

Optimizing the hydroxyapatite nanocrystals derived from biological sources to increasing efficiency and quality

Mahsa Abbasi¹, Hossein Derakhshankhah², Soheila Kashanian^{3,4}, Zhila Izadi^{2*},

Mohammad Soleiman Beigi¹ ^(U)

¹Dept of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Ilam University, Ilam, Iran

- ²Pharmaceutical Sciences Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
- ³ Dept of Applied Chemistry, Faculty of Chemistry, Razi University, Kermanshah, Iran
- ⁴Nano Biotechnology Dept, Faculty of Innovative Science and Technology, Razi University, Kermanshah, Iran

Article Info A B S T R A C T	

Article type: Research article

Article History: Received: Apr. 30, 2024 Received in revised form: May. 19, 2024 Accepted: Jun. 16, 2024 Published Online: Dec. 05,2024

* Correspondence to: Zhila Izadi Pharmaceutical Sciences Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

Email: Izadi_zh@razi.tums.ac.ir **Introduction:** Hydroxyapatite is one of the most essential bioactive and biocompatible ceramics. Due to its unique properties and its structural similarity to bone, it has many applications in medicine, dentistry, and bone tissue engineering. Therefore, many methods and strategies have been studied to prepare hydroxyapatite. The purpose of this study was to optimize hydroxyapatite nanocrystals prepared from biological sources with higher efficiency and quality.

Materials & Methods: This study synthesized and analyzed hydroxyapatite from White Sea shells using simple and affordable methods like ultrasonic, hydrothermal, and thermalultrasonic decomposition. White seashells contain carbonate-calcium (C_aCO_3). For the synthesis of hydroxyapatite, environmentally friendly solvents such as water (green synthesis) and di ammonium hydrogen phosphate (ADP) were used as a source of phosphate. The data were analyzed using Graph Pad Prism V.10 statistical software, and the level of significance was considered less than 0.05.

Results: Hydroxyapatite was synthesized by the ultrasonic method and was chosen as the most appropriate. Because in the EDX results, the percentage of elements oxygen and phosphorus (O, P) in the hydroxyapatite synthesized by the ultrasonic method corresponds to the data of the standard card, HA~1.67, and for this reason, the ultrasonic method is better than the other two methods (hydrothermal and thermal-ultrasonic decomposition) and is more suitable. In FTIR, phosphate, hydroxide, and carbonate (PO₄³⁻), OH, and CO₃²⁻ groups were observed, which indicate the synthesis of hydroxyapatite. With SEM and FE-SEM, the morphology and size of hydroxyapatite particles were observed to be between 16.5 and 70.80 nm. XRD analysis, crystallinity, and needle-like structure of hydroxyapatite were observed. The blood compatibility results showed that hydroxyapatite had no significant hemolysis. Examining the cell compatibility of hydroxyapatite on bone-like cells (MG63) showed a survival rate of over 90%, and cell proliferation was statistically (Graph Pad Prism 10) significant (P < 0.05).

Conclusion: One of the most effective methods for preparing hydroxyapatite involves conducting the reactions at the bottom; the ultrasonic method's affordability and cost-effectiveness are among its positive features, as it can generate multiple processes throughout the production process. The results demonstrated that this method produced a material with a hexagonal structure, nanometer size, and suitable biocompatibility.

Keywords: Hydroxyapatite, Ultrasonic method, Biocompatibility

How to cite this paper: Abbasi M, Derakhshankhah H, Kashanian S, Izadi Zh, Soleiman Beigi M. Optimizing the hydroxyapatite nanocrystals derived from biological sources to increasing efficiency and quality. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2024;32(5):23-37.

Introduction

Hydroxyapatite (HA) is an excellent biomaterial for various biomedical and medical applications. These compounds are biocompatible and biodegradable, slowly decomposed into Ca^{2+} , PO_4^{3-} and toxic for local cells. Hydroxyapatite is prepared from biological sources such as fish, mollusk shells, fish scales, and sea shells, which are an unlimited source of C_aCO_3 (1). However,

© The Author(s)

Publisher: Ilam University of Medical Sciences

Journal of Ilam University of Medical Sciences, Volume 32, Issue 5, 2024

biomedical fields have been using new biomaterials like hydroxyapatite, leading to significant progress Researchers (2).investigated three methods (ultrasonic. hydrothermal, and thermal-ultrasonic) for the preparation of hydroxyapatite (3). The ultrasonic method provides rapid synthesis and good particle size control, whereas the thermal process is very stable, simple, and has excellent crystallinity. The purpose of this study was to optimize hydroxyapatite nanocrystals prepared from biological sources with higher efficiency and quality.

Methods

First, the shells of White Sea shells were collected from the coastal areas and then washed with a brush in running water. In the next step, the oysters were dried in an oven at 40°C and powdered by a ball mill. The hand powder contains calcium carbonate (C_aCO_3), which is used in three ways to synthesize hydroxyapatite. Then, in a flask, 0.5 gram of raw white ovster powder was dissolved in 50 ml of distilled water and placed on a magnetic stirrer at 60°C for 5 min. 0.25 gram of diammonium hydrogen phosphate (ADP) was added to another flask and dissolved with 30 ml of distilled water. In the next step, the solution inside the second flask was added to the first flask. The suspension was placed on a magnetic stirrer at 60°C for 10 min to completely dissolve, and then the pH of the solution was adjusted to 10 with NaOH for one minute. Then the suspension was ultra-sonicated for one hour to synthesize hydroxyapatite. The obtained hydroxyapatite nanoparticles were washed three times with the same ratio of water and ethanol (5 min with a 2000 rpm centrifuge). In addition, that material was placed in an autoclave at a temperature of 180°C and a pressure of 50 to 200 w for different times. According to the previous method, the synthesized nanoparticles were washed and dried. In the further approach, the white seashells obtained were calcined in a thermal furnace at a powder temperature of 800°C for two hours to remove all organic materials and growths. At last, the suspension was ultra-sonicated for one hour to synthesize hydroxyapatite. The obtained hydroxyapatite nanoparticles were washed three times with the same ratio of water and ethanol (5 min with a 2000 rpm centrifuge). The data were analyzed using Graph Pad Prism V.10 statistical software, and the level of significance was

considered less than 0.05.

Results

T Hydroxyapatite was synthesized by the ultrasonic method and was chosen as the most appropriate. Because in the EDX results, the percentage of elements oxygen and phosphorus (O, P) in the hydroxyapatite synthesized by the ultrasonic method corresponds to the data of the standard card, HA~1.67, and for this reason, the ultrasonic method is better than the other two methods (hydrothermal and thermal-ultrasonic decomposition) and is more suitable. FTIR showed phosphate, hydroxide, and carbonate (PO_4^{3-}) , OH, and CO_2^{3-} groups, which show that hydroxyapatite is being made. With SEM and FE-SEM, the morphology and size of hydroxyapatite particles were observed to be between 16.5 and 70.80 nm. XRD analysis, crystallinity, and needle-like structure of hydroxyapatite were observed. The blood compatibility results showed that hydroxyapatite had no significant hemolysis. Examining the cell compatibility of hydroxyapatite on bone-like cells (MG63) showed a survival rate of over 90%, and cell proliferation was statistically significant (P < 0.05).

