

# اصلاح سطحی نانوذرات هیدروکسی آپاتیت فلوئورید دوپ شده با منیزیم با استفاده از اسید آمینه های زیست فعال به عنوان عامل جفت کننده برای کاربرد های زیست

## پزشکی

### چکیده

هیدروکسی آپاتیت (HA) به طور گسترده ای در زمینه مواد زیستی به عنوان یک سرامیک زیست فعال استفاده شده است. توسعه HA- اصلاح شده با جایگزینی یون های کلسیم و گروه های OH نه تنها موجب می شود تا ترکیب شیمیایی آن مشابه با ترکیب شیمیایی بافت استخوان طبیعی شود، بلکه منجر به بهبود رفتار برون تنی HA تولید شده تجاری می شود. بر همین اساس، نانوذرات هیدروکسی آپاتیت فلوئورید شده با منیزیم (Mg-FHA NPs) اخیراً توسعه یافته اند. با این حال، به دلیل انرژی سطحی بالای این نانوذرات، آن ها توزیع خوبی در ماتریس پلیمر زیستی برای تهیه و تولید کامپوزیت پلیمر- سرامیک که معمولاً برای کاربرد های مهندسی بافت لازم هستند ندارند. برای غلبه بر این نقیصه، سطح نانوذرات Mg-FHA با استفاده از برخی اسید آمینه های طبیعی نظیر مواد زیستی سازگار با محیط زیست و مقرون به صرفه در تحقیق فعلی اصلاح شد. آمینواسید های ال-لوسین، ایولولین، متیونین، فنیل آلانین، تیروزین و والین به عنوان عوامل جفت کننده استفاده شده و اصلاح سطحی نانوذرات Mg-FHA با استفاده از روش سونیکاسیون انجام شد. نتایج نشان داد که مولکول های اسید آمینه منجر به توزیع و انتشار یکنواخت نانوذرات Mg-FHA در محیط آلی با آب گریز کردن سطح نانوذرات می شود، این در حالی است که طول و واکنش پذیری شیمیایی مولکولهای آمینو اسید بر کارایی انتشار و توزیع نانوذرات اثر دارد. توزیع یکنواخت نانوذرات Mg-FHA می تواند به عنوان یک وضعیت مطلوب برای تولید کامپوزیت پلیمر- سرامیک به خصوص برای اهداف زیست پزشکی در نظر گرفته شود.

### 1-مقدمه

سرامیک زیست فعال هیدروکسی آپاتیت (HA) با ترکیب شیمیایی  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  به طور گسترده ای برای زمینه های ارتوپدی، دندانپزشکی و جراحی فک و صورت به دلیل تشابه با فاز معدنی استخوان و دندان استفاده شده اند. قرار دادن فلورین در ساختار آپاتیت برای تولید هیدروکسی آپاتیت حاوی

فلوئورین ( $FHA:Ca_{10}(PO_4)_6OH_2xF_x$ ) که در آن X بیانگر درجه فلوریداسیون است) موجب بهبود خواص فیزیکی و زیستی HA می شود. در حال حاضر، HA به طور جزئی با فلوئورین جایگزین شده و توجه زیادی را به خصوص در زمینه رشد استخوان بالینی به خود معطوف کرده است. به علاوه، حضور یون های منیزیم به جای یون های کلسیم در ساختار FHA موجب بهبود فعالیت زیستی آن و ویژگی های رسانش استخوانی<sup>1</sup> شده است. Mg-FHA زیست سازگاری و ویژگی های بیولوژیکی بیشتری را در مقایسه با FHA اصلاح نشده ارائه می کند (1-2). به علاوه، زیست تجزیه پذیری FA یا FHA سنتز شده از طریق جایگزینی بهینه منیزیم در ساختار FHA کنترل می شود (3). اخیراً، کامپوزیت های ماتریس پلیمری در زمینه مهندسی بافت استخوان به دلیل خواص مکانیکی و زیستی بالای خود در مقایسه با سرامیک ها، توجه زیادی را به خود جلب کرده اند. به علاوه، توسعه کامپوزیت های پلیمری/سرامیکی، منجر به شبیه سازی و الگوبرداری از ساختار استخوان طبیعی شده است زیرا در ماتریس کلاژن، متشکل از HA است (1-4).

خواص و ویژگی های فعالیت زیستی را می توان با نانوذرات بیوسرامیکی بهبود بخشید زیرا استخوان طبیعی متشکل از HA نانوساختار است (1-5). با این حال نانوذرات بیوسرامیکی در ماتریس پلیمری به دلیل سطح مقطع بالا و قطبیت سطحی ناسازگار با پلیمر ها، انباشته می شود. این مسئله به خوبی اثبات شده است که سازگاری سطحی سرامیک ها با ماتریس پلیمری اثر معنی داری بر خواص بیولوژیکی آن نظیر جذب پروتین و اتصال سلولی و تکثیر سلولی بر روی ساختار ها دارد (5-6).

