



ارتباط خواص ترمومکانیکالی با مورفولوژی در نانو کامپوزیت‌های زیست تخریب پذیر PCL/PHBV/MWCNT با رویکرد کاربرد در مهندسی بافت عصب

پردیس یوسفی تلوکی: دانشجوی دکتری مهندسی پزشکی، بافت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران، تهران

پدرام طهرانی: دپارتمان مهندسی مکانیک، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

شاهرخ شجاعی: گروه مهندسی پزشکی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و سلول درمانی، پژوهشکده مهندسی بافت و طب بازسازی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) shahrokh.shojaei@gmail.com

چکیده

کلیدواژه‌ها

مهندسی بافت،

پلی کاپرولاکتون،

پلی هیدروکسی بوتیرات والرات،

نانوتیوب کربن چند دیواره

زمینه و هدف: هدف از این مطالعه دست یافتن به ترکیب پلیمری نانوکامپوزیتی با خواص بیومکانیکی و فیزیکی مناسب برای استفاده در درمان آسیب‌های عصبی می‌باشد.

روش کار: در این پژوهش PCL و PHBV را با نسبت‌های مختلف ۷۵/۲۵، ۹۰/۱۰ و نانوکامپوزیت‌های آن با همین نسبت با استفاده از نانوذره MWCNT با درصد‌های وزنی متفاوت ۱ و ۳ درصد وزنی به طریق روش محلولی تهیه شد. برای ارزیابی خواص مورفولوژی نمونه‌های تهیه شده از آزمون‌های SEM، TEM، DMTA و XRD استفاده شده است. در آزمون SEM نشان داده شده که دو پلیمر با هم سازگار هستند.

یافته‌ها: در آزمون TEM نشان داده شده که جدایی فاز داشتیم و CNT تمایل به PCL داشت و نسبت به PHBV ناسازگار است و هر چقدر نانوذرات بیشتر شد CNT ها بیشتر کلوخه می‌شوند. در آزمون DMA نشان داده شده که PCL ماده‌ای نرم تر از PHBV است و بعد از ترکیب PCL و PHBV مدول پایین آمد که علت آن این است که ماده‌ی سخت را با ماده‌ی نرم ترکیب کردیم.

نتیجه گیری: در آزمون XRD نشان داده شده که نمونه PCL رفتار بلورینگی و ساختار بلورینگی خیلی بهتر و پایدارتر نسبت به PHBV برخوردار است. با آلیاژسازی و همچنین حضور نانوذرات کربنی مشاهده شد که نمونه‌ای که بیشترین در صد PCL و ۳ در صد وزنی نانوذرات کربنی را داراست، ساختارهای بلوری تقریباً بزرگتری به ما داده است.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Yousefi Talouki P, Tehrani P, Shojaei Sh. The relationship between thermomechanical properties with morphology in PCL / PHBV / MWCNT biodegradable nanocomposites with application in neural tissue engineering. Razi J Med Sci. 2021;27(11):25-38.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با 3.0 CC BY-NC-SA صورت گرفته است.



Original Article

The relationship between thermomechanical properties with morphology in PCL / PHBV / MWCNT biodegradable nanocomposites with application in neural tissue engineering

Pardis Yousefi Talouki: Department of Biomedical Engineering, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran

Pedram Tehrani: Department of Mechanical Engineering, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran

Shahrokh Shojaei: Department of Biomedical Engineering, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran, & Stem Cells Research Center, Tissue Engineering and Regenerative Medicine Institute, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran (* Corresponding author) shahrokh.shojaei@gmail.com

Abstract

Background & Aims: Nervous system is one of the most important systems of the body that its damage will affect the motive and sensory abilities. For instance more than 2 million people in the United States who would suffer from the cerebral damage and peripheral nervous system destruction each year. Tissue engineering has provided a new medical treatment as an alternative for traditional implanting procedures. In the recent years cellular treatments accompanying by tissue engineering has experienced highlighted development in improving of nervous system functions. Neural tissue engineering has concentrated on tools for 4th production of neural synthetic and natural channels as an alternative neural autografts. For development and organisation of the the healthy adult tissue, the boy material a scaffold must have some appropriate physical properties such as biocompatibility adequate mechanical strength high porosity, appropriate pore size and bio degradable and interconnected continuous structure. Aliphatic polyesters are biodegradable and biocompatible materials which can be regarded as an alternative for synthetic non-biodegradable polymers for short-term applications. Nowadays several aliphatic polyesters have been produced in large scales, such as polylactic acid and polycaprolactone. But in contrast of the advantages there are several drawbacks associated to the aliphatic polyesters. Weak mechanical strength and thermal resistance, limited gas barrier properties, low availability are among the most important negative points. For solving the problems and improving the properties, copolymerization, mixing and adding nano particle fillers can be used. PCL is a non-toxic biodegradable and biocompatible polyesters with high mechanical resistance. By low glass transformation temperature it has a robber like state and high toughness and appropriate mechanical strength. PHBV is about you compatible biodegradable and renewable polymer which is a proper alternative 4 or synthetic non degradable polymers. But high price low thermal resistance brittle structure or among the main problems associated with PHBV.

Methods: In this research two aliphatic polyesters if PCL and PHBV has been used. The combination of these two polymers recently has attracted many attentions for applications of biomedical engineering. The potential reasons for the wide utilization of these polymers are easy reproduction processability and adequate information about their biological and mechanical behaviour. These advantages have motivated the scientists and the researchers to use these materials in some medical applications as suture, artificial skin, fixators and tissue engineering scaffolds. Utilization of PCL can improve the PHBV mechanical properties and enhance the biodegradability. MWCNT can rise their compatibility and improve physical and mechanical properties. Also MWCNT can help to the production of conductive structures that improve the grus of neural cells. For production of the samples the magnetic stirrer by 400 RPM at room temperature has been used. For appropriate dispersion of carbon nanotubes and having a stable homogeneous suspension the ultrasonic homogeniser device

Keywords

Tissue Engineering,
Poly Caprolactone,
Polyhydroxybutyrate
Valerate,
Multi-Wall Carbon
Nanotube

Received: 03/10/2020

Published: 25/01/2021

has been used. For production of nano composite fillings for polymeric solution by different ratios have been solved in 80 cc of chloroform and different percentages of nanotubes have been added. The samples were placed ultrasound for 15 minutes. For observing an imaging the morphology of the scaffolds structure is scanning electron microscope has been used. The samples morphology have been investigated by SEM. The samples morphology Has been analysed by tree different magnification of 5, 10 and 20 micrometer.

Results: No phase appreciation has been detected in the SEM images and the minor phase of PHBV we was not located as a droplet in the matrix. So so it can be deduced that there is an appropriate compatibility between PCL and PHBV. Also show in the sample of the the 75% PCL and 25% phbv the Minor phase has increased and the effect of the change in the ratio can be assessed. It can be inferred that by alteration of major and minor phases the morphology will not change. In previous studies the morphology of the films produced by solvent casting procedure with different amount of carbon nanotube, has been illustrated that the PCL film by 1 percent CNT an appropriate dispersion and interaction can obtain and by elevation of CNT percentage clog structures will form.

Although SEM provide valuable results and data about the morphology of the samples, it will not tell us much about the dispersion of the carbon nanotube nanoparticles. For detection and analysis of the dispersion of CNT, transmission electron microscope was used. For better analysis of the presence of carbon nanotube and the appropriate investigation of the tendency of CNT toward each phases, transmission electron microscope has been used.

For assessment of the mechanical properties and viscoelastic behaviour DMTA was utilized. As it has been illustrated before an appropriate a scaffold must have and proper mechanical strength. A proper is scaffold for restoration of the nerves must possess strength and modulus close to the natural physiological loads on the tissues. All the polymeric and composite materials have two sections of viscose and elastic. The elastic part of would store the energy when the forces are applied, while viscose part would dissipate the energy. Therefore the presence of viscose sections will elevate the dissipative modulus and the presence of the elastic parts will increase the stored modulus. The ratio of the dissipative to a stored modulus is defined by the phase angle. By increase of temperature both store and dissipative modulus would decrease, but the decrease of restored modulus would be higher than that of their dissipative modulus so the ratio or the phase angle will rise up. The results demonstrated that the alloy of 75% PCL and 25% PHBV with 3 percent MWCNT has lower dissipation behaviour in comparison with the 90% PCL and 10% PHBV with 3 percent MWCNT. So it is clear that buy decrease of the PHBV percentage the structure will go toward lower dissipation.

