامپوزیتی پس از یک ساعت تفجوشی در دمای ۱۱۰۰ °C.

جدول ۲- مقادیر انرژی شکست نمونه‌های کامپوزیتی پس از تفجوشی.

مقدار فاز شیشه‌ای (درصد وزنی)	انرژی شکست (کیلو ژول بر متر مربع)
۵	۰/۰۱۵۱۲ ± ۰/۷۵۶
۱۰	۰/۰۷۳۶ ± ۰/۹۲
۱۵	۰/۰۲۹۰۴ ± ۰/۹۶۸
۲۰	۰/۰۴۵ ± ۲/۰
۲۵	۰/۱۲۶ ± ۱/۶۸
۳۰	۰/۰۱۱ ± ۰/۴۴



شکل ۵- نتایج استحکام فشاری نمونه بهینه پس از قرارگیری در محلول SBF.

### بررسی استحکام فشاری نمونه بهینه قبل و بعد از

#### SBF

در شکل (۵) نمودار استحکام فشاری نمونه کامپوزیت حاوی ۲۰ درصد شیشه زیست فعال پیش و پس از قرار گرفتن در محلول SBF به مدت زمانهای ۳، ۷ و ۱۴ روز آورده شده است. مقادیر انرژی شکست نیز از محاسبه سطح زیر نمودار بار- جابه جایی محاسبه و در جدول (۳) آورده شده است.

همان طور که در شکل (۵) دیده می شود، با قراردادن نمونه در محلول SBF از استحکام آن کاسته می شود. دلیل این کاهش استحکام به وجود بتا-تری کلسیم فسفات در نمونه بازمی گردد. این فاز که در اثر تجزیه هیدروکسی آپاتیت در دماهای بالاتر از ۸۰۰ °C تشکیل می شود، در محیطهای بیولوژیک نظیر پلاسمای خون و یا محلول SBF ناپایدار بوده و با گذشت زمان به مرور تخریب می شود. از این رو دلیل افت استحکام کامپوزیت پس از قرارگیری در محلول SBF را می توان حضور و تخریب این فاز دانست [۳۱]. همچنین لازم به ذکر است که شیشه زیست فعال سنتز شده نیز دچار تخریب در SBF می شود (نتایج ICP که میزان یون سیلیسیم در SBF را نشان می دهد، بیانگر این حقیقت

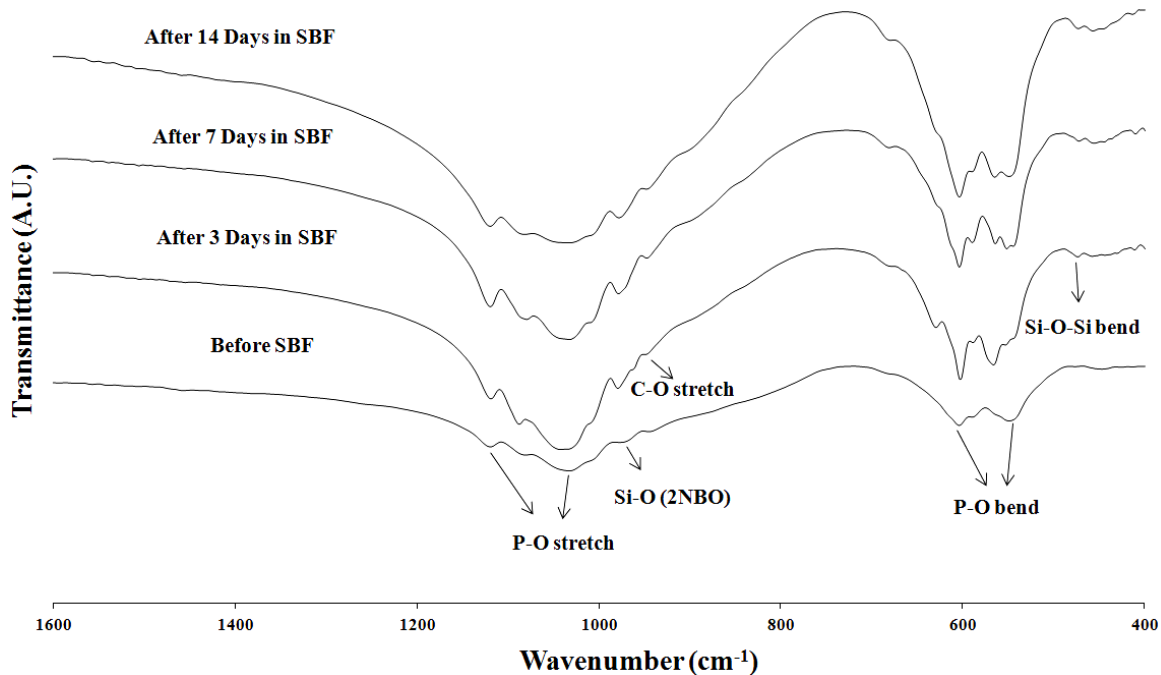
(تا ۱۵ درصد) سبب می شود که تفجوشی توسط مکانیزم سیلان ناروان به خوبی صورت نگیرد و ذرات را به خوبی به هم اتصال ندهد؛ اما از این میزان فاز شیشه بالاتر (تا ۲۰ درصد وزنی) استحکام کامپوزیت نسبت به نمونه های کنترل افزایش چشمگیری دارد که دلیل آن را می توان غالب شدن مکانیزم سیلان ناروان دانست. در واقع شیشه ذوب شده و مانند چسبی تمامی اجزای کامپوزیت را به هم می چسباند و در منطقه واکنشی اتصال شیمیایی مناسبی برقرار شده است. با افزایش شیشه پس از ۲۰ درصد، شیشه بیشتر قسمتهای کامپوزیت را در بر می گیرد و از آنجا که استحکام شیشه کمتر از هیدروکسی آپاتیت است، استحکام کامپوزیت کاهش می یابد. میزان ۲۰ درصد وزنی، میزان بهینه برای شیشه زیست فعال به عنوان فاز دوم است که بیشترین استحکام را سبب می شود [۲۸].