به منظور تقویت پیوند بین وجهی (بین سطحی) بین فازهای فوق الذکر، درک شیمی سطحی و بین سطحی نانویوسرامیک در ماتریس پلیمری، بسیار مهم است. از این حیث، اصلاح سطحی نانوذرات با استفاده از عامل فعال سطحی، عامل جفت کننده اسید چرب و اتانول انجام شده است (5-7-11).

اسید های آمینه موسوم به بیومواد (مواد زیستی) مقرون به صرفه با ویژگی های زیست تجزیه پذیری، زیست سازگاری، عدم سمیت و سازگاری با محیط زیست می باشند که موجب شده است تا آن ها به جایگزین های ایده ال برای زمینه های مهندسی بافت تبدیل شوند. به علاوه، بهترین حلال برای اسید آمینه، آب به عنوان یک محلول غیر سمی، طبیعی، سازگار با محیط زیست و ارزان است (12-14).

به دلیل وجود گروه های OH بر روی سطح نانوذرات Mg-FHA ف آن ها معمولا در ماتریس پلیمری انباشته می شوند. به علاوه، این گروه های سطحی OH موجب می شوند تا نانوذرات Mg-FHA به مولکول های اسید آمینه متصل شوند. در نتیجه پیوند شیمیایی بین گروه های OH سطحی نانوذرات Mg-FHA و مولکول های آمینو اسید، سطح نانوذرات Mg-FHA از حالت آب دوست به حالت آب گریز تغییر کرده و این منجر به توزیع یکنواخت ذرات در محلول آلی می شود. از این روی اسید های آمینه را می توان به عنوان گزینه ای مناسب برای اصلاح سطحی نانویوسرامیک ها به خصوص در ماتریس پلیمری در نظر گرفت (12-15).

در این مطالعه، سطح نانوذرات Mg-FHA تحت تغییرات و اصلاح شیمیایی با آمینو اسید های زیست فعال طبیعی برای بهبود توزیع و انتشار نانوذرات در ماتریس پلیمری قرار گرفت. نانوذرات اصلاح شده با طیف سنج مادون قرمز فوریر FT-IR، پایداری انتشار، انکسار اشعه ایکس XRD، میکروسکوپ الکترونی نگاره گسیلش میدانی FE-SEM و نیز تحلیل ترموگراویمتری بررسی شدند.

## 2- روش آزمایشی

### 1-2 اصلاح سطحی نانوذرات Mg-FHA

نانوذرات Mg-FHA با استفاده از روش سول ژل بر طبق تحقیقات قبلی توسط گروه تحقیقات بیومواد تولید شد. به طور خلاصه، مواد آغاز گر شامل Mg (99.9%)، P2O5 (99.9%) و  $(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  (99.9%) و  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  (99.9%) بود. مقادیر مناسب مواد فوق الذکر با ترکیب استوکیومتری  $Ca_{9.5}Mg_{0.5}(PO_4)_6(OH)F$  در اتانول حل شدند. این محلول ها به صورت قطره ای به یک دیگ برای بدست آوردن یک محلول با نسبت  $(Ca, Mg)/P$  1.67 افزوده شدند. ترکیب نهایی به مدت 24 ساعت در دمای محیط برای تولید ژل، همزده شد. ژل تشکیل شده به مدت 25 ساعت در دمای محیط باقی می ماند و در اون در دمای 100 درجه خشک می شود. زه خشک شده با میزان دمای 5 درجه ای در دقیقه تا 650 درجه به مدت 1 ساعت در کوره مافل حرارت داده می شود.

اسید آمینه های طبیعی از جمله ال-لوسین، ایلولین، متیونین، فنیل آلانین، تیروزین و والین بدون اصلاح بیشتر استفاده شدند. اسید آمینه های فوق با غلظت 10 درصد وزنی در 20 میلی لیتر آب مقطر در دمای اتاق حل شدند. نانوذرات Mg-FHA تولید شده در 120 درجه به مدت 24 ساعت برای حذف آب خشک شدند.

سپس نانوذرات Mg-FHA به محلول اتانول حاوی اسید آمینه افزوده شده و در دمای اتاق به مدت 24 ساعت هم زده شدند. ترکیب تهیه شده در حمام اولتراسونیک به مدت 30 دقیقه قرار گرفت. نمودار شماتیک فرایند اصلاح سطحی برای نانوذرات Mg-FHA در شکل 1 نشان داده شده است.

## 2-2 شناسایی

گروه های عاملی نمونه ها با طیف سنج مادون قرمز فوریه در دامنه 4000-400 سانتی متر شناسایی شدند. پایداری توزیع Mg-FHA اصلاح شده با آزمایشات رسوب در دو محیط متفاوت تعیین شد (5). به طور خلاصه نانوذرات با غلظت 1 گرم بر لیتر در محیط ها به طور اولتراسونیک توزیع شدند. پایداری و ثبات انتشار با اندازه گیری زمان مورد نیاز برای رسوب همه نانوذرات برآورد شد که در آن ها محلول کاملاً شفاف بود.