Conclusion: For investigation of the samples crystallinity XRD was used. The results demonstrated that the two polymers are completely compatible. SEM images prove the proper blending and compatible structure. TEM results illustrated that in some cases separation can occur and the carbon nanotube has higher tendency toward PCL. DMTA results showed an intermediate mechanical modulus and stored elastic modulus. The XRD demonstrated that PCL had better crystallinity behaviour in comparison with PHBV and also it is more stable. By alloying and the presence of carbon nanotube it has been observed that the crystallinity size has been reduced but it has been detected that at buy higher percentage of polycaprolactone and 3 weight percent of carbon nanotube did you sell India structure has been enlarged.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Yousefi Talouki P, Tehrani P, Shojaei Sh. The relationship between thermomechanical properties with morphology in PCL / PHBV / MWCNT biodegradable nanocomposites with application in neural tissue engineering. Razi J Med Sci. 2021;27(11):25-38.

***This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.**

مقدمه

سیستم عصبی مهم‌ترین سیستم بدن است که هنگامی که سیستم آسیب می‌بیند تابع حرکتی و سنسوری را تحت تاثیر قرار می‌دهد. سیستم عصبی انسان شامل سیستم عصبی مرکزی و سیستم عصبی محیطی است. دو میلیون از افراد در آمریکا هر ساله سیستم عصبی محیطی آنها دچار آسیب مغزی می‌شود و با طیف وسیعی از عوارض شامل بیماری‌های دژنراتیو و نابودی در مناطقی از مغز و نخاع به علت صدمات ناشی از ضربه و سکنه مغزی مواجهه می‌گردند.

مهندسی بافت یک درمان پزشکی نوین به عنوان یک جایگزین برای روش‌های کاشت سنتی فراهم کرده است. این یک حوزه امیدوار کننده برای ترمیم و یا جایگزینی بافت یا ارگان آسیب دیده است. بازسازی Neural یک هدف اصلی برای مفاهیم ادغام مهندسی بافت به روشهایی برای ترمیم قسمت‌های بدن است. در سال‌های اخیر ارتقاء قابل توجهی از سلول درمانی و مهندسی بافت در بهبود عملکرد سیستم عصبی پیدا کرده است (۱).

پلی استرهای الیفاتیک یک موضوع پژوهشی در حال رشد هستند که به علت زیست تخریب پذیریشان آنها به عنوان یک راه حل برای نگرانی‌های زیست محیطی پدیدار شدند که در سال‌های اخیر افزایش یافته است. آنها یک جایگزین جالب برای پلیمرهای غیر زیست تخریب پذیر سنتزی برای کاربردهای کوتاه مدت هستند. در حال حاضر چندین پلی استر زیست تخریب پذیر الیفاتیک روی مقیاس تجاری توسط تعدادی شرکت تولید می‌شوند. در میان آنها، پلی لاکتیک اسید (PLA)، پلی هیدروکسی آلکانات‌ها (PHAs)، پلی کاپرولاکتون (PCL) و پلی استرهای که از طریق بسپارش دی کربوکسیلیک اسید الیفاتیک و دیول‌ها به دلیل دسترسی آسان و زیست تخریب پذیری خوب تهیه شده‌اند. محدودیت اصلی این پلیمرهای زیست تخریب پذیر در کاربردهای صنعتی گسترده مقاومت مکانیکی و حرارتی ضعیف، خواص‌های محدود Gas barrier، محدودیت دسترسی آنها به بخش‌های صنعتی، همانند بسته بندی می‌باشد. مشکلات بالا را می‌توان از طریق افزایش خواص ترمو مکانیکی از طریق کوپلیمریزاسیون، مخلوط کردن، افزودن فیلرهای

نانوذره غلبه کرد. در سال‌های اخیر افزودن نانوفیلر به پلیمر توجه زیادی را برای بالقوه کردن خواص پلی استرها به خود جلب کرده است (۴-۷).

PCL به گروه پلی استرهای زیست سازگار، زیست تخریب پذیر و غیر سمی با استحکام مکانیکی عالی تعلق دارد. این یک پلی استر سنتزی نیمه کریستالی است و همچنین به عنوان یک جز ترکیبی جالب به علت شکل پذیری خوب، مقاومت حرارتی و درجه کریستالیت مناسب آن مورد توجه قرار گرفته است. دمای تبدیل شیشه‌ای کم در حدود ۶۰- سانتی گراد دارد، همیشه در یک حالت رابری در دمای اتاق و یک دمای ذوب ۶۰ درجه سانتی گراد موجود است. یک تافنس و استحکام حرارتی بسیار خوب دارد. تنها محدودیت برای استفاده از این پلیمر برای بسیاری از کاربردها نقطه ذوب پایین آن است. برای غلبه بر این مشکل، ممکن است با دیگر بیوپلیمر که نقطه ذوب بالا دارد ترکیب شود (۸-۲۰). تخریب PCL و به طور کلی خانواده پلی استرهای زیست تخریب پذیر در دو مرحله رخ می‌دهد. تخریب کامل و حذف بسپارهای بر پایه PCL ممکن است ۲ تا ۳ سال به طول انجامد اما می‌توان با هم بسپارش یا آلیاز سازی با لاکتید یا گلیکولید سرعت تخریب را به میزان قابل ملاحظه‌ای افزایش داد (۱۴-۱۳). زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری و تجدید پذیری PHBV باعث شده است تا جایگزین خوبی برای پلیمرهای غیر تخریب پذیر سنتزی باشد. اما معایبی نیز دارد که شامل گرانی، مقاومت حرارتی پایین، شکننده، خواص مکانیکی اولیه و مشکل پردازش است. شکنندگی این پلیمر به علت درجه بالای از کریستالیت است و این خواص استفاده آن را در بیشتر کاربردهای بسته بندی محدود کرده است (۷ و ۱۵ و ۲۱ و ۲۲ و ۲۴-۲۶). PCL کوت شده با سلول‌های عصبی چندین کاربرد برای جایگزینی منطقه آسیب دیده از بدن می‌تواند داشته باشد بنابراین تصمیم گرفته شد که از PCL برای مطالعه تمایز به بافت عصب به دلیل خواص مکانیکی خوب و تخریب آهسته استفاده کرد و بنابراین به عنوان کاندیدای بهینه در vivo برای پیوند بافت استفاده گشت. PCL متریالی است که می‌تواند ایجاد مجموعه سلول-متریال در vitro با کاشت چند بعدی در vivo حمایت کند (۱۶ و ۱۸ و ۲۶).

بود. به منظور پخش مناسب نانولوله های کربن و تفکیک دسته های نانوذرات به هم چسبیده و نهایتاً دستیابی به یک سوسپانسیون یکنواخت و پایدار، دستگاه اولتراسونیک هموژنایزر با مدل HD3200 و ساخت شرکت BANDELIN آلمان، به کار گرفته شد.

روش های تهیه داربست به روش ریختگری حلال

برای تهیه این داربست ها ابتدا پلیمر های خالص را در ۸۰ سی سی کلروفرم با حرارت دادن توسط همزن حرارتی و با استفاده از مگنت در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد حل کرده تا مدتی که حلال ما بخار شده و ترکیب به میزانی که خواستیم رسید (ظرفیت حجم پلیت استفاده شده ۳۰ سی سی). سپس در پتری دیش ریخته و زیر هود به مدت ۱ شبانه روز قرار می دهیم تا فیلم مورد نظر بدست آید. همین کار را برای ترکیب گرانونول های وزن شده PHBV و PCL با نسبت های ۹۰/۱۰، ۷۵/۲۵ انجام می دهیم.

