

# تأثیر دما بر سینتر شدن هیدروکسی آپاتیت و جذب اتیدروونات بر آن

نسیم نوسودی، فتح الله مضطرزاده\*، مهدی علیپور

تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی پزشکی

پیام نگار: moztarzadeh@aut.ac.ir

## چکیده

هیدروکسی آپاتیت یکی از انواع کلسیم فسفات هاست که به دلیل داشتن ترکیب مشابه با استخوان طبیعی و نیز زیست سازگاری و زیست فعالی، کاربردهای بسیار گسترده‌ای در زمینه ترمیم استخوان و دندان دارد. یکی از متداولترین داروهای پوکی استخوان بی فسفوناتها هستند که فعالیت استئوکلاست‌ها را مختل می‌کنند و در نتیجه مانع خروج کلسیم از استخوان می‌شوند. ایمپلنت‌های هیدروکسی آپاتیت به طور گسترده در بدن مورد استفاده قرار می‌گیرند. هدف از این تحقیق، استفاده از داروی بی فسفونات به عنوان فاز دوم چندسازه کلسیم فسفات است. گرانول‌های تهیه شده از هیدروکسی آپاتیت در محلول بی فسفونات غوطه‌ور می‌شوند و چندسازه حاصل، مورد مطالعه میکروسکوپی قرار می‌گیرد، زیرا نحوه جذب بی فسفونات بر خواص هیدروکسی آپاتیت مؤثر خواهد بود. در بخشی از پروژه به تغییر دمای سینتر شدن در حضور بی فسفونات می‌پردازیم که در این مقاله آورده شده است.

کلمات کلیدی: اتیدروونات، هیدروکسی آپاتیت، پوکی استخوان

## ۱- مقدمه

درصد بالاتری از تماس استخوانی را در مقایسه با ایمپلنتهایی که از این شیوه استفاده نمی‌کردند، دارا بودند و معلوم شد که قرار گرفتن بی فسفونات در بالا بردن استخوان سازی مؤثر است. روش دیگر، استفاده از یک سیستم رهایش دارو است که بتوان با آن بی فسفونات را در محل مورد نظر (استخوانهای آسیب دیده) آزاد نمود. اما حامل دارو بایستی زیست سازگار باشد و بی فسفونات باید بتواند با آن پیوند برقرار کند. آزادسازی دارو در محل به شیوه سیستم رهایش دارو<sup>۱</sup> از حاملی استفاده می‌کند که بتواند دارو را در خود ذخیره کند. متعاقباً با تغییر در محیط زیست‌شناختی اطراف، باید بتواند دارو را در محل آزاد کند تا دارو بتواند تاثیرات دارویی خود را بروز دهد. [۳-۵] پلی استرهایمانند مشتقات پلی گلیکولیک اسید به عنوان حامل بی فسفونات، و همچنین، کلسیم فسفاتها نیز به عنوان حامل

بی فسفوناتها به عنوان یک گروه دارویی مؤثر برای بیماران که از پوکی استخوان رنج می‌برند مورد استفاده قرار گرفته است. بی فسفوناتها به صورت شیمیایی با فسفات کلسیم استخوان، پیوند برقرار می‌کنند و مانع فعالسازی استئوکلاست‌ها می‌شوند. به علاوه بی فسفوناتها، همچنین، با آسان کردن مرگ سلولی استئوکلاست‌ها، این سلولها را از بین می‌برند و به این ترتیب از انحلال استخوان جلوگیری می‌کنند. در ایمپلنتهای دندانی و درمان استخوانهای صورت، دو روش برای رهایش بی فسفونات ایجاد شده است. [۱-۲] اولین روش، استفاده از بی فسفونات برای ثابت نگه داشتن ایمپلنت برای بهبود کیفیت استخوان اطراف ایمپلنت است. یوشیناری و همکاران و نیز کاجیوارا و همکاران گزارش کرده‌اند که ایمپلنتهای تیتانیومی که با استفاده از بی فسفونات در محل قرار گرفته بودند،

1. DDS

ایتدروونات با حل کردن ۳۰ میلی گرم ایتدروونات در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر تهیه شد. ۱۰ میلی گرم هیدروکسی آپاتیت ۴۰۰، هیدروکسی آپاتیت ۸۰۰ یا هیدروکسی آپاتیت ۱۲۰۰ به مدت ۲۴ ساعت در ۱ میلی لیتر از محلول ایتدروونات در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفت تا بی فسفونات به صورت گرانولهای هیدروکسی آپاتیت بارگزاری شود. چندسازه‌های (هیدروکسی آپاتیت- ایتدروونات)، که از این پس آنها را ایتدروونات ۴۰۰، ایتدروونات ۸۰۰ و ایتدروونات ۱۲۰۰ می‌نامیم، مبتنی بر دمای سینتر شدن گرانولهای هیدروکسی آپاتیت می‌باشند.

