

中空生物玻璃形貌结构及其活性研究

李智慧^a, 张立^a, 刘涛^b, 鞠凤宇^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:以聚丙烯酸(acrylic acid, PAA)为模板剂, 加入氨水作为催化剂, 促进正硅酸乙酯(tetraorthosilicate, TEOS)的水解, 然后通过溶胶-凝胶法制备中空生物玻璃球(hollow bioactive glass, HBG); 以浸泡模拟体液方法研究其生物活性。场发射电镜和透射电镜考察结果表明, 所制备的生物玻璃为表面光滑、规整的球形, 内部呈中空, 分散性好; 能谱分析显示, 自组装后四水硝酸钙和磷酸三乙酯已稳定于HBG表面; 体外生物活性研究显示, 经过模拟体液浸泡后, HBG能够诱导类骨的羟基磷灰石在其表面沉积, 表明其具有较好的生物活性。

关键词:生物玻璃; 中空纳米微球; 溶胶凝胶法; 生物活性

中图分类号: TQ127.2

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2017)05-0737-05

0 引 言

自Hench等在1971年通过熔融法制备出作为骨骼或牙齿的替代物的生物玻璃以来, 生物玻璃作为一类具有组织修复功能的特种玻璃材料备受生物医用材料界的关注^[1-3]。由于生物玻璃具有特定的化学组成, 能与生物体内的组分相互交换或反应而生成与生物体相容的物质, 使其最终成为生物体的一部分^[4]。生物玻璃中溶解出来的无机离子(如硅、磷、钙等), 能够激活生长因子表达、诱导骨组织细胞往成骨方向分化、促进成骨细胞的增殖; 进而与骨硬组织(如骨、牙组织)形成牢固的化学键合, 起到修复骨骼性能作用^[5]。此外, 生物活性玻璃还能与软组织结合, 促进皮肤的再生^[6]。

近年来, 随着微纳米生物玻璃研究的兴起, 合成工艺、化学组成、微观形貌、精细结构、尺寸效应等对生物玻璃材料的理化性的影响受到极大关注^[7]。与传统的生物玻璃相比, 在CaO-SiO₂-P₂O₅组成的三元体系中, 中空生物玻璃具有较大的比表面积、孔容和较好的生物相容性^[8-10]。与不规则颗粒相比, 生物玻璃微纳米球材料(如中空结构、介孔结构)具有

良好的流动性和优异的生物活性, 可作为装载药物、生长因子及基因等输送载体应用于骨疾病的治疗^[11-12]。本文以聚丙烯酸(acrylic acid, PAA)为模板, 结合溶胶-凝胶法, 通过生物玻璃主要组分硅磷钙的摩尔比为80:10:10来制备中空生物玻璃球。利用场发射电镜(field-emission scanning electron microscopy, FESEM)和透射电镜(transmission electron microscopy, TEM)对中空生物玻璃球的形貌进行考察, 利用傅立叶红外光谱(fourier transitioned infrared spectroscopy, FTIR)和能谱分析(energy dispersive spectrometer, EDS)对中空生物玻璃球的成分进行定性分析。最后进一步实施体外生物活性研究, 探讨其生物活性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

正硅酸乙酯(tetraorthosilicate, TEOS); 无水乙醇(EtOH); 33%氨水(NH₄OH); 聚丙烯酸(PAA, 分子量3000); 磷酸三乙酯(triethylphosphate, TEP); 四水硝酸钙(CaNT); 去离子水。以上试剂均为分析纯级别。

收稿日期: 2016-10-25 网络出版日期: 2017-01-19

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(LY14E030014, LY16E020012); 浙江省教育厅项目(Y201534618)

作者简介: 李智慧(1991-), 女, 河南安阳人, 硕士研究生, 主要从事产业用纺织品方面的研究。

通信作者: 丁新波, E-mail: dxblt@zstu.edu.cn

1.2 中空生物玻璃球的制备

中空生物玻璃球的制备原理如图1所示。首先,将0.4 g PAA和4.5 mL的 NH_4OH 溶于90 mL无水乙醇中,搅拌均匀;再加入3.6 g TEOS,继续搅拌10 h,得到透明溶液。按硅源、磷源、钙源摩尔比为80:10:10比例,在上述溶液中间隔1 h依