برای ساخت فیلم های نانوکامپوزیتی ابتدا ۴ محلول پلیمری با نسبت های ۷۰/۳۰ و ۹۰/۱۰ را در حلال کلروفرم به مقدار ۸۰ سی سی حل میکنیم و سپس در صدهای مختلفی از نانولوله های چند دیواره با ۱ و ۳ درصد وزنی به آن اضافه میکنیم. سپس نمونه ها را به مدت ۱۵ دقیقه با توان و پالس های ثانیه به ثانیه اولتراسوند شدند. از آنجا که اعمال موج فراصوتی باعث افزایش دمای نمونه می شود و از طرفی نقطه جوش حلال کلروفرم پایین است برای جلوگیری از تبخیر آن این ۱۵ دقیقه را در ۳ مرحله ۵ دقیقه ای انجام داده و ما بین آن پروب دستگاه و اطراف نمونه را کمی خنک میکنیم. پس از این مراحل نمونه ها در پتری دیش هایی که قبلاً شسته شده و در جایی مسطح قرار گرفته اند به آرامی میریزیم تا حبابی وارد آن نشود. و سپس زیر هود قرار داده و بعد از ۲۴ ساعت فیلم ها آماده اند (۲۰ و ۲۳ و ۳۵).

میکروسکوپ الکترونی (SEM)

برای مشاهده و تصویر برداری از ساختار و مورفولوژی داربست های تهیه شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شده است. برای این منظور از

در این پژوهش از دو پلیمر پلی استر ایفاتیک PCL و PHBV استفاده شده است. استفاده از این دو پلیمر در کاربرد های لوازم پزشکی مورد توجه قرار گرفته است و برای آن می توان دلایلی از جمله باز تولید آسان، فرآیند پذیری و وجود اطلاعات کافی در مورد رفتار آنها در بدن بیان نمود. مجموعه این مزایا باعث شده است تا این مواد در کاربری های متعدد پزشکی نظیر بخیه، ساخت پوست مصنوعی، ثابت کننده ها و داربست مهندسی بافت استفاده شود (۲-۳). استفاده از PCL می تواند خواص مکانیکی PHBV را بهبود بخشد و خاصیت زیست تخریب پذیری را تغییر دهد و از سوی دیگر MWCNT می تواند به سازگاری بهتر این دو پلیمر کمک کند و خواص فیزیکی و مکانیکی آن را افزایش دهد و همچنین کمک بسیار زیادی را در زمینه ایجاد ساختارهای رسانا و کمک به رشد سلول های عصبی می نماید (۴).

روش کار

در این پژوهش از پلی کاپرولاکتون خریداری شده از شرکت (Southern Chemicals) و دانسیته $1,1 g cm^{-3}$ پلی هیدروکسی بوتیرات خریداری شده از شرکت (BANDELIN) آلمان و دانسیته $1,25 g cm^{-3}$ استفاده شده است. MWCNT با خلوص ۹۵٪ و قطر ۵۰-۳۰ nm از طریق CVD تولید شد و لازم به ذکر است که این ماده ساخت کشور چین بوده و از شرکت (نوترینو) در ایران خریداری شده است. حلال کلروفرم با فرمول شیمیایی $CHCl_3$ یکی از حلال های مورد استفاده در پلیمرهای پلی کاپرولاکتون و پلی هیدروکسی بوتیرات والرات است که از شرکت (مرک) خریداری شد. این ماده یک حلال آلی دارای نقاط جوش و انجماد به ترتیب ۶۱/۲ و ۶۳/۵- درجه سانتی گراد است که پایین بودن نقطه جوش آن باعث شده که برای تهیه ی فیلم مناسب باشد.

تجهیزات لازم برای تهیه داربست ها و فیلم ها

برای تهیه نمونه ها از همزن مغناطیسی با دور ۴۰۰ RPM در دمای محیط استفاده شد این همزن ساخت کشور آلمان با شماره مدل IKA® RET basic

استفاده شد. نمونه‌ها از دمای -80°C تا 130°C با سرعت $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ در فرکانس 1HZ به روش ASTM E1640-04 حرارت داده شدند و خواص ویسکوالاستیک آنها بر حسب دما ثبت گردید. لازم به ذکر است که تمامی آزمایش‌ها در اتمسفر نیتروژن به منظور دستیابی به حداقل تخریب گرمایی و اکسیداسیونی صورت گرفته است.

پراش اشعه ایکس (XRD)

از این آنالیز برای شناسایی ساختارهای بلوری در نمونه‌ها استفاده شد در این دستگاه از آند کبالت به عنوان فاز ایجاد انرژی X با طول موج 0.14 نانومتر استفاده شده است. این آزمون در 2θ بین 5 تا 40° درجه اندازه‌گیری شد این دستگاه با ساخت شرکت آلمانی بروکر واقع در پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران استفاده شده است.

یافته‌ها

بررسی توزیع فاز پراکنده شده ی PHBV با استفاده از آزمون SEM

مهندسی بافت عصب روی ابزارهایی برای ایجاد کانال‌های عصبی سنتزی و طبیعی به عنوان جایگزینی برای اتوگرفت عصبی تمرکز کرده است (۱۸). به منظور توسعه و سازماندهی بافت در حالت سالم و بالغ،

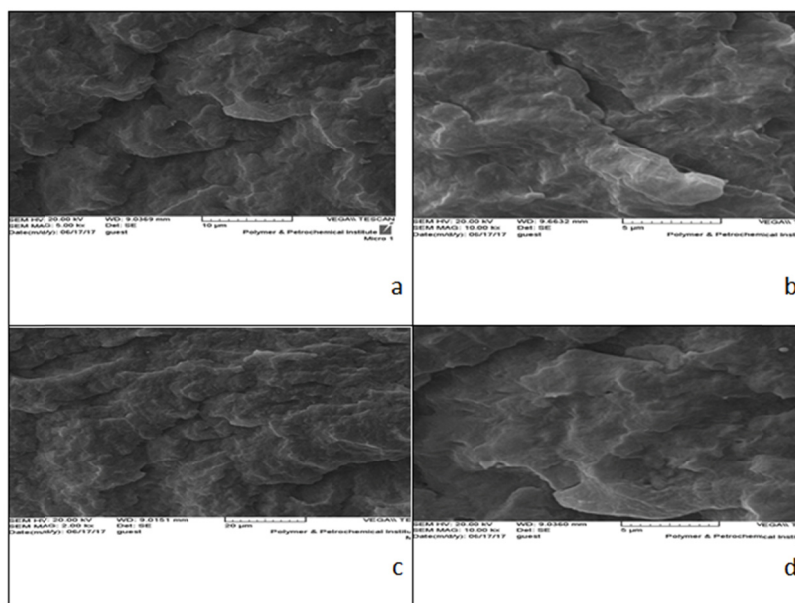
دستگاه مستقر در پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران استفاده شد. مدل دستگاه vegall، ساخت شرکت Tescan از جمهوری چک می‌باشد. قبل از تصویر برداری از نمونه‌ها به منظور رسانش سطح یک پوشش طلا روی آن داده می‌شود.

میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

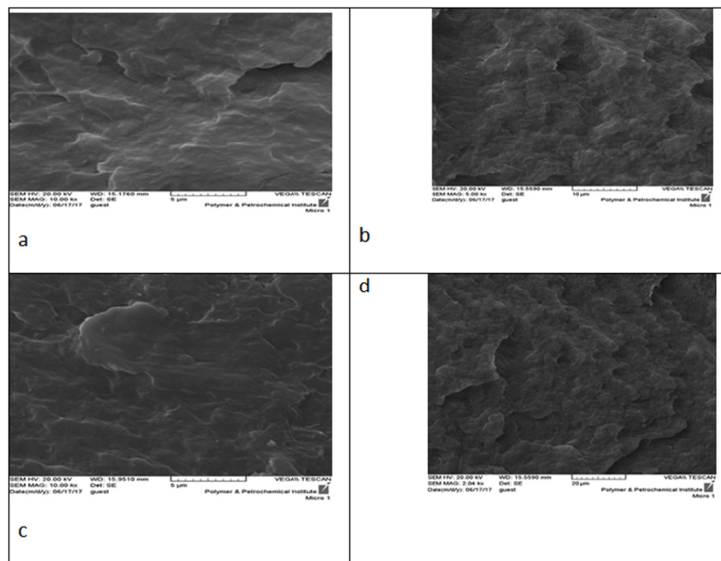
برای نشان دادن حضور نانولوله‌های کربن و نحوه ی پخش آنها در بستر پلیمری از این دستگاه با مبدل 20KV ساخت شرکت FEI استفاده شد. ولتاژ شتابدهی این دستگاه 50 و 80 کیلوولت بوده و در حالت کارکرد عادی در بزرگنمایی 25000 برابر می‌باشد.

