

## بهینه‌سازی هیدروژل‌های سدیم آلژینات حاوی نانو سرامیک در کاربردهای مهندسی بافت استخوان: مطالعه شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

سیما رضوان طلب<sup>۱\*</sup>، رعنا جهانان اسفهلان<sup>۲</sup>، نسرين لطفی بخشایش<sup>۳</sup>، نیما بهشتی زاده<sup>۴\*</sup>

۱. دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی ارومیه، ارومیه ۴۱۹-۵۷۱۶۶، ایران

۲. گروه زیست فناوری پزشکی، دانشکده علوم نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۳. گروه مهندسی بافت، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴. گروه مهندسی بافت، دانشکده علوم نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

### چکیده

ساخت داربست‌ها برای کاربردهای مهندسی بافت استخوان اغلب شامل استفاده از دو دسته متمایز از بیومواد حاوی کلسیم، یعنی فسفات‌های کلسیم و سیلیکات‌های کلسیم است. انتخاب این مواد بر اساس زیست سازگاری و زیست فعالی آن‌هاست. علی‌رغم اینکه این بیوسرامیک‌ها از نقطه نظر ترکیبات معدنی شباهت زیادی به استخوان طبیعی دارند، بر خلاف استخوان ترد و شکننده هستند. پژوهش حاضر استفاده از هیدروکسی‌آپاتیت و تری‌کلسیم‌سیلیکات را که از رایج‌ترین فسفات‌های کلسیم و سیلیکات‌های کلسیم هستند، در زمینه کاربردهای داربست استخوانی مورد بررسی قرار می‌دهد. مطالعه حاضر تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات سرامیکی را هنگام ترکیب با هیدروژل سدیم آلژینات بر ساخت داربست‌های استخوانی توسط شبیه‌سازی دینامیک مولکولی نشان می‌دهد. پایداری و خودآرایی از طریق پارامترهای متعددی مانند سطح قابل دسترسی حلال، شعاع ژیراسیون، تابع توزیع شعاعی، ریشه میانگین مربع انحرافات، پیوند هیدروژنی، انرژی واندروالسی، انرژی الکترواستاتیک و انرژی کل ارزیابی شده است. نتایج حاصل از شبیه‌سازی نشان می‌دهد که افزودن ۱۰٪ وزنی هیدروکسی‌آپاتیت و تری‌کلسیم‌سیلیکات به ماتریس هیدروژل سدیم آلژینات منجر به تشکیل ساختار فشرده‌تر، پایدارتر و کمتر هیدراته شده و به طور بالقوه می‌تواند به خواص مکانیکی داربست و تعامل آن با سلول‌ها کمک کند. ویژگی‌های فوق برای طراحی موفقیت‌آمیز داربست در زمینه مهندسی بافت استخوان بسیار مهم و حیاتی است. یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که نمونه‌های تری‌کلسیم‌سیلیکات در مقایسه با نمونه‌های هیدروکسی‌آپاتیت، به ویژه از نظر ترکیب با هیدروژل سدیم آلژینات، خواص برتری را برای ساخت داربست‌ها دارند. با این حال، انجام آزمایش‌های تجربی برای تایید نتایج شبیه‌سازی‌ها ضروری است.

**واژه‌های کلیدی:** داربست‌های استخوانی؛ سیلیکات کلسیم؛ فسفات کلسیم؛ هیدروکسی‌آپاتیت؛ تری کلسیم سیلیکات؛ شبیه-

سازی دینامیک مولکولی

ایمیل نویسندگان مسئول: [n.beheshtizadeh@tbzmed.ac.ir](mailto:n.beheshtizadeh@tbzmed.ac.ir) \*

[s.rezvantalab@uut.ac.ir](mailto:s.rezvantalab@uut.ac.ir) \*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۴ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۲/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۳/۱۲

تسهیل کند (7). از این رو، انواع داربست‌های سه بعدی با هدف ارائه چارچوبی موقت برای رشد بافت جدید و به منظور جایگزینی بافت آسیب دیده تولید شده است (8). داربست باید دارای ویژگی‌های خاصی باشد که بازسازی ساختار و عملکرد بافت اصلی را پس از جایگزینی آن با داربست تسهیل کند (9). موفقیت بازسازی بافت به چندین ویژگی مانند زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری، زیست فعالی، خواص مکانیکی و اندازه منافذ بستگی دارد (10). این ویژگی‌ها نقش مهمی در تسهیل چسبندگی و تکثیر سلولی و همچنین انتشار مواد مغذی و گازها دارند. اثربخشی ترمیم استخوان به شدت به خواص ساختاری و مکانیکی داربست وابسته است، بنابراین نیاز به توسعه ساختارهای سه بعدی مناسبی است که می‌توانند در نقص‌های استخوانی مختلف بدن کاشته شوند (8). این ساختارها بایستی از نظر خواص بیولوژیکی، فیزیکی و شیمیایی مناسب قرارگیری در بدن و جایگزینی با ناحیه از دست رفته باشند. مواد زیستی متعددی برای ساخت داربست‌های متخلخل با کنترل دقیق ریخت‌شناسی<sup>2</sup>، اندازه منافذ و تخلخل استفاده شده است. این مواد زیستی عبارتند از بیوسرامیک‌ها و بیوپلیمرها مانند فسفات کلسیم، سیلیکات کلسیم و پلیمرهای مختلف طبیعی و سنتزی (11, 12). امروزه، طیف وسیعی از مواد زیستی برای تولید داربست‌های استخوانی استفاده می‌شوند که برخی از آنها استحکام مکانیکی برتر، خودآرایی پایدارتر و رفتار بیولوژیکی عالی را نشان می‌دهند. با این حال، ساخت داربست برای ترمیم بافت استخوان اغلب شامل استفاده از دو دسته متمایز از بیومواد حاوی کلسیم، یعنی فسفات کلسیم و سیلیکات کلسیم است (13). انتخاب این مواد بر اساس زیست سازگاری، زیست فعالی و ویژگی‌های مکانیکی آنهاست که شباهت زیادی به استخوان طبیعی دارند. داربست‌های متخلخل حاصل از فسفات کلسیم و سیلیکات کلسیم این توانایی را دارند که به عنوان یک سیستم حمایتی، ساختاری را برای ترمیم و بازسازی بافت استخوان به وجود آوردند

## 1. مقدمه

بر اساس آمار، تنها در سال 2019، 178 میلیون شکستگی استخوان در سراسر جهان رخ داده است که در مقایسه با حدود سی سال پیش، 33 درصد افزایش گزارش شده است (1). این شکستگی‌ها و ضایعات استخوانی، به‌ویژه ضایعات استخوانی ناشی از عفونت‌ها و جراحات، همچنان به عنوان یک چالش مهم برای افراد، متخصصان پزشکی و جوامع بشری به شمار می‌رود (2). توجه به این نکته ضروری است که ظرفیت بازسازی بافت استخوان قابل توجه است، زیرا منجر به تشکیل استخوان جدید به جای بافت فیبروتیک می‌شود که معمولاً در طول ترمیم سایر بافت‌های بدن مشاهده نمی‌شود (3). بازسازی استخوان یک فرآیند کاملاً منظم و کنترل شده است که تحت تأثیر عوامل مختلف فیزیولوژیکی، سلولی و ژنتیکی قرار دارد (4). در شرایطی که اندازه ناحیه از دست رفته بیش از ظرفیت ذاتی استخوان برای ترمیم باشد و نیز در افرادی که توانایی‌های درمانی محدودی دارند، مانند افراد مبتلا به دیابت یا افراد دارای تغذیه ناکافی، روند بازسازی استخوان به طور قابل توجهی کند شده و کافی نخواهد بود (3). مداخلات درمانی حاضر برای جایگزینی بافت استخوانی از دست رفته از طریق استفاده از منابع استخوانی خود فرد بیمار و یا استخوان فرد دیگر (آلوگرافت) است (5). با این وجود، توجه به این نکته مهم است که محدودیتی برای میزان بازیابی ساختاری و عملکردی برای هر یک از موارد ذکر شده وجود دارد (6).

