



掺铜中空生物玻璃纳米球的制备及可控掺杂

张丽香^a, 刘涛^b, 任旭^a, 陈颖睿^a, 丁新波^a

(浙江理工大学, a.材料与纺织学院; b.科技与艺术学院, 杭州 310018)

摘要: 通过研究铜元素掺杂对中空生物玻璃纳米球形貌结构的影响,进一步探究中空生物玻璃铜掺杂与药物缓释性能的关系,以获得具有一定抗菌作用和药物控释性能的骨组织工程支架。以聚丙烯酸(Polyacrylic acid, PAA)为模板剂,以硅源、磷源、钙源及铜源为无机盐先驱体,结合采用溶胶-凝胶法制备掺铜中空生物玻璃纳米球(Copper substituted hollow bioactive glass, Cu-HBGNs),改变CaO、CuO组分的原料添加量来调控所得掺铜中空生物玻璃纳米球的掺杂量;采用SEM、TEM、EDS、FTIR、XRD、TGA及N₂吸附-脱附等测试表征掺铜中空生物玻璃纳米球的形貌结构、元素组成及热稳定性。结果表明:在生物玻璃体系中引入不同摩尔比的CaO、CuO组分能实现掺铜中空生物玻璃纳米球的可控掺杂,所制备纳米球样品外观形貌及结构基本不变,粒径、孔径均可调。溶胶-凝胶法制备的可控掺铜中空生物玻璃在药物输送和骨组织修复领域具有广阔的应用前景。

关键词: 中空生物玻璃纳米球;铜;溶胶-凝胶法;制备;可控掺杂

中图分类号: TQ127.2

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2019)07-0433-07

Preparation and controlled doping of copper substituted hollow bioactive glass nanospheres

ZHANG Lixiang^a, LIU Tao^b, REN Xu^a, CHEN Yingrui^a, DING Xinbo^a

(a. College of Materials and Textiles; b. Keyi College, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: The influence of copper doping on morphology and structure of hollow bioactive glass nanospheres (HBGNs) was studied. On this basis, the relationship between copper doping of hollow bioactive glass nanospheres and drug sustained release was explored to gain bone tissue engineering scaffold with certain antibacterial action and controlled release property of drugs. Copper substituted hollow bioactive glass nanospheres (Cu-HBGNs) were prepared with sol-gel method by using polyacrylic acid (PAA) as the template and silicon source, phosphorus source, calcium sources and copper source as inorganic resources. The doping content of Cu-HBGNs was regulated by changing additive amount of CaO and CuO component. Morphology, structure, element composition and thermal stability of Cu-HBGNs were characterized by scanning electron microscope (SEM), transmission electron microscopy (TEM), energy dispersive spectroscopy (EDS), Fourier-transform infrared (FTIR), X-ray diffraction (XRD), thermogravimetric analysis (TGA), and N₂ adsorption-desorption. The results showed that the controlled copper doping of Cu-HBGNs could be realized through introducing different mole ratios of CaO and CuO component in bioactive glass system. The morphology and structure of these samples basically remained unchanged, and the particle size and pore size could be adjusted. Cu-HBGNs prepared with sol-gel method has the wide application prospect in drug delivery and bone tissue repair.

Key words: hollow bioactive glass nanospheres; copper; sol-gel method; synthesis; controlled doping

收稿日期: 2018-09-28 网络出版日期: 2018-12-01

基金项目: 浙江理工大学纺织科学与工程一流学科(A)研究生创新基金项目(11110131201716); 浙江省自然科学基金项目(LY16E020012); 浙江理工大学科研启动基金项目(15012081-Y); 浙江理工大学科技与艺术学院面上项目(KY2017010)