استحکام فشاری به دست آمده برای نمونه بهینه در این پژوهش، در مقایسه با نتایجی که سافینا و همکاران [۲۹] به دست آورده اند، بالاتر بوده است. همچنین انرژی شکست نمونه بهینه بسیار بالاتر از مقادیر انرژی شکستی است که توسط نظافتی و همکاران [۳۰] در پژوهشی دیگر به دست آورده اند.



جدول ۲- مقادیر انرژی شکست نمونه بهینه قبل و بعد از SBF.

زمان غوطه‌وری در محلول شبیه‌سازی شده بدن (روز)	انرژی شکست (کیلو ژول بر متر مربع)
۰	$0/11 \pm 2/0$
۳	$0/00235 \pm 0/000188$
۷	$0/908 \pm 0/5902$
۱۴	$1/256 \pm 0/0942$



شکل ۶- طیف فروسرخ نمونه بهینه قبل و بعد از SBF.

تغییرات نمونه بهینه در اثر قرارگیری در محلول SBF، طیفهای فروسرخ در یک نمودار به صورت برهم‌نهاد<sup>۱۱</sup> در کنار یکدیگر آورده شده‌اند که در شکل (۶) دیده می‌شود. مشخصات باندهای جذب‌کننده و فرکانس جذب آنها نیز در جدول (۴) آمده است.

نکته قابل استنباط از این نمودار این است که با گذشت زمان عمق بخش مربوط به ارتعاشات خمشی و کششی پیوند فسفر و اکسیژن عمیقتر می‌شود که این امر در اثر قرارگیری نمونه در محلول SBF و تشکیل هیدروکسی آپاتیت بر سطوح آن است. البته پس از ۱۴ روز از این عمق کاسته می‌شود که مربوط به تخریب شدن نمونه در اثر قرارگرفتن آن در SBF

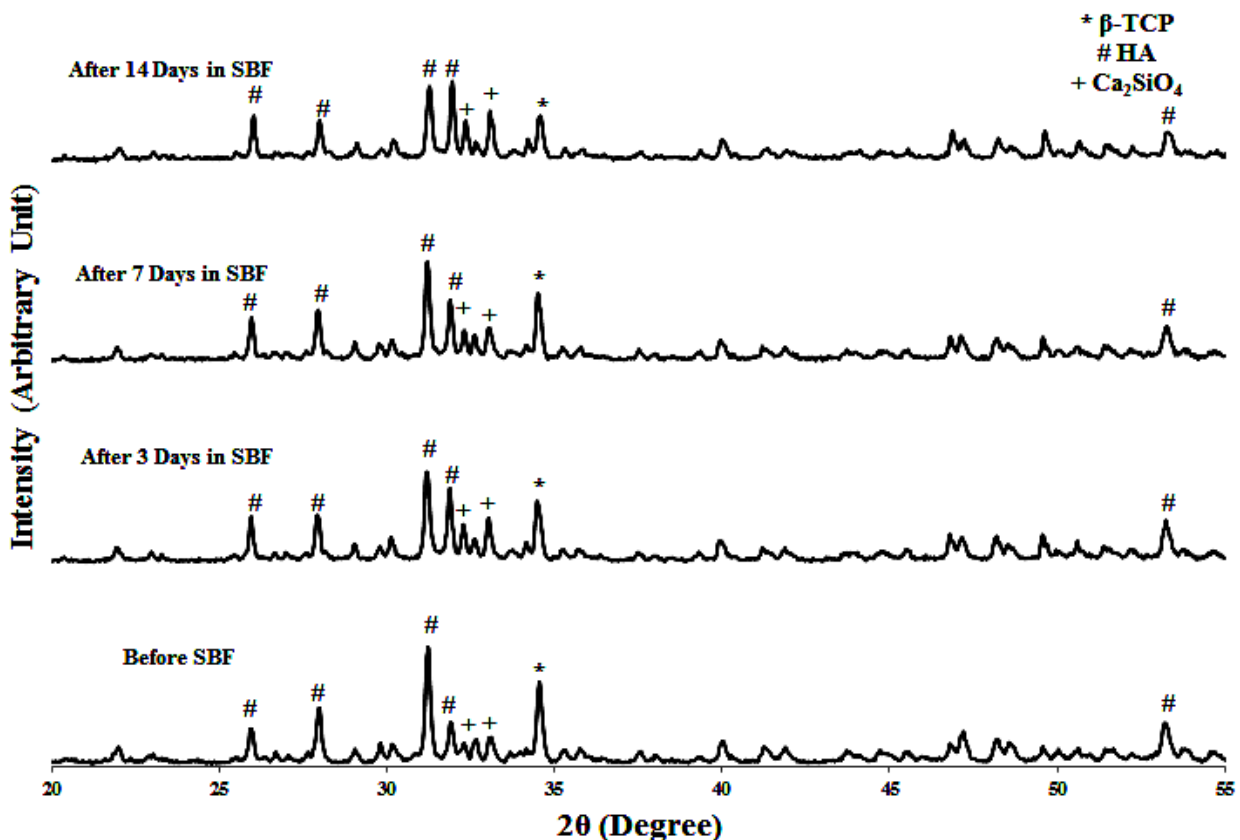
است که شیشه در SBF دچار تخریب شده است) که این پدیده باعث کاهش استحکام کامپوزیت می‌شود. نرخ تخریب در روزهای اول بیشتر بوده و پس از گذشت ۷ روز از قرار گرفتن نمونه در SBF از سرعت تخریب کاسته می‌شود.