تحقیقات متعددی در زمینه مهندسی بافت استخوان<sup>1</sup> با هدف غلبه بر موانع مذکور انجام شده است. هدف اولیه مهندسی بافت تولید جایگزین‌های کاربردی برای بافت‌های آسیب دیده است. جایگزینی تقابص استخوانی پیچیده با ساختارهای سه بعدی مناسب می‌تواند بازسازی استخوان را در ناحیه آسیب دیده

<sup>2</sup> Morphology

<sup>1</sup> Bone tissue engineering (BTE)

(14). تنظیم تخلخل داربست در دستیابی به یک ساختار مشابه استخوان طبیعی بسیار مهم است؛ در نتیجه، این تنظیم مناسب تخلخل با تسهیل نفوذ سلول-های استخوان‌زا و تشکیل بافت استخوانی جدید، استخوان‌سازی را بهبود می بخشد (15). ویژگی‌های مکانیکی داربست را باید به گونه‌ای طراحی کرد که از ویژگی‌های استخوان میزبان تقلید نموده، در نتیجه قادر به پشتیبانی لازم در طول مرحله ترمیمی باشد.

فسفات‌های کلسیم، شامل هیدروکسی‌آپاتیت<sup>3</sup>، تری کلسیم فسفات<sup>4</sup>، فسفات کلسیم دوفازی<sup>5</sup> و سایر مواد مرتبط، گروه متمایزی از مواد حاوی کلسیم را تشکیل می دهند (16). ترکیب شیمیایی این مواد شباهت زیادی به بخش معدنی استخوان دارد و آن‌ها را برای استفاده در ترمیم بافت استخوان بسیار جذاب می‌کند. هیدروکسی‌آپاتیت به عنوان پایدارترین شکل فسفات کلسیم از نظر ترمودینامیکی شناخته شده و به عنوان ماده معدنی غالب در بافت‌های استخوانی و دندان عمل می‌کند (17). این ماده زیست سازگاری قابل‌توجهی را نشان می‌دهد و چسبندگی و تکثیر سلول‌های استخوانی و پیدایش بافت استخوانی تازه را تسهیل می‌کند. از سوی دیگر، سیلیکات‌های کلسیم، اعم از ولاستونیت<sup>6</sup>، سیلیکات دی کلسیم<sup>7</sup> و تری کلسیم سیلیکات<sup>8</sup>، در زمینه ترمیم بافت استخوانی مورد استفاده قرار گرفته اند (18). مواد فوق دارای خواص زیست فعال هستند که استخوان سازی را القا یا تشکیل بافت استخوانی جدید را تسهیل می‌کند.

همانطور که مطالعات قبلی نشان می‌دهد تری کلسیم سیلیکات موضوع تحقیقات گسترده‌ای بوده است (12). تولید سیمان پرتلند به شدت به استفاده از تری کلسیم سیلیکات به عنوان یک جزء اساسی متکی است (12). با استفاده از سیمان پرتلند، پس

از قرار گرفتن در معرض آب، هیدرات سیلیکات کلسیم تولید می‌شود (19). از طریق تثبیت و تقویت ریزساختار هیدرات سیلیکات کلسیم استحکام مکانیکی افزایش می‌یابد (12). بر اساس تحقیقات اخیر، تری کلسیم سیلیکات دارای خواص زیست فعالی و زیست تخریب پذیری است (20, 21). اخیراً پی و همکاران (21) داربست‌های سیمانی متخلخل را بر پایه شیشه زیست فعال/ تری کلسیم سیلیکات و با استفاده از فناوری چاپ سه بعدی تولید و بررسی نموده‌اند. نتایج مطالعه این گروه نشان داد که داربست‌های سیمانی با ادغام خواص هیدرولیکی تری کلسیم سیلیکات و ویژگی‌های بیولوژیکی قابل توجه شیشه زیست فعال تولید شده است که دارای منافذی به اندازه 400 میکرومتر هستند (21). علاوه بر این، داربست‌های ایشان، تخلخل نزدیک به 70 درصد، مقاومت فشاری مکانیکی حدود 12 مگاپاسکال و قابلیت کانی‌سازی آپاتیت مناسبی را از خود نشان داد (21). محققان به این نتیجه رسیدند که داربست‌های سیمانی کامپوزیتی تولید شده توسط روش چاپ سه بعدی که تحت یک فرآیند پخت قرار می‌گیرند، برای هدف بازسازی استخوان می‌توانند مناسب باشند. ترکیب پودرهای سرامیکی تری کلسیم سیلیکات در داربست‌های ساخته شده در حالتی که غلظت آن کمتر از 20 درصد کل ترکیب باشد، یک محیط قلیایی ایجاد می‌کند که برای تمایز سلول‌های بنیادی به سلول‌های استخوانی مساعد است (22). در صورت استفاده از غلظت‌های بالای 20 درصد از پودر سرامیکی تری کلسیم سیلیکات در داربست استخوانی، چسبندگی سلول‌ها به داربست کاهش می‌یابد، چرا که آب‌گریزی داربست‌های تولید شده به دلیل استفاده از تری کلسیم سیلیکات افزایش یافته است (23). سوال اصلی در تهیه ساختارهای استخوانی این است که آیا داربست‌های مبتنی بر فسفات کلسیم مناسب‌تر هستند یا سیلیکات کلسیم؟

یکی از زیرساخت‌های اساسی فعالیت بیولوژیکی و فیزیکی، ریشه در برهمکنش‌های مولکولی دارد که از پیکربندی ساختارهای ماکرومولکولی ناشی می‌شود (24). در حال حاضر، تکنیک‌های متعدد

<sup>3</sup> Hydroxyapatite (HA)

<sup>4</sup> Tricalcium phosphate (TCP)

<sup>5</sup> Biphasic calcium phosphate

<sup>6</sup> CaSiO<sub>3</sub>

<sup>7</sup> Ca<sub>2</sub>SiO<sub>5</sub>

<sup>8</sup> Tri-calcium Silicate (TCS) (Ca<sub>3</sub>SiO<sub>5</sub>)



میانگین مربع و تابع توزیع شعاعی<sup>14</sup> محاسبه شده- اند. سطوح انرژی الکترواستاتیک و واندروالس، و همچنین سطح انرژی کل، برای ارزیابی خودآرایی نانوپودرهای هیدروکسیآپاتیت و تری کلسیم سیلیکات در ترکیب با هیدروژل سدیم آلزینات مطالعه شده‌اند. یافته‌های ارائه شده درک قابل توجهی در مورد استفاده از نانوپودر هیدروکسی-آپاتیت و تری کلسیم سیلیکات را برای افزایش کارایی داربست‌های استخوانی ارائه می‌دهد.