Conclusion

One of the most effective methods for preparing hydroxyapatite involves conducting the reactions at the bottom; the ultrasonic method's affordability and cost-effectiveness are among its positive features, as it can generate multiple processes throughout the production process. The results demonstrated that this method produced a material with a hexagonal structure, nanometer size, and suitable biocompatibility.

Authors' Contribution

Conceptualization, Investigation, Data Curation, Supervision, Project Administration: ZI, Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation, Resources, Data Curation, writing– Original Draft Preparation, Writing– Review & Editing, Visualization: MA, HD, SK, MS, Funding Acquisition: Kermanshah University of Medical Sciences Research Vice-Chancellor

Ethical Statement

The study was approved by the Ethics Committee of the Kermanshah University of Medical Sciences (IR.KUMS.REC.1403.024). The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

This research resulted from a project number (50004081) approved by Kermanshah University of Medical Sciences, which was carried out with the financial support of the Kermanshah University of Medical Sciences Research Vice-Chancellor. The funder has no responsibility in the study design, data collection, analysis, and writing of the article.

Acknowledgment

The authors of the article are extremely grateful to the Kermanshah University of Medical Sciences Research Vice-Chancellor for the approval and financial support of this study. Also, authors sincerely thank and appreciate the research vice-chancellor of Kermanshah University of Medical Sciences for their financial support.



مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

1Δ9۳-497λ :P-ISSN ΤΔΛΛ-414Δ :E-ISSN

بهینهسازی نانوکریستالهای هیدروکسیآپاتیت تهیهشده از منابع زیستی با هدف افزایش کارایی و کیفیت

مهسا عباسی (ال)، حسین درخشان خواه آ ال)، سهیلا کاشانیان و الله این دی الله ایزدی الله الله محمد سلیمان بیگی (

ا گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۲ مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

^۳ دانشکده شیمی، گروه شیمی کاربردی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

۴ گروه نانوبیو تکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری نو آورانه، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

اطلاعات مقاله	چکیدہ
نوع مقاله: پژوهشی	مقدمه: هیدروکسیآپاتیت یکی از ضروریترین بیوسرامیکهای زیستفعال و زیستسازگار است. به علت خواص منحصه به ده شاهت ساختاری آن به استخدان کار دهای بسیاری در بزشکی دندان بزشکی و میندسی یافت استخدان دارد؛
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۱	ستصرب و و سبعت ما صوای او به استوان، وربر دسی بسیاری در پرسایی دیدان پرسایی و مهمتشی بات استوان دارد. بنابراین، روش ها و راهکارهای فراوانی برای تهیهٔ هیدروکسی آپاتیت مطالعه شده است. هدف از انجام این مطالعه بهینه سازی بند کسی از از مسیوی کسی آناد میشد با در این
تاریخ ویرایس: ۱۴۰۳/۰۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۷	نانو دریستانهای هیدرو دسی اپاتیت نهیهشده از منابع ریستی، با کارایی و کیمیت بالا تر بود. م واد و روش.ها: در این مطالعه، هیدروکسی آپاتیت از صدف.های سفید دریایی با روش.هایی آسان و مقرون.بهصرفه ازجمله
تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۹/۱۵	او اولتراسونیک، هیدروترمال و تجزیهٔ حرارتی- اولتراسونیک سنتز و تجزیهوتحلیل شد. صدفهای سفید دریایی حاوی کربنات کلسیم (CaCO3) هستند. برای سنتز هیدره کسر آیاتیت از حلااهای دوست.دار محیط سبت مانند آب (سنتز سیز) و از
نویسنده مسئول:	دی آمونیوم هیدروژن فسفات (ADP) به عنوان منبع فسفات استفاده گردید. دی آمونیوم هیدروژن فسفات (ADP) به عنوان منبع فسفات استفاده گردید.
ژیلا ایزدی	یافتههای پژوهش: هیدروکسیآپاتیت سنتزشده با روش اولتراسونیک بهعنوان روش مناسب انتخاب شد؛ زیرا که در نتایج
مركـز تحقيقـات علـوم دارويــي،	EDX، درصد عناصر موجود اکسیژن و فسفر (O, P) در هیدروکسیآپاتیت سنتزشده با روش اولتراسونیک با دادههای کارت
دانشگاه علـوم پزشکی کرمانشـاه،	استاندارد، HA~1.67 مطابقت دارد و به همین علت، روش اولتراسونیک نسبت به دو روش دیگر (هیدرو ترمال و تجزیهٔ حرارتی-
كرمانشاه، ايران	اولتراسونیک) مناسبتر بود. در FTIR گروههای فسفات، هیدروکسید و کربنات (-PO43)، OH و CO32– مشاهده گردید
Email: Izadi_zh@razi.tums.ac.ir	که نشاندهندهٔ سنتز هیدرو کسی آپاتیت هستند. با SEM و FE-SEM مورفولوژی و اندازهٔ ذرات هیدرو کسی آپاتیت در nm 5/16 تا ۲۰/۸۷ دیده شد. در تجزیهو تحلیل XRD، بلورینگی و سوزنی شکل بودن ساختار هیدرو کسی آپاتیت تأیید گردید. نتایج ساز گاری خونی نشان داد که هیدرو کسی آپاتیت همولیز چشمگیری نداشته است و بررسی ساز گاری سلولی هیدرو کسی آپاتیت میداندا های به مایر تخذ از (MG63)، نفست قای باش از مرف و مان از از داد و زنگی سایل از نظر آمادی (Graph pad
	بر سول های سبه استخوالی (۵۰۵۵ ترخ بقای بیس از ۲۰ ترصف را نسان داد و تخییر سولی از نظر اماری (Paph pad) prism vol.10) معنی دار بود (P<0.05).
	بحث و نتیجه گیری : روش اولتراسونیک یکی از بهترین روش های تهیهٔ هیدروکسی آپاتیت است که انجام واکنش ها در دمای پایین، ارزان و مقرون؛مصرفه بودن از ویژگی های مثبت آن است و می تواند موانع صنعتی ازجمله طولانی بودن فرایند تولید را
	برطرف کند. نتایج نشان داد که مادهٔ تولیدشده با این روش ساختار شش ضلعی با اندازهٔ نانومتر با زیستساز گاری مناسب داشت.
	واژدهای کلیدی : هیدروکسی آپاتیت، روش اولتراسونیک، زیستسازگاری

استناد: عباسی مهسا، درخشانخواه حسین، کاشانیان سهیلا، ایزدی ژیلا، سلیمانبیگی محمد. بهینهسازی نانو کریستالهای هیدرو کسی آپاتیت تهیهشده از منابع زیستی با هدف افزایش کارایی و کیفیت. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلا*م، آذر ۱۴۰۳؛ (۵)۳۲: ۳۷–۲۲.