### بررسی طیف فروسرخ نمونه کامپوزیتی بهینه قبل و بعد از SBF

به منظور مطالعه پیوندهای موجود در نمونه بهینه قبل از قرارگرفتن در محلول SBF و همچنین پس از آن به مدت زمانهای ۳، ۷ و ۱۴ روز از روش طیف‌سنجی فروسرخ در حالت عبوری<sup>۱۰</sup> استفاده شد. به منظور بررسی و مشاهده آسانتر

جدول ۴- فرکانس اشعه فرسرخ و نوع باندهای جذب کننده برای هیدروکسی آپاتیت و شیشه [۳۲ و ۳۳].

نوع باند جذب کننده	فرکانس فرسرخ ( $\text{cm}^{-1}$ )
P-O bend	۵۵۹ و ۶۱۳
P-O stretch	۱۰۹۳ و ۱۰۴۰
Si-O (2NBO)	۹۹۰
Si-O-Si bend	۴۸۴
C-O stretch	۹۵۴



شکل ۷- الگوی پراش پرتو ایکس نمونه بهینه قبل و بعد از SBF.

محلول SBF با XRD تعیین شد که نتایج آن در شکل (۷) آورده شده است.

به کمک کارتهای استاندارد JCPDS 09-0169 و JCPDS 09-0432 و JCPDS 29-0369 مشخص می شود که قله های مربوط به هیدروکسی آپاتیت در حوالی ۲۶ و ۳۲ و ۵۳ درجه دیده می شوند. همچنین پیک بتا-تری کلسیم فسفات نیز در اطراف ۳۴ درجه مشاهده می شوند. دو قله نزدیک به هم در

است چون نمونه حاوی بتا-تری کلسیم فسفات است که در محیطهای بیولوژیک ناپایدار است و با شروع تخریب آن از عمق این مناطق کاسته می شود.

### بررسی الگوی پراش پرتو ایکس نمونه کامپوزیتی بهینه قبل و بعد از SBF

فازهای موجود در نمونه بهینه قبل و بعد از قرارگرفتن در

حوالی ۳۲ درجه نیز دیده می‌شوند که مربوط به کلسیم سیلیکات‌اند.

فازهای هیدروکسی آپاتیت و بتا-تری‌کلسیم فسفات هم قبل از قرارگیری نمونه بهینه در محلول SBF و هم پس از قرارگیری آن در SBF دیده می‌شوند. فاز بتا-تری‌کلسیم فسفات که در ساختار نمونه کامپوزیتی دیده می‌شود، در اثر حرارت‌دهی نمونه‌ها در دمای  $1100^{\circ}\text{C}$  تشکیل شده است زیرا در دماهای بالاتر از  $800^{\circ}\text{C}$ ، نمونه‌ها شروع به تجزیه شدن می‌کنند و به بتا-تری‌کلسیم فسفات تبدیل می‌شوند که این فاز در محیط‌های بیولوژیک نیمه‌پایدار و تخریب‌پذیر است.

برای تعیین نوع فازهای ایجاد شده در کامپوزیت ضمن حرارت‌دهی، ابتدا حضور فازهای تعادلی ممکن با استفاده از نرم‌افزار ترمودینامیکی FactSage<sup>®</sup> در دمای  $1100^{\circ}\text{C}$  پیش‌بینی شد و سپس با استفاده از تحلیل ترمودینامیکی انجام شده، از نرم‌افزار X'pert HighScore به منظور شناسایی فازهای ایجاد شده استفاده شد. نکته مهم این بود که الگوی پراش فاز تعادلی عمده پیش‌بینی شده در نرم‌افزار FactSage<sup>®</sup> (ولاستونیت) در نمونه‌ها مشاهده نشد. لذا این احتمال داده شد که پودرهای سنتز شده هنوز از نقطه تعادل ترمودینامیکی فاصله دارند و فاز بلورین ایجاد شده احتمالاً فازی شبه پایدار بوده که در مسیر استحاله شیشه به شیشه-سرامیک ایجاد شده است زیرا به شیشه فرصت کافی برای جوانه‌زنی داده نشده و فاز تعادلی مورد انتظار تشکیل نیافته است. استفاده مجدد از نرم‌افزار X'pert HighScore مبین این موضوع بود که الگوی پراش فاز ایجاد شده با کلسیم سیلیکات ( $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$ , JCPDS #29-0369) شباهت دارد.

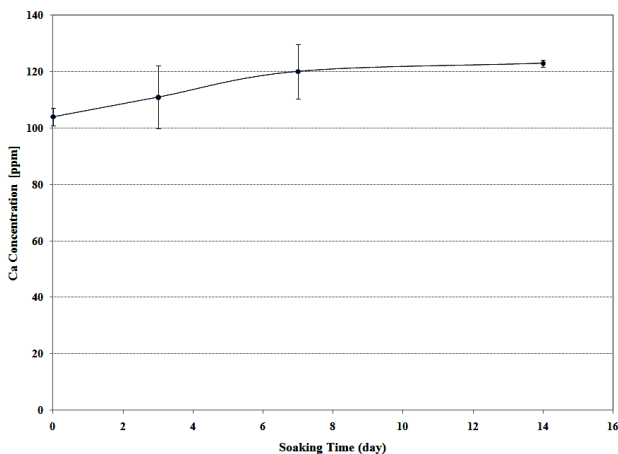
همان‌طور که در شکل (۷) دیده می‌شود، در ابتدا پیک بتا-تری‌کلسیم فسفات به صورت بارزی دیده می‌شود که پس از قرارگیری نمونه در محلول SBF و تبادل یونی نمونه با آن، بتا-تری‌کلسیم فسفات شروع به حل شدن می‌کند و از شدت این پیک کاسته می‌شود که این موضوع پس از ۳ روز به وضوح دیده می‌شود. همچنین با گذشت ۳ روز از شدت پیک مربوط