## 2. شبیه سازی دینامیک مولکولی

در پژوهش حاضر، کامپوزیت های پلیمری/سرامیکی بر پایه سدیم آلزینات و در ترکیب با هیدروکسیآپاتیت و یا تری کلسیم سیلیکات شبیه سازی شده‌اند. برای به دست آوردن شبیه سازی‌های قابل مقایسه، همه شبیه سازی‌ها بر اساس درصد وزنی ( صفر تا 40 درصد) مواد سرامیکی در کل ترکیبات انجام شد. ساختار کریستالی هیدروکسی-آپاتیت به صورت شش ضلعی<sup>15</sup> و تری کلسیم سیلیکات به صورت ارتورومبیک است که با استفاده از نرم افزار مدل ساز نانومواد Charmm-GUI تهیه شد (27). لذا زنجیره‌های پلیمری حاوی 5 مونومر تهیه و با نرم افزار آوگادرو بهینه‌سازی شدند. توپولوژی ساختار پلیمری با استفاده از Charmm-GUI Ligand Reader & Charmm-Modeler (28) و با میدان نیروی 36m Charmm-GUI به دست آمد (29). در مرحله بعدی، استفاده از ترکیب آن‌ها در آب به کمک Charmm-GUI Multicomponent Assembler شدند تهیه شدند (30). پس از آن، با استفاده از GROMACS 2020، شبیه‌سازی‌ها با شرایط مرزی متناوب<sup>16</sup> با EM برابر با 10 کیلوژول بر مول بر نانومتر و NPT و NVT برابر با 500 پیکوثانیه با تایم استپ 1 فمتوثانیه انجام شد.

شبیه‌سازی ابزار ارزشمندی برای ارزیابی ویژگی‌ها و کارایی مواد و سازه‌هایی با اجزای متعدد و همچنین پیش‌گویی برهمکنش‌های آن‌ها با سایر مواد و محیط اطراف در اختیار قرار می‌دهند (25). علاوه بر این، شبیه‌سازی‌ها تفسیرهای منطقی برای ساختارها و پدیده‌هایی ارائه می‌دهند که نمی‌توان به صورت تجربی به آن‌ها دسترسی پیدا کرد. استفاده از یک مدل ریاضی قبل از انجام ارزیابی‌های تجربی یک رویکرد مقرون به صرفه است که هزینه‌های مرتبط با تجزیه و تحلیل‌های اضافی را کاهش می‌دهد. استفاده از شبیه سازی دینامیک مولکولی<sup>9</sup> به یک روش پیشرفته برای ایجاد ارتباط بین ساختار و عملکرد ماکرومولکول‌ها تبدیل شده است که می‌تواند برای به دست آوردن دانش در سطح اتمی در مورد فعل و انفعالات و پیوندهای موجود در داربست‌های کامپوزیتی استفاده شود (26). با استفاده از این تکنیک شبیه‌سازی، درک جامعی از ویژگی‌های دینامیکی ماکرومولکول‌ها می‌تواند تمرکز را از تجزیه و تحلیل ساختارهای تکی مواد مختلف، به ارزیابی مجموعه‌های ساختاری تغییر دهد و رفتار مواد را در قبال همدیگر مورد سنجش قرار دهد (26).

در پژوهش حاضر از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی برای بهینه‌سازی تراکم و غلظت هیدروکسیآپاتیت و تری کلسیم سیلیکات در ترکیب با هیدروژل سدیم آلزینات<sup>10</sup> برای ساخت داربست‌های استخوانی استفاده شده است. مطالعه حاضر از شبیه‌سازی‌های مقیاس اتمی برای بررسی تفاوت‌های بین هیدروکسیآپاتیت و تری کلسیم سیلیکات استفاده می‌کند. علاوه بر این، پارامترهای مختلف مرتبط با خودآرایی مواد زیستی از جمله سطح حلال در دسترس<sup>11</sup>، ریشه میانگین مربع انحرافات<sup>12</sup>، شعاع چرخشی<sup>13</sup>، پیوندهای هیدروژنی، نوسانات ریشه

<sup>9</sup> Molecular dynamics (MD) simulation

<sup>10</sup> Sodium alginate (SA)

<sup>11</sup> Solvent accessible surface area (SASA)

<sup>12</sup> Root Mean Square Deviation (RMSD)

<sup>13</sup> Radius of gyration (Rg)

<sup>14</sup> Radial distribution function (g(r))

<sup>15</sup> Ca<sub>10</sub>[PO<sub>4</sub>]<sub>6</sub>[OH]<sub>2</sub>

<sup>16</sup> Periodic boundary conditions (PBCs)

(31) برهمکنش های الکترواستاتیکی دوربرد، الگوریتم ایزوتریپیک پارینلو-رحمان<sup>17</sup> برای فشار در یک بار، و ترموستات برندنسن<sup>18</sup> برای الگوریتم-های دما در 300 کلوین استفاده شد. پیوندهای هیدروژنی با استفاده از الگوریتم لینکس<sup>19</sup> (32) محدود شدند. در تمام مراحل، برهمکنش های واندروالسی و کولومب<sup>20</sup> با حد آستانه  $1/4$  نانومتری در نظر گرفته شده اند. در نهایت، شبیه سازی دینامیک مولکولی برای 100 نانوثانیه با گام زمانی 2 فمتوثانیه انجام شد. تجزیه و تحلیل بیشتر شبیه سازی ها با استفاده از نرم افزار GROMACS انجام شد. علاوه بر این، تصاویر از شبیه سازی ها با نرم افزار VMD تهیه شده است (33).

### 3. تجزیه و تحلیل نتایج

در مطالعه حاضر مقایسه ای برای ارزیابی هیدروکسی آپاتیت و تری کلسیم سیلیکات با مقادیر (0، 10، 20، 30، و 40% وزنی) در هیدروژل سدیم آلزینات انجام شده است. شکل 1-الف نمایی از شبیه سازی های انجام شده سدیم آلزینات حاوی 10% و 40% وزنی هیدروکسی آپاتیت و تری کلسیم سیلیکات را نشان می دهد. باید دقت شود که با توجه به وزن مولکولی متفاوت هیدروکسی آپاتیت و تری کلسیم سیلیکات، شبیه سازی ها با مقادیر وزنی این مواد معدنی در سدیم آلزینات طراحی و اجرا شده است.

تعیین شعاع ژیراسیون، مقیاسی از تراکم و فشردگی سیستم ارائه می دهد. بعبارتی مقدار کم شعاع ژیراسیون به معنای تشکیل یک ماده متراکم است که نشان دهنده ارتباطات بین مولکولی افزایش یافته و پایداری بالا است (11). برعکس، مقدار زیاد شعاع ژیراسیون به معنای مولکولی است که منبسطتر و انعطاف پذیرتر است، در نتیجه نشان دهنده کاهش ارتباطات بین مولکولی و کاهش پایداری است. البته