次加入0.51 g四水硝酸钙、0.79 g TEP,至反应完全;常温下继续搅拌72 h,形成乳白色溶液。然后,将反应后的溶液经多次离心,乙醇、去离子水洗涤后,80 °C烘干,得到白色粉末。最后,将干燥的白色粉末在550 °C马氟炉中煅烧10 h,去除模板剂后即得中空生物玻璃球。

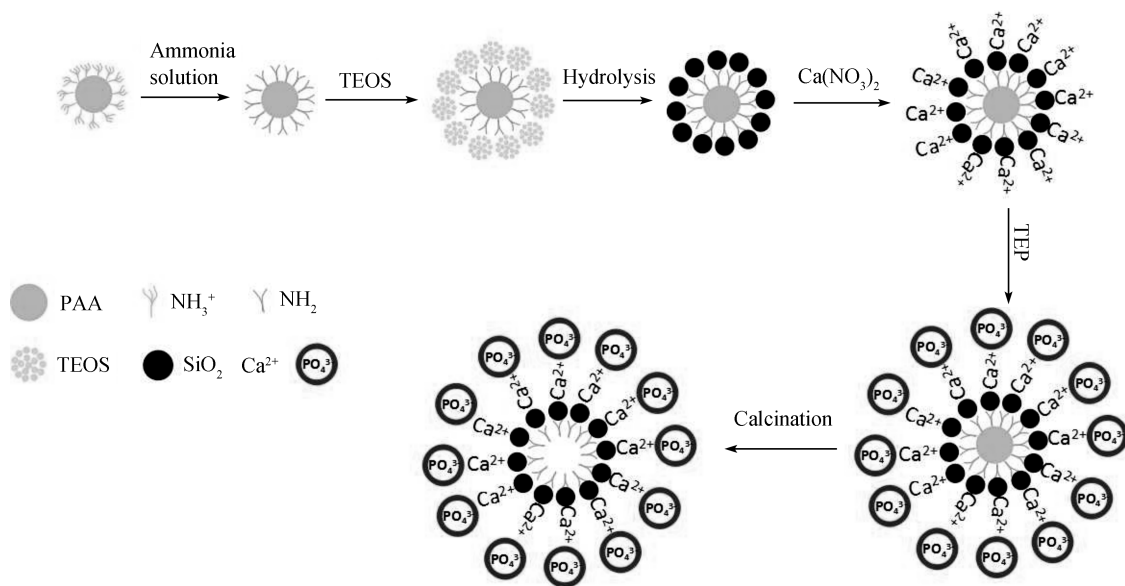


图1 中空生物玻璃球的制备原理

1.3 表征及性能测试

1.3.1 场发射扫描电子显微镜(FESEM)和能谱分析

中空生物玻璃球表面形貌及粒径测试在场发射扫描电子显微镜下(HITACHIS-4800型,日本)进行,同时采用附带的电子能谱仪进行成分分析,加速电压为3 kV。观察样品的制备方法如下:取微量待测样品分散于无水乙醇中,超声20 min,用毛细管吸取少量分散好的溶液滴在硅片上;用导电胶粘在样品台上,红外灯下干燥1 h后用于分析。

1.3.2 透射电子显微镜(TEM)分析

样品的内部结构和形貌采用透射电子显微镜(JEOL-2100型,日本)下进行观察,加速电压为200 kV。观察样品的制备方法如下:取微量待测样品分散于无水乙醇中,超声20 min,使分散液略微浑浊;用毛细管吸取少量分散好的悬浊液滴在铜网上,红外灯下干燥3 h后进行检测。

1.3.3 N_2 吸附测试

采用Micromeritics ASAP2020物理吸附仪(麦克公司,美国),以液氮为吸附介质,在77 K条件下进行检测。观察样品的制备方法如下:将样品在真空条件下脱气5 h,脱气温度为200~220 °C。

1.3.4 体外生物活性测试

通过浸泡法制备模拟体液,分析中空生物玻璃球表面沉积羟基磷灰石的能力来评价中空生物玻璃球的生物活性。首先,将样品粉末放入(按照粉末质量与模拟液体积比为1.5 mg/mL)Kokubo法^[1]制备的模拟体液中,放入37 °C恒温恒湿箱中培养7 d;然后,取出浸泡过模拟体液的样品过滤、清洗、烘干,利用FESEM来考察表面沉积羟基磷灰石的能力。