به هیدروکسی آپاتیت کاسته می‌شود ولی پس از ۷ روز این پیک تیزتر می‌شود که مربوط به تشکیل هیدروکسی آپاتیت در سطح نمونه بهینه است. پس از ۱۴ روز اندکی از شدت آن کاسته می‌شود که این می‌تواند به دلیل ورود منیزیم به ساختار هیدروکسی آپاتیت باشد. با ورود منیزیم به هیدروکسی آپاتیت، خواص فیزیوشیمیایی آن تغییر می‌کند. همچنین منیزیم از رشد صفحه (۰۰۱) جلوگیری می‌کند و سبب می‌شود که آپاتیت تشکیل شده در سطح نمونه زودتر حل شود [۳۴].

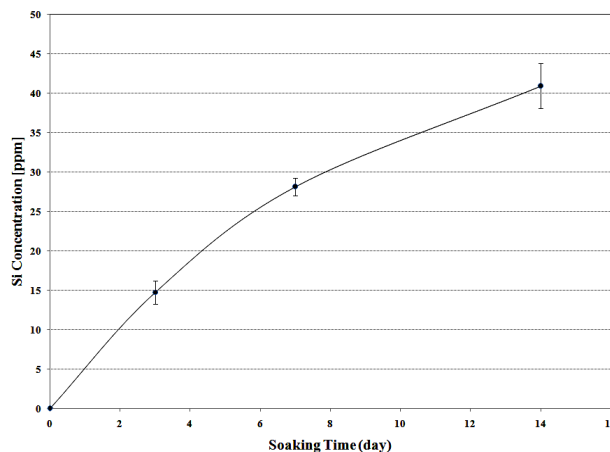
### بررسی رفتار رهایش یون نمونه کامپوزیتی بهینه قبل و بعد از SBF

برای درک بهتر رفتار تخریب کامپوزیت در محیط بیولوژیک، از آزمون ICP استفاده شد به این صورت که نمونه بهینه به مدت زمانهای ۳، ۷ و ۱۴ روز در محلول SBF قرار گرفت و پس از آن از محلول SBF که در تماس با نمونه بهینه بود، آزمون ICP گرفته شد. برای اینکه مقایسه به درستی انجام شود، از محلول SBF تنها نیز به عنوان نمونه شاهد آزمون ICP به عمل آمد. نمونه پس از قرارگیری در محلول SBF شروع به تبادل یون با محلول اطراف خود می‌کند و غلظت یونها تغییر می‌کند. نتایج این آزمون در شکل‌های (۸) الی (۱۱) دیده می‌شود.

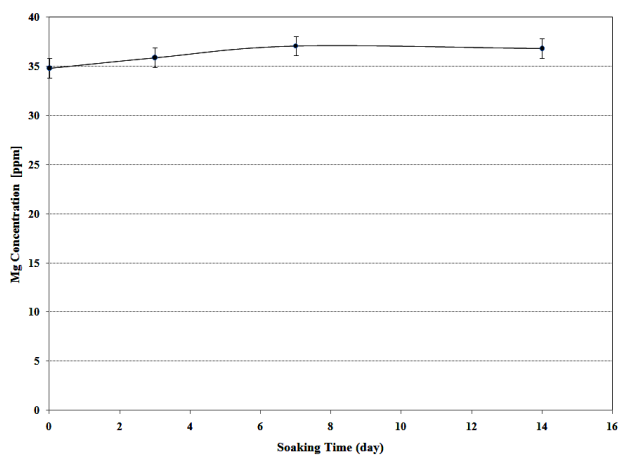
سیلیسیم از ابتدا در محلول SBF وجود ندارد و پس از قرارگیری نمونه در SBF رهایش می‌یابد و لذا این سیلیسیم آزاد شده در محلول SBF تنها می‌تواند ناشی از حل شدن سیلیسیم موجود در شیشه زیست‌فعال باشد. به همین دلیل غلظت آن در SBF می‌تواند معیار مناسبی در مطالعه رفتار تخریب کامپوزیت هیدروکسی آپاتیت با شیشه زیست‌فعال باشد. علاوه بر این روند افزایشی غلظت یون سیلیسیم که خاصیت القای رشد استخوانی آن ثابت شده است، نیز مشهود است. میزان رهایش یون سیلیسیم در مدت زمان یک روز با استفاده از درونیایی منحنی شکل (۸) در حدود ۵ ppm است. در مطالعات کشت سلولی، میزان رهایش یون سیلیسیم از پودر ترکیب تجاری بیوگلاس (45S5) که یک روز در محیط



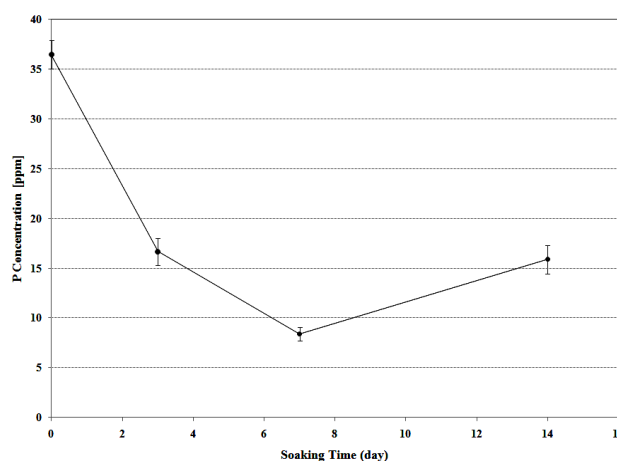
شکل ۹- نمودار تغییر غلظت کلسیم با گذشت زمان.