مطالعه رفتار مکانیکی دینامیکی (DMTA)

از دستگاه DMTA مدل Tritec 2000 DM، ساخت شرکت Traiton موجود در پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، برای بررسی انواع انتقالات رخ داده در نمونه‌ها استفاده شد. تست دینامیکی مکانیکی در مد کششی صورت گرفته و به کمک این تست خواص ویسکوالاستیک (مدول الاستیک ذخیره) و دمای انتقال شیشه ای نمونه‌ها محاسبه گردیده است. در این آزمایش از نمونه‌های جامد به طول حدود 10mm و عرض 5mm و ضخامت تقریبی 0.8mm



شکل ۱- تصویر SEM از سطح مقطع کامپوزیت PCL/PHBV با نسب ۹۰/۱۰ در ۳ بزرگنمایی مختلف ۵ و ۱۰ و ۲۰ میکرومتر



شکل ۲- تصویر SEM با مورفولوژی یکدست از نمونه 75PCL/25PHBV با ۳ بزرگنمایی مختلف ۵ و ۱۰ و ۲۰ میکرومتر

که نمونه های ما تا حدودی محکمتر شده است. شکل ۳b نانو کامپوزیت 90PCL/10PHBV/3MWCNT مشاهده می شود که سطح شکست کاملاً صاف شده ولی باز سطوح شکست را مشاهده گردیده است.

شکل ۴ در نانو کامپوزیت های 75PCL/25PHBV/1MWCNT و 75PCL/25PHBV/90PCL/10PHBV/3MWCNT نانو کامپوزیت مشاهده گردید.

در مطالعات گذشته مورفولوژی شکست بعضی از فیلم های تهیه شده از solvent casting با مقادیر کم و زیاد کربن نانوتیوب نشان داده است که فیلم PCL با ۱ درصد CNT دیسپرس و اینترکشن کربن نانوتیوب را در ماتریکس نشان داده و با افزایش در صد CNT به صورت کلوخه در ماتریکس در آمده اند (۲۳) و در نانو کامپوزیت MWCNT/PCL شکستگی سطح مشاهده نشده است و همچنین حضور MWCNT سبب دیسپرس کافی، چسبندگی ضعیف سطحی و اختلاف در انرژی سطح بین نانوذره و ماتریکس می گردد (۱۷ و ۲۰).

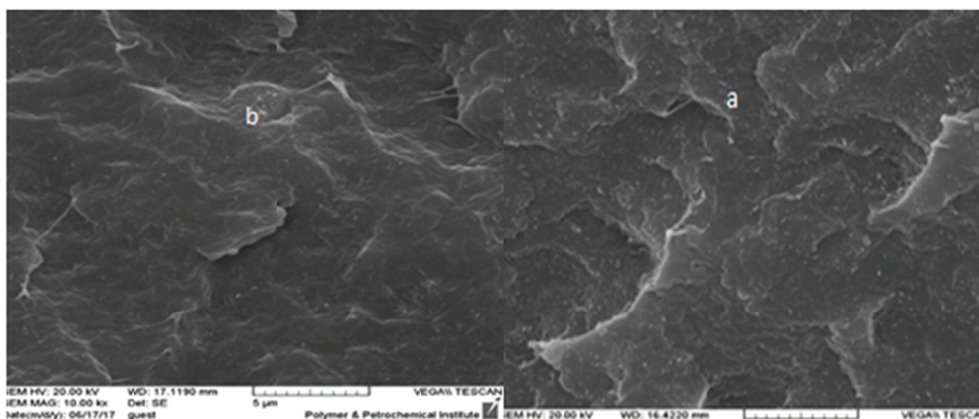
با توجه به تصاویر SEM می توان نتیجه گرفت که با حضور MWCNT در 75PCL/25PHBV مورفولوژی یکنواخت تر و سطح صاف تر پیدا کرده است.

داربست های بیومتریال باید ویژگی های مطلوب فیزیکی شامل زیست سازگاری، خواص مکانیکی کافی، تخلخل بالا، مساحت سطح بالا، سایز مناسب منافذها، ساختار متخلخل به هم پیوسته و زیست تخریب پذیری نشان دهد (۳۱-۳۳).

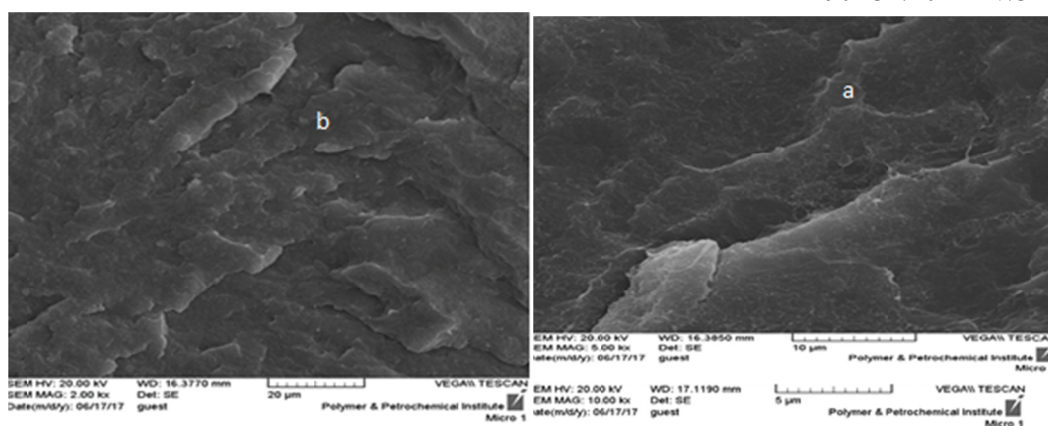
مورفولوژی نمونه ها به وسیله SEM گرفته می شود. در شکل ۲ مورفولوژی نمونه ۹۰/۱۰ در سه بزرگنمایی مختلف ۲۰، ۱۰، ۵ میکرومتر در تصاویر مشاهده می شود که هیچگونه جدایی فاز دیده نمی شود یعنی هیچکدام از ذرات فاز مینور که PHBV است به صورت قطره ماتریکس دیده نمی شود. این یک نتیجه گیری که آلیاژ PCL و PHBV سازگاری خیلی خوبی دارند.

در آلیاژ 75PCL/25PHBV در شکل ۲ ترکیب درصد فاز ماتریکس کم شده و فاز مینور (PHBV) بیشتر شده است. در اینجا می خواهیم اثر تغییر فاز بین فاز مینور و فاز ماتریکس را با همدیگر روی مورفولوژی بررسی کنیم. در این تصاویر مشخص می شود که تغییر نسبت فاز مینور به فاز ماتریکس مون اثری روی مورفولوژی ندارد. مورفولوژی یکدست و سازگار است.