2 结果与讨论

2.1 中空生物玻璃球的形貌结构及组合分析

图2和图3分别为中空生物玻璃球的FESEM图和TEM图。从图2可知,所制得的生物玻璃呈规整的球形结构,其表面光滑,单分散性好,粒径范围为 (130.4 ± 25.6) nm。图3显示,中间呈现中空结构,而壳层为有Si-Ca-P三组分构成的生物玻璃,说明无机成分已成功包覆在有机成分PAA的表面。由于PAA分子中含有大量的羧基,在离心作用下,羧基之间通过分子之间的氢键作用凝聚成球形;而硅源中又富含硅羟基($\text{Si}-\text{OH}$);硅羟基与PAA中羧基通过分子间氢键作用,使硅源能有序、均匀的附着于PAA球表面;而钙源和磷源的相继

引入,并通过体系之间自发的关联和协同作用,组装成紧密而有序的球形生物玻璃整体;通过煅烧移除模板 PAA,获得纳米级中空生物玻璃球。

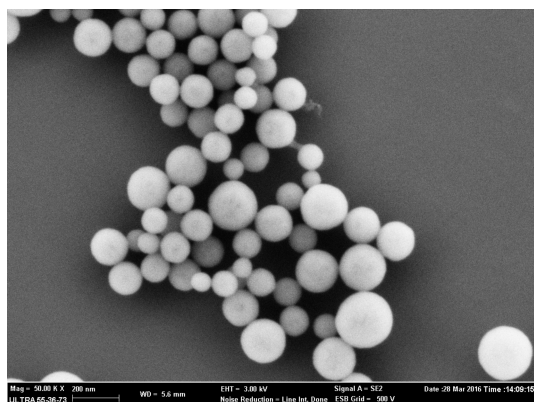


图2 中空生物玻璃球的 FESEM 照片

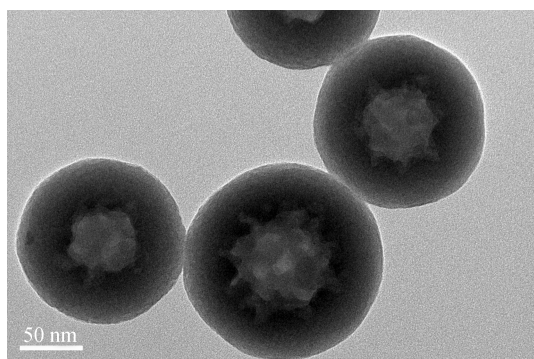


图3 中空生物玻璃球的 TEM 照片

为进一步明确所制得的中空生物玻璃的各组分,在对中空生物玻璃球进行 FESEM 表面形貌检测的同时,采用附带的电子能谱仪(EDS)进行成分分析,其结果如图4所示。由图可知,于 0.52 keV 和 1.74 keV 处出现强的衍射峰,而 2.02 keV 和 3.70 keV 处出现了弱的衍射峰,与生物玻璃的特征衍射峰相匹配,说明所制样品为生物玻璃。其中 0.52 keV 处为 O 元素,1.74 keV 处为 Si 元素,2.02 keV 处为 P 元素,3.70 keV 处为 Ca 元素,表明 Si、Ca 和 P 元素已经成功引入,即壳层生物玻璃是由 SiO_2 - CaO - P_2O_5 三元体系组成^[13]。

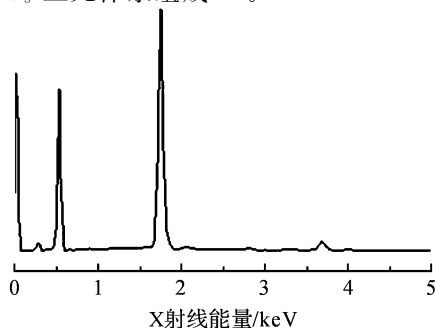


图4 中空生物玻璃元素分析

图5所示为中空生物玻璃的氮气吸附-脱附等温线。从图中可以发现,该生物玻璃在氮气吸附-脱附等温线 0.8~1.0 范围内出现了明显的滞后圈,是 IV 型吸附曲线,这一特征说明所制得的样品属于典型的介孔中孔材料。这主要是在较低的相对压力下,单分子层吸附;在较高的相对压力下,吸附质发生毛细管凝聚。所有孔发生凝聚后,吸附只发生在远小于表面积的外表面,曲线平坦。在相对压力接近 1.0,在大孔上吸附,曲线上升。