شکل ۸- نمودار تغییر غلظت سیلیسیم با گذشت زمان.



شکل ۱۱- نمودار تغییر غلظت منیزیم با گذشت زمان.

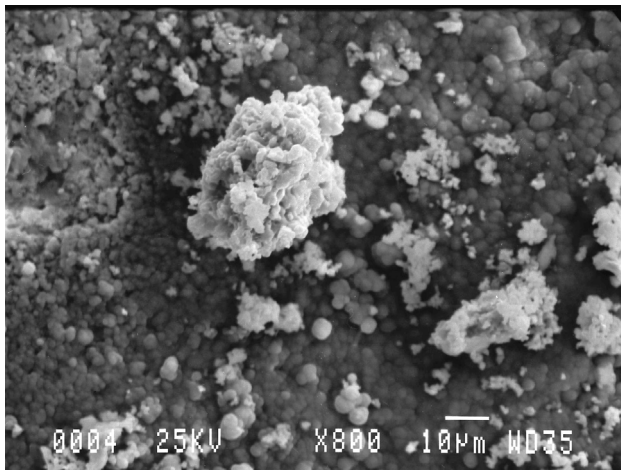


شکل ۱۰- نمودار تغییر غلظت فسفر با گذشت زمان.

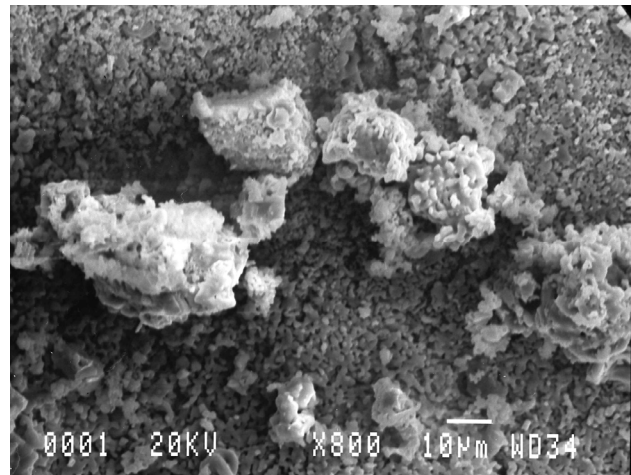
چندان چشمگیر نیست. غلظت این یون پس از گذشت ۱۴ روز باز هم زیاد می‌شود ولی این غلظت تفاوت چندانی با ۷ روز ندارد. این نکته قابل ذکر است که غلظت یون  $Ca^{+2}$  از یک طرف با میزان رهایش آن از نمونه کامپوزیتی کنترل می‌شود و از طرف دیگر توسط تشکیل لایه آپاتیت در SBF کنترل می‌شود. پس از گذشت ۷ روز آهنگ افزایش غلظت یون  $Ca^{+2}$  کاهش می‌یابد که دلیل آن می‌تواند افزایش رشد سریع هسته‌های آپاتیت بر سطح نمونه کامپوزیتی بهینه باشد. در واقع از میزان این یون کاسته می‌شود ولی این کاهش یون، از طریق آزادشدن یونهای کلسیم موجود در نمونه کامپوزیتی جبران می‌شود چرا که در ساختار نمونه هیدروکسی آپاتیت وجود دارد که حاوی مقادیر قابل توجهی از کلسیم است. پس از گذشت ۱۴ روز این

کشت DMEM قرار گرفته بود، حاکی از میزان رهایش  $16/5 \pm 3/5$  ppm سیلیسیم بوده است [۳۵]. با توجه به اینکه ترکیب فوق‌الذکر، مورد تأیید سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) برای کاربردهای کلینیکی است، می‌توان نتیجه گرفت که نمونه مورد آزمایش در این پژوهش قطعاً موجب ایجاد سمیت برای سلولهای استئوبلاست نخواهد شد. البته در مورد هر ماده‌ای که برای کاربردهای پزشکی طراحی و ساخته می‌شود، انجام آزمونهای مدل حیوانی و کشت سلولی سبب ایجاد اطمینان نسبت به زیست‌سازگاری آن ماده و جلوگیری از حصول نتایج غلط مثبت یا منفی<sup>۱۲</sup> خواهد شد [۳۶].

غلظت یون کلسیم پس از قرارگیری نمونه در SBF به مدت زمانهای ۳ و ۷ روز افزایش پیدا می‌کند. البته این میزان افزایش



شکل ۱۳- نمونه کامپوزیتی بهینه بعد از ۳ روز SBF.



شکل ۱۲- نمونه کامپوزیتی بهینه قبل از SBF.

است و این نکته که در پژوهش بالاموراگان و همکارانش [۱۱] که شیشه مورد استفاده ۱۳ درصد مولی منیزیم داشته است، شاهد عدم سمیت سلولی بوده ایم، می توان نتیجه گرفت که میزان عناصر روی و منیزیم از حد سمیت سلولی پایتتر است و در محدوده زیست سازگاری قرار دارد.

### مطالعات میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

برای مشاهده مورفولوژی فاز کلسیم فسفات‌های تشکیل شده بر روی نمونه کامپوزیت بهینه حاوی ۲۰ درصد شیشه زیست فعال، از این نمونه قبل و بعد از قرارگیری در محلول SBF به مدت زمانهای ۳، ۷ و ۱۴ روز عکس گرفته شد که این تصاویر در شکل‌های (۱۲) تا (۱۵) دیده می‌شوند.