در ادامه ۱ درصد نانوذره به نمونه قبلی اضافه می گردد. در شکل ۳a نانو کامپوزیت 90PCL/10PHBV/1MWCNT نشان داده که صفحه ی شکست در نمونه ی نانو کامپوزیت نسبت به نمونه های خالص زیاد گردید که نشان دهنده آن است



شکل ۳- تصویر SEM از سطح شکست نانوکامپوزیت های (a) PCL/PHBV/MWCNT و (b) 90PCL/10PHBV/1MWCNT



شکل ۴- تصویر SEM از سطوح شکست در نانوکامپوزیت های (a) 75PCL/25PHBV/1MWCNT و (b) 75PCL/25PHBV/3MWCNT

دهنده‌ی این است که CNT تمایل بیشتری به قرار گرفتن در فاز PCL نشان می‌دهد. هر چند که ما در بعضی نقاط کلوخه‌هایی را مشاهده می‌کنیم که می‌تواند به دلیل خوب میکس نشدن این نانوذرات با این پلیمرها باشد.

در این تصاویر کاملاً لوله‌های CNT را می‌توانیم مشاهده کنیم که به چه صورت در ماتریکس ما پراکنده شده‌اند.

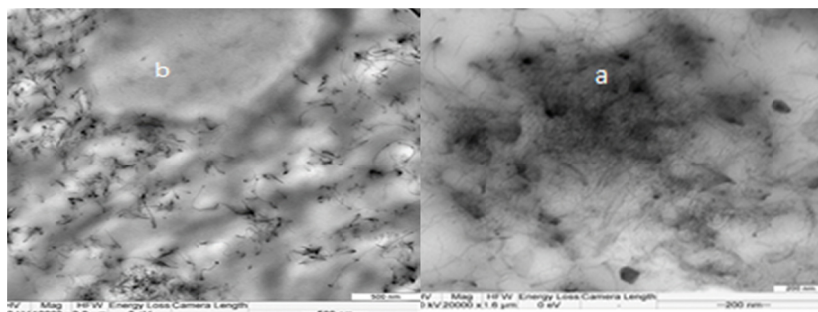
در شکل ۵b اثر ۳ در صد نانوذرات در ماتریکس 75PCL/25PHBV بررسی گردید. در این شکل مشاهده می‌شود که هر چه نانوذرات ما بیشتر شود تمایل چسبیدن نانوذرات به همدیگر بیشتر شده و از پراکنده شدن آن جلوگیری می‌شود. همچنین CNT تمایل این را دارد که در فاز PCL قرار گیرد و تمایل

بررسی توزیع نانولوله‌های کربن با استفاده از آزمون TEM

طبق مطالعات گذشته از نتایج TEM روی نمونه‌های PCL با مقادیر مختلف CNT نشان داده که در مقادیر کم CNT دیسپرس و ایتترکشن به خوبی صورت گرفته و با افزایش در صد CNT به صورت کلوخه در ماتریکس در آمده است (۲۳).

در تصاویر SEM مشاهده کردیم که نمی‌توانیم نانوذرات CNT را در ماتریکس مشاهده کنیم به این ترتیب وارد آنالیزهای TEM می‌شویم.

در شکل ۵ مشاهده می‌کنیم که فاز سفید رنگ تر فاز مربوط به minor (PHBV) و فاز مشکی رنگ PCL هستند. در این تصاویر مشاهده می‌کنیم که اکثر نانوذرات در فاز PCL پراکنده شدند که این نشان



شکل ۵- تصویر TEM از سطح مقطع نانوکامپوزیتهای (a) 75PCL/25PHBV با ۱ درصد وزنی MWCNT و (b) 75PCL/25PHBV با ۳ درصد وزنی MWCNT

این است که ماده سخت را با ماده نرم ترکیب کردیم و همچنین در منحنی مشاهده شده که با افزودن CNT مدول کاهش یافته است زیرا CNT به خوبی پخش نشده و به صورت کلوخه در آمده است.

بیشینه این افزایش به عنوان T_g شناخته میشود. با توجه به نمودارهای $\tan\delta$ ، با اینکه انتظار می رفت با اضافه کردن نانولوله کربن دمای انتقال شیشه‌ای داربست کامپوزیتی نسبت به حالت خالص افزایش یابد. در اینجا لازم به ذکر است که افزایش نانولوله های کربن باعث افزایش مدول و انتقال شیشه ای کامپوزیت می شود. یعنی مدول و دمای تبدیل شیشه‌ای داربست‌های تهیه شده در این پروژه نیز باید یک روند افزایشی از خود نشان دهند که برای این منظور از آزمون DMTA استفاده شده است.

در شکل ۶ منحنی رفتار مکانیکی دینامیکی برای PCL و PHBV خالص را نشان داده است که مدول ذخیره آن ۲۵۰۰ MPa است و برای PHBV خالص ۴۴۰۰ MPa است. همانگونه که مشاهده می گردد در دماهای مختلف با افزایش دما خاصیت الاستیک نمونه‌ها کاهش محسوسی پیدا می‌نماید و کاهش رفتار الاستیک برای نمونه PCL خیلی بیشتر است یعنی نمونه PCL استحکام مکانیکی خیلی کمتری نسبت به نمونه PHBV دارد.

در شکل ۷ مربوط به نمودار DMTA خواص مدول ذخیره در تمام نمونه های نانوکامپوزیتی بررسی گردیده است. همانطور که در تصویر مشاهده می‌گردد بیشترین خواص مکانیکی آلیاژ مربوط به نمونه PHBV ۱ و کمترین برای PCL می باشد. با افزایش حضور کربن نانوتیوب خواص مکانیکی افزایش یافته و در نتیجه خواص ویسکوالاستیک نمونه تقویت پیدا کرده و در

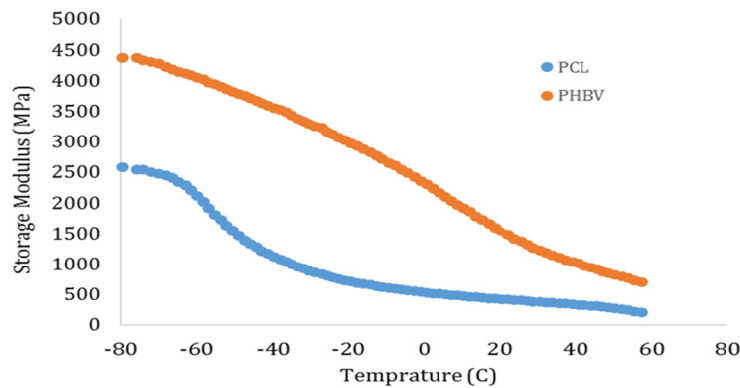
خیلی کمتری دارد که به فاز PHBV منتقل شود.

بررسی خواص مکانیکی - حرارتی نمونه‌ها با استفاده از آزمون DMTA

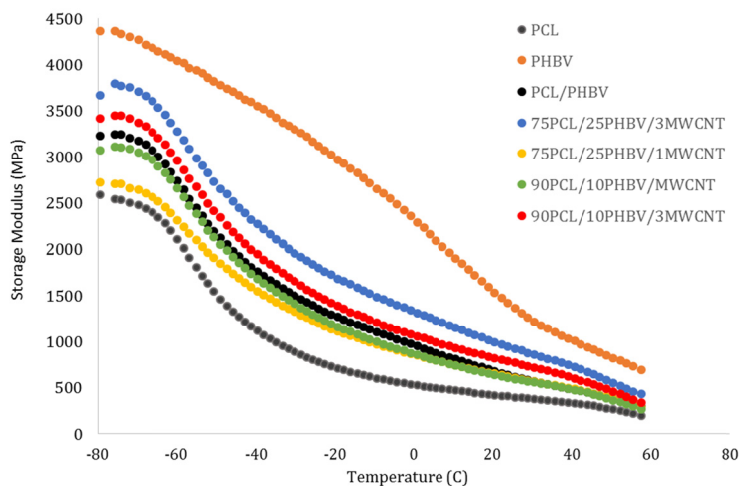
همانگونه که قبلاً ذکر شد در ساخت یک داربست مناسب، استحکام مکانیکی باید به میزان کافی باشد؛ چرا که داربست در طول دوره ترمیم عصب، استحکام و مدولی نزدیک به آنچه که برای مقاومت در برابر بارهای فیزیولوژیکی وارد بر بافت لازم است، نیاز دارد (۳۰). به منظور بررسی این خواص از آزمون‌های دینامیکی - مکانیکی استفاده شده است. نتایج این آزمون ها در تصاویر زیر آورده شده است.