### ۳- بررسی خواص سیمان استخوان

#### ۳-۱ پراش پرتو ایکس

برای بررسی فازی چندسازه تهیه شده از پراش پرتو ایکس استفاده شده است. بدین منظور سیستم XRD با پراش سنج ۳۷۱۰PW همراه با تابش CuK $\alpha$  به کار گرفته شد. اسکن در محدوده ۲۰ تا ۴۰ درجه انجام شد.

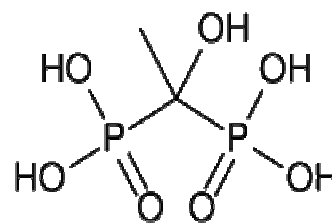
#### ۳-۲ میکروسکوپ الکترونی

بررسی ریز ساختار نمونه‌ها و فضاهای بین تخلخل‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) انجام گرفت.

#### ۴- نتایج

نمونه‌های به دست آمده برای پراش پرتو ایکس در شکل (۲) نشان داده شده‌اند. همه نمونه‌ها مربوط به هیدروکسی آپاتیت می‌باشند. عرض کامل نیمه ماکسیم (FWHM) برای  $2\theta = 26^\circ$ ،  $0.424^\circ$  برای هیدروکسی آپاتیت ۴۰۰،  $0.673^\circ$  برای هیدروکسی آپاتیت ۸۰۰ و  $0.923^\circ$  برای هیدروکسی آپاتیت ۱۲۰۰ به دست آمد. مقادیر FWHM برای دماهای بالاتر سینتر شدن<sup>۱</sup> زیادتر می‌شدند. اندازه کریستال  $22/3$  نانومتر برای هیدروکسی آپاتیت ۴۰۰،  $25/2$  نانومتر برای هیدروکسی آپاتیت ۸۰۰ و  $28/8$  نانومتر برای هیدروکسی آپاتیت ۱۲۰۰ به دست آمد.

بی فسفونات مورد آزمایش قرار گرفتند. در میان گونه‌های مختلف کلسیم فسفات‌ها، هیدروکسی آپاتیت بهترین گزینه بود زیرا می‌توان آن را با انحلال‌پذیری‌های مختلف تولید کرد. در مقایسه با بتا- تری کلسیم فسفات، هیدروکسی آپاتیت با درجات بالای بلورینگی، انحلال‌پذیری کمتری دارد. کریستالی بودن هیدروکسی آپاتیت را می‌توان با کاهش دمای سینتر شدن کاهش داد که به این ترتیب انحلال‌پذیری هیدروکسی آپاتیت افزایش می‌یابد که ما را قادر می‌سازد تا گستره وسیعی از انحلال‌پذیری‌های مختلف هیدروکسی آپاتیت و بی فسفونات را کنترل کنیم. از آنجا که انحلال‌پذیری هیدروکسی آپاتیت با pH تغییر می‌کند، وجود التهاب، باز جذب استخوان را آسان می‌کند. التهاب به ایجاد محیطی که به بی فسفونات اجازه می‌دهد به راحتی آزاد شود کمک شایانی می‌کند. به علاوه، هیدروکسی آپاتیت میل ترکیبی زیادی به بی فسفونات دارد که نباید فعالیت دارویی بی فسفونات را کاهش دهد. بنابراین با کنترل و تنظیم انحلال‌پذیری هیدروکسی آپاتیت می‌توان میزان رهایش بی فسفونات را کنترل کرد. [۸-۶]



شکل ۱- ساختار شیمیایی، ایتدروونات دی سدیم

### ۲- مواد و روشها

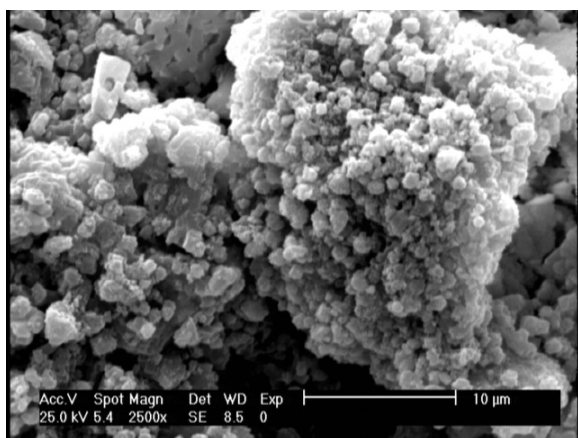
پودر هیدروکسی آپاتیت به عنوان مواد آغازین واکنش، سینتر شد. سپس در دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس خشک گردید. دمای سینتر شدن برای تولید گرانولهای هیدروکسی آپاتیت، ۴۰۰ و ۸۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت و ۱۲۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۱ ساعت با نرخ گرم شدن ۵ درجه در دقیقه بود (به ترتیب هیدروکسی آپاتیت ۴۰۰، هیدروکسی پاتیت ۸۰۰ و هیدروکسی آپاتیت ۱۲۰۰).