مقدمه

کووید-۱۹ از سال ۲۰۱۹ از کشور چین آغاز و تبدیل به یک هیدروکسی آیاتیتها ((HA نانوسرامیکهایی با فرمول شیمیایی Ca10 (PO4)6(OH)2 هستند. یکی از جنبههای حیاتی مهندسی بافت و پزشکی هیدرو کسی آپاتیت زیستسازگاری بودن آن است (۱)، زمان زيست تخريب پذيري طولاني دارد و بسيار آرام تجزيه مي شود یا تقریباً تجزیهناپذیر است (۲). این ماده بسیار شبیه به جزء معدنی ماتریکس استخوان است و خاصیت پیوندی خوبی با استخوان دارد و رشد سلولهای استخوانی را سرعت می بخشد. HA به علت خواص غیر سمی و زیست فعالی که دارد، اثر التهابي ندارد (٣)؛ به همين سبب، هيدرو كسي آپاتيت بهعنوان یک عامل دارورسانی (تحویل دارو با دوز مشخص و مدتزمان از پیش تعیینشده) در دستگاه دارورسانی استفاده می شود (۴). تلاش های تحقیقاتی گستردهای برای استفاده از هیدروکسی آپاتیت مصنوعی بهعنوان جایگزین استخوان در کاربردهای دندانپزشکی و زیستپزشکی انجامشده است .(۵)

فسفات کلسیم در مواد معدنی استخوان و مینای دندان وجود دارد. هیدروکسی آباتیت به عنوان یک ترکیب فسفات کلسیمدار در شرایط فیزیولوژیکی مانند pH، دما و غیره پایدار است. ساختاری شش ضلعی هیدروکسی آپاتیت گروه فضایی P63/m و ثابت های شبکهٔ a و c به ترتیب با گروه فضایی P63/n نانومتر دارد (۶). هیدروکسی آپاتیت به روش های مختلفی از جمله ۱. روش همرسوبی (۳)، ۲. روش هیدرو ترمال (۷)، ۳. روش تابش اولتر اسونیک (۸)، ۴. روش شیمیایی مکانیکی (۹)، ۵. روش تابش به کمک ماکروویو شیمیایی مکانیکی (۹)، ۵. روش تابش به کمک ماکروویو میشود.

ساختار و خواص هیدرو کسی آپاتیت تحت تأثیر منبع و روش سنتز تغییر می کند؛ بهعنوانمثال، یونهای منیزیم و کربنات در هیدروکسی آپاتیت سنتزشده، آنها را زیستسازگارتر می کند (۱۳). هیدروکسی آپاتیت از یونهای Ca²⁺

طول برهم کنش داربست- بافت، آزادسازی یونهای +Ca²⁺ •PO4 به تشکیل سلولهای استخوانی کمک میکند و هیچگونه آثار سمی از خود نشان نمیدهد (۱۴). مطالعات کمی روی نانوذرات هیدروکسیآپاتیت با اندازهها و مورفولوژیهای مختلف (کروی، سوزنی و میلهای) انجامشده است. هر کدام از این ها خواص و کاربردهای مختلفی دارند. هیدرو کسی آپاتیتهای کروی از تکثیر ماکروفاژها جلو گیری میکنند (۱۵). نانوذرات هیدروکسیآپاتیت میلهای شکل و سوزنیمانند، شبیه به «بلوکهای ساختمانی» دندانها و استخوانها هستند و در بافتهای کلسیفیه شدهٔ (تجمع کلسیم) انسان جاسازی می گردند. استفاده از این نانوذرات هیدرو کسی آپاتیت در کاربردهای زیست پزشکی ترجیح داده مىشود (1۶). نانوذرات ھيدروكسى آپاتيت ميلەاى شكل بهعنوان حامل داروی پروتئینی استفاده میگردد (۱۷)؛ ازاینرو، تهیهٔ هیدروکسیآپاتیت با خواص مناسب برای کاربردهای خاص استفاده میشود.(۱۷) بسیاری از منابع زيستى ازجمله (استخوان، پوستهٔ نرمتنان، فلس ماهى (١٨) و صدفهای سفید دریایی بهطورکلی بهعنوان منابع کربنات كلسيم (CaCO₃) شناخته میشوند. هدف از این مطالعه سنتز هیدروکسیآپاتیت با روش مناسب از صدفهای سفید دریایی بهعنوان منبع کلسیم کربنات (C_aCO₃) و از دى آمونيوم هيدروژن فسفات (ADP) به عنوان تركيب فسفاتدار بود.

مواد و روشها

این مطالعه به روش تحقیق تجربی یا آزمایشگاهی انجام شد و صدفهای سفید از مناطق ساحل جنوبی جمع آوری گردید.

تهیهٔ هیدرو کسیآ پاتیت از صدفهای سفید دریایی:

ابتدا پوستههای صدفهای سفید دریای از نواحی ساحلی جمع آوری و سپس با برس در آب جاری شسته شدند. در مرحلهٔ بعد، صدفها در آون در دمای ۴۰ درجهٔ سانتی گراد خشک و توسط آسیاب گلولهای پودر گردیدند. پودر بهدست آمده حاوی کلسیم کربنات (CaCO3) است که به سه روش برای سنتز هیدرو کسی آپاتیت استفاده شد: الف. روش بعد، محلول داخل بالن دوم به بالن اول اضافه گردید. سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی در دمای ۹۰ درجهٔ سانتی گراد قرار داده شد تا کاملاً حل گردد؛ سپس pH محلول با NaOH یک مولار به ۱۰ رسید. پس از آن، سوسپانسیون به مدت ۱ ساعت اولتراسونیک شد تا هیدروکسی آپاتیت سنتز گردد. نانوذرات هیدروکسی آپاتیت بهدست آمده سه بار با نسبت یکسان آب و اتانول (مدتزمان ۵ دقیقه با دور 2000 g سانتریفیوژ) شسته شدند (شکل شمارهٔ تابش اولتراسونیک؛ ب. روش ہیدروترمال؛ ج. روش تجزیهٔ حرارتی– تابش اولتراسونیک.

روش تابش اولتراسونيك:

در یک بالون، ۵/۰ گرم پودر صدفهای سفید دریایی خام در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و به مدت ۵ دقیقه روی همزن مغناطیسی در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی گراد قرار گرفت. ۲۵/۰ گرم دی آمونیوم هیدروژن فسفات (ADP) به بالون دیگر اضافه و با ۳۰ میلی لیتر آب مقطر حل گردید و به مدت ۵ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. در مرحلهٔ



شكل شماره ۱. تهيهٔ هيدروكسي آپاتيت. A. روش اولتراسونيك؛ B. روش تجزيهٔ حرارتي–اولتراسونيك؛ C. روش هيدروترمال

روش هیدروترمال:

در یک بالون، ۵/۰ گرم پودر صدفهای سفید دریایی خام در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و به مدت min5 روی همزن مغناطیسی در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی گراد قرار گرفت. ۲۵/۰ گرم ADP به بالون دیگر اضافه و با ۳۰ میلی لیتر آب مقطر حل گردید و به مدت ۵ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. در مرحلهٔ بعد، محلول داخل بالن دوم به بالن اول اضافه گردید. سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی گراد قرار داده شد تا کاملاً حل گردد؛ سپس PH محلول با NaOH یک مولار به ۱۰ رسید. پس از آن، در زمانهای مختلف (۲، ۴ و ۶ ساعت) در اتو کلاو در دمای ۱۸۰ درجهٔ سانتی گراد و فشار ۵۰ تا هسته و خشک شدند (شکل شمارهٔ ۱).