ترکیب فازی نمونه ها با الگوهای انکسار اشعه ایکس XRD با ولتاژ 40 کیلوولت و تابش  $\text{Cu K}\alpha$  تحلیل شد.

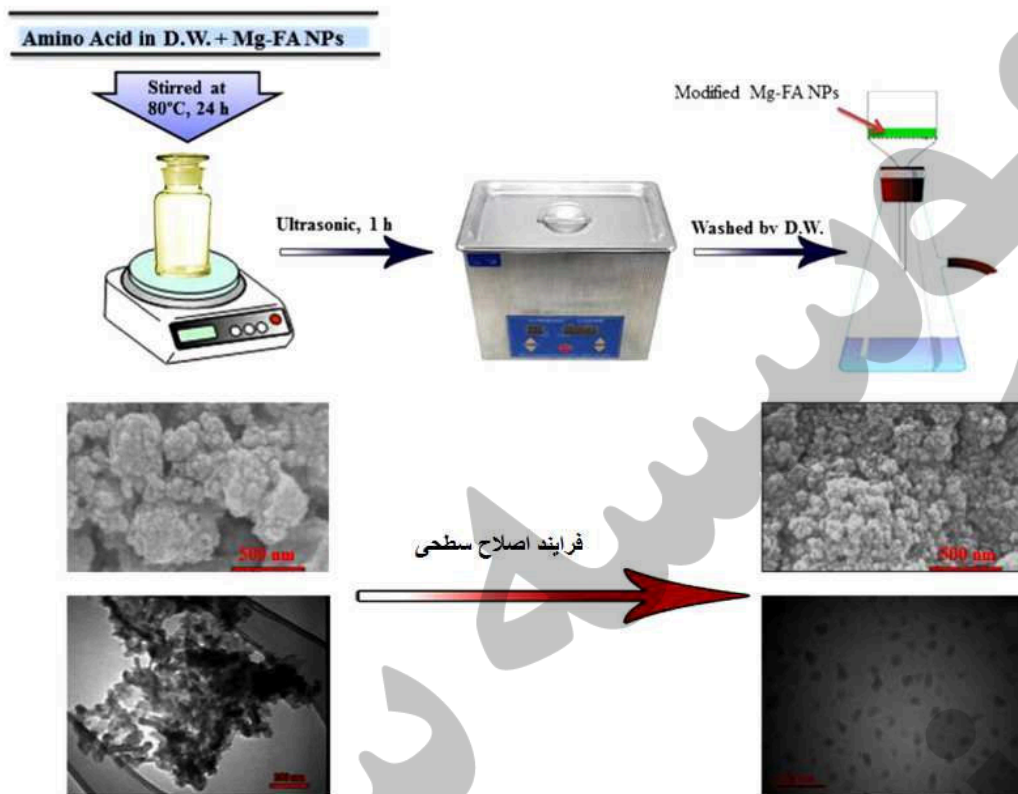
اندازه بلور نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده و اصلاح نشده با استفاده از معادله دبی شرر محاسبه شد (16)

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

که  $\lambda$  (nm) طول موج اشعه ایکس مورد استفاده،  $\beta$  (rad) عرض کامل در باند های انکسار،  $\theta$  زاویه براگ

و D اندازه متوسط بلور است. الگوهای XRD در دامنه  $2\theta$  از 20 تا 60 درجه ثبت شد. اندازه و مورفولوژی

نانوذرات با استفاده از TEM محاسبه شد.



شکل 1: شماتیک فرایند اصلاح با اسیدهای آمینه

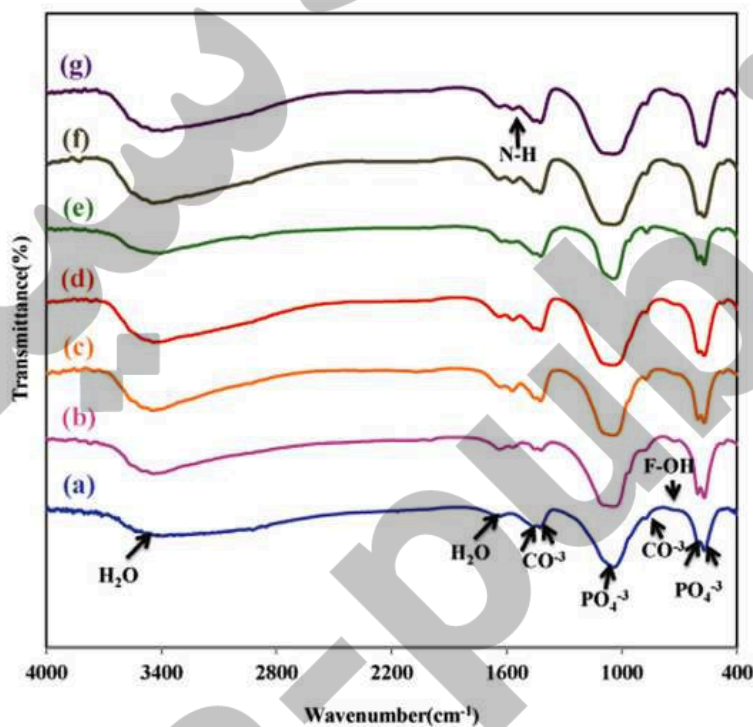
تصاویر FE-SEM و TEM با استفاده از نرم افزار تحلیل تصویر برای تعیین اندازه نانوذرات تولید شده تحلیل شد. تحلیل گراویمتری حرارتی برای تعیین کاهش وزن نمونه ها از دمای اتاق تا 800 درجه با میزان حرارت دهی 10 درجه بر دقیقه استفاده شد.