作者简介: 张丽香(1992-), 女, 湖南岳阳人, 硕士研究生, 主要从事现代纺织技术及新产品开发方面的研究。

通信作者: 丁新波, E-mail: dxblt@zstu.edu.cn

0 引言

生物活性玻璃(BG)是一种典型的生物活性无机材料,是 SiO_2 、 CaO 、 P_2O_5 和 Na_2O 等基础成分组成的硅酸盐玻璃材料^[1-2]。生物活性玻璃自1971年被Hench等发现以来,就成了材料学、生物学及医学领域的研究热点^[3-4],尤其中空生物玻璃纳米球(HBGNs)因其独特的微观结构特征备受关注。与非中空生物玻璃纳米球相比,HBGNs具有高比表面积、大孔容、可控孔径^[5-6],内部中空使其储藏大量药物分子,增强了药物输送能力^[7-8]。HBGNs具有良好的生物相容性及生物活性,适合于骨组织再生工程应用^[9-10]。研究也发现HBGNs血管生成及抗菌性能不理想,但降解性能优越,有望通过掺杂抗菌金属或其氧化物提高其抗菌性能等^[11-12]。

近年来,为提高生物玻璃材料的生理性能,扩大其应用范围,玻璃基体常被掺入金属离子,如镁(Mg)、锌(Zn)、锶(Sr)、银(Ag)等,当无机基质溶解后,便释放出金属离子,从而达到特定的治疗效果^[13-15]。铜(Cu)是人体重要微量元素,利于内皮细胞的增值与分化,在血管生成及成熟过程中起关键作用, Cu^{2+} 在 $1\ \mu\text{M}$ 浓度下,可抑制破骨细胞活性,促进骨重构过程^[16-17]。此外, Cu^{2+} 具有的抗菌效果使金属Cu具有强大的抗菌活性^[18]。将HBGNs固有的生物活性及药物输送性能与Cu特有的血管生成及抗菌性能结合,可制备多功能性Cu-HBGNs,它不仅拥有良好的药物装载及药物持续释放性能,还能增强血管生成能力、骨刺激及抗菌性能,是一种更令人满意的骨组织工程材料。

本文以聚丙烯酸(PAA)为模板剂,通过溶胶-凝

胶法并控制生物玻璃组分的摩尔比来制备掺铜中空生物玻璃纳米球(Cu-HBGNs),利用一系列测试手段表征掺铜中空生物玻璃纳米球的形貌结构及组成成分,研究掺杂量对掺铜中空生物玻璃纳米球形貌结构、孔径粒径及热学性能的影响。

1 材料与方法

1.1 实验药剂

聚丙烯酸(PAA,分子量约3000,AR);无水乙醇(EtOH,AR);氨水($\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$,浓度25%~28%,AR);正硅酸乙酯(TEOS,AR);磷酸三乙酯(TEP,AR);四水硝酸钙($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$,AR);氯化铜($\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$,AR);去离子水(DI Water,实验室自制)。

1.2 掺铜中空生物玻璃纳米球的制备方法

以PAA为模板剂,以TEOS、TEP、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 分别为硅源、磷源、钙源及铜源制备Cu-HBGNs,其中硅源、磷源与(钙源+铜源)的摩尔比为80:5:15。首先,常温下将0.40 g PAA溶于180 mL EtOH,搅拌均匀至澄清后,加入9 mL $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ 磁力搅拌1 h。然后,加入1.87 g TEOS搅拌10 h,得到有乳白色浑浊溶液。接着,加入0.20 g TEP搅拌1 h,再加入一定量的 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$,搅拌48 h后,形成白色及深浅程度不同的蓝色溶液。之后,离心清洗处理3次,并在70 °C条件下干燥12 h,得到白色及蓝色粉末。最后,将其置于升温速率2 °C/min温度700 °C的马氟炉中煅烧5 h,即可得到Cu-HBGNs。实验中不同摩尔比掺铜量的Cu-HBGNs样品命名及相应化学组成如表1所示。

表1 Cu-HBGNs 样品命名及相应的化学组成

样品	$\text{SiO}_2:\text{P}_2\text{O}_5:\text{CaO}:\text{CuO}$ (摩尔比)	PAA /g	EtOH /mL	$\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ /mL	TEOS /g	TEP /g	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ /g	$\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /g
HBGNs	80:5:15:0	0.40	180	9	1.87	0.20	0.40	0
5Cu-HBGNs	80:5:10:5	0.40	180	9	1.87	0.20	0.26	0.10
10Cu-HBGNs	80:5:5:10	0.40	180	9	1.87	0.20	0.13	0.19
15Cu-HBGNs	80:5:0:15	0.40	180	9	1.87	0.20	0	0.29