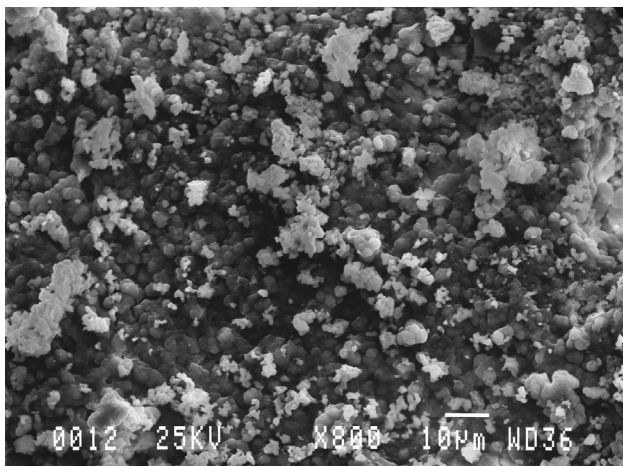
نمونه بهینه قبل از قرار گرفتن در محلول SBF دارای یک سطح کاملاً تفجوشی شده است (شکل ۱۲). در اثر قرار گرفتن نمونه در محلول SBF و تبادل یون با این محلول، هیدروکسی آپاتیت روی سطح نمونه ایجاد می‌شود که در هر سه تصویر ۱۳ تا ۱۵ این ذرات هیدروکسی آپاتیت دیده می‌شوند. میزان این ذرات تا ۷ روز روی سطح زیاد می‌شود ولی پس از ۱۴ روز از میزان آنها کاسته می‌شود که دلیل آن شروع تخریب نمونه در SBF است. این تخریب به دلیل حضور بتا-تری کلسیم فسفات در ساختار است که در محیط‌های بیولوژیک ناپایدار است. همچنین حضور عنصر منیزیم در

روند شدت کمتری می‌یابد و میزان یون کلسیم تغییر چندانی نسبت به ۷ روز نمی‌کند [۳۷].

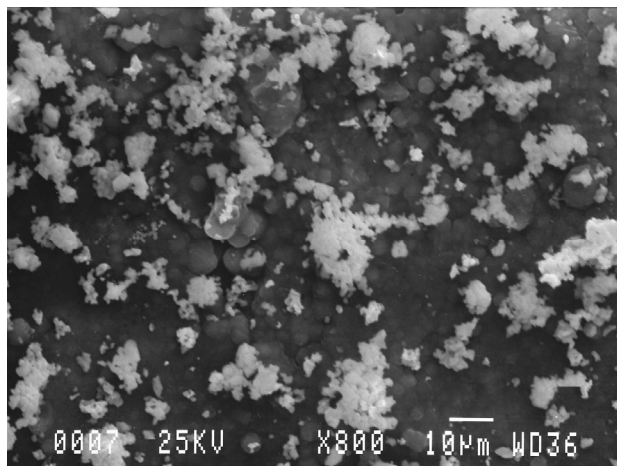
با قرارگیری نمونه در محلول SBF و شروع تبادل یونی نمونه با آن، میزان فسفر کاهش شدیدی می‌یابد که این روند تا روز هفتم ادامه می‌یابد. پس از روز هفتم میزان فسفر افزایش می‌یابد. این پدیده به این امر بازمی‌گردد که در روزهای ابتدایی قرارگیری نمونه در محلول SBF، فسفر برای تشکیل هیدروکسی آپاتیت بر سطوح جانبی مصرف می‌شود که این روند به خوبی از نمودار پیداست. پس از روز هفتم، نمونه کامپوزیتی بهینه به دلیل وجود بتا-تری کلسیم فسفات در ساختار خود شروع به تخریب شدن کرده و از خود یون آزاد می‌کند. به دلیل محتوای زیاد کلسیم و فسفر در ساختار نمونه کامپوزیتی بهینه، میزان این عناصر در محلول SBF شروع به افزایش می‌کند که این روند برای کلسیم نیز قابل مشاهده است.

غلظت یون منیزیم پس از قرارگیری نمونه بهینه در محلول SBF اندکی افزایش می‌یابد و پس از گذشت ۷ روز به میزان ماکزیمم خود رسیده و سپس کاهش می‌یابد. در کل، تغییرات غلظت یون منیزیم چندان قابل توجه نیست و میزان منیزیم رهایش یافته از نمونه کامپوزیتی بهینه به محلول SBF بسیار اندک است.

با توجه به داده‌های ICP این پژوهش که در آنها میزان عنصر روی از حد شناسایی دستگاه (۰/۲ ppm) پایتتر بوده



شکل ۱۵- نمونه کامپوزیتی بهینه بعد از ۱۴ روز SBF.



شکل ۱۴- نمونه کامپوزیتی بهینه بعد از ۷ روز SBF.

شبيه‌سازی شده بدن (SBF) با گذشت زمان غوطه‌وری، به علت ایجاد بتا-تری‌کلسیم فسفات است که در محیط بیولوژیک فازی ناپایدار است. با توجه به نتایج حاصل از الگوهای پراش اشعه ایکس، مشاهده می‌شود که فاز بتا-تری‌کلسیم فسفات در ساختار موجود است، که در اثر حرارت‌دهی نمونه‌ها در دمای  $1100^{\circ}\text{C}$  تشکیل شده است. بررسی نتایج آزمون رهایش یون (ICP) نمونه بهینه قبل و بعد از قرار گرفتن در محلول شبيه‌سازی شده بدن، نشان دهنده افزایش غلظت یون سیلیسیم است. با توجه به اینکه غلظت این یون در محدوده زیست‌فعالی (نه در محدوده سمیت سلولی) قرار دارد، می‌توان از زیست‌فعالی کامپوزیت در محیط بیرون‌تنی اطمینان یافت. همچنین میزان رهایش یونهای منیزیم و روی بسیار اندک بوده که با مقایسه با داده‌های پژوهشهای دیگر در مورد این عناصر نیز می‌توان از عدم ایجاد سمیت سلولی احتمالی یقین پیدا کرد. با توجه به نتایج این پژوهش، این کامپوزیت شرایط اولیه برای کاربرد به عنوان پرکننده استخوان اسفنجی را دارد.