### 3- نتایج و بحث

به منظور بهبود توزیع نانوذرات Mg-FHA و بهبود سازگاری آن ها با ماتریس پلیمر، نانوذرات با استفاده از اسید آمینه های طبیعی اصلاح شدند. برای تایید این که واکنش شیمیایی بین سطح نانوذرات Mg-FHA و اسید آمینه ها رخ داده است و برای شناسایی گروه های عاملی حاصله، تحلیل FT-IR قبل و پس از اصلاح سطحی انجام شد. طیف های FTIR متناظر با نانوذرات اولیه و نانوذرات اصلاح سطحی شده در شکل 2 نشان داده شده است. یک باند اصلی مرتبط با گروه فسفات در دامنه 1100-1000 سانتی متر قرار گرفته است. در حقیقت می توان دید که جذب  $PO_4^{-3}$  در دامنه 950 تا 1100 سانتی متر و 620-550 سانتی متر است. باند های مشاهده شده در 850 سانتی متر و 1450-1550 سانتی متر، وجود گروه های  $CO_3^{-2}$  را نشان داد. باند های

ذکر شده با HA بیولوژیک ارتباط دارند و باند های وسیع تر در 3500 سانتی متر را می توان به آب جذب شده نسبت داد.

به علاوه، چندین باند ضعیف مربوط به OH و کشیدگی  $sp^3$  CH در اطراف به ترتیب 3400 و 2983-2853 سانتی متر (14) مشاهده شد. دو باند قوی اطراف 1400 و 1570 سانتی متر نشان دهنده ارتعاش متقارن و غیر متقارن برای گروه کربوکسیلات پروتون زدایی شده از اسید های آمینه است. به دلیل تغییر در زاویه و طول پیوند، یک تغییر خفیف در گروه کربوکسیلات مشاهده شد: دلیل این است که چنگاله شدن کاتیون بستگی به نوع آن دارد. از این روی، پیوند های کشیدگی متقارن و غیر متقارن گروه کربوکسیله در 1406 و 1449 سانتی متر مشاهده شد.



شکل 2: طیف های FTIR الف: Mg-FA NPs خالص، ب: (ب) ایزولیزین، (ج) ولین، (د) تیروزین، (الف) فنیل آلانین، (ج) متیونین و (ج) لوسین.

در مقایسه با نانوذرات Mg-FHA اصلاح نشده، دو باند جذب جدید گسترده در اطراف 1520 و 1601 سانتی متر در طیف های FTIR نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با امینو اسید مشاهده شد که می تواند ناشی از آمین های اولیه باشد. جذب 3500-3400 سانتی متر، حضور گروه های N-H را بر روی نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با امینو اسید اثبات کرد. در خصوص چنگاله شدن اسید های آمینه، تحلیل FTIR، گروه های آمین و

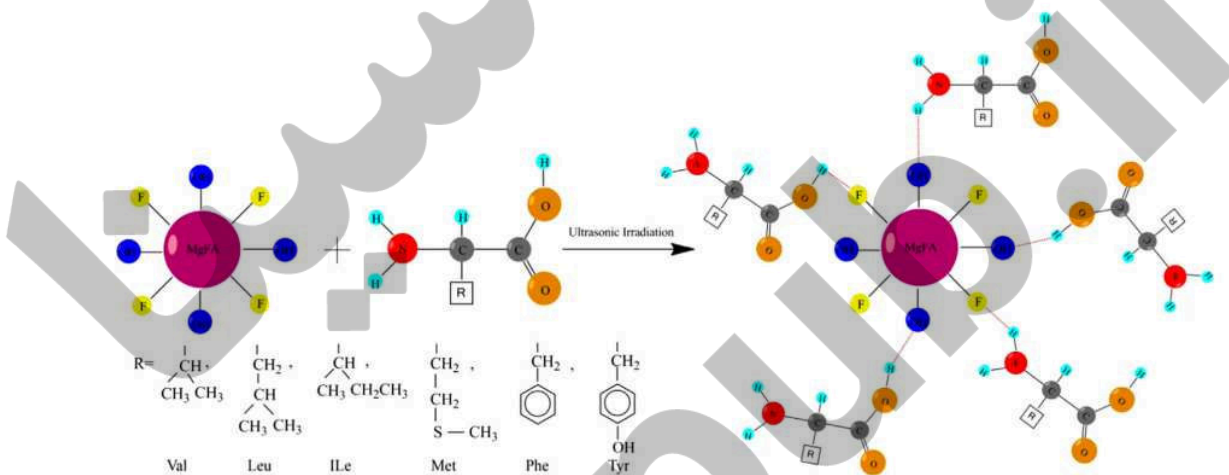
کربوکسیله را در طیف های نانوذرات اصلاح شده با امینو اسید را نشان داد. لازم به ذکر است که اسید امینه های آزاد نظیر زویتریون ، طیف های FTIR متفاوتی را در مقایسه با نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده نشان دادند. دلیل این است که امینو اسید های موجود در نانوذرات Mg-FHA | در شکل زویتریون نمی باشد.