1.3 掺铜中空生物玻璃纳米球的形成原理

Cu-HBGNs的制备流程及形成原理如图1所示。先将PAA溶于EtOH,PAA分子中含大量羧基,羧基分子间的氢键作用使其凝聚自组装形成球形。加入硅源后,TEOS在 $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ 催化作用下水解生成 SiO_2 ,而硅源中富含的硅羟基(Si-OH)与PAA中羧基分子间的氢键作用,使得 SiO_2 均匀有序吸附于PAA球体表面,形成单分

散的 $\text{PAA}@\text{SiO}_2$ 复合颗粒。继续加入磷源、钙源、铜源后,由于各体系间存在的关联和协同作用,壳层相继渗入的无机源自发组装成致密有序的Si-P-Ca-Cu四组分生物玻璃,与核层一起形成 $\text{PAA}@\text{Cu-BGNs}$ 。最后,通过离心水洗,烘干煅烧完全去除模板剂PAA,得到Cu-HBGNs,其掺杂量可通过改变生物玻璃组分CaO、CuO的摩尔比来调控^[19-21]。

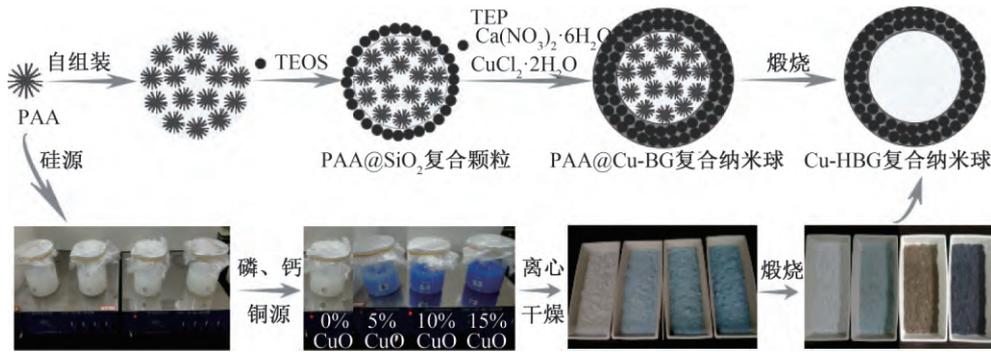


图 1 Cu-HBGNs 的制备流程及形成原理

1.4 测试与表征

采用场发射扫描电子显微镜 (FE-SEM, Ultra55 型, 德国 Carl Zeiss 公司) 在 3 kV 加速电压下观察样品的表面形貌及分散情况; 采用透射电子显微镜 (TEM, JEM-2100 型, 日本 Jeol 公司) 在 200 kV 加速电压下观察样品内部微观结构; 采用马尔文激光粒度仪 (Zetasizer, NanoZS90 型, 英国 Malvern 仪器有限公司) 测定纳米球样品的粒径及其分布; 采用热重分析仪 (TGA, Pyris-1 型, 美国 Perkin Elmer 公司) 以 10 °C/min 的升温速率在 25~800 °C 温度范围内分析未煅烧样品在不同温度下的热学性能; 采用物理吸附仪 (ASAP2020 HD88 型, 美国 Micromeritics 仪器有限公司) 在 77 K 条件下对样品进行 N₂ 吸附-脱附测试, 并根据 BET 方程和 BJH 方法得到样品比表面积和孔径分布; 采用电子能谱仪 (EDS, JSM-5610LV 型, 日本 Jeol 公司) 在 10 kV 加速电压下测试分析样品的元素组成; 采用傅立叶红外光谱仪 (FTIR, Nicolet 5700 型, 美国 Thermo Electron 公司) 通过溴化钾压片法在 4000~400 cm⁻¹ 扫描范围内对样品的化学组成成分进行扫描测试; 采用 X 射线粉末衍射仪 (XRD, D8 discover 型, 德国 Bruker AXS 有限公司) 通过粉末法在 2θ = 20°~80° 扫描范围内分析样品的晶体结构和组成。