ساختار نمونه کامپوزیتی مانع از رشد صفحه (001) هیدروکسی آپاتیت می‌شود و سبب می‌شود که خواص فیزیکوشیمیایی آن تغییر کند و زودتر از زمان معمول حل شود که این سبب می‌شود تا میزان هیدروکسی آپاتیت ایجاد شده بر سطح نمونه کاهش یابد که این موضوع در تصاویر SEM نیز مشهود است.

#### ۴- نتیجه‌گیری

استفاده از ذرات شیشه زیست‌فعال به عنوان فاز دوم تا میزان ۲۰ درصد وزنی باعث افزایش نسبی استحکام فشاری و چقرمگی شکست نسبت به سایر نمونه‌ها از جمله نمونه فاقد ذرات شیشه شده است. افزایش استحکام پس از افزودن ذرات تا میزان ۲۰ درصد وزنی را می‌توان ناشی از پدیده تفجوشی با مکانیزم سیلان ناروان و کاهش استحکام با افزودن درصد وزنی بیشتر ذرات را به دلیل از بین رفتن یکنواختی توزیع پودرها دانست. از طرفی کاهش استحکام نمونه بهینه (نمونه حاوی ۲۰ درصد وزنی شیشه زیست‌فعال) پس از قرارگیری در محلول

#### واژه‌نامه

- |                                  |                    |                              |
|----------------------------------|--------------------|------------------------------|
| 1. laser particle size analysis  | 5. <i>in vitro</i> | 10. transmittance mode       |
| 2. bone matrix                   | 6. osteoblasts     | 11. super imposed            |
| 3. bone remodeling               | 7. osteoconduction | 12. false positive/ negative |
| 4. alkaline phosphatase activity | 8. stepwise        |                              |
|                                  | 9. rule of mixture |                              |

- Hull, D., *An Introduction to Composite Materials*. 2<sup>nd</sup> ed., pp. 120-125, McGraw-Hill, New York, 1981.
- Malysheva, A. Y., Beletskii B. I., and Vlasova E. B., "Structure and Properties of Composite Materials for Medical Application," *Glass and Ceramics*, Vol. 58, pp. 66-69, 2001..
- Rieu, J. and Goeriot P., "Ceramic Composites for Biomedical Applications," *Clinical Materials*, Vol. 12, pp. 211-217, 1993.
- Kokubo, T., *Bioceramics and Their Clinical Applications*, p.367, Woodhead Publishing Limited, England, 2008.
- Goller, G., Demirkiran, H., Oktar, F. N., and Demirkesen, E., "Processing and Characterization of Bioglass Reinforced Hydroxyapatite Composites," *Ceramics International*, Vol. 29, pp. 721-724, 2003.
- Heymann, D., and Passuti N., "Bone Substitutes: New Concepts," *European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology*, Vol. 9, pp. 179-184, 1999.
- Ramakrishna, S., Mayer, J., Wintermantel, E., and Leong, K. W., "Biomedical Applications of polymer-Composite Materials: a Review," *Composites Science and Technology*, Vol. 61, pp. 1189-1224, 2001.
- Hench, L. L., Splinter, R. J., Allen, W. C., and Greenlee, T. K., "Bonding Mechanisms at the Interface of Ceramic Prosthetic Materials," *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 5, pp. 117-141, 1971.
- Silver, I. A., Deas J., and Erecinska M., "Interactions of Bioactive Glasses with Osteoblasts in Vitro: Effects of 45S5 Bioglass®, and 58S and 77S Bioactive Glasses on Metabolism, Intracellular Ion Concentrations and Cell Viability," *Biomaterials*, Vol. 22, pp. 175-185, 2001.
- Balamurugan, A., "Development and in vitro characterization of sol-gel derived CaO-P2O5-SiO2-ZnO bioglass," *Acta Biomaterialia*, Vol. 2, pp. 255-262, 2007.
- Balamurugan, A., Balossier, G., Michel, J., Kannan, S., Benhayoune, H., Rebelo, A. H. S., and Ferreira, J. M. F., "Sol Gel Derived SiO2-CaO-MgO-P2O5 Bioglass System-Preparation and in Vitro Characterization," *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, Vol. 83, pp. 546-553, 2007.
- Azevedo, M. M., Jell, G., O'Donnell, M. D., Law, R. V., Hill, R. G., and Stevens, M. M., "Synthesis and Characterization of Hypoxia-Mimicking Bioactive Glasses for Skeletal Regeneration," *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 20, pp. 8854-8864, 2010.
- Hoppe, A., Gldal N. S., and Boccaccini A. R., "A Review of the Biological Response to Ionic Dissolution Products from Bioactive Glasses and Glass-Ceramics," *Biomaterials*, Vol. 32, pp. 2757-2774, 2011.
- Zreiqat, H., Howlett, C. R., Zannettino, A., Evans, P., Schulze-Tanzil, G., Knabe, C., and Shakibaei, M., "Mechanisms of Magnesium-Stimulated Adhesion of Osteoblastic Cells to Commonly Used Orthopaedic Implants," *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 62, pp. 175-184, 2002.
- Yamaguchi, M., "Role of Zinc in Bone Formation and Bone Resorption," *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, Vol. 11, pp. 119-135, 1998..
- Oki, A., Parveen, B., Hossain, S., Adeniji, S., and Donahue, H., "Preparation and in Vitro Bioactivity of Zinc Containing Sol-Gel-Derived Bioglass Materials," *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Vol. 69, pp. 216-221, 2004.
- Watts, S. J., Hill, R. G., O'Donnell, M. D., and Law, R. V., "Influence of Magnesia on the Structure and Properties of Bioactive Glasses," *Journal of Non-Crystalline Solids*, Vol. 356, pp. 517-524, 2010.
- Lu, X. and Leng Y., "Theoretical Analysis of Calcium Phosphate Precipitation in Simulated Body Fluid," *Biomaterials*, Vol. 26, pp. 1097-1108, 2005.
- Ansari Hamedani, A., Moztafzadeh, F., Bizari, D., Ashuri, M., and Tahriri, M., "Ion Release Behavior and Apatite-Forming Ability of Sol-Gel Derived 70S30C Bioactive Glass with Magnesium/Zinc Substitution," *Key Engineering Materials*, Vol. 493 - 494, pp. 55-60, 2011.
- Qu, H., et al., "Incorporation of Fluorine Ions Into Hydroxyapatite by a pH Cycling Method," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Vol. 16, pp. 447-453, 2005.
- Eslami, H., Solati-Hashjin M., and Tahriri M., "The Comparison of Powder Characteristics and Physicochemical, Mechanical and Biological Properties Between Nanostructure Ceramics of Hydroxyapatite and Fluoridated Hydroxyapatite," *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 29, pp. 1387-1398, 2009.
- Saravanapavan, P. and Hench L. L., "Mesoporous Calcium Silicate Glasses. I. Synthesis," *Journal of Non-Crystalline Solids*, Vol. 318, pp. 1-13, 2003.
- Kokubo, T., and Takadama H., "How Useful is SBF in Predicting in Vivo Bone Bioactivity?," *Biomaterials*, Vol. 27, pp. 2907-2915, 2006.
- Jones, J.R., Ehrenfried L. M., and Hench L. L., "Optimising Bioactive Glass Scaffolds for Bone Tissue Engineering," *Biomaterials*, Vol. 27, pp. 964-973, 2006..
- Hench, L. L., Wheeler D. L., and Greenspan D. C., "Molecular Control of Bioactivity in Sol-Gel Glasses," *Journal of Sol-gel Science and Technology*, Vol. 13, pp. 245-250, 1998.
- Jones, J. R., Kemp T. F., and Smith M. E., "Effect of OH Content on the Bioactivity of Sol-Gel Derived Glass Foam Scaffolds," *Key Engineering Materials*, Vols. 309-311, pp. 1031-1034, 2006.
- Lin, S., Ionescu, C., Pike, K. J., Smith, M. E., and Jones, J. R., "Nanostructure Evolution and Calcium