گروه کربوکسیلات نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با اسید امینه پروتون زدایی شده و به نانوذرات از طریق گروه COO خنثی متصل می شود. وجود واکنش شیمیایی بین گروه های COO اسید امینه و سطح نانوذرات Mg-FHA منجر به یک تغییر صعودی در  $\nu_{C=O}$  در مقایسه با همین گروه در امینو اسید های آزاد شد. در خصوص نانوذرات اصلاح شده با Mg-FHA در طیف های FTIR، باند های مشخص در منطقه بین 1406 و 1449 سانتی متر مشاهده شد که کم تر از گروه کربوکسیله بود. می توان این طور نتیجه گرفت که اکسیژن گروه کربوکسیله در کئوردیناسیون کاتیون نقش دارد. هیچ تغییری در حالت ارتعاشی گروه های امینی مشاهده نشد و این نشان می دهد که گروه های امینی در کئوردیناسیون کاتیون نقش ندارند. یک باند با شدت پایین مشاهده شده در طیف FTIR در 436 سانتی متر به ارتعاش کششی  $\nu_{M-O}$  نسبت داده شد. باند های طیفی FTIR نشان داد که واکنش شیمیایی در موقعیت اسیدی اسید امینه و نانوذرات Mg-FHA رخ داده و موجب می شود تا مولکول های اسید امینه به سطح نانوذرات به طور شیمیایی متصل شوند. در نتیجه سطح نانوذرات Mg-FHA به طور کارآمدی با اسید های امینه اصلاح شد. بر طبق مشاهدات FTIR، فعل و انفعالات پیشنهادی بین نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با اسید امینه در شکل 3 نشان داده شده است.

به منظور ارزیابی اثر اصلاح سطحی، قابلیت انتشار و توزیع نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده در کلروفرم با نانوذرات Mg-FHA اصلاح نشده که در شکل 4 نشان داده شده است، مقایسه شد.

جدول 1 رفتار نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده و اصلاح نشده را در حلال های قطبی (آب) و قطبی ضعیف (کلرفرم) نشان می دهد. نتایج نشان داد که نانوذرات Mg-FHA اصلاح نشده به طور کامل پس از به ترتیب 0.5 و 1 ساعت در کلروفرم و آب رسوب یافت. بدیهی است که نانوذرات FHA در محلول های الی به دلیل پیوند هیدروژنی بین ذره ای و نیز پیوند وان در والسی انباشته می شوند. با اصلاح سطحی، زمان رسوب برای نانوذرات، با توجه به نانوذرات اصلاح نشده تغییر یافت. زمان رسوب همه نمونه ها در آب طولانی تر از NO اصلاح شده در حلال کلروفرم بود. از این روی نانوذرات اصلاح شده بیانگر رفتار های مختلف و متفاوت در حلال های مختلف بر

طبق اصل سازگاری مشابه است (6). بر اساس این نتایج می توان پیشنهاد کرد که نانوذرات اصلاح شده برای محیط های فیزیولوژیک مناسب است زیرا آنها توزیع مناسبی در هر دو حلال قطبی و ضعیف دارند (6-22). فرایند اصلاح سطحی موجب افزایش سازگاری بین نانوذرات Mg-FHA اصلاح نشده و حلال های آلی می شود. پس از اصلاح سطح نانوذرات، زمان رسوب به طور قابل توجهی در مقایسه با نانوذرات اصلاح نشده افزایش یافت. بر طبق شکل 4، زمان رسوب برای نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با افزایش طول مولکولی امینو اسید ها یا واکنش پذیری شیمیایی بین اسید آمینه و سطح نانوذرات افزایش یافت. در رابطه با نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با تیروزین و فنیل الانین، پایداری بالا در مقایسه با سایر اصلاح کننده ها بدست آمد. این ناشی از بهبود ثبات و پایداری نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با تیروزین و فنیل الانین در محلول کلروفرم به دلیل پیوند بالای نانوذرات است. فنیل الانین و تیروزین دارای یک گروه بزرگی است که مانع از انباشت نانوذرات می شود.