2 结果与讨论

2.1 掺铜中空生物玻璃纳米球的热学性能分析

图 2 为未煅烧 Cu-HBGNs 的 TGA 曲线。CaO-SiO₂-P₂O₅ 生物玻璃的结晶温度约在 800 °C 左右, 故选择 25~800 °C 作为热重分析测试温度范围^[22]。样品失重过程及原因^[16,23] 如下: 首先, 低于 100 °C 温度范围内, 样品吸附的水分及残留溶剂的蒸发导致首次失重。然后, 在 100~500 °C 温度范围内, 样品所含有有机模板剂 PAA 的分解导

致其明显失重。接着, 在 500~560 °C 温度范围内, -OH 及非水解 -OR 等硅基团的分解导致再次失重。最后, 在高于 560 °C 温度范围内, TGA 曲线逐渐趋于平稳, 说明样品结构不再变化, HBGNs 形成。纵观整个失重过程, HBGNs 总失重最大, 5~15Cu-HBGNs 的总失重则随着掺 Cu 量的增加而减小, 说明高掺量的 Cu 元素提高了生物玻璃的热稳定性。

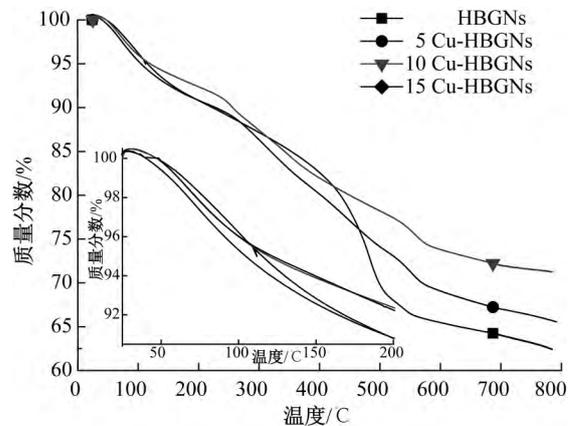


图 2 未煅烧 Cu-HBGNs 的 TGA 曲线

2.2 掺铜中空生物玻璃纳米球的结构和形貌分析

图 3 和图 4 分别为 Cu-HBGNs 的 FE-SEM 图像和 TEM 图像。如图 3 所示, 样品均具球形形貌、表面相对光滑、粒径较为均匀, 单分散性良好。如图 4 所示, 样品均含中空结构, 去除模板剂后形成的内部空核与外层生物玻璃构成的实心壳形成鲜明对比。综合图 3 和图 4 可知, 采用 CuO 替代 CaO 的方式制备 Cu-HBGNs 并不影响 HBGNs 的球形结构与中空结构, 且 5~15Cu-HBGNs 球形更规则、球体边缘更清晰、单分散性更好。结合 Cu-HBGNs 的粒度测试结果, 当掺 Cu 量逐渐增加时, 样品 HBGNs、5Cu-HBGNs、10Cu-HBGNs 和 15Cu-HBGNs 的平均粒径分别为 118.12 ± 13.34、88.14