روش تجزیهٔ حرارتی و تابش اولتراسونیک: پودر صدفهای سفید دریایی بهدست آمده در یک

کورهٔ حرارتی در دمای ۸۰۰ درجهٔ سانتی گراد به مدت ۲ ساعت کلسینه گردید تا همهٔ مواد آلی و پروتئینها حذف شوند. بر اساس نتایج، در این دما با آزادسازی دی کسید کربن (CO2)، اکسید کلسیم باقی میماند و عاری از هرگونه ناخالصی میشود؛ سپس ۰/۵ گرم پودر کلسینهشده در یک بالن با ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل گردید و به مدت ۵ دقیقه با دمای ۶۰ درجهٔ سانتی گراد روی همزن قرار گرفت تا کاملاً پخش شود. در بالون دیگری، ۰/۲۵ گرم ADP در ۳۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و به مدت ۵ دقیقه روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. در مرحلهٔ بعد، محلول داخل بالن دوم به بالن اول اضافه گردید. سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی گراد قرار داده شد تا کاملاً حل گردد؛ سیس pH محلول با NaOH یک مولار به ۱۰ رسيد. پس از آن، سوسپانسيون به مدت ۱ ساعت اولتراسونيک شد تا هیدروکسیآپاتیت سنتز گردد. نانوذرات هيدروكسي آياتيت بهدست آمده سه بار با نسبت يكسان آب و اتانول (مدتزمان ۵ دقیقه با دور g2000 سانتریفیوژ) شسته

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام / آذر ۲۰۴

شدند (شكل شمارهٔ ۱).

شناسایی خصوصیات شیمیایی، فیزیکی و مکانیکی؛ طیفسنج مادونقرمز تبدیل فوریه (FTIR):

هیدروکسی آپاتیت سنتزشده با دستگاه FTIR مدل هیدروکسی آپاتیت سنتزشده با دستگاه BRUKER GERMANYVBRTEX 70 FT-IR) شد. از این تکنیک FTIR برای شناسایی گروههای عاملی در ساختار نمونهها و پیوندهای موجود در مواد آلی و معدنی استفاده می شود. محدودهٔ اعداد موج در طیفسنج فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR) از ۱۰۰ تا ۲۰۰۰cm است (۱۹).

طیفسنجی پراش انرژی اشعهٔ ایکس (EDX):

طیفسنجی پراش انرژی اشعهٔ ایکس (EDX) یک تکنیک اشعهٔ ایکس است که عناصر موجود در ترکیبات مختلف را شناسایی و درصد آنها را گزارش میکند. این دستگاهها به ابزارهای میکروسکوپ الکترونی متصل هستند و عناصر موجود در نمونهها را با قابلیت تصویربرداری میکروسکوپی شناسایی مینمایند (۲۰).

تجزيهوتحليل XRD:

تجزیهو تحلیل پراش اشعهٔ ایکس (XRD) اطلاعات دقیقی را دربارهٔ ترکیب شیمیایی، خواص فیزیکی و ساختار کریستالوگرافی یک ماده را نشان میدهد (۲۱). پرتوهای ایکس پرتوهای الکترومغناطیسی با طولموج کوتاهتر هستند که وقتی ذرات باردار الکتریکی با انرژی کافی کاهش مییابند، تولید میشوند. در XRD، پرتوهای ایکس تولیدشده مسسو می گردند و به سوی یک نمونه از نانومواد هدایت میشوند؛ سپس شناسایی، پردازش و شمارش می گردد. پس از آن، شدت پرتوهای پراکنده در زوایای مختلف ماده، برای نشان دادن یک الگوی پراش ترسیم شد.

بررسی ویژگیهای ظاهری؛ میکروسکوپ الکترونی روبشی(SEM):

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) با بزرگنمایی بیش از 300000 x و حتی ۱۰۰۰۰۰-، تصاویر دقیقی از مواد مختلف بهدست آمده را نشان می دهد. این روش مواد آلی و معدنی را از نانومتر (nm) تا میکرومتر (µm)

تجزیهوتحلیل می کند. مناطق بهطور تصادفی از نمونهها برای عکاسی با مدل میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (JSM-840A, JEOL, Japan) انتخاب شدند. زبری و تخلخل سطح توسط یک تداخلسنج نوری (Accura 2000, اندازه گیری گردید (۱۵).

میکروسکوپ الکترونی روبشی حسیل میدانی (-FE) SEM):

FE-) میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (-FE SEM) همان SEM است، با این تفاوت که در میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی FESEM، تصاویر واضح تری با وضوح ۱ تا 5/0 nm در مقایسه با SEM مشاهده می شود. در مقایسه با FE-SEM، FE-SEM در ولتاژ بالا وضوح کمتری دارد (۹).

بررسی زیستسازگاری زیستی؛ بررسی سازگاری خون:

خون از داوطلب (انسان) گرفته شد و با محلول PBS با نسبت حجمی ۲:۲/۵ رقیق گردید. نمونه ها در سه میکرو تیوب ۲ میلی لیتر (سه بار تکرار هر نمونه برای گرفتن میانگین مناسب) ریخته شد و ۲۰۰ میکرولیتر خون رقیق شده به هر میکرو تیوب اضافه گردید و سپس در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی گراد، به مدت ۱ ساعت انکوبه شد. در مرحلهٔ بعد، نمونه ها با سرعت 4000 -5000 و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند؛ سپس مایع رویی شفاف از نمونه های سانتریفیوژ شده با سمپلر گرفته شد و به داخل پلیت تزریق گردید و جذب آن ها در طول موج ۵۴۵ نانومتر گرفته و تو سط دستگاه میکروپلیت ریدر خوانده و ثبت شد؛ سپس مقدار همولیز با فرمول زیر محاسبه گردید (۲۲).

Hemolysis = (Ct – Cnc)/(Cpc – Cnc) × 100 Ct: میانگین نمونهها، Cnc: کنترل منفی و Cpc: کنترل

مثبت است.

بررسی زندهماندنی سلولهای شبهاستخوانی: بهمنظور بررسی سازگاری سلولی و زندهمانی از روش (4)-3), ۵-

dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium (bromide) MTT (bromide) ستفاده شد. در پلیت ۹۶ چاهکی، سلولهای شبهاستخوانی MG63 به تعداد ۱۰^۴×۵ با محیط

کشت کامل RPMI 1640 و ۱۰ درصد سرم جنین گاوی کشت گردید و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجهٔ سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت تا سلول ها به کف پلیت بچسبند و به تراکم ۷۰ درصد برسند؛ سپس به هر چاهک حاوی سلول، نانو كريستال هاي ساخته شده با روش هاي مختلف اضافه شد و در دو بازهٔ زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت، زندهمانی سلولها با روش MTT ارزیابی گردید. در روز آزمایش، محیط کشت از چاهکها حذف و محیط کشت تازه حاوی MTT با غلظت ۵ میلی گرم بر میلیلیتر به چاهک های حاوی سلول اضافه شد و به مدت ۳ ساعت در دمای انکوباتور قرار گرفت؛ سیس محیط کشت چاهکها حذف و حلال DMSO برای حل شدن کریستال های فرومازان اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. بهمنظور بررسی میزان زندهمانی سلولها پس از تیمار با نانوذرات هیدروکسی آپاتیت، با استفاده از دستگاه يليت ريدر، جذب چاهكها در طولموج ۵۷۰ نانومتر تعیین گردید (۲۳)