- Distribution in Sol-Gel Derived Bioactive Glass," *Journal of Materials Chemistry*, Vol. 19, pp. 1276-1282, 2009.
28. Verne, E., Defilippi, R., Carl, G., Vitale Brovarone, C., and Appendino, P., "Viscous Flow Sintering of Bioactive Glass-Ceramic Composites Toughened by Zirconia Particles," *Journal of the European Ceramic Society*, Vol. 23, pp. 675-683, 2003.
  29. Safina, M., Safronova T., and Lukin E., "Calcium Phosphate Based Ceramic with a Resorbable Phase and Low Sintering Temperature," *Glass and Ceramics*, Vol. 64, pp. 238-243, 2007.
  30. Nezafati, N., Moztarzadeh F., and Hesaraki S., "Evaluation of a Prepared Sol-Gel Bioactive Glass Fiber-Reinforced Calcium Phosphate Cement," *Journal of Ceramic Processing Research*, Vol. 11, pp. 367-371, 2010.
  31. Zhang, X., "Preparation, Characterization and Mechanical Performance of Dense Beta-TCP Ceramics With/Without Magnesium Substitution," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, Vol. 19, pp. 3063-3070, 2008.
  32. Brauer, D.S., et al., "Fluoride-Containing Bioactive Glasses: Effect of Glass Design and Structure on Degradation, pH and Apatite Formation in Simulated Body Fluid," *Acta Biomaterialia*, Vol. 6, pp. 3275-3282, 2010.
  33. Jones, J. R., Sepulveda P., and Hench L. L., "Dose-Dependent Behavior of Bioactive Glass Dissolution," *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 58, pp. 720-726, 2001.
  34. Saboori, A., Rabiee, M., Moztarzadeh, F., Sheikhi, M., Tahriri, M., and Karimi, M., "Synthesis, Characterization and in Vitro Bioactivity of Sol-Gel-Derived SiO<sub>2</sub>-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-MgO bioglass," *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 29, pp. 335-34. 2009.
  35. Xynos, I. D., Edgar, A. J., Buttery, L. D. K., Hench, L. L., and Polak, J. M., "Gene-Expression Profiling of Human Osteoblasts Following Treatment with the Ionic Products of Bioglass® 45S5 Dissolution," *Journal of Biomedical Materials Research*, Vol. 55, pp. 151-157, 2001.
  36. Bohner, M. and Lemaître J., "Can Bioactivity be Tested in Vitro with SBF Solution?" *Biomaterials*, Vol. 30, pp. 2175-217, 2009.
  37. Martinez, A., Izquierdo-Barba I., and Vallet-Regi M., "Bioactivity of a CaO-SiO<sub>2</sub> Binary Glasses System," *Chemistry of Materials*, Vol. 12, pp. 3080-3088, 2000.