باید متذکر شد که پارامترهای مختلف دیگری برای تشخیص حالت بهینه نهایی مورد بررسی قرار می گیرد. شدت انرژی در بین مولکول ها را می توان با استفاده از شعاع ژیراسیون استنتاج کرد، زیرا به عنوان شاخصی از شکل و ساختار کلی مولکول عمل می کند. در زمینه یک زنجیره پلیمری، شعاع ژیراسیون کم مربوط به یک ترکیب فشرده تر است، که نشان دهنده برهمکنش های بین مولکولی و افزایش شدت انرژی است. متوسط شعاع ژیراسیون برای سیستم های حاوی هیدروکسی آپاتیت و تری کلسیم سیلیکات در شکل 1-ب ارائه شده است. با توجه به اینکه هدف بررسی مقدار بهینه مواد معدنی در ترکیب پلیمری است، حالتی که حاوی 100% وزنی سدیم آلزینات است، علیرغم کمترین مقدار شعاع ژیراسیون حالت مدنظر نیست. در ادامه می توان دریافت که شعاع ژیراسیون پلیمرهای حاوی هیدروکسی آپاتیت کمتر از حالتی است که حاوی تری کلسیم سیلیکات است. اما با توجه به تصاویر ارائه شده از شبیه سازی ها، در ترکیب با تری کلسیم سیلیکات، ماده معدنی بهتر و مناسب تر در مرکز جرم پلیمرها قرار می گیرد، در صورتی که مولکول های هیدروکسی آپاتیت بیشتر کلوخه شده و با پلیمرها به خوبی مخلوط نمی شوند. با توجه به شکل 1-ب می توان دید که در میان ترکیبات حاوی تری کلسیم سیلیکات، کمترین شعاع ژیراسیون مربوط به حالتی است که حاوی 90% وزنی پلیمر و 10% تری کلسیم سیلیکات است. مقایسه حالت هایی که سدیم آلزینات با هیدروکسی آپاتیت برهمکنش دارد نشان می دهد که حالتی که حاوی 10% و 30% هیدروکسی آپاتیت است، دارای شعاع ژیراسیون کمتری نسبت به نمونه های دیگر هستند.

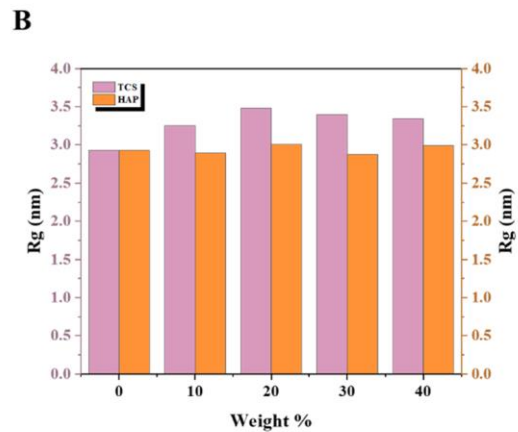
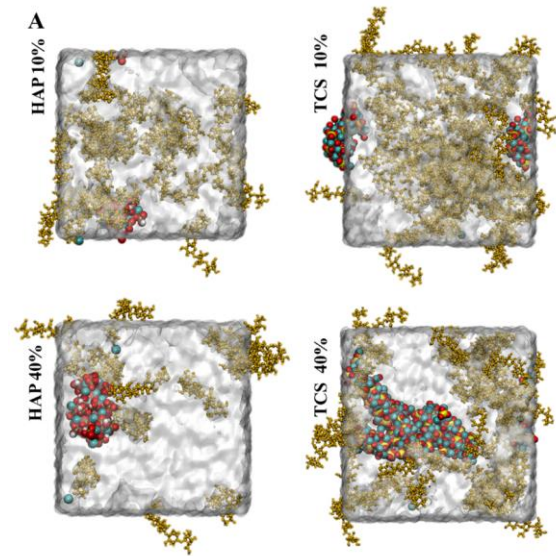
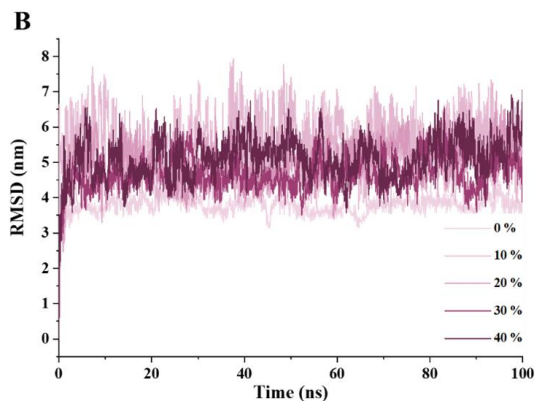
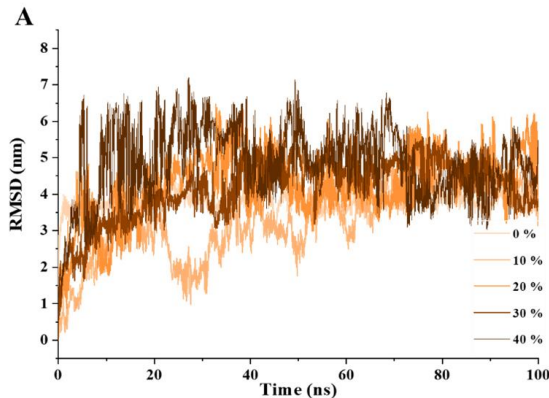
<sup>17</sup> Parrinello-Rahman

<sup>18</sup> Berendsen

<sup>19</sup> LINCS

<sup>20</sup> Coulomb

این راستا، نمودارهای ریشه میانگین انحرافات برای فرآیند تشکیل هیدروژل‌های آلژینات که حاوی مقادیر متفاوت هیدروکسی‌آپاتیت و تری‌کلسیم سیلیکات هستند در شکل 2 ارائه شده است. بطور کلی می‌توان دریافت که مقادیر ریشه میانگین انحرافات برای حالت‌های حاوی تری‌کلسیم سیلیکات نسبت به وجود هیدروکسی‌آپاتیت در ترکیب هیدروژل کمتر است. در نتیجه می‌توان نتیجه گرفت که کامپوزیت تری‌کلسیم سیلیکات و سدیم آلژینات ترکیبات پایدارتری تولید می‌کند. در این میان، مقایسه بین درصدهای مختلف تری‌کلسیم سیلیکات نشان می‌دهد که کامپوزیت سدیم آلژینات حاوی 10% وزنی تری‌کلسیم سیلیکات دارای مقادیر کمتر ریشه میانگین انحرافات و در نتیجه پایداری بیشتری نسبت به بقیه حالت‌هاست. جدول 1 مقدار متوسط و انحراف معیار مقادیر ریشه میانگین انحرافات را نشان می‌دهد.



شکل 1. الف) شماتیکی از شبیه‌سازی برهمکنش هیدروژل سدیم آلژینات با 10 و 40% وزنی هیدروکسی‌آپاتیت و تری‌کلسیم سیلیکات. ب) متوسط شعاع زیراسیون شبیه‌سازی‌های انجام شده بر اساس محتوای پلیمر

تجزیه و تحلیل ریشه میانگین انحرافات به طور گسترده در شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی برای ارزیابی (عدم-) سازگاری بین دو ساختار مولکولی استفاده می‌شود (34). ساختارها معمولاً به گونه‌ای روی هم قرار می‌گیرند که ریشه میانگین انحرافات را کاهش می‌دهد، که اینکار اغلب از طریق تراز کردن اتم‌های اصلی ساختار ماکرومولکول صورت می‌گیرد. پایداری و تعادل یک مولکول را می‌توان از یک مقدار ریشه میانگین انحرافات کم و ثابت استنباط کرد و مقدار ریشه میانگین انحرافات بالا یا در حال افزایش نشان دهنده تغییرات ساختاری قابل توجهی است که در داخل مولکول رخ می‌دهد. در

شکل 2. نمودار ریشه میانگین انحرافات برای هیدروژل‌های سدیم آلزینات حاوی هیدروکسی‌آپاتیت و تری‌کلسیم سیلیکات در طول زمان‌های مختلف شبیه‌سازی‌ها