تمامی مواد پلیمری و کامپوزیت ها دارای دو بخش ویسکوز و الاستیک هستند. بخش الاستیک ماده وقتی نیرویی به آن اعمال می شود، انرژی را ذخیره می کند، در حالی که بخش ویسکوز همیشه باعث اتلاف انرژی می شود. بنابراین حضور نواحی ویسکوز منجر به توسعه ی مدول اتلاف و حضور نواحی الاستیک موجب پیدایش مدول ذخیره می شود. نسبت مدول اتلاف به مدول ذخیره با شاخص $\tan\delta$ بیان می شود که δ نیز زاویه فاز است. زمانیکه دما افزایش می یابد، هر دو مدول ذخیره و اتلاف کاهش می یابند ولی کاهش مدول ذخیره بسیار بیشتر از مدول اتلاف بوده و این نسبت نیز خیلی صعود می کند.

علیرغم زیست سازگاری بالا PHBV کاربرد آن برای مهندسی بافت به علت استحکام ضعیف آن محدود است و نشان داده شده که با افزودن PCL و CNT خواص مکانیکی PHBV افزایش یافته است (۱۹ و ۲۳)، ولی با توجه به آزمون DMTA نشان داده شده که با ترکیب PCL و PHBV مدول کاهش یافته که علت آن



شکل ۶- منحنی مدول ذخیره E' برای PCL و PHBV در حالت خالص



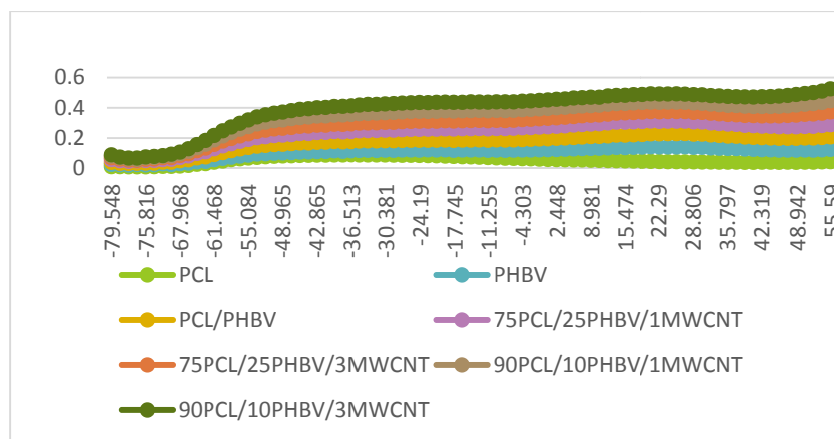
شکل ۷- منحنی مدول ذخیره E' برای نمونه‌های PCL خالص، PHBV خالص، آلیاژ PCL/PHBV و نانوکامپوزیت‌های 90PCL/10PHBV/1,3MWCNT و 75PCL/25PHBV/1,3MWCNT

دمای بالاتر استحکام نمونه حفظ می‌گردد. از این منحنی می‌توان نتیجه گرفت نانوکامپوزیت 75PCL/25PHBV/3 بیشترین استحکام را داشته و نانوها باز شده است. همانگونه که در شکل ۸ نمودار $\delta \tan$ مشاهده می‌گردد بیشترین اتلاف مربوط به نمونه‌ی 90PCL/10PHBV/3MWCNT و کمترین اتلاف مربوط به نمونه PCL می‌باشد. در نمونه‌های ۳ درصد وزنی، CNT ها خیلی بیشتر به هم جمع شده‌اند و کلوخه تشکیل داده است. بالاترین گراف اتلاف انرژی بیشتری را نشان داده است یعنی CNT ها در ماتریکس خوب پخش نشده‌اند. این که در ۳ درصد وزنی خوب پخش نشده‌اند و ماده می‌تواند بیشتر انرژی را در خودش دم کند (از بین ببرد). در این گراف می‌توان مشاهده کرد که آلیاژ

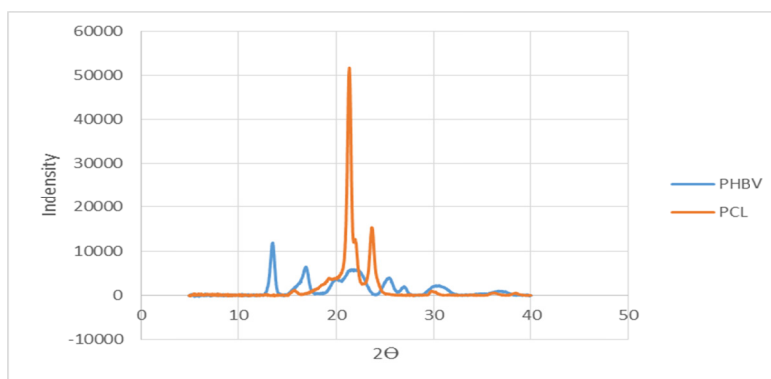
75PCL/25PHBV/3MWCNT رفتار اتلاف انرژی خیلی کمتری نسبت به آلیاژ 90PCL/10PHBV/3MWCNT دارد، این نشان دهنده‌ی این است که هر چقدر درصد PHBV را در سیستم کم کنیم سیستم به سمتی می‌رود که اتلاف انرژی بیشتری دارد یعنی CNT به خوبی در سیستم دیسپرس می‌شود و مانع از دیسپرس CNT در ماتریکس می‌شود.

بررسی ساختارهای بلوری در نمونه‌های تهیه شده با استفاده از XRD

در اینجا آزمون XRD از کامپوزیت بررسی شده است. رفتار بلورینگی یا ساختار بلورینگی نمونه خالص در شکل ۹ نشان داده شده است. در این شکل مشاهده شده که اولاً ساختارهای بلوری PCL (پیک‌هایی که در



شکل ۸- منحنی اتلاف $\delta \text{ Tan}$ از PCL، PHBV، PCL/PHBV، 75PCL/25PHBV/1,3MWCNT، 75PCL/25PHBV/3MWCNT، 90PCL/10PHBV/1,3MWCNT



شکل ۹- آنالیز XRD برای PHBV و PCL خالص

بلورینگی تغییر خیلی خاصی نمی کنند که این نشان دهنده ی این است که هر چه در صد فاز PCL در نمونه هامون بیشتر باشد میزان حضور PHBV و MWCNT زیاد نمی تواند بر ساختار بلورینگی ها اثر گذار باشد (۳۴).

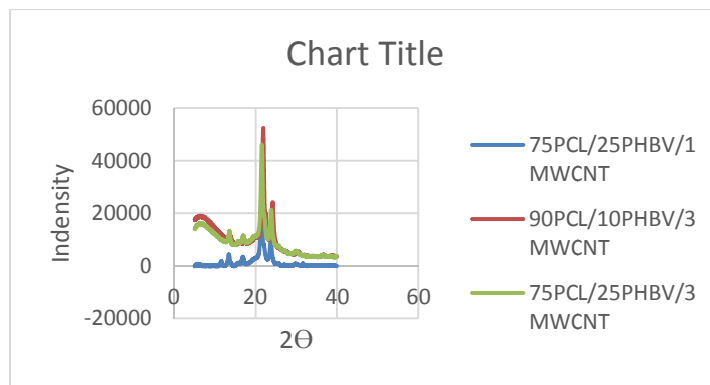
در شکل ۱۱ رفتار بلورینگی یا ساختارهای بلورینگی نمونه های مورد تهیه ما مورد ارزیابی قرار گرفته که در این نمونه مشاهده گردید که با توجه به آلیاژسازی و همچنین حضور نانوذرات کربنی ساختارهای بلورینگی به چه سمت تغییر میکند. با افزایش نانوذرات کربنی و همچنین آلیاژسازی میزان بلورینگی نمونه ها به شدت کاهش پیدا کرده است (پیک نسبت به نمونه های خالص پایین تر آمده است).