士 $8.38, 74.50 \pm 8.88$ nm 及 72.21 ± 8.33 nm。很明显, 5~15Cu-HBGNs 粒径相较于 HBGNs 粒径

有下降的趋势, 且随着掺杂含量的增加, 样品粒径逐渐减小。

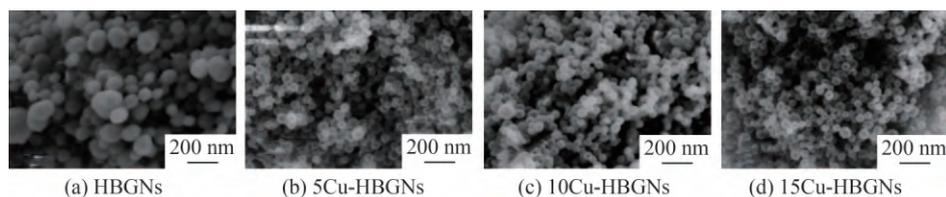


图3 Cu-HBGNs 的 FE-SEM 图

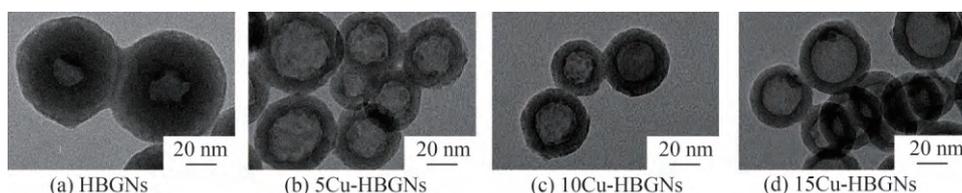


图4 Cu-HBGNs 的 TEM 图

图5为 Cu-HBGNs 的 N_2 吸附-脱附等温线及孔径分布图。样品的吸附曲线均为 IV 型曲线, 毛细凝聚导致其在 $0.6 \sim 1.0 P/P_0$ 范围出现明显的滞后环, 说明所制纳米球为介孔中空材料。孔径分布图进一步显示样品孔径均呈双模态分布, 以 $25.51 \sim 45.21$ nm 为中心的孔径分布主要是由于纳米球内部所含中空, 而壳层均匀的介孔则集中分布在 $3.86 \sim$

9.27 nm 左右^[24]。测试得出, 样品 HBGNs 和 5~15Cu-HBGNs 的比表面积范围分别为 50.16 m^2/g 和 $53.12 \sim 60.54$ m^2/g , 孔容为 0.13 cm^3/g 和 $0.25 \sim 0.32$ cm^3/g , 孔径为 10.31 nm 和 $17.74 \sim 20.68$ nm。说明掺 Cu 增加了 HBGNs 的比表面积、孔容及孔径, 该性能使其有望作为药物输送载体。