يافتەھاي پژوھش

خصوصیات شیمیایی، فیزیکی و مکانیکی؛ تجزیه و تحلیل طیف سنجی مادون قرمز (FTIR): تجزیه و تحلیل طیفی مادون قرمز (FTIR) نشان داد که

در این طیف، مجموعهای از باند جذبی در هیدرو کسی آپاتیت در ناحیهٔ ۸۰-۸۲۵cm-۱۰۸۰ (یک نوار کششی قوی) به وضوح دیده میشود و یک باند جذبی در cm-1 1565 یک نوار جذب خمشی تیز) که مربوط به PO4³⁻ است؛ مشاهده می گردد. این وضوح پیک به علت زمینهٔ سرامیکی داربست است. يونهاي هيدروكسيل مربوط به نوار جذب خمشی در ناحیهٔ ^۱-۵۶۵cm و باند جذب کششی گسترده در ناحیهٔ ۳۴۳۲-۳۷۰۰cm⁻¹ قابل مشاهده است. کربناتهای موجود در هیدروکسیآپاتیتهای طبیعی و مصنوعی، آنها را به هیدروکسیآیاتیتهای بیولوژیکی با زيستساز گاري بالا تبديل مي كند. باند جذب در ناحيهٔ ¹ ۲۱۴۶–۱۴۰۹مربوط به کربنات (-CO₃²) است که در هيدروكسي آپاتيت كربناته مشاهده شد. با توجه به نتايج نشان داده شد که پوستهٔ صدفهای سفید دریایی در حالت کلسینه، با حالت غير كلسينه تفاوتي ندارد. نوارهاي مربوط به ⁻² HPO که در طیف مرتبط با خاکستر پوستهٔ صدف های سفید دریایی

دیده میشود، در طیف مربوط به پوستهٔ صدفهای سفید دریایی کلسینهنشده نیز وجود دارد و قابل مشاهده است. ایس شـواهد حضـور HA را در مادهٔ سنتزشده اثبات میکند (شکل شمارهٔ A.۲).



۳.

شکل شماره ۲. A. FTIR هیدرو کسی آپاتیت سنتزشده (بیک قرمز. روش اولتراسونیک، پیک آبی. روش هیدروترمال، پیک سبز. روش تجزیهٔ حرارتی-اولتراسونیک) ؛ B. EDX هیدرو کسی آپاتیت سنتزشده یه روش اولتراسونیک (a. روش تجزیهٔ حرارتی- اولتراسونیک، b. روش هیدرو ترمال، c. روش اولتراسونیک) ؛ C XRD هیدرو کسی آپاتیت سنتزشده با روش تابش اولتراسونیک

> طیف سنجی پواش انرژی اشعهٔ ایکس (EDX): عناصر موجود در هیدرو کسی آپاتیت سنتزشده (Ca, عناصر موجود در هیدرو کسی آپاتیت سنتزشده (Ca, OP, O) در این طیف مشاهده شدند. EDX استو کیومتری شیمیایی نانوذرات را در شکل شمارهٔ ۲. B نشان میدهد. در روش سوم، با کلسینه کردن صدف های سفید دریایی و سپس فراصوت، مقدار فسفر کمتر از دیگر روش ها مشاهده گردید. مقدار کلسیم و فسفر در روش اتو کلاو نزدیک به دادههای

روش اولتراسونیک بود. نتایج نشان داد (شکل شمارهٔ ۲. B) که نسبت اتمی کلسیم به فسفر در هیدروکسی آپاتیت سنتزشده با روش اولتراسونیک نسبت به سایر روش ها (هیدروترمال و تجزیهٔ حرارتی– اولتراسونیک) مناسب است که در جدول شمارهٔ ۱ آورده شده است و با دادههای کارت استاندارد، 1.67~HA مطابقت دارد.

، حرارتي- اولتراسونيک	ك، هيدرو ترمال و تجزيهٔ	تهيهشده به روش اولتراسوني	EDX ھيدرو كسى آپاتيت	جدول شماره ۱. تایج
-----------------------	-------------------------	---------------------------	----------------------	---------------------------

Mass Norm [%]Ca	Mass Norm [%]P	روشها
94/VT	۶/۹۴	روش اولتراسونيك
V9/44	۵/۰۵	
۵۸/۳۱	۷/۴	روش ھيدروترمال
44/4.	٩/٢٢	روش تجزية حرارتي-اولتراسونيك
۵۰/۵۶	۴/۰۳	

نتايج تجزيهوتحليل XRD:

نتیجهٔ XRD نشان داد که بلورهای هیدروکسی آپاتیت سنتز و قابل مشاهده هستند. JCPDS با شمارهٔ ۲۴۳۰-۹۰ دادهها را شناسایی کرد. شدت پیکهای Mar با افزایش اندازهٔ ذرات افزایش می یابد که بر اساس معادلهٔ شرر تأیید می شود. با افزایش زمان اولتراسونیک مشاهده شد که شدت پیکها کاهش یافتند. از سوی دیگر، قلهها گسترش بیشتری پیدا کردند و این سبب گردید که اندازهٔ ذرات و بلورینگی کاهش یابد. با افزایش زمان از ۱ ساعت به ذرات و بلورینگی کاهش یابد. با افزایش زمان از ۱ ساعت به شدند. با توجه به نتیجهٔ XRD، هیدروکسی آپاتیت کربنات دار به روش اولتراسونیک سنتز گردیده است (شکل شمارهٔ ۲.۲). هیدروکسی آپاتیت باعث کاهش اندازه در کریستالها می شود (۲۵). با افزایش 200 ، حلالیت ظاهری HA بسیار افزایش می یابد (۲۴).

نتایج بررسی شکل ظاهری کریستالهای هیدروکسیآ پاتیت:

در شکل شمارهٔ ۳. A، SEM هیدرو کسی آپاتیت سنتزشده به روش اولتراسونیک در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی گراد را نشان میدهد. SEM اندازهٔ ریز کریستال ها را بهدقت مشاهده نکرد و تصویری سرامیکی از هیدروکسی آپاتیت را نشان داد؛ بنابراین، ذرات هیدروکسی آپاتیت توسط FESEM مشاهده و اندازه گیری شد.

در این تجزیهوتحلیل، مورفولوژی سطح و اندازهٔ بلورهای HA سنتزشده بررسی گردید. درواقع در این روش، تصویر توسط الکترونها ثبت میشود که قدرت بزرگنمایی بسیار بالاتری نسبت به میکروسکوپهای نوری دارند و میتوان چندین هزار بار تصویربرداری کرد. FE-SEM در شکل شمارهٔ ۳. B هیدروکسیآپاتیت سنتزشده با روش اولتراسونیک در دمای ۶۰ درجهٔ سانتی گراد را نشان میدهد. اندازهٔ بلورها ۱۶/۵ تا ۷۰/۸۰ نانومتر است و علت آن استفاده

از امواج فراصوت و وجود کربنات در ساختار نانوذرات هیدروکسیآپاتیت است. در FE-SEM، ذرات هیدروکسیآپاتیت بهصورت ذرات سوزنی شکل تشکیل شدند و قابل مشاهده هستند. اندازهٔ بلورهای

هیدرو کسی آباتیت به دست آمده در میدان اولتر اسوند (> Lav 100 نانومتر) در مقایسه با ذرات به دست آمدهٔ بدون اولتر اسوند، 115 mm کوچک تر است (شکل شمارهٔ ۳. A و ۳. B).