شکل 3: فعل و انفعال سطح نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با امینو اسید ها

به این ترتیب انتظار می رود که استفاده از محلول پلیمری حاوی نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده موجب تولید نانوکامپوزیت با توزیع همگن شود. این مسئله منجر به افزایش سطح مقطع مواد تقویت کننده نانوذرات بیوسرامیکی در معرض بیو سولفید ها شده جذب پروتین و اتصال سلول را تسهیل می کند (5). اندازه بلور متوسط نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده، بر طبق فرمول شرر، 32 نانومتر می باشد که توسط مشاهدات TEM تایید شده است. باند های مشخص نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده که در شکل 5 نشان داده شده است مربوط به اندازه استاندارد فلوراپاتیت است. هیچ گونه باند مرتبط با ناخالصی ها وجود نداشته و فرایند اصلاح تاثیری بر فاز بلورین نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده ندارد. دلیل این است که باند های مشخص برای



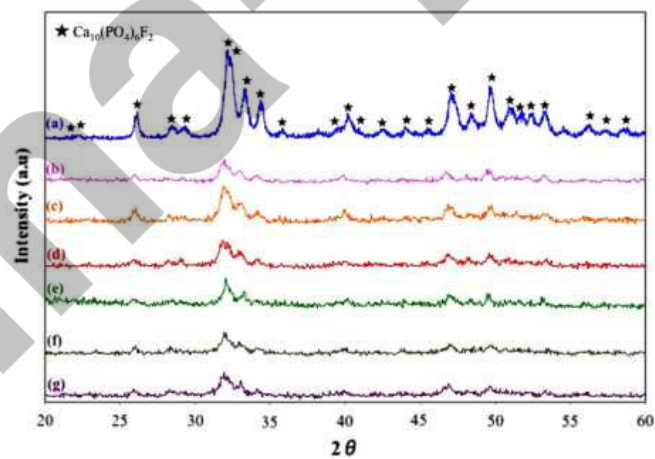
همه نمونه ها مشابه هستند. از سوی دیگر، باند های مشخص نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده به تدریج در مقایسه با انواع اصلاح نشده به دلیل ظهور امینو اسید به عنوان مولکول الی، پهن تر شد (14).

مورفولوژی نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده توسط مشاهدات FE SEM و TEM مطالعه شد. شکل 6 تصاویر FE-SEM نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده و اصلاح نشده را با امینو اسید های مختلف نشان می دهد. نانوذرات Mg-FHA اصلاح نشده دارای یک مورفولوژی توده ای و دانه دانه با اشکال ناهمگن استدر حالی که نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با امینو اسید ها توزیع مناسبی در محلول داشتند. همان طور که در شکل 6 نشان داده شده است، نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده یک ریخت شناسی کروی را با توزیع یکنواخت نشان دادند (15-23-14). نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با امینو اسید، ذرات کوچک تر و یکنواخت تری را در مقایسه با نانوذرات Mg-FHA اصلاح نشده نشان دادند. در واقع به دلیل اصلاح سطحی، انرژی سطحی نانوذرات کاهش یافته و موجب کاهش انباشتگی گردید. تصاویر FE SEM نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با ایزلوسین و فنیل الانین نشان داد که انباشتگی کم تری در نانوذرات وجود دارد. از این روی، آن ها موجب ایجاد بازدارندگی استری در اطراف نانوذرات Mg-FHA شده و مانع از انباشتگی می شوند.

به دلیل وجود گروه های عاملی مشابه بر روی سطح نانوذرات، آن ها در سطح انباشته می شوند. نانوذرات اصلاح شده از طریق پیوند هیدروژن یا نیروی وان در والسی به هم متصل می شوند. از این روی اصلاح سطحی نانوذرات با امینو اسید موجب افزایش انباشت نانوذرات در حالت جامد می شود.



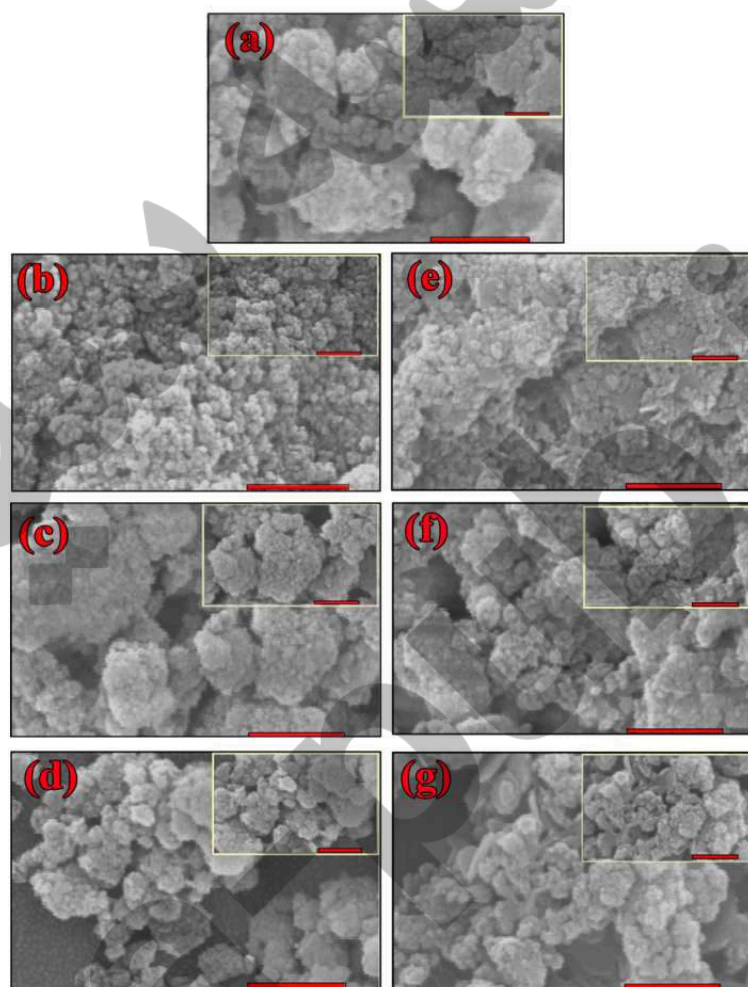
شکل 4: انتشار نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده در کلروفورم با نانوذرات Mg-FHA خالص مقایسه شد.