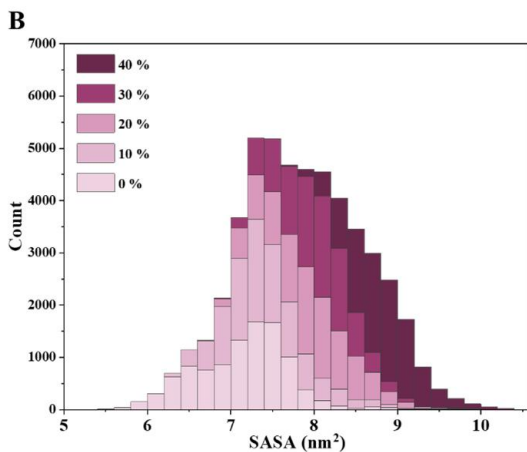
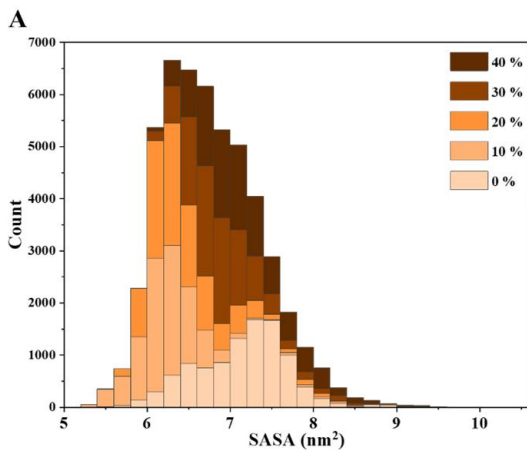
پیوند هیدروژنی یکی دیگر از معیارهای تجزیه و تحلیل برهمکنش اجزا در شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی است، زیرا به طور قابل توجهی بر ساختار، پایداری و عملکرد مولکول‌ها مخصوصاً مولکول‌های بیولوژیکی تأثیر می‌گذارد. یک معیار هندسی معمولاً در شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی برای تعریف پیوند هیدروژنی استفاده می‌شود که مستلزم استفاده از یک برش فاصله و یک برش زاویه است. بریدگی فاصله اشاره به حد بالایی فاصله مجاز است که می‌تواند بین اتم دهنده، معمولاً اتم نیتروژن یا اکسیژن، و اتم گیرنده، که معمولاً یک اتم هیدروژن است که یک پیوند کووالانسی با اتم نیتروژن یا اکسیژن ایجاد می‌کند، وجود داشته باشد (35). برش زاویه به حداقل زاویه مجاز بین اتم دهنده الکترون یعنی هیدروژن و گیرنده‌های الکترون اشاره دارد. مقادیر قطع فاصله معمولی از 2/5 تا 3/5 آنگستروم متغیر است، در حالی که مقادیر قطع زاویه معمولاً از 120 تا 180 درجه متغیر است (36).

جدول 1: متوسط ریشه میانگین مربع انحرافات برای حالت‌های مختلف شبیه‌سازی

| Content (%) | Hydroxyapatite (HA) | Tri-calcium Silicate (TCS) |
|-------------|---------------------|----------------------------|
| 0           | 3.87±0.22           | 3.87±0.22                  |
| 10          | 4.68±0.79           | 3.34±1.06                  |
| 20          | 4.97±0.55           | 4.24±0.92                  |
| 30          | 5.49±0.47           | 4.19±0.84                  |
| 40          | 5.09±0.58           | 4.85±0.98                  |

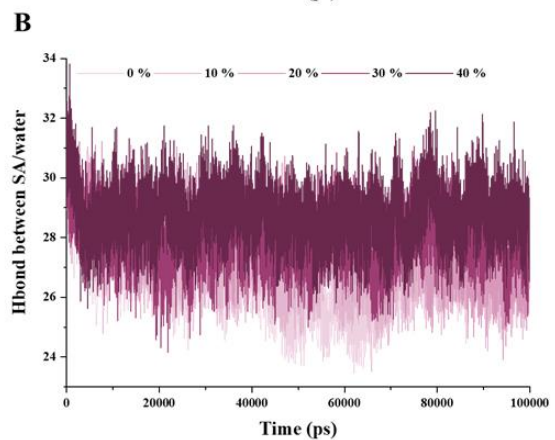
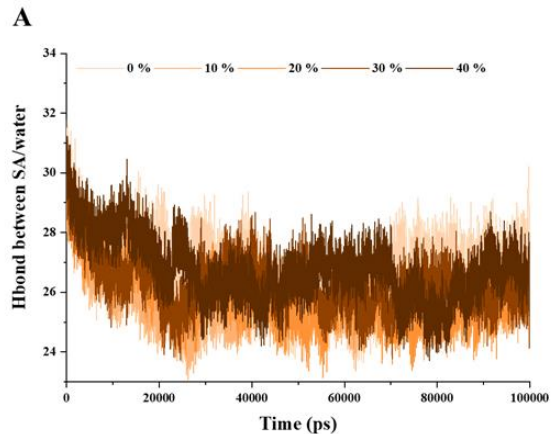
با توجه به نوسانات مولکول‌ها و تغییر فاصله بین آن‌ها، تعداد پیوندهای هیدروژنی بین مولکول‌ها می‌تواند تغییر کند. بنابراین تجزیه و تحلیل پیوندهای هیدروژنی و تعداد آن‌ها در یک شبیه‌سازی دینامیک مولکولی می‌تواند اطلاعات مفیدی را درباره برهمکنش مولکول‌ها به دست دهد. کمیت پیوندهای هیدروژنی به تعداد جمعی پیوندهای هیدروژنی که توسط یک مولکول یا مجموعه‌ای از مولکول‌ها در یک بازه زمانی خاص ایجاد می‌شود، اشاره دارد. همچنین، طول عمر پیوند هیدروژنی به بازه زمانی اطلاق می‌شود که در طی آن یک پیوند هیدروژنی باقی می‌ماند و فاصله بین تشکیل آن و گسیختگی بعدی را در بر می‌گیرد (37). شکل 3 نمودار تشکیل پیوند هیدروژنی به ازاء تعداد پلیمرهای موجود در شبیه‌سازی را نشان می‌دهد. باید توجه کرد که با کاهش درصد وزنی سرامیک (تری‌کلسیم سیلیکات و یا هیدروکسی‌آپاتیت) و در نتیجه افزایش تعداد زنجیره‌های پلیمری حاضر در شبیه‌سازی، تعداد پیوندهای هیدروژنی پلیمر با آب بیشتر خواهد بود. بنابراین برای ارائه یک معیار قابل مقایسه برای برهمکنش بین آب و پلیمر، تعداد پیوندهای هیدروژنی در هر شبیه‌سازی به تعداد زنجیره‌های پلیمری موجود در آن تقسیم شده است تا تعداد متوسط پیوند هیدروژنی را به ازاء یک زنجیره نشان دهد. با توجه به نتایج ارائه شده در شکل 3 می‌توان دید که در کل تعداد پیوندهای هیدروژنی پلیمرها با آب در حضور تری‌کلسیم سیلیکات در مقایسه با حضور هیدروکسی‌آپاتیت کمتر است که ترکیب خشک‌تر و محکمی را نشان می‌دهد که با پلیمرها بیشتر پیوند دارند. در هر دسته (تری‌کلسیم سیلیکات و یا هیدروکسی‌آپاتیت) با حضور 10% سرامیک در هیدروژل کمترین تعداد پیوند هیدروژنی با آب دیده می‌شود. بنابراین در هر گروه ترکیب 10% سرامیک حالت پایدار آن دسته را ایجاد می‌کند.