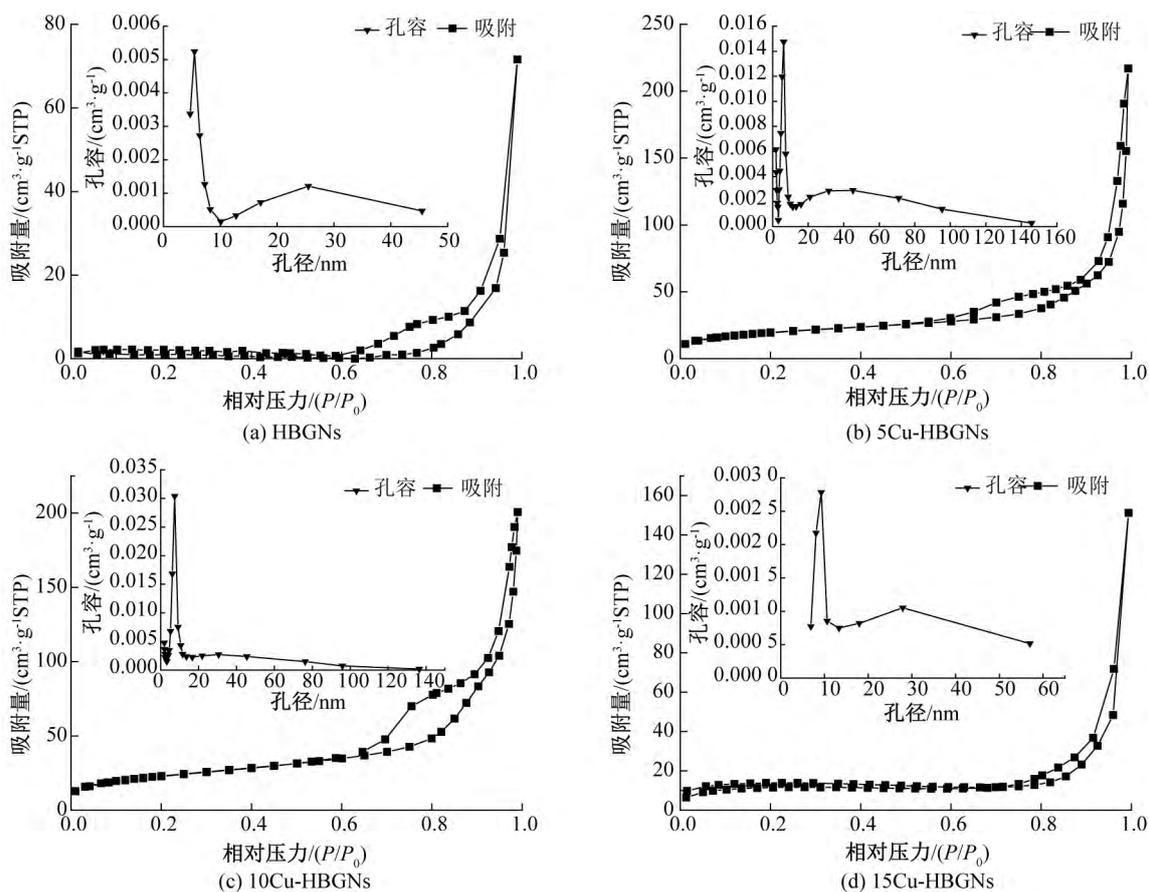


图5 Cu-HBGNs 的 N_2 吸附-脱附等温线及相应孔径分布图

2.3 掺铜中空生物玻璃纳米球的成分分析

图 6 为 Cu-HBGNs 的 EDS 图谱。由 0.28、0.54、1.76、1.98 keV 及 3.72 keV 处明显的特征衍射峰可知,HBGNs 样品的主要元素为 C、O、Si、P、Ca,而 5~15Cu-HBGNs 还在 0.93 keV 处出现了 Cu 的特征峰。此外,能谱数据显示在 Cu-HBGNs 样品中,Cu 原子质

量比在 0~1.73 范围内逐渐增加,Ca 原子质量比在 2.61~0 范围内逐渐减小,这与样品制备时 CuO 及 CaO 组分的原料投入成正比。结果证明样品已经成功引入 Si、Ca 和 P 元素,且 Cu 元素已经成功替换 Ca 元素,Cu 掺杂量能被有效调控,故样品为 SiO₂-P₂O₅-CaO-CuO 生物活性玻璃。

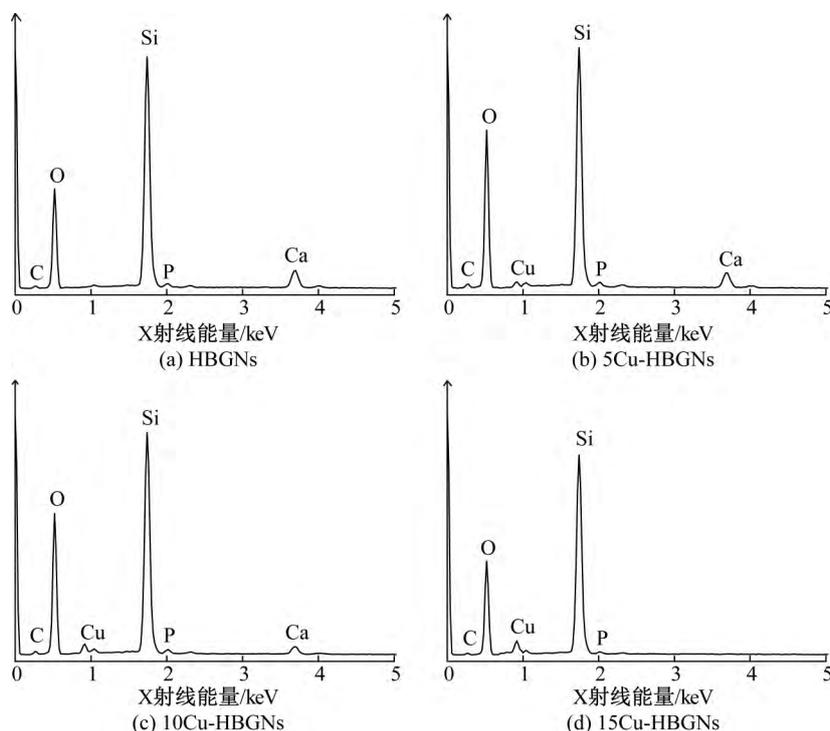


图 6 Cu-HBGNs 的 EDS 图

图 7 和图 8 分别为 Cu-HBGNs 的 FTIR 图谱和 XRD 图谱。如图 7 所示,样品在 470、805、1100 cm⁻¹ 处出现的特征吸收峰分别为 Si-O-Si 对称弯曲振动峰、Si-O 对称伸缩振动峰、Si-O-Si 非对称伸缩振动峰,三者均为硅基纳米材料特征峰,这说明样品符合生物玻璃结构特征。如图 8 所示,所有样品在 2θ =