حضور نانوذرات در فاز ماتریکس سبب کاهش سایز بلورینگی و به هم خوردن ساختارهای ساختارهای بلوری می شود. اما در این نمونه ها مشاهده می شود که

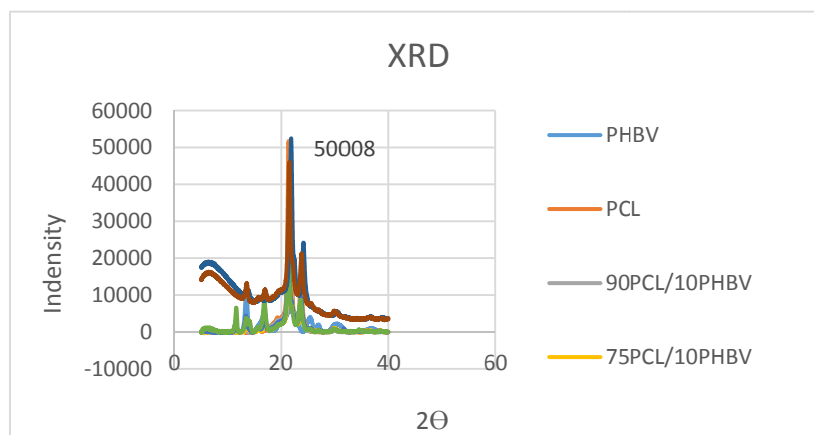
شکلها مشاهده می کنیم) خیلی شات تر از ساختارهای بلوری PHBV است که این نشان دهنده ی این است که نمونه ی PCL ما رفتار بلورینگی و ساختار بلورینگی خیلی بهتر و پایدارتر نسبت به PHBV برخوردار است.

در نمونه PCL مشاهده می شود که دو نوع صفحه کریستالی میزان در صد بلورینگی خیلی بالایی دارند. در نمونه PHBV مشاهده می شود که ۷ تا صفحه بلورینگی در این ماده در واقع از شدت خیلی بیشتری برخوردار هستند که صفحه بلورینگی در θ های ۱۱ وجود دارد که از میزان سایز خیلی کمتر و میزان uniformity خیلی بیشتری برخوردار هستند.

در شکل ۱۰ آلیاژهای نانوکامپوزیتی را در این شکل مورد مقایسه قرار گرفت. در این شکل مشاهده می شود که هرچه درصد فاز PCL بیشتر و غالب تر باشد نسبت به فاز PHBV ساختار بلورینگی از در صد بیشتری برخوردار است و همچنین ساختارهای



شکل ۱۰- آنالیز XRD برای 90PCL/10PHBV/3MWCNT ، 75PCL/25PHBV/1MWCNT و 75PCL/25PHBV/3MWCNT



شکل ۱۱- آنالیز XRD برای تمام نمونه‌های خالص و نانوکامپوزیتی

هدف افزایش خواص مکانیکی و الکتریکی داربست‌ها، استفاده از PCL به منظور بهبود خواص مکانیکی PHBV و تغییر در خاصیت زیست تخریب پذیری، ساخت فیلم‌های نانوکامپوزیتی مشابه با داربست‌ها و تحلیل خواص برای برقراری ارتباط رفتار آنها با داربست‌ها.

روش مورد استفاده برای تهیه داربست‌ها یعنی روش محلولی، یکی از روش‌های کارآمد در زمینه ساخت داربست است که بدون داشتن فرآیندی پیچیده، به تجهیزات خاصی نیز احتیاج ندارد. فاکتورهای مختلفی روی استحکام، مورفولوژی و اندازه قطر حفرات داربست‌ها تاثیر گذار است که با کنترل این شرایط می‌توان به خواصی که مورد نیاز است، دست یافت. از جمله این عوامل عبارتند از: نوع پلیمر و مشخصات آن، ماهیت حلال مورد استفاده و... در آزمون SEM نشان داده شده که اولاً دو پلیمر با هم سازگار هستند و

نمونه‌ای با بیشترین در صد PCL و ۳ درصد وزن نانوذرات کربنی منجر به تولید ساختار بلوری بزرگتری گشته است که این نشان دهنده‌ی اثر ساختار بلوری PCL بر PHBV است.

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه تحقیقات گسترده‌ای در زمینه‌های مختلف پزشکی انجام می‌شود که بخشی از آن معطوف به ترمیم بافت‌ها است. مهندسی بافت عصب نیز زیر مجموعه‌ی مهمی از این فعالیت‌هاست که در ارتباط تنگاتنگ با سلول‌های عصبی می‌باشد. این علم روش‌های گوناگونی در پیشبرد اهداف خود به کار گرفته که هر کدام از این روش‌ها نیز تابع عوامل خاصی هستند.

این تحقیق شامل نوآوری‌هایی بود که به منظور ارتقای کارایی داربست‌های کنونی، طراحی شدند. این روش‌ها عبارتند از: استفاده از نانولوله‌های کربنی با

بلوری تقریباً بزرگتری به ما داده است.

References

1. Jafar A, Kiasat-Dolatabadi A, Ebrahimi-Barough S, Armin A, Lotfibakhshaiesh N, Norouzi-Javidan A, et al. Polymeric Scaffolds in Neural Tissue Engineering. *Arch Neuro Sci*. 2013;1:115-20.
2. Chun YS, Kim WN. Thermal properties of poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) and poly(ϵ -caprolactone) blends. *Polymer*. 2000;41:2305–2308.
3. Mofokeng JP, Luyt S. Morphology and thermal degradation studies of melt-mixed poly(hydroxybutyrate-co-valerate) (PHBV)/poly(ϵ -caprolactone) (PCL) biodegradable polymer blend nanocomposites with TiO₂ as filler. *J Mat Sci*. 2015;50:3812–3824.
4. Vuornos K, Björnin M, Talvitie E, Paakinaho K, Kellomäki M, Huhtala H, et al. Human Adipose Stem Cells Differentiated on Braided Polylactide Scaffolds Is a Potential Approach for Tendon Tissue Engineering. *Tissue Engin*. 2016;22:513-523.
5. Gu X, Ding F, Yang Y, Liu J. Construction of tissue engineered nerve grafts and their application in peripheral nerve regeneration. *Progress Neurobiol*. 2011;93:204230.
6. Gassner F, Owen AJ. Some properties of poly(3-hydroxybutyrate)-co-poly(3-hydroxyvalerate) blends. *Polym Int*. 1996;39:215–9
7. Monteiro MSSB, Neto RPC, Santos ICS, da Silva EO, Tavaras MIB. Inorganic-organic hybrids based on poly(ϵ -capro lactone) and silica oxide and characterization by relaxometr applying low-field NMR. *Mater Res*. 2012;15:825–832.
8. Patrício T, Ba'tolo P. Thermal stability of PCL/PLA blends produced by physical blending process. *Proc Eng*. 2013;59:292–297.
9. Bikiaris D. Can nanoparticles really enhance thermal stability of polymers? Part II: An overview on thermal decomposition of polycondensation polymers. *Lab Polymer Chem Technol*. 2011;523:25-45.
10. Chrissafis K, Antoniadis G, Paraskevopoulos KM, Vassiliou A, Bikiaris DN. Comparative study of the effect of different nanoparticles on the mechanical properties and thermal degradation mechanism of in situ prepared poly(ϵ -caprolactone) nanocomposites. *Compos Sci Technol*. 2007;67:2165–2174.
11. Lim J, Seow Khoon Chong M, Yiling Teo E, Chen GQ, Chan JKY, Teoh SH. Biocompatibility studies and characterization of poly (3- hydroxyl-butyrates-co-3-hydroxyhexanoate)/ polycaprolactone blends. *J Biomed Mater Res Part B*. 2013;101B:752–761.