شکل 5: الگوهای XRD از الف: Mg-FA NPs خالص، ب: (ب) ایزولیزین، (ج) ولین، (د) تیروزین، (الف) فنیل آلانین، (ج) متیونین و (ج) لوسین.

جدول 1: اثر شرایط هیدرولیتیک بر روی انتشار نانوذرات

حلال ها	زمان رسوب						
	Pure NPs	Ile- NPs	Val-NPs	Tyr-NPs	Phe-NPs	Met-NPs	Leu-NPs
آب	2 h	18 h	16 h	1 h	24 h	1 h	24 h
کلروفرم	30 min	3 h	2 h	3 h	3 h	1 h	2.5 h

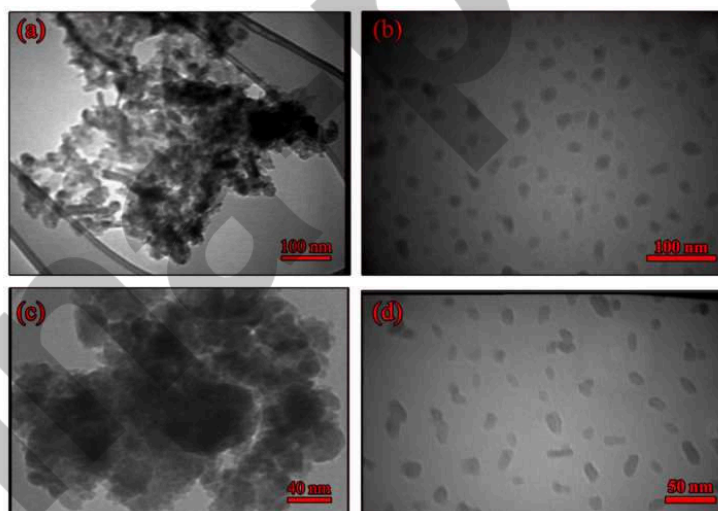


شکل 6: تصاویر FE SEM از الف: Mg-FA NPs خالص، ب: (ب) ایزولیزین، (ج) ولین، (د) تیروزین، (الف) فنیل آلانین، (ج) متیونین و (ج) لوسین.

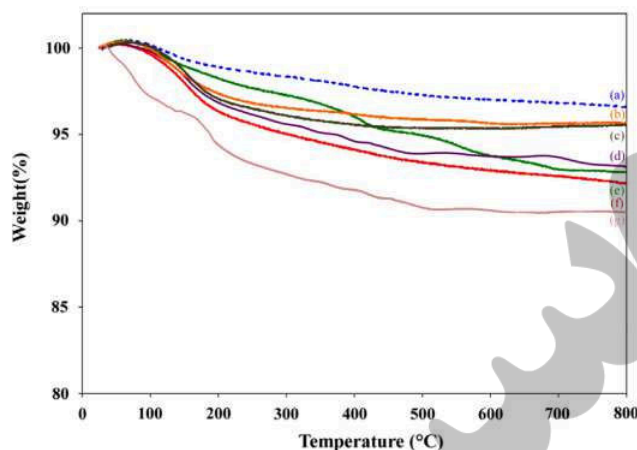
همان طور که در شکل 4 نشان داده شده است آن ها در حلال های آلی نظیر الکل و کلروفرم توزیع می یابند. برای تهیه نمونه هایی برای مشاهدات TEM، نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با آمینو اسید در الکل توزیع یافتند. شکل 6 تصاویر TEM از نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با ایزولوسین و اصلاح نشده را نشان می دهد.

بر طبق شکل 7 الف، اندازه ذره نانوذرات Mg-FHA در دامنه 25 تا 35 نانومتر است. به دلیل سطح مقطع بالا و انرژی سطحی بالا، نانوذرات Mg-FHA به شدت انباشته می شوند که در شکل 7 الف نشان داده شده است. به این ترتیب توزیع و انتشار با حضور ذرات بر روی تصویر TEM بهبود یافته است. ذرات یک ساختار کروی شکل بدون انباشتگی را نشان دادند. اندازه ذره نانوذرات اصلاح شده برابر با 15 نانومتر بود. به علاوه وجود سایه در اطراف نانوذرات اصلاح شده نشان دهنده وجود لایه آلی پیوند شده است.