### ۲-۱ کامپوزیت هیدروکسی آپاتیت- بی فسفونات

از ایتدروونات برای تهیه محلول استفاده شد. محلول ۱۰ میلی مولی

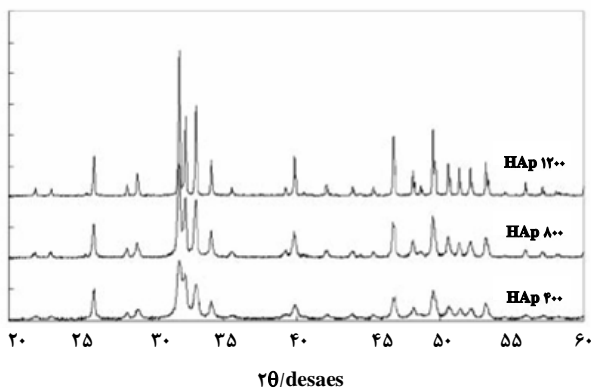
1. Sintering

برای ماست زیراکه در گام اول به سوی رهایش، نیازمند محیطی هستیم که دارو را تغییر نایافته در خود نگاه دارد و با تخریب، دارو را در بدن آزاد کند. در این روش، هیدروکسی آپاتیت گزینه مناسبی برای این امر است.

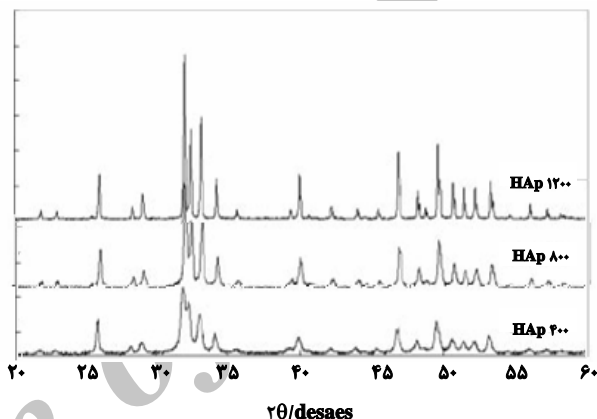


شکل ۵- SEM جذب اتیدروونات بر روی نمونه‌ها بعد از غوطه‌وری

نتایج SEM اندازه کریستال را  $22/3$  نانومتر برای هیدروکسی آپاتیت  $400$  درجه سلسیوس،  $25/2$  نانومتر برای هیدروکسی آپاتیت  $800$  درجه سلسیوس و  $28/8$  برای هیدروکسی آپاتیت  $1200$  درجه سلسیوس به دست داده است. نتیجه SEM نشان داد که در دمای سینتر شدن بالاتر، بلورهای بزرگتری ایجاد می‌شود. آزمایش‌ها بیان می‌کنند که بلورینگی هیدروکسی آپاتیت با تغییر دمای سینتر شدن تغییر می‌کند. کامویی و همکاران رابطه بین دمای سینتر شدن و بلورینگی را مورد مطالعه قرار داده و گزارش دادند که درجات بالای بلورینگی (قله‌های تیز در آزمایش پراش پرتو ایکس) در دمای بالاتر سینتر شدن مشاهده شده است. تاثیر تغییر دماهای سینتر شدن مختلف به خوبی ثابت شده است و اکنون دمای جوانه زنی تحت بررسی قرار دارد. در کل در زیر دمای جوانه زنی (حدود  $750$  تا  $800$  درج سانتی گراد)، هیدروکسی آپاتیت دانه‌های کریستالی کوچکتر و تخلخل بیشتری دارد که بنابراین می‌توان انتظار داشت که انحلال سریعتری داشته باشد. در این تحقیق، کمترین بلورینگی مربوط به هیدروکسی آپاتیت  $400$  و بیشترین بلورینگی مربوط به

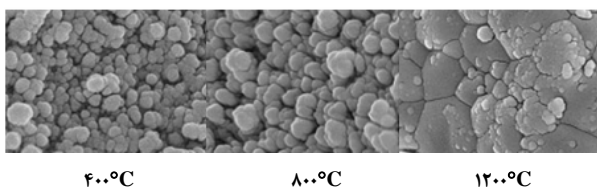


شکل ۲- پراش پرتو ایکس قبل از غوطه‌وری



شکل ۳- پراش پرتو ایکس بعد از غوطه‌وری

شکل (۴)، SEM گرانولهای هیدروکسی آپاتیت را که در دماهای مختلف سینتر شده‌اند، نشان می‌دهد. دماهای بالاتر سینتر شدن، سطح چگالترو اندازه دانه‌های بزرگتر را به دنبال دارد.