با افزایش ترکیب در صد فاز مینور (PHBV) تو سازگاری هیچ چیز مشاهده نکردیم یعنی اثری روی مورفولوژی ندارد و مورفولوژی یکدست و سازگار است و جدایی فاز نداریم. در آزمون SEM نشان داده شده که در نمونه نانوکامپوزیت 90PCL/10PHBV/1MWCNT شکست نسبت به نمونه های خالص زیاد شده که نشان دهنده آن است نمونه های ما تا حدودی محکمتر شده اند و شکستن در آن بیشتر اتفاق افتاده است. در ۳ درصد وزنی نانوذره مشاهده می شود که سطح شکست کاملاً صاف شده ولی باز سطوح شکست را مشاهده میکنیم. آلیاژ 75PCL/25PHBV/1MWCNT و 75PCL/25PHBV/1MWCNT تحلیل آن همانند نانوکامپوزیت ۳ درصد وزنی 90PCL/10PHBV می باشد. در آزمون TEM که برای دو نمونه 75PCL/25PHBV/ و 75PCL/25PHBV/1MWCNT و 3MWCNT نشان داده شده که جدایی فاز داشتیم و CNT تمایل به PCL داشت و نسبت به PHBV ناسازگار است و هر چقدر نانوذرات بیشتر شد CNT ها بیشتر کلوخه می شوند. در آزمون DMA نشان داده شده که PCL ماده ای نرم تر از PHBV است و بعد از ترکیب PCL و PHBV مدول پایین آمد که علت آن این است که ماده ی سخت را با ماده ی نرم ترکیب کردیم. و در این محنی دیده شده است که با افزودن CNT مدول کم شده چون CNT به طور کامل پخش نشده و به صورت کلوخه در آمده است. در نمودار δ نشان داده شده بیشترین اتلاف مربوط به نمونه ی 90PCL/10PHBV/3MWCNT است و کمترین اتلاف مربوط به نمونه PCL است. همچنین می توان مشاهده کرد که آلیاژ 75PCL/25PHBV/3MWCNT رفتار اتلاف انرژی خیلی کمتری نسبت به آلیاژ 90PCL/10PHBV/3MWCNT دارد. در آزمون XRD نشان داده شده که نمونه PCL رفتار بلورینگی و ساختار بلورینگی خیلی بهتر و پایدارتر نسبت به PHBV برخوردار است. با آلیاژسازی و همچنین حضور نانوذرات کربنی مشاهده کردیم که حضور نانوذرات در فاز ماتریکس سبب کاهش سایز بلورینگی و برهم خوردن ساختارهای بلوری می شود اما در نمونه ها مشاهده شد که نمونه ای که بیشترین در صد PCL و ۳ درصد وزنی نانوذرات کربنی را داراست، ساختارهای

12. Pitt G, Chasalow FI, Hibionada YM, Klimas DM, Schindler A. The degradation of poly(lacton) in vivo. *J Appl Polymer Sci.* 1981;26:215-220.
13. Pitt G, Gratzl MM, Kimmel GL, Surles J, Schindler A. The degradation of poly (D-L-lactide), Poly(lacton), and their copolymers in vivo. *Biomaterials.* 1981;2:215-220.
14. Mofokeng JP, Luyt AS. Morphology and thermal degradation studies of melt-mixed poly(hydroxybutyrate-co-valerate) (PHBV)/poly(ϵ -caprolactone) (PCL) biodegradable polymer blend nanocomposites with TiO₂ as filler. *J Mater Sci.* 2015;50:3812-3824.
15. Barbarisi M, Marino G, Armenia E, Vincenzo Q, Rosso F, Porcelli M, et al. Use of polycaprolactone (PCL) as scaffolds for the regeneration of nerve tissue. *J Biomed Mater Res Part A.* 2014:1-6.
16. Jen-Taut Y, Ming-Chien Y, Ching-Ju W, Chin-San W. Preparation and Characterization of Biodegradable Polycaprolactone/Multiwalled Carbon Nanotubes Nanocomposites. *J Appl Polymer Sci.* 2009;112:660-668.
17. Barbarisi M, Marino G, Armenia E, Vincenzo, 1 Francesco Rosso Q, Porcelli M, et al. Use of polycaprolactone (PCL) as scaffolds for the regeneration of nerve tissue. *J Biomed Mater Res Part A.* 2014:00A:000-000.
18. Lim J, Seow Khoon Chong M, Yiling Teo E, Chen GQ, Chan JKY, Teoh SH. Biocompatibility studies and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate)/ polycaprolactone blends. *J Biomed Mater Res Part B.* 2013;101B:752-761.
19. Cavalcante MP, Toledo EJR, Rodrigues RPC, Tavares MIB. Correlation between traditional techniques and TD-NMR to determine the morphology of PHB/PCL blends. *Polym Test.* 2017;58:159-165.
20. Xua Ch, Qiu Zh. Crystallization behavior and thermal property of biodegradable poly(3-hydroxybutyrate)/multi-walled carbon nanotubes nanocomposite. *Polym Adv Technol.* 2011;22:538-544.
21. Huh M, Hae Jung M, Soo Park Y, Kim BJ, Suk Kang M, Holden PJ, et al. Effect of Carbon Nanotube Functionalization on the Structure and Properties of Poly(3-hydroxybutyrate)/MWCNTs Biocomposites. *Macromol Res.* 2014;22(7):765-772.
22. Sanchez-Garcia JM, Lagaron SV, Hoa b Effect of addition of carbon nanofibers and carbon nanotubes on properties of thermoplastic biopolymers. *Compos Sci Technol.* 2010;70:1095-1105.
23. Xuan Thinh P, Basavaraja Ch, Kim K, Sung Huh D. Fabrication and characterization of honeycomb patterned film from poly(ϵ -caprolactone)/poly((R)-3-hydroxybutyric acid)/reduced graphene oxide composite. *Polymer J.* 2013:1-8.
24. Liao HT, Wu ChS. Poly(3-hydroxybutyrate)/multi-walled carbon nanotubes nanocomposites: preparation and Characterizations. *Design Monomers Polymers.* 2013;16(2):99-107.
25. Lizarraga- Valderrama LR, Nigmatullin R, Taylor C, Haycock JW, Claeysens F, Knowles JC, et al. Nerve tissue engineering using blends of poly(3-hydroxyalkanoates) for peripheral nerve regeneration. *Eng Life Sci.* 2015;15:612-621.
26. Faridirad F, Ahmadi S, Barmar M. Rheological and electrical percolation thresholds of multi-walled carbon nanotube/in-situ polymerised Nylon12 nanocomposites. *Micro Nano Lett.* 2018;13(11):1594-1599, 2018.
27. Leala CV, Martinez DST, Ma' BA, Alves OL, Dueka EAR. Influence of purified multiwalled carbon nanotubes on the mechanical and morphological behavior in poly (L-lactic acid) matrix, Phase behavior and its viscoelastic response of polylactide/poly(ϵ -caprolactone) blend. *Eur Polymer J.* 2008;44:2171-2183.
28. Sanchez-Garcia MD, Lagaron JM, Hoa SV. Effect of addition of carbon nanofibers and carbon nanotubes on properties of thermoplastic biopolymers. *Compos Sci Technol.* 2010;70:1095-1105.
29. Salgado AJ, Coutinho OP, Reis RL. Bone Tissue Engineering: State of the Art and Future Trends. *Macromol Biosci.* 2004;4:743.
30. Zhang N, Yan H, Wen X. Electroactive biocompatible materials for nerve cell stimulation. *Brain Res Rev.* 2005;49:48.
31. Takezawa T. A strategy for the development of tissue engineering scaffolds that regulate cell behavior. *Biomaterials.* 2003;24:2267.
32. Ding Y, Li W, Müller T, Schubert DW, Boccaccini AR. Qingqing Yao, and Judith AnnaRoether, Electrospun Polyhydroxybutyrate /Poly (ϵ -caprolactone) /58S Sol-gel Bioactive Glass Hybrid Scaffolds with Highly Improved Osteogenic Potential for Bone Tissue Engineering. *ACS Appl. Mater.* 2016.
33. Grozdanov A, Buzarovska A, Avella M, Errico ME, Gentile G. PCL/MWCNT Nanocomposites as Nanosensors. *Springer Science+Business Media B.V.* 2011.