شکل 8 نشان دهنده منحنی های TGA نانوذرات اصلاح شده و اصلاح نشده است که در آن دامنه دمایی بین 25 و 800 درجه تعدیل می شود. همان طور که می توان در شکل 8 الف دید، حدود 3.38 درصد کل نانوذرات اصلاح نشده به دلیل تبخیر آب جذب شده بر روی سطح نانوذرات از بین رفته است. با این حال نانوذرات اصلاح شده یک افزایش را در تلفات نشان داد. افت جرم TGA در نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده به دلیل وجود مولکول های اسید آمینه جذب شده بر روی سطح نانوذرات افزایش یافت. نتایج نشان داد که مولکول های ایزولوسین به طور موثر در سطح ذرات جذب می شوند و پس از آن تیروزین دارای واکنش شیمیایی مناسب با سطح نانوذرات است. بر همین اساس، روند کاهش جرم مولی به ترتیب ایزولوسین، لوسین، تیروزین، فنیل آلانین، والین و متیونین است. بر اساس این نتایج، یافته های تست رسوب قابل درک است. لازم به ذکر است که مولکول های تیروزین و فنیل آلانین دارای بازدارندگی استری و پیوند مناسب با گروه هیدروکسیل در سطح نانوذرات است.



شکل 7: تصاویر TEM الف: Mg-FA NP خالص و اصلاح شده با ایزولوسین



شکل 8: ترموگرام های TGA از الف: Mg-FA NPs خالص، ب: (ب) ایزولیزین، (ج) ولین، (د) تیروزین، (الف) فنیل آلانین، (ج) متیونین و (ج) لوسین.

پس از اصلاح از طریق اسید آمینه های مختلف، نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده از حالت هیدروفیلیک یا اب دوست به حالت اب گریز تغییر یافتند. نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده پوشش داده شده با اسید آمینه توزیع مناسبی در حلال های الی قطبی ضعیف و غیر قطبی نظیر کلرفرم و استون به عنوان ماتریس پلیمر داشت. در طی فرایند تهیه، تصعید برای تشکیل پیوند C-O بین عامل جفت کننده آمینو اسید و سطح نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده رخ داد. برای بدست آوردن توزیع همگن نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده در ماتریس پلیمر، سطح نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده اب گریز می شود. در نتیجه، نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با اسید آمینه های ساده به عنوان عمل جفت کننده برای عاملی سازی سطحی فراوری شد (14-15).

در طی فرایند، اسید آمینه با سطح نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده واکنش داده شد. هر گروه OH از مولکول اسید آمینه به عنوان عامل جفت کننده با گروه های هیدرکسیل بر روی سطح نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده واکنش می دهد. از این روی مولکول عامل جفت کننده به سطح نانوذرات Mg-FHA متصل می شود. به علاوه زنجیره های الی آمینو اسید یک بازدارندگی استری را بین نانوذرات غیر الی برای کاهش انباشت نانوذرات Mg-FHA ایجاد می کند

#### نتیجه گیری

اصلاح سطحی نانوذرات Mg-FHA به طور موفق با استفاده از یک روش اسان، سریع و سازگار با محیط زیست انجام شد. برای همین منظور، انواع مختلف آمینو اسید های طبیعی از طریق روش سونیکاسیون در محیط ابی

استفاده شدند. بر اساس نتایج، واکنش شیمیایی بین گروه هیدروکسیل سطحی نانوذرات Mg-FHA و مولکول های اسید آمینه رخ داد. اسید آمینه ها با گروه های هیدروکسیل سطح نانوذرات Mg-FHA از طریق پیوند هیدروژنی متصل شدند. نانوذرات Mg-FHA در مقایسه با انواع اصلاح نشده در حلال الی بهبود یافت. نتایج نشان داد که اصلاح سطحی با اسید آمینه یک روش مناسب برای انتشار همگن نانوذرات است. لازم به ذکر است که طول اسید آمینه یا واکنش شیمیایی با سطح، یک عامل کلیدی موثر بر توزیع نانوذرات در محیط های الی است. بر این اساس بهبود توزیع و پایداری در حلال قطبی ضعیف برای نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با تیروزین و فنیل الانین ن بر روی سطح نانوذرات Mg-FHA به طور موثر جذب می شود. به دلیل سازگاری مناسب نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده با محلول پلیمری، انتظار می رود که محلول پلیمری حاوی نانوذرات Mg-FHA اصلاح شده منجر به تشکیل نانوکامپوزیت های یکنواخت می شود که در آن نانوذرات بیوسارمیک با توزیع همگن شده و سطح مقطع زیادی در معرض بیوفلوئید ها یا سیال های زیستی برای بهبود جذب پروتین، اتصال سلول و سایر کاربرد های زیستی برای مهندسی بافت قرار می گیرد.