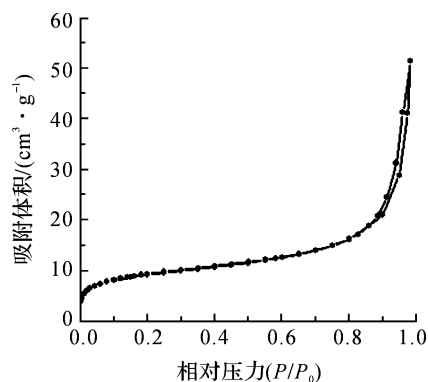


图5 中空生物玻璃的氮气吸附-脱附等温线

2.2 体外生物活性研究

分析中空玻璃的生物活性,将其浸泡在模拟体液中 7 d,通过观察其表面羟基磷灰石形成能力来评估其生物活性,结果如图6所示。从图2和图3所示的 FESEM 和 TEM 图中可以看出,没有经过模拟体液浸泡的生物玻璃其表面光滑、平整。而经过模拟体液浸泡后,图6中发现中空生物玻璃表面明显变粗糙,呈龟裂状,与文献[14]报道在模拟体液中沉积的羟基磷灰石的形貌相似。

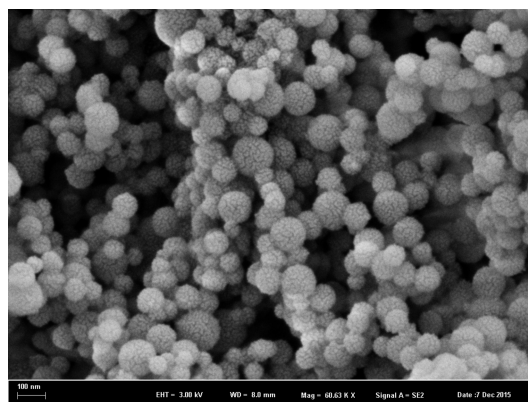


图6 浸泡模拟体液后的 FESEM 照片

为进一步明确模拟体液浸泡后生物玻璃表面沉积层,对其组分进行了元素分析,浸泡模拟体液后的 EDS 图如图7所示。与图4未经模拟体液浸泡中空生物玻璃的 EDS 结果相比,图7所示位于 2.02

keV 的 P 元素和 3.70 keV 的 Ca 元素的特征衍射峰的高度明显增强,尤其是在 4.02 keV 处出现了与 CaCO_3 相对应的衍射峰,表明该中空生物玻璃球表面形成的为羟基磷灰石层,具有较好的生物活性。生物玻璃材料经过模拟体液浸泡后能够诱导类骨的羟基磷灰石在其表面沉积,主要因为其表面能产生大量硅羟基,形成富硅层,为羟基磷灰石成核提供了场所^[15-17];进一步,溶液中的 PO_4^{3-} 、 Ca^{2+} 与 OH^- 反应生成无定形磷酸钙。随着浸泡时间延长,无定形磷酸钙结晶成羟基磷灰石,同时结合 CO_3^{2-} ,形成类骨的羟基磷灰石。

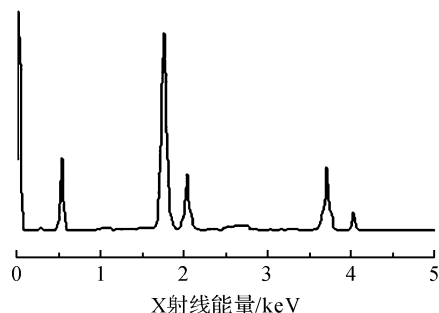


图7 浸泡模拟体液后的 EDS 图

3 结 论

a)通过在传统的溶胶-凝胶法中加入了软模板剂 PAA,制备规整的中空生物玻璃球,在离心和分子间氢键作用下成核,利用 Si 源、Ca 源和 P 源各体系之间自发的关联和协同作用,形成了以 PAA 为核心,生物玻璃在表面形成完整的壳结构,煅烧去除 PAA 后获得了中空生物玻璃球。

b)FESEM、TEM、EDS 考察以及氮气吸附-脱附研究显示,所得样品为分散性好、表面光滑、粒径为 (130.4 ± 25.6) nm 的规整中空球形,其壳层为 SiO_2 -CaO- P_2O_5 三元体系生物玻璃。

c)在模拟体液中浸泡 7 d 后,该中空生物玻璃球表面形成了明显、厚实的沉积层,EDS 显示其 P 元素和 Ca 元素衍射特征峰显著增强,具有强的羟基磷灰石形成能力和较好的生物活性,可以作为药物缓释的载体以及应用于骨疾病的治疗。