شکل ۴- SEM قبل از غوطه‌وری

## ۵- نتیجه‌گیری

مقایسه پراش پرتو ایکس قبل و بعد از غوطه‌وری نشان می‌دهد که جذب بی فسفونات بر هیدروکسی آپاتیت تنها جذب فیزیکی و بر اساس مکانیزم کیلیت شدن<sup>۱</sup> است. و این مسئله مهمترین نتیجه

دارای این نوع پیوند بوده و با یون فلز تولید یک حلقه جذبی می‌نمایند، ترکیبات کیلیت نامیده می‌شوند.

۱. واکنشگرهای کیلیتی در ساختار خود دارای عواملی که قادر به دادن زوج الکترون و ایجاد پیوند کوئوردینانسی کووالانس با یون فلز هستند. رسوبهایی که

## مراجع

- [1] Fleisch H. In: Bisphosphonates in Bone Disease. From the Laboratory to the Patients. San Francisco:Academic Press, (2000).
- [2] Doggrell SA. Zoledronate once-yearly increases bone mineral density - implications for osteoporosis. *Expert Opin Pharmacother*; 3:1007-1009, (2003).
- [3] Guicheux J, Heymann D, Rousselle AV, Gouin F, Pilet P, Yamada S, Daculsi G. Growth hormone stimulatory effects on osteoclastic resorption are partly mediated by insulin-like growth factor I: an in vitro study. *Bone*; 22:25-31, (1998).
- [4] For a review, see: Heymann D, Guicheux J, Gouin F, Passuti N, Daculsi G. Cytokines, growth factors and osteoclasts. *Cytokine*; 10:155-168, (1998).
- [5] Peck, W.A.; Burkhardt, P; Christiansen, C; *American Journal of Medicine*; 94: 645-650, (1993).
- [6] Tezuka K, Sato T, Kamioka H, Nijweide PJ, Tanaka K, Matsuo T, Ohta M, Kurihara N, Hakeda Y, Kumegawa M. Identification of osteopontin in isolated rabbit osteoclasts. *Biochem Biophys Res Commun*; 186(2): 911-917, (1992).
- [7] Ames BN. Assay of inorganic phosphate, total phosphate and phosphatases. In Colowick SP, Kaplan NO editors. *Methods in Enzymology*. Orlando: Academic Press; Vol. 8, P. 115-118, (1966).
- [8] Bouler JM, LeGeros RZ, Daculsi G. Biphasic calcium phosphates: influence of three synthesis parameter on the HA/beta-TCP ratio. *J Biomed Mater Res*; 51:680-684, (2000).

هیدروکسی آپاتیت ۱۲۰۰ بود. این نتایج به ما می‌گویند که تغییر دمای سینتر شدن نه تنها ریخت‌شناسی سطح را تحت تاثیر قرار می‌دهد، بلکه بر مساحت سطح ویژه و بلورینگی تاثیر می‌گذارد. به عبارت دیگر، با تغییر دمای سینتر شدن می‌توان خواص فیزیکی هیدروکسی آپاتیت را کنترل کرد.

همچنین کنترل انحلال‌پذیری هیدروکسی آپاتیت، غلظت بی فسفونات آزاد شده از چندسازه را تنظیم می‌کند.

همچنین دمای کم سینتر شدن هیدروکسی آپاتیت به عنوان حاملی برای رهاپس بی فسفونات، با مساحت سطح ویژه بزرگتر ارتباط دارد. این طور به نظر می‌رسد که از آنجا که بی فسفونات روی سطح هیدروکسی آپاتیت جذب می‌شود، با کاهش دمای سینتر ینگ، بی فسفونات جذب سطحی شده باید افزایش یابد. پس می‌توان پیشنهاد کرد که غلظت بی فسفونات رها شده از چندسازه‌های (هیدروکسی آپاتیت- بی فسفونات) را می‌توان با کنترل انحلال‌پذیری هیدروکسی آپاتیت و مقدار جذب سطحی بی فسفونات، با تغییر در دمای سینتر شدن هیدروکسی آپاتیت تغییر داد.