این مطالعه که برای بررسی و ارزیابی کاربرد هیدروژل‌های سدیم آلزینات با ترکیبات سرامیکی در ترمیم بافت استخوانی است، سطح قابل دسترس حلال کمتر نشان دهنده مقاومت بیشتر و پایداری ساختار در محیط بیولوژیکی و در داخل بدن است. در این راستا، سطح قابل دسترس حلال برای همه نمونه‌ها در طول شبیه‌سازی محاسبه شده است و نتایج آن‌ها بصورت میانگین سطح قابل دسترس حلال در شکل 4 ارائه شده است.



شکل 4. توزیع مقدار سطح قابل دسترس حلال برای زنجیره‌های پلیمری در حضور درصد‌های وزنی مختلف از ترکیبات سرامیکی (الف) تری‌کلسیم سیلیکات و (ب) هیدروکسی‌آپاتیت

با توجه به شکل 4 می‌توان دریافت که کمترین مقدار سطح قابل دسترس در میان کامپوزیت‌های سدیم آلزینات و تری‌کلسیم سیلیکات، ترکیب 10% وزنی آن است، زیرا به نسبت دارای توزیع یکنواخت



شکل 3. پیوند هیدروژنی بین زنجیره‌های پلیمری و مولکول‌های آب در حضور درصد‌های مختلف سرامیک تری‌کلسیم سیلیکات و یا هیدروکسی‌آپاتیت. بطور کلی تعداد پیوندهای هیدروژنی آب با پلیمر در حضور تری‌کلسیم سیلیکات کمتر است.

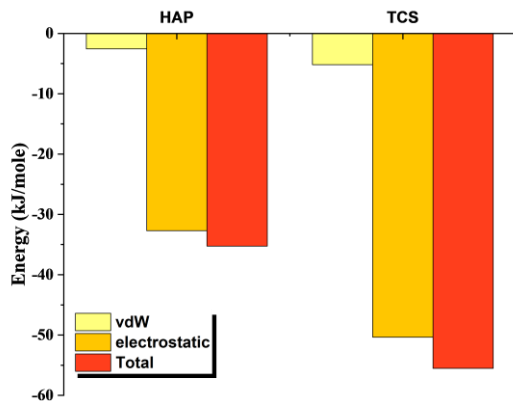
یکی دیگر از پارامترهای مورد بررسی در شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی سطح قابل دسترس حلال است که تماس مولکول‌ها در یک حلال (که غالباً آب است) محاسبه می‌شود. بعبارتی با افزایش سطح تماس مولکول با حلال (آب) آن ساختار تبدیل به یک ساختار آبی می‌شود. در نتیجه با توجه به کاربرد مولکول مورد بررسی می‌توان در مورد آن تصمیم‌گیری کرد. برای مثال در کاربری‌هایی که نیاز به ساختار ژله‌ای می‌باشد، مولکول‌هایی که دارای سطح قابل دسترس حلال بیشتری باشند، مطلوب‌تر خواهد بود. همچنین در ساختارهایی که نیاز به مقاومت و پایداری بیشتری دارند، وجود آب بیشتر در ترکیب آن‌ها مضر است. برای نمونه، در

مقادیر سطح قابل دسترس حلال در کمتر از 6/5 نانومتر مربع است. با توجه به ارزیابی‌های انجام شده، کمترین و بیشترین مقدار متوسط سطح قابل دسترس حلال 6/25 و 7/13 نانومتر مربع به ترتیب برای ترکیبات 10 و 40% وزنی تری-کلسیم‌سیلیکات است. بعلاوه می‌توان مشاهده کرد که ساختارهای حاوی هیدروکسی‌آپاتیت دارای سطح قابل دسترس حلال بیشتری نسبت به نمونه‌های حاوی تری‌کلسیم‌سیلیکات هستند. عبارتی ترکیباتی که سطح قابل دسترس حلال کمتری دارند، ساختار متراکمی داشته و برای مولکول‌های آب قابل دسترسی نیستند. در میان کامپوزیت‌های سدیم آلزینات و هیدروکسی‌آپاتیت، نمونه‌های حاوی 0% و 40% وزنی به ترتیب با مقادیر 7/13 و 8/80 نانومتر مربع دارای کمترین و بیشترین سطح قابل دسترس حلال هستند.

هیدروکسی‌آپاتیت یک فرم معدنی طبیعی آپاتیت کلسیم است که در استخوان‌های انسان به عنوان منبع اصلی کلسیم غالب است. هدف از ادغام آن در هیدروژل سدیم آلزینات، شبیه‌سازی محیط فیزیولوژیکی استخوان و افزایش تکثیر و تمایز سلول‌های استخوانی است. در غلظت 10% وزنی، به نظر می‌رسد تعادلی بین مزایای یکپارچه‌سازی هیدروکسی‌آپاتیت و حفظ ویژگی‌های هیدروژل وجود دارد. به طور مشابه، تری‌کلسیم‌سیلیکات در داربست‌های استخوانی برای تأثیرگذاری بر استخوان‌زایی سلول‌های کاشته شده بر روی داربست استفاده شده است. استفاده از تری‌کلسیم‌سیلیکات در هیدروژل سدیم آلزینات می‌تواند بر طیف وسیعی از خواص که برای تولید داربست‌های استخوانی موثر و حیاتی هستند، تأثیر گذارد. بهینه‌ترین غلظت - تری‌کلسیم‌سیلیکات به ویژگی‌های مخصوص داربست، اعم از استحکام مکانیکی، تخلخل، سرعت تخریب و توانایی تحریک بازسازی استخوان بستگی دارد. با این حال، مطالعات نشان داد که در محتوای 10% وزنی تری‌کلسیم‌سیلیکات، خواص فیزیکی و مکانیکی در وضعیت بالاتری قرار دارند (12).

غلظتی از هیدروکسی‌آپاتیت و یا تری‌کلسیم‌سیلیکات که به طور بالقوه می‌تواند سطح بهینه‌ای از ثبات ساختاری را ارائه دهد امکان تقلید از محیط استخوان را فراهم می‌کند. با این حال، اطمینان از اینکه شبکه هیدروژل دست نخورده باقی می‌ماند و بیش از حد تحت تأثیر حضور سرامیک قرار نمی‌گیرد، بسیار مهم است. سطوح بالا از هیدروکسی‌آپاتیت و یا تری‌کلسیم‌سیلیکات ممکن است منجر به تجمع یا پراکندگی غیریکنواخت شود، در نتیجه یکپارچگی ماتریس هیدروژل را مختل کرده و ویژگی‌های مطلوب آن را به خطر می‌اندازد. حفظ ظرفیت داربست برای تغییر شکل و بازیابی بعدی در پاسخ به استرس برای نقش فیزیولوژیکی آن بسیار مهم است.