参考文献:

[1] SEPULVEDA P, JONES J, HENCH L L. In vitro dissolution of melt-derived 45S5 and sol-gel derived 58S bioactives glasses [J]. Journal of Biomedical Materials Research, 2002, 61(2): 301-311.
[2] ABDELGHANY A M, ELBATALL H A, EZZELDIN F

M. Bone bonding ability behavior of some ternary borate glasses by immersion in sodium phosphate solution[J]. Ceramics International, 2012, 38(27): 1105-1113.
[3] 轩肖娜. 丝素蛋白/生物玻璃复合多孔支架的研究[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2013.
[4] 梁绮明. 新型生物玻璃牙髓修复材料的制备与性能研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
[5] LIN B, LUO W, WANG Y, et al. Bioactive SiO_2 -CaO- P_2O_5 hollow nanospheres for drug delivery[J]. Journal of Non-Crystalline Solids, 2016, 447(1): 98-103.
[6] 洪重荣, 张垠, 王定改, 等. 骨修复介孔生物活性玻璃的研究进展[J]. 现代化工, 2013, 8(1): 25-28.
[7] 雷波. 新型微纳米生物活性玻璃的研制及性能研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010.
[8] HENCH L L, POLAK J M. Third-generation biomedical materials[J]. Science, 2002, 295(20): 1014-1018.
[9] ARCOS D, VALLET-REGI M. Sol-Gel silica-based biomaterials and bone tissue regeneration [J]. Acta Biomaterialia, 2010, 6(8): 2874-2888.
[10] JONES J R. Review of bioactive glass: from Hench to hybrids[J]. Acta Biomaterialia, 2013, 9(1): 4457-4486.
[11] 朱开平, 王德平, 范宏圆, 等. 硼酸盐玻璃的原位转化及对浸泡液酸碱度的影响[J]. 无机材料学报, 2015, 10(4): 1069-1074.
[12] 李延明. 生物玻璃的合成及其性能的研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学, 2013.
[13] PAPPAS G S, BILALIS P, KORDAS G C. Synthesis and characterization of SiO_2 -CaO- P_2O_5 hollow nanospheres for biomedical applications[J]. Materials Letters, 2012, 67(1): 273-276.
[14] 刘涛. 丝素蛋白/介孔生物玻璃陶瓷骨修复复合材料的制备与性能研究[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2014.
[15] HENCH L L. Bioceramics [J]. Journal of the American Ceramic Society, 1998, 81(7): 1705-1728.
[16] 黄凯, 蔡舒, 任萌果, 等. 镁合金表面介孔 45S5 生物玻璃陶瓷涂层的制备及体外降解性能[J]. 硅酸盐学报, 2014, 7(3): 846-850.
[17] VAID C, MURUGAVEL S, KASHAYAP R, et al. Synthesis and in vitro bioactivity of surfactant templated mesoporous sodium silicate glasses [J]. Mesoporous Materials, 2012, 159(1): 17-23.

Synthesis and Bioactivity of Hollow Bioactive Glass Nanospheres

LI Zhihui^a, ZHANG Li^a, LIU Tao^b, JU Fengyu^a, DING Xinbo^a

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

Abstract: The hollow nanospherical bioactive glasses were conducted through sol-gel method with poly acrylic acid (PAA) as the template, and hydrolysis of tetraorthosilicate (TEOS) was promoted by adding ammonia as catalyst. And its bioactivity was evaluated by immersion in simulated body fluid (SBF). The FESEM and TEM images of the HBG samples display that the HBG samples are smooth surface, regular spherical shape, hollow and dispersive. The energy dispersive spectrometer demonstrates that the calcium nitrate and triethylphosphate were stably assembled on the surface of HBG by self-assembly. In vitro bioactivity test indicate that the HBG may induce the hydroxylation of bone-like bone after soaking in SBF and the apatite is deposited on the surface. Thus, the HBG material is considered to have a good bioactivity.

Key words: bioactive glass; hollow nanospheres; sol-gel method; bioactivity

(责任编辑: 廖乾生)