شكل شماره ۳. . SEM هيدرو كسى آپاتيت سنتزشده با روش اولتراسونيك؛ B. FE-SEM هيدرو كسى آپاتيت سنتزشده با روش اولتراسونيك

اساس استانداردهای ASTM F756-08، همولیز بالای ۵ درصد همولیتیک، بین ۲ تا ۵ درصد کمی همولیتیک و کمتر از ۲ درصد غیرهمولیتیک در نظر گرفته می شود. کنترل مثبت (خون لیزشده با آب) و کنترل منفی (خون رقیق شده با PBS) است (شکل شمارهٔ ۴. A).

نتایج زیست *ساز گاری؛ ساز گاری خونی مناسب* نانو کریستال های هیدرو کسی آ پاتیت: ساز گاری خونی با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر در طول موج 170 mm خوانده شد و نشان داد که همولیز کمتر از (۵–۲ درصد) در HA سنتز شده مشاهده گردید. بر مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام / آذر ۲۰۶۱



شکل شماره ٤. A. بررسی سازگاری خونی هیدروکسی آپاتیت سنتزشده با سه روش (اولتراسونیک، هیدروترمال و تجزیهٔ حرارتی- اولتراسونیک) ؛ B. سازگاری سلولی هیدروکسی آپاتیت سنتزشده با سه روش (اولتراسونیک، هیدروترمال و تجزیهٔ حرارتی- اولتراسونیک) روی سلولهای شبهاستخوانی

نتایج ساز گاری سلولی:

نتایج ارزیابی سازگاری سلولی نانو کریستالهای هیدرو کسی آپاتیت روی ردهٔ سلولهای شبه استخوانی (MG63) نشان داد که میزان بقای سلولها در مقایسه با گروه کنترل (گروه بدون تیمار)، بالاتر از ۹۰ درصد است (COS))؛ بنابراین، سازگاری سلولی مناسب برای کاربرد در اهداف مهندسی بافت به ویژه در سازههای استخوانی را دارند (شکل شمارهٔ ۴. B).

بحث و نتیجه گیری

هیدروکسی آپاتیت (HA) یک زیستمواد عالی برای کاربردهای مختلف زیست پزشکی و پزشکی است. این ترکیبات زیست سازگار و زیست تخریب پذیر هستند، به آرامی به⁺²PO4³، Ca² تجزیه می شوند و برای سلول ها سمی نیستند. هیدروکسی آپاتیت از منابع زیستی مختلفی از جمله استخوان

ماهی، پوستهٔ نرمتنان، فلس ماهی و پوستهٔ صدفها تهیه میشود که منبع نامحدودی از CaCO3 هستند (۲۵). بااینحال، زیستمواد جدید مانند هیدروکسیآپاتیت در زمینههای زیست پزشکی استفاده شده و پیشرفت چشمگیری داشته است.

بهطور خلاصه، روش اولتراسونیک سنتز سریع و کنترل اندازهٔ ذرات خوب را ارائه میدهد، درحالی که روش حرارتی یک تکنیک کاملاً ثابت با سادگی و بلورینگی مناسب است. روش های رسوب شیمیایی مرطوب، سل-ژل و روش های بیومیمتیک، روش های جایگزینی را با مزایا و چالش های خاص خود ارائه میکنند. انتخاب روش سنتز به الزامات خاصی مانند اندازهٔ ذرات، مورفولوژی، خلوص و مقیاس پذیری بستگی دارد (۲۶).

در این پژوهش، نانوذرات هیدروکسیآپاتیت با

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام / آذر ۲۰۴۱

استفاده از سه روش (اولتراسونیک، هیدروترمال و تجزیهٔ حرارتی– اولتراسونیک) سنتز شدند. در روش اول، HA به روش اولتراسونیک به مدت ۱ ساعت در pH=10 سنتز گردید. در روش دوم، HA با اتو کلاو در مدتزمان های ۲، ۴ و ۶ ساعت، فشار ۲۰۰w–۵۰و دمای ۱۸۰ درجهٔ سانتی گراد سنتز و تجزيهوتحليل شد. در روش سوم (تجزيهٔ حرارتی-اولتراسونیک) پیش از اولتراسونیک، صدفهای سفید دریایی با استفاده از كوره (۸۰۰ درجهٔ سانتي گراد) كلسينه گرديدند و سپس تحت اولتراسونیک قرار داده شدند. بر اساس نتایج FTIR مشاهده گردید که HA سنتزشده در روش اولتراسونیک، با HA سنتزشده به روش تجزیهٔ حرارتی-اولتراسونيك تفاوتي ندارد و نتيجه گرفته شد كه مرحلهٔ تجزيه حرارتی در دمای ۸۰۰ درجهٔ سانتی گراد باعث حذف CO₂ نمی شود؛ به همین علت، از صدف های سفید دریایی (خام) برای سنتز HA استفاده گردید. بر اساس نتایج مشاهده شد که هر چه مدتزمان فراصوت بیشتر باشد، نانوذرات در اندازههای کو چکتر تشکیل می شوند.

در FTIR، همهٔ نوارهای جذبی HA در FTIR شناسایی گردیدند. با بررسی FTIR مشاهده شد که این نواحی در هیدروکسی آیاتیت سنتزشده در سه روش (اولتراسونیک، روش هیدروترمال و روش تجزیهٔ حرارتی– اولتراسونیک) قابل مشاهده است. در طيف بهدست آمده، همهٔ پيکهاي مشخصه پودر هیدروکسیآپاتیت وجود دارد. علاوه بر این، پیک، ای مربوط به گروه عاملی کربنات نیز حضور يافتهاند؛ بنابراين، مي توان نتيجه گرفت كه با استفاده از فراينـد اولتراسونيك، هيدروكسي آياتيت كربناتدار (نانوساختار) سنتزشده است. در سال ۲۰۲۳، روفینی و همکاران هیدروکسیآپاتیت را از کربنات کلسیم و اسید اور تو فسفریک سنتز کر دند (۲۷, ۲۸). طیف FTIR آن نشان داد که گروههای فسفات در نواحی ۱۰۸۷cm^{-۱} و هیدروکسیل در نواحی ۳۰۰۰۰ cm⁻¹ مشاهده شدند (۲۸). استفاده از آزمون طیفسنجی (FTIR) نیز روشی عمومي براي نشان دادن حضور بنيانهاي كربناتي در ساختار هیدروکسی آپاتیت است. همانطور که مشخص است، سنتز

هیدروکسی آپاتیت معمولاً در محیط آبی صورت می گیرد و به علت وجود فازهای آمورف در ساختار پودر هیدروکسی آپاتیت، امکان وارد شدن آب به ساختار هیدروکسی آپاتیت وجود دارد (۲۹). علاوه بر این، منشأ آب جذب شده می تواند از محیط اطراف و یا دستگاه طیف سنج FTIR نیز باشد؛ بنابراین، همواره در طیف های FTIR پیکهای مربوط به آب جذب شده نیز مشاهده می شوند.