با توجه به آنچه بیان شد، ترکیبات هیدروژل سدیم آلزینات حاوی 10% سرامیک دارای پایداری و خواص مطلوب‌تری در هر دسته هستند. در بخش نهایی ترکیب 10% از هیدروکسی‌آپاتیت/سدیم آلزینات و همچنین تری‌کلسیم‌سیلیکات/سدیم آلزینات باهم مقایسه شده‌اند. شکل 5 انرژی و اندروالسی و الکتروستاتیکی و همچنین مجموع آن‌ها به شکل انرژی کل را بین زنجیره‌های پلیمری و ساختارهای سرامیکی (با 10% وزنی سرامیک) نشان می‌دهد. به وضوح می‌توان دید که سطح انرژی کامپوزیت سدیم آلزینات/تری‌کلسیم‌سیلیکات پایین‌تر از سطح انرژی سدیم آلزینات/هیدروکسی‌آپاتیت است که پایداری بیشتر این ترکیب و برهمکنش قوی‌تر بین اجزاء آن را نشان می‌دهد. از طرفی می‌توان مشاهده کرد که برهمکنش الکتروستاتیکی یک برهمکنش موثر در این ساختارها می‌باشد که قابل پیش‌بینی بود؛ چرا که برهمکنش غالب بین ترکیبات سرامیکی با آلی از جنس الکتروستاتیکی است. همچنین، در مقام مقایسه بین نیروی و اندروالسی در دو حالت، می‌توان دید که در مقایسه با هیدروکسی‌آپاتیت، زنجیره‌های پلیمری با نیروی و اندروالسی قوی‌تری ساختار تری‌کلسیم‌سیلیکات را جذب می‌کنند. این نتیجه را می‌توان به تعداد بیشتر اتم‌های حاضر در تری‌کلسیم‌سیلیکات در مقدار وزنی برابر با



شکل 5. انرژی برهمکنش پلیمرهای سدیم آلزینات با 10٪ وزنی از هیدروکسی آپاتیت و تری کلسیم سیلیکات

#### 5. منابع

- [1] Global, regional, and national burden of bone fractures in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Healthy Longev.* 2021;2(9). Doi: 10.1016/S2666-7568(21)00172-0.
- [2] Lin X, Tsao CT, Kyomoto M, Zhang M. Injectable Natural Polymer Hydrogels for Treatment of Knee Osteoarthritis. *Adv Healthc Mater.* 2022;11(9):2101479. Doi: 10.1002/adhm.202101479
- [3] Beheshtizadeh N, Asgari Y, Nasiri N, Farzin A, Ghorbani M, Lotfibakhshaiesh N, et al. A network analysis of angiogenesis/osteogenesis-related growth factors in bone tissue engineering based on in-vitro and in-vivo data: A systems biology approach. *Tissue Cell.* 2021;72:101553. Doi: 10.1016/j.tice.2021.101553
- [4] Yu X, Tang X, Gohil SV, Laurencin CT. Biomaterials for Bone Regenerative Engineering. *Adv Healthc Mater.* 2015;4(9):1268-85. Doi: 10.1002/adhm.201400760
- [5] Asadollahi M, Gerashi E, Zohrevand M, Zarei M, Sayedain SS, Alizadeh R, et al. Improving mechanical properties and biocompatibility of 3D printed PLA by the addition of PEG and titanium particles, using a novel incorporation method. *Bioprinting.* 2022;27. Doi: 10.1016/j.bprint.2022.e00228
- [6] Lee S, Byun S, Lee C, Park SH, Rudra D, Iwakura Y, et al. Resolving the Mutually Exclusive Immune Responses of Chitosan with Nanomechanics and Immunological Assays. *Adv Healthc Mater.* 2022;11(13):2102667. Doi: 10.1002/adhm.202102667
- [7] Pazhouhnia Z, Beheshtizadeh N, Namini MS, Lotfibakhshaiesh N. Portable hand-held bioprinters promote in situ tissue regeneration. *Bioeng Transl Med.* 2022;7(3). Doi: 10.1002/btm2.10307

#### 4. نتیجه گیری

در این مطالعه، از دو سرامیک معدنی هیدروکسی آپاتیت و تری کلسیم سیلیکات به عنوان متداولترین زیست مواد مورد استفاده در دسته بندی فسفات کلسیم و سیلیکات کلسیم در کاربردهای مهندسی بافت استخوان استفاده شد. در این راستا، شبیه سازی دینامیک مولکولی به منظور بررسی تأثیر غلظت های مختلف نانوذرات سرامیکی مذکور در ترکیب با هیدروژل سدیم آلزینات بر ساخت داربست های استخوانی انجام شد. با ارزیابی پارامترهای مختلف بر پایداری و خودآرایی ترکیبات از جمله شعاع ژیراسیون، ریشه میانگین انحرافات، سطح قابل دسترس حلال، نیروهای واندروالسی، الکترواستاتیک و انرژی کل مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج نشان داد که ترکیب 10 درصد وزنی از این دو سرامیک در ماتریس هیدروژل سدیم آلزینات دارای ساختار متراکم تر، پایداری و هیدراته کمتری هستند. در نتیجه ویژگی های مکانیکی و رابط سلولی آن ها، می تواند پتانسیل بالایی برای کاربردهای داربستی داشته باشد. ویژگی های فوق برای اجرای موثر داربست در حوزه مهندسی بافت استخوان ضروری تلقی می شوند. همچنین، مقایسه نمونه های 10 درصد این دو کامپوزیت، برتری نمونه های تری کلسیم سیلیکات با محتوای 10 درصد وزنی را در ترکیب با هیدروژل سدیم آلزینات نشان می دهد. در انتها، انجام آزمایش های تجربی برای بررسی نتایج شبیه سازی به منظور اثبات این یافته ها پیشنهاد می شود.