22°~25° 处出现了一个无定型 SiO₂ 馒头峰,随后 HBGNs 样品衍射强度衰减平滑,无晶体特征峰出现,表明样品表面已成功包覆无机成分;而 5~15Cu-HBGNs 样品在 2θ = 35.66°、38.82°、48.86° 处出现了明显的 CuO 特征峰,其强度随掺 Cu 量的增加而增强,说明引入 HBGNs 的 Cu 元素含量可控。

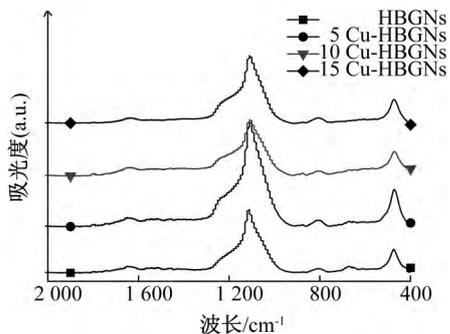


图 7 Cu-HBGNs 的 FTIR 图谱

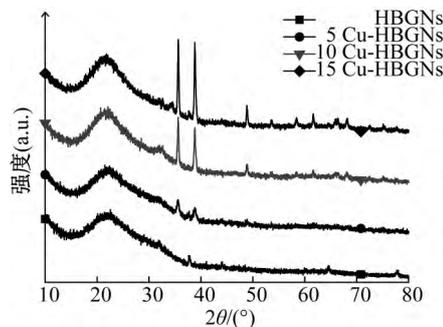


图 8 Cu-HBGNs 的 XRD 图谱

3 结 论

以 PAA 为模板剂,结合溶胶-凝胶法,通过控制生物玻璃中 CaO、CuO 组分的摩尔比来制备不同掺

杂量的 Cu-HBGNs,所得主要研究结果如下:

a) 利用改进的溶胶-凝胶技术制备出 Cu-HBGNs 时,模板剂 PAA 分子所含羧基使其先凝聚成球形,陆续加入玻璃前驱体后,硅源所含硅羟基与

羧基分子间的氢键作用及硅源与磷源、钙源、铜源间的聚合交联作用形成了PAA@Cu-HBGNs,再离心煅烧去除PAA即得Cu-HBGNs粉末;

b)采用不同摩尔比的CuO替换相应摩尔比CaO的方法实现对Cu-HBGNs的可控掺杂,在SiO₂、P₂O₅和CaO的摩尔比为80:5:15时,分别用0、5%、10%、15%摩尔比的CuO替换相应摩尔比CaO成功制备出Cu-HBGNs,结果证明Cu-HBGNs的壳层为SiO₂-P₂O₅-CaO-CuO四组分生物玻璃,其最终掺杂量与CuO组分初始添加量成正比;

c)实验调控制备的Cu-HBGNs内部含中空、球形规则、表面光滑、粒径均匀、分散性良好,经掺杂后,5~15Cu-HBGNs的球形结构及中空结构不受影响,甚至球形更规则、单分散性更好,且随着掺Cu量的增加,Cu-HBGNs粒径逐渐减小,孔径、比表面积及孔容均增大。

参考文献:

- [1] Jiang P, Lin H, Xing R, et al. Synthesis of multifunctional macroporous - mesoporous TiO₂-bioglasses for bone tissue engineering[J]. Journal of Sol-gel Science and Technology, 2012, 61(2): 421-428.
- [2] 轩肖娜, 朱海霖, 陈建勇. 丝素蛋白/纳米生物玻璃复合多孔支架的结构与性能[J]. 功能材料, 2013, 44(2): 226-231.
- [3] Hench L L. Bioceramics: From concept to clinic[J]. Journal of the American Ceramic Society, 1991, 74(7): 1487-1510.
- [4] Du X, He J. Spherical silica micro/nanomaterials with hierarchical structures: Synthesis and applications[J]. Nanoscale, 2011, 3(10): 3984-4002.
- [5] Wang F, Tang Y, Zhang B, et al. Preparation of novel magnetic hollow mesoporous silica microspheres and their efficient adsorption[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2012, 386(1): 129-134.
- [6] Yang Y H, Liu C H, Liang Y H, et al. Hollow mesoporous hydroxyapatite nanoparticles (hmHANPs) with enhanced drug loading and pH-responsive release properties for intracellular drug delivery[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2013, 1(19): 2447-2450.
- [7] Wu C, Chang J, Xiao Y. Mesoporous bioactive glasses as drug delivery and bone tissue regeneration platforms [J]. Therapeutic Delivery, 2011, 2(9): 1189-1198.
- [8] Pappas G S, Bilalis P, Kordas G C. Synthesis and characterization of SiO₂-CaO-P₂O₅ hollow nanospheres for biomedical applications[J]. Materials Letters, 2012, 67(1): 273-276.
- [9] Li B, Luo W, Wang Y, et al. Bioactive SiO₂-CaO-P₂O₅ hollow nanospheres for drug delivery[J]. Journal of Non-Crystalline Solids, 2016, 447: 98-103.
- [10] Wu C, Zhou Y, Xu M, et al. Copper - containing mesoporous bioactive glass scaffolds with multifunctional properties of angiogenesis capacity, osteostimulation and antibacterial activity [J]. Biomaterials, 2013, 34(2): 422-433.
- [11] Ye J, He J, Wang C, et al. Copper - containing mesoporous bioactive glass coatings on orbital implants for improving drug delivery capacity and antibacterial activity[J]. Biotechnology Letters, 2014, 36(5): 961-968.
- [12] 杜瑞林, 常江. 含 Zn, Mg 生物玻璃的制备及性能研究 [J]. 无机材料学报, 2004, 19(6): 1353-1358.
- [13] Solgi S, Khakbiz M, Shahrezaee M, et al. Synthesis, characterization and in vitro biological evaluation of Sol-gel derived Sr-containing nano bioactive glass [J]. Silicon, 2017, 9(4): 535-542.
- [14] Carta D, Jones J R, Lin S, et al. Neutron diffraction study of antibacterial bioactive calcium silicate sol-gel glasses containing silver[J]. International Journal of Applied Glass Science, 2017, 8(4): 364-371.
- [15] Hu G. Copper stimulates proliferation of human endothelial cells under culture[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 1998, 69(3): 326-335.
- [16] Hoppe A, Meszaros R, Stähli C, et al. In vitro reactivity of Cu doped 45S5 Bioglass © derived scaffolds for bone tissue engineering[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2013, 1(41): 5659-5674.
- [17] Ruparelia J P, Chatterjee A K, Duttgupta S P, et al. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles[J]. Acta Biomaterialia, 2008, 4(3): 707-716.
- [18] Neel E A A, Ahmed I, Pratten J, et al. Characterisation of antibacterial copper releasing degradable phosphate glass fibres [J]. Biomaterials, 2005, 26(15): 2247-2254.
- [19] 孙志娟, 陈雪莲, 蒋春跃. 自组合法制备中空二氧化硅纳米粒子减反射薄膜[J]. 无机材料学报, 2014, 29(9): 947-955.
- [20] 黄世斌, 董亚明, 郭旭虹. 以纳米球形聚电解质刷为模板制备 PS/SiO₂ 核-壳纳米杂化粒子和 SiO₂ 空心微球 [J]. 华东理工大学学报:自然科学版, 2011, 37(6): 655-658
- [21] 万勇. 二氧化硅空心球及核壳结构的制备与形成机理研究[D]. 合肥:中国科学技术大学, 2007:1-18.

- [22] 陈晓峰, 王迎军, 赵娜如, 等. 溶胶-凝胶生物玻璃多孔材料显微结构和生物活性的扫描电镜及红外光谱分析[J]. 电子显微学报, 2003, 22(4): 304-310.
- [23] Zhu Y, Shi J. A mesoporous core-shell structure for pH-controlled storage and release of water-soluble drug [J]. Microporous and Mesoporous Materials, 2007, 103(1/3): 243-249.
- [24] Liu J, Qiao S Z, Budi Hartono S, et al. Monodisperse yolk-shell nanoparticles with a hierarchical porous structure for delivery vehicles and nanoreactors [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2010, 49(29): 4981-4985.

(责任编辑: 刘国金)