نتایج FE-SEM نشان داد که با افزایش مدتزمان فراصوت، اندازهٔ ذرات کوچک تر خواهد شد. مورفولوژی و اندازهٔ ذرات HA سنتزشده توسط SEM و FE-SEM، mn - 5/16 -5/10 مشاهده شد. در مطالعهٔ ما جی و همکاران در سال ۲۰۱۹، نشان داده شد که مورفولوژی و اندازهٔ نانوذرات هیدروکسی آپاتیت با تغییر شرایط محیطی (دما، حلال و pH) تغییر می کند. پودر هیدروکسی آپاتیت با اندازهٔ نانومتریک در است. از آنجایی که هیدروکسی آپاتیت با ندازهٔ نانو کریستالی با مورفولوژی کروی، سوزنی شکل و لوله ای مانند است در مقایسه با مورفولوژی های نامنظم در فرایند استخوان سازی از اهمیت بیشتری برخوردار است ۱۵).

سنتز هیدرو کسی آپاتیت به روش اولتراسونیک مقرونبه صرفه تر و راحت تر و در زمان کمتری نسبت به دو روش دیگر انجام شد. تک فازی بلورهای هیدرو کسی آپاتیت سنتزشده در صفحات کریستالو گرافی (۰۰۲)، (۲۱۱)، (۲۱۱)، (۳۰۰)، (۲۰۲)، (۳۱۰)، (۲۲۲)، (۲۱۳) و (۰۰۴) متعلق به HA سنتزشده را نشان می دهد که در نتایج قابل مشاهده است. طبق XRD، ذرات HA به صورت کریستال شش ضلعی مشاهده گردید. بر اساس نتایج XRD دیده شد که هرچه مدت زمان سنتز AH با روش اولتر اسونیک بیشتر باشد، ذرات مدت زمان سنتز می شوند. همان طور که در شکل (۲. (۲.)) مشاهده می شود، بر اساس استاندارد، همهٔ قله ه

مربوط بـه هیدروکسی آپاتیت خالص است (۲۹, ۳۰). با تجزیهوتحلیل EDX درصد عناصر موجود در HA سنتزشده به روش اولتراسونیک بررسی شد. تجزیهوتحلیل

EDX شواهدی از وجود عناصر فسفر، اکسیژن و کلسیم در مادهٔ سنتزشده (هیدروکسی آپاتیت) را نشان داد (۳۰, ۳۱). سازگاری خونی و سلولی نانو کریستالهای سنتزشده با هر سه روش، نتایج مطلوبی به همراه داشتند. در مطالعات انجامشده مشاهده گردید که هیچ سمیت سلولی، اختلال در چسبندگی سلول و کاهش زنده ماندن سلول وجود ندارد و در نتایج سازگاری خونی و سلولی قابل مشاهده است (۳۲). سازگاری سلولی با روش MTT سنجیده شد و بر اساس نتایج مشاهده گردید که هیدروکسی آپاتیت به دست آمده بقای سلولی و زیست سازگاری مناسبی با سلولهای شبه استخوانی (MG63) نشان می دهد (۳۳–۳۵).

در مطالعهٔ حاضر، از نانو کریستالهای هیدرو کسی آپاتیت از صدفهای دریایی به عنوان منابع زیستی غنی از هیدرو کسی آپاتیت، در دسترس و ارزان قیمت برای سنتز این ساختارها بهره گرفته شد. هدف این مطالعه بهینه سازی روش سنتز این نانو ساختارها بود که بر اساس نتایج، روش اولتراسونیک در مقایسه با دو روش دیگر، از نظر بازده محصول، مقرون به صرفه بودن و زمان کو تاه تر بر تری نشان داد. با توجه به کاربرد و سیع هیدرو کسی آپاتیت در پزشکی، تو سعهٔ منابع و بهینه سازی روش های سنتز این محصول می تواند بسیار ارز شمند باشد.

سپاس گزاری

از معاونت محترم تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به سبب حمایتهای مالی تقدیر و تشکر می گردد. **تعارض منافع**

نویسندگان هیچ تضاد منافع را اعلام نمی کنند. **کد اخلاق**

این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی مصوب با کد ۵۰۰۰۴۰۸۱ معاونت تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه با شناسهٔ اخلاق IR.KUMS.REC.1403.024 است.

حمايت مالي

از معاونت محترم تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به سبب حمایتهای مالی تقدیر و تشکر می گردد. مشارکت نویسندگان [ژیلاایزدی]: مفهوم سازی، ایده ها، بررسی، مدیریت

داده ها، نظارت، مديريت پروژه.

[مهسا عباسی، حسین درخشانخواه، سهیلا کاشانیان و محمد سلیمان بیگی]: مشارکت اخلاقی در روش شناسی، نرمافزار، اعتبارسنجی، تحلیل رسمی، تحقیق، منابع، گردآوری دادهها، نگارش – پیش نویس اصلی، نگارش – بررسی و ویرایش.

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام / آذر ۲۰۶۱

References

- Chitra S, Rajeshkumar S, Ramya R, Bargavi P, Balakumar S. Probing the biocompatibility and antioxidant properties of Cissus quadrangularis conjugated bioactive glass and hydroxyapatite towards regeneration application. Inorg Chem Commun 2023;157:111398. doi: 10.1016/j.inoche.2023.111398.
- Abdian N, Etminanfar M, Sheykholeslami SOR, Hamishehkar H, Khalil-Allafi J. Preparation and characterization of chitosan/hydroxyapatite scaffolds containing mesoporous SiO2-HA for drug delivery applications. Mater Chem Phys 2023;301:127672. doi: 10.1016/j.matchemphys.2023.127672.
- Arokiasamy P, Abdullah MMAB, Abd Rahim SZ, Luhar S, Sandu AV, Jamil NH, et al. Synthesis methods of hydroxyapatite from natural sources: A review. Ceram Int 2022;48:14959-79. doi: 10.1016/j.ceramint.2022.03.064.
- Pavlychev A, Brykalova X, Korneev A, Cherny A, Kornilov N. Specific Features of the Crystal Structure of Calcium Hydroxyapatite in Native Bone Tissue. Crystallogr Rep 2024;69:38-44. doi:10.1134/S1063774523601326.
- Xiao D, Zhang J, Zhang C, Barbieri D, Yuan H, Moroni L, et al. The role of calcium phosphate surface structure in osteogenesis and the mechanisms involved. Acta Biomater 2020;106:22-33. doi: 10.1016/j.actbio.2019.12.034.
- Yang-Zhou CH, Cao JX, Dong SS, Chen SH, Michael RN. Phosphorus co-existing in water: a new mechanism to boost boron removal by calcined oyster shell powder. Molecules 2021;27:54. doi: 10.3390/molecules27010054.
- Sricharoen P, Limchoowong N, Nuengmatcha P, Chanthai S. Ultrasonicassisted recycling of Nile tilapia fish scale biowaste into low-cost nano-hydroxyapatite: Ultrasonic-assisted adsorption for Hg2+ removal from aqueous solution followed by "turn-off" fluorescent sensor based on Hg2+graphene quantum dots. Ultrason Sonochem 2020;63:104966. doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.104966.
- Anandan D, Jaiswal AK. Synthesis methods of hydroxyapatite and biomedical applications: an updated review. ACSJ 2024;60:663-79. doi: 10.1007/s41779-023-00943-2.
- Indira J, Malathi K. Comparison of template mediated ultrasonic and microwave irradiation method on the synthesis of hydroxyapatite nanoparticles for biomedical

applications. Mater Today 2022;51:1765-9. doi: 10.1016/j.matpr.2021.03.028.