- Biomimetics*. 2022;7(3):112. Doi: 10.3390/biomimetics7030112
- [18] Prati C, Gandolfi MG. Calcium silicate bioactive cements: Biological perspectives and clinical applications. *Dent Mater*. 2015;31(4):351-70. Doi: 10.1016/j.dental.2015.01.004
- [19] Duarte MAH, Marciano MA, Vivan RR, Tanomaru Filho M, Tanomaru JMG, Camilleri J. Tricalcium silicate-based cements: properties and modifications. *Braz Oral Res*. 2018;32. Doi: 10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0070
- [20] Zhao W, Chang J, Zhai W. Self-setting properties and in vitro bioactivity of Ca<sub>3</sub>SiO<sub>5</sub>/CaSO<sub>4</sub>·1/2H<sub>2</sub>O composite cement. *J Biomed Mater Res A*. 2008;85A(2):336-44. Doi: 10.1002/jbm.a.31523
- [21] Pei P, Qi X, Du X, Zhu M, Zhao S, Zhu Y. Three-dimensional printing of tricalcium silicate/mesoporous bioactive glass cement scaffolds for bone regeneration. *J Mater Chem B*. 2016;4(46):7452-63. Doi: 10.1039/C6TB02055K
- [22] Hazehara-Kunitomo Y, Hara ES, Ono M, Aung KT, Komi K, Pham HT, et al. Acidic Pre-Conditioning Enhances the Stem Cell Phenotype of Human Bone Marrow Stem/Progenitor Cells. *Int J Mol Sci*. 2019;20(5). Doi: 10.3390/ijms20051097
- [23] Oh SH, Lee JH. Hydrophilization of synthetic biodegradable polymer scaffolds for improved cell/tissue compatibility. *Biomed Mater*. 2013;8(1):014101. Doi: 10.1088/1748-6041/8/1/014101
- [24] Maximova T, Moffatt R, Ma B, Nussinov R, Shehu A. Principles and Overview of Sampling Methods for Modeling Macromolecular Structure and Dynamics. *PLoS Comput Biol*. 2016;12(4) Doi: 10.1371/journal.pcbi.1004619
- [25] Ferreira LG, Dos Santos RN, Oliva G, Andricopulo AD. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*. 2015;20(7):13384-421. Doi: 10.3390/molecules200713384
- [26] Hospital A, Goñi JR, Orozco M, Gelpí JL. Molecular dynamics simulations: advances and applications. *Adv Appl Bioinform Chem*. 2015;8:37-47. Doi: 10.2147/AABC.S70333
- [27] Choi YK, Kern NR, Kim S, Kanhaiya K, Afshar Y, Jeon SH, et al. CHARMM-GUI Nanomaterial Modeler for Modeling and Simulation of Nanomaterial Systems. *J Chem Theory Comput*. 2022;18(1):479-93. Doi: 10.1021/acs.jctc.1c00996
- [28] Kim S, Lee J, Jo S, Brooks CL, Lee HS, Im W. CHARMM-GUI ligand reader and modeler for CHARMM force field generation of small molecules. *J Comput Chem*. 2017;38(21):1879-86. Doi: 10.1002/jcc.24829
- [29] Brooks BR, Brucoleri RE, Olafson BD, States DJ, Swaminathan S, Karplus M. CHARMM: A program for macromolecular energy, minimization, [8] Sun W, Lal P. Recent development on computer aided tissue engineering — a review. *Comput Methods Programs Biomed*. 2002;67(2):85-103. Doi: 10.1016/S0169-2607(01)00116-X
- [9] Peidavosi N, Azami M, Beheshtizadeh N, Ramazani Saadatabadi A. Piezoelectric conductive electrospun nanocomposite PCL/Polyaniline/Barium Titanate scaffold for tissue engineering applications. *Sci Rep*. 2022;12(1):20828. Doi: 10.1038/s41598-022-25332-w
- [10] Beheshtizadeh N, Zarei M, Azami M. Could we use metallic wood for bone tissue engineering applications? *Results Eng*. 2023;17:100845. Doi: 10.1016/j.rineng.2022.100845
- [11] Khedri M, Beheshtizadeh N, Maleki R, Webster TJ, Rezvantalab S. Improving the self-assembly of bioresponsive nanocarriers by engineering doped nanocarbons: a computational atomistic insight. *Sci Rep*. 2021;11(1):21538. Doi: 10.1038/s41598-021-00817-2
- [12] Beheshtizadeh N, Farzin A, Rezvantalab S, Pazhouhnia Z, Lotfibakhshaiesh N, Ai J, et al. 3D printing of complicated GelMA-coated Alginate/Tri-calcium silicate scaffold for accelerated bone regeneration. *Int J Biol Macromol*. 2023;229:636-53. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.12.267
- [13] Aghdam HA, Sanatizadeh E, Motififard M, Aghadavoudi F, Saber-Samandari S, Esmaeili S, et al. Effect of calcium silicate nanoparticle on surface feature of calcium phosphates hybrid bio-nanocomposite using for bone substitute application. *Powder Technol*. 2020;361:917-29. Doi: 10.1016/j.powtec.2019.10.111
- [14] Beheshtizadeh N, Azami M, Abbasi H, Farzin A. Applying extrusion-based 3D printing technique accelerates fabricating complex biphasic calcium phosphate-based scaffolds for bone tissue regeneration. *J Adv Res*. 2021. Doi: 10.1016/j.jare.2021.12.012
- [15] Monfared MH, Nemati A, Loghman F, Ghasemian M, Farzin A, Beheshtizadeh N, et al. A deep insight into the preparation of ceramic bone scaffolds utilizing robocasting technique. *Ceram Int*. 2022;48(5):5939-54. Doi: 10.1016/j.ceramint.2021.11.268
- [16] Dejob L, Toury B, Tadier S, Grémillard L, Gaillard C, Salles V. Electrospinning of in situ synthesized silica-based and calcium phosphate bioceramics for applications in bone tissue engineering: A review. *Acta Biomater*. 2021;123:123-53. Doi: 10.1016/j.actbio.2020.12.032
- [17] Pupilli F, Ruffini A, Dapporto M, Tavoni M, Tampieri A, Sprio S. Design Strategies and Biomimetic Approaches for Calcium Phosphate Scaffolds in Bone Tissue Regeneration.



and dynamics calculations. *J Comput Chem.* 1983;4(2):187-217. Doi: 10.1002/jcc.540040211

[30] Kern NR, Lee J, Choi YK, Im W. CHARMM-GUI multicomponent assembler for modeling and simulation of complex multicomponent systems. *Biophys J.* 2022;121(3):529a. Doi: 10.1016/j.bpj.2021.11.2789

[31] Essmann U, Perera L, Berkowitz ML, Darden T, Lee H, Pedersen LG. A smooth particle mesh Ewald method. *J Chem Phys.* 1995;103(19):8577-93. Doi: 10.1063/1.470117

[32] Hess B, Bekker H, Berendsen HJ, Fraaije JG. LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations. *J Comput Chem.* 1997;18(12):1463-72.

[33] Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: visual molecular dynamics. *J Mol Graph.* 1996;14(1):33-8. Doi: 10.1002/(SICI)1096-987X(199709)18:12<1463::AID-JCC4>3.0.CO;2-H

[34] Bell EW, Zhang Y. DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. *J Cheminform.* 2019;11(1):1-9. Doi: 10.1186/s13321-019-0362-7

[35] Grabowski SJ. Understanding hydrogen bonds: theoretical and experimental views: Royal Society of Chemistry; 2020. Doi: 10.1039/9781839160400

"[36]" Mallipeddi PL, Zhang Y, Li H, Markowitz SD, Posner B. Structural Insights into Novel 15-Prostaglandin Dehydrogenase Inhibitors. *Molecules.* 2021;26(19):5903. Doi: 10.3390/molecules26195903

[37] Jindal A, Arunachalam V, Vasudevan S. Search for H-Bonded Motifs in Liquid Ethylene Glycol Using a Machine Learning Strategy. *J Phys Chem B.* 2021;125(22):5909-19. Doi: 10.1021/acs.jpcc.1c01308



# Optimization of sodium-alginate hydrogels containing nanoceramics in bone tissue engineering applications: a molecular dynamics simulation study

Sima Rezvantalab<sup>1,\*</sup>, Rana Jahanban-Esfahlan<sup>2</sup>, Nasrin Lotfibakhshaesh<sup>3</sup>, Nima Beheshtizadeh<sup>4,\*</sup>

1. Department of Chemical Engineering, Urmia University of Technology, 57166-419, Urmia, Iran

2. Department of Medical Biotechnology, Faculty of Advanced Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

3. Department of Tissue Engineering, School of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4. Department of Tissue Engineering, Faculty of Advanced Medical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

## Abstract:

Calcium-containing biomaterials, namely calcium phosphates and calcium silicates, are often used for fabricating bone scaffolds. These materials are chosen based on their biocompatibility and bioactivity. In spite of the fact that bioceramics are similar to natural bone in terms of mineral compounds, they are brittle and fragile in contrast to bone. In the current study, Hydroxyapatite and tricalcium silicate, which are the most common calcium phosphates and calcium silicates, are studied for their potential as bone scaffold materials. Molecular dynamics (MD) simulations are used to investigate the effect of various concentrations of ceramic nanoparticles when combined with sodium alginate hydrogel on bone scaffold construction. Multiple parameters have been evaluated to determine stability and self-assembly, including solvent-accessible-surface-area, radius of gyration, radial distribution function, root mean square deviation, hydrogen bonding, van der Waals energy, electrostatic energy, and total energy. As a result of the simulation, hydroxyapatite and tricalcium silicate added 10 wt.% to sodium alginate hydrogel matrix can result in a structure which is more compact, stable, and less hydrated, and may improve mechanical scaffolding properties as well as interactions with cells. In the field of bone tissue engineering, the above characteristics are very essential and vital for the successful design of the scaffold. The results of this study indicate that tricalcium silicate samples are superior to hydroxyapatite samples in terms of their properties for developing more robust bone scaffolds, especially when combined with sodium alginate hydrogel. It is, however, necessary to conduct experimental tests in order to confirm the results of the simulation.

**Keywords:** Bone scaffolds; Calcium silicate; Calcium phosphate; Hydroxyapatite; Molecular dynamics (MD) simulations