- Osuchukwu OA, Salihi A, Abdullahi I, Etinosa PO, Obada DO. A comparative study of the mechanical properties of sol-gel derived hydroxyapatite produced from a novel mixture of two natural biowastes for biomedical applications. Sci Rep 2022;12:17968. doi: 10.1038/s41598-022-22888-5.
- 11. Hajibeygi M, Mousavi M, Shabanian M, Habibnejad N, Vahabi H. Design and preparation of new polypropylene/magnesium oxide micro particles composites reinforced with hydroxyapatite nanoparticles: A study of thermal stability, flame retardancy and mechanical properties. Mater Chem Phys 2021;258:123917. doi: 10.1016/j.matchemphys.2020.123917.
- 12. Yinka KM, Olayiwola AJ, Sulaiman A, Ali A, Iqbal F. Preparation and characterization of hydroxyapatite powder for biomedical applications from giant African land snail shell using a hydrothermal technique. EASR 2020;47. doi: 10356/66023.
- Lin DJ, Lin HL, Haung SM, Liu SM, Chen WC. Effect of ph on the in vitro biocompatibility of surfactant-assisted synthesis and hydrothermal precipitation of rod-shaped nano-hydroxyapatite. Polymers 2021;13:2994. doi: 10.3390/polym13172994.
- Molino G, Palmieri MC, Montalbano G, Fiorilli S, Vitale-Brovarone C. Biomimetic and mesoporous nano-hydroxyapatite for bone tissue application: A short review. Biomed Mater 2020;15:022001. doi: 10.1088/1748-605X/ab5f1a.
- 15. Kadu K, Kowshik M, Ramanan SR. Does the nanoparticle morphology influence interaction with protein: A case study with hydroxyapatite nanoparticles. Mater Today Commun 2021;26:102172. doi: 10.1016/j.mtcomm.2021.102172.
- Upadhyay P, Ullah A. Facile synthesis of hydroxyapatite nanoparticles from eggshell biowaste using Azadirachta indica extract as a green template. New J Chem 2024;48:1424-35. doi: 10.1039/D3NJ01715J.
- 17. Prakash VCA, 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. Mater Chem Phys 2021;259:124097. doi: 10.1016/j.matchemphys.2020.124097.
- Orasugh JT, Ghosh SK, Chattopadhyay D. Nanofiber-reinforced biocomposites. Fiberreinforced nanocomposites: fundamentals and applications: Elsevier; 2020. p. 199-233. doi: 10.1016/B978-0-12-819904-6.00010-4.

- Raja PB, Munusamy KR, Perumal V, Ibrahim MNM. Characterization of nanomaterial used in nanobioremediation. Nanobioremediation: fundamentals and applications: Elsevier; 2022. p. 57-83. doi: 10.1016/B978-0-12-823962-9.00037-4.
- Jia B, Yang H, Han Y, Zhang Z, Qu X, Zhuang Y, et al. In vitro and in vivo studies of Zn-Mn biodegradable metals designed for orthopedic applications. Acta Biomater 2020;108:358-72. doi: 10.1016/j.actbio.2020.03.009.
- Kumar K, Das A, Prasad SB. Biodegradable metal matrix composites for orthopedic implant applications: A review. Advances in Engineering Materials: Select Proceedings of FLAME 2020. 2021:557-65. doi: 10.1007/978-981-33-6029-7_52.
- Díaz-Cuenca A, Rabadjieva D, Sezanova K, Gergulova R, Ilieva R, Tepavitcharova S. Biocompatible calcium phosphate-based ceramics and composites. Mater Today 2022;61:1217-25. doi: 10.1016/j.matpr.2022.01.329.
- Josephin A, Intan N, Basari B, Rahman SF, editors. Extraction of collagen and hydroxyapatite from fish for bone scaffold: A review. AIP Conference Proceedings; 2024: AIP Publishing. doi: 10.1063/5.0198630.
- Sans J, Sanz V, Puiggalí J, Turon P, Alemán C. Controlled anisotropic growth of hydroxyapatite by additive-free hydrothermal synthesis. Crystal Growth Design 2020;21:748-56. doi: 10.1021/acs.cgd.0c00850.
- 25. Verma R, Mishra SR, Gadore V, Ahmaruzzaman M. Hydroxyapatite-based composites: Excellent materials for environmental remediation and biomedical applications. Adv Colloid Interface Sci 2023:102890. doi: 10.1016/j.cis.2023.102890.
- 26. Zastulka A, Clichici S, Tomoaia-Cotisel M, Mocanu A, Roman C, Olteanu CD, et al. Recent trends in hydroxyapatite supplementation for osteoregenerative purposes. Materials 2023;16:1303. doi: 10.3390/ma16031303.
- Rajkumar P, Sarma BK. Role of Zn and Mg substitutions on the mechanical behaviour of biomimetic hydroxyapatite and insight of the emergence of hydroxyapatite-ZnO nanocomposite. Mater Charact 2021;176:111107. doi: 10.1016/j.matchar.2021.111107.
- Filip DG, Surdu VA, Paduraru AV, Andronescu E. Current development in biomaterials—hydroxyapatite and bioglass for applications in biomedical field: a review. J Funct Biomater 2022;13:248. doi: 10.3390/jfb13040248.

 Pu'ad NM, Haq RA, Noh HM, Abdullah H, Idris M, Lee T. Synthesis method of hydroxyapatite: A review. Mater Today 2020;29:233-9. doi: 10.1016/j.moter.2020.05.526

10.1016/j.matpr.2020.05.536.

- Gani MA, Budiatin AS, Shinta DW, Ardianto C, Khotib J. Bovine hydroxyapatite-based scaffold accelerated the inflammatory phase and bone growth in rats with bone defect. J Appl Biomater Funct Mater 2023;21:22808000221149193. doi: 10.1177/22808000221149193.
- 31. Surya P, Nithin A, Sundaramanickam A, Sathish M. Synthesis and characterization of nano-hydroxyapatite from Sardinella longiceps fish bone and its effects on human osteoblast bone cells. J Mech Behav Biomed Mater 2021;119:104501. doi: 10.1016/j.jmbbm.2021.104501.
- 32. Khosalim IP, Zhang YY, Yiu CKY, Wong HM. Synthesis of a graphene oxide/agarose/hydroxyapatite biomaterial with the evaluation of antibacterial activity and initial cell attachment. Sci Rep 2022;12:1971. doi: 10.1038/s41598-022-06020-1.
- Ijaz I, Gilani E, Nazir A, Bukhari A. Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. GCLR 2020;13:223-45. doi: 10.1080/17518253.2020.1802517.
- Elbasuney S. Green synthesis of hydroxyapatite nanoparticles with controlled morphologies and surface properties toward biomedical applications. J Inorg Organomet Polym Mater 2020;30:899-906. doi: 10.1007/s10904-019-01247-4.
- 35. Vinayagam R, Pai S, Murugesan G, Varadavenkatesan T, Kaviyarasu K, Selvaraj R. Green synthesized hydroxyapatite nanoadsorbent for the adsorptive removal of AB113 dye for environmental applications. Environ Res 2022;212:113274. doi: 10.1016/j.envres.2022.113274.