

超顺磁性羟基磷灰石/壳聚糖棒材的制备*

陈福平 胡巧玲 伍佳 沈家骢

(浙江大学高分子复合材料研究所 杭州 310027)

摘要 以壳聚糖膜为模板将磁性羟基磷灰石前驱体的壳聚糖醋酸溶液与 NaOH 凝固液隔离, OH⁻ 向磁性羟基磷灰石前驱体的壳聚糖醋酸溶液内部的渗透引起 pH 值变化, 导致质子化的壳聚糖在模板上沉积的同时无机物就地生成, 原位复合法制备出无机纳米颗粒分散均匀的磁性羟基磷灰石/壳聚糖 (HA/CS) 复合棒材. 生成的超顺磁性四氧化三铁和羟基磷灰石颗粒大小均一 (大约长 30 nm, 宽 20 nm), 在基质中分布均匀、没有出现明显的团聚现象.

关键词 复合材料, 壳聚糖, 磁性羟基磷灰石, 原位复合法, 棒材

分类号 TB332

文章编号 1005-3093(2006)03-0250-05

Preparation of superparamagnetic hydroxyapatite/chitosan rod

CHEN Fuping HU Qiaoling** WU Jia SHEN Jiacong

(Institute of Polymer Composites, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

* Supported by the National Natural Science Foundation of China No.50333020, National Basic Research Program of China(973) No.2005CB623902.

Manuscript received June 10, 2005; in revised form March 20, 2006.

** To whom correspondence should be addressed, Tel:(0571)87953726, E-mail: huql@zju.edu.cn

ABSTRACT The superparamagnetic hydroxyapatite/chitosan precursory solution was segregated from NaOH solution by using chitosan membrane as template. The pH value was changed tardily due to the penetration of OH⁻ into this precursory solution, which resulted in the aggradations of chitosan and inorganic particles at the same time. Thus, superparamagnetic hydroxyapatite/chitosan rods were prepared via in-situ compositing. X-ray diffraction was performed to determine the formations of magnetite and hydroxyapatite. Transmission electron microscope was carried out to investigate the magnetite and hydroxyapatite particles in the chitosan matrix. The results showed that the formation of superparamagnetic magnetite and hydroxyapatite with the maximum size under 30 nm (length about 30 nm, width about 20 nm), which were dispersed homogeneously in the chitosan matrix.

KEY WORDS composite, chitosan, magnetic hydroxyapatite, in-situ compositing, rod

自然界中某些天然材料独特的有机-无机复合结构赋予了它们优异的性能^[1], 基于这一启发制备出高分子无机纳米复合材料. 高分子无机纳米复合材料的制备可分步进行^[2], 也可通过原位法一次完成^[3]. 原位法的优点是可抑制纳米颗粒的团聚, 提高纳米颗粒的稳定性和在聚合物基质中的分布均匀发挥纳米颗粒的特殊效应. 壳聚糖 (甲壳素部分脱乙酰基的产物, 是唯一的天然碱性多糖, 其降解产物是具有弱碱性的氨基葡萄糖, 对人体无毒无害) 具有良好的生物

相容性, 在有机无机复合生物材料领域得到了广泛的应用^[4,5]. 羟基磷灰石具有极好的生物活性和骨组织生长诱导性^[6], 但是太脆和太硬, 很难满足不同骨修复区域的要求. 这一难题可以通过与具有生物相容性的有机物复合提高材料的可塑性得到解决^[7]. 磁性生物材料在磁场的作用下能产生力响应和热响应^[8], 四氧化三铁在 MRI^[9], 药物输送^[10], 热疗^[11] 等领域已有广泛的应用. 在磁场的作用下, 植入骨组织的磁性物质对周围组织产生的力能促进骨的生长^[12,13]. 徐晓红^[14] 等制备的磁性生物陶瓷能加速新骨形成, 但其抗折强度还有待进一步提高. 本文作者所在的实验室已经制备出 CS/HA 复合材料^[3], 本文在此基础上以壳聚糖为基质, 使用原位复合法制备纳米磁性羟基磷灰石在壳聚糖基质中分散均匀的复合材料.

* 国家自然科学基金重点资助项目 50333020 和国家重点基础研究发展计划 (973)2005CB623902.

2005 年 6 月 10 日收到初稿; 2006 年 3 月 20 日收到修改稿.

本文联系人: 胡巧玲, 教授

1 实验方法

实验原料有: 壳聚糖 (医用级, 粘均分子量为 34×10^4 , 脱乙酰度为 91%), $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (分析纯), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (分析纯), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (分析纯) 和 KH_2PO_4 . 按表 1 中的数据称取 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 KH_2PO_4 加入到体积分数为 2% 的 100 ml 醋酸溶液中, 搅拌均匀后得到羟基磷灰石前驱体溶液, 静置备用. 再按表 1 称取壳聚糖粉末加入到适量的 2% 醋酸溶液中, 匀速搅拌 0.5 h, 然后向其中慢慢加入配置好的羟基磷灰石前驱体溶液, 匀速搅拌 0.5 h. 接着向得到的溶液中快速加入 FeCl_2 溶液 ($\text{pH} < 1$), 搅拌 10 min 后再向其中加入 FeCl_3 溶液 ($\text{pH} < 1$), 匀速搅拌 2 h 后形成均一的磁性 HA/CS 前驱体溶液, 密封静置脱泡.

取少量 5% 的纯壳聚糖溶液 (约 5 ml) 注入预制的模具, 在其内壁均匀涂上一层壳聚糖, 将其放入凝固液中浸置 0.5~1 h, 沉积出一层均匀的纯壳聚糖膜. 然后将磁性 HA/CS 前驱体溶液慢慢注入沉积有壳聚糖膜的模具, 浸入凝固液中, 0.5 min 后脱去模具, 将形成的磁性 HA/CS 凝胶棒在凝固液中浸置 24 h. 取出磁性 HA/CS 凝胶棒, 放入蒸馏水中漂洗至凝胶棒表面的 pH 为 7, 最后将凝胶棒放入到烘箱中 60°C 下烘干, 得到黑色的磁性 HA/CS 棒材, 其长度 70~80 mm, 直径 4~5 mm.

采用 XRD (Diguka D/Max-2550pc) 分析样品的组成, 测试条件为: $\text{CuK}\alpha$, 40 kV 100 mA, $10^\circ/\text{min}$, 扫描角度范围为 $5^\circ \sim 80^\circ$. 样品的磁性能采用物理特性测量系统 (PPMS-9T) 测试, 测试温度为 298 K. 在 JEM-1230 型透射电镜下观察试样中无机颗粒的大小和分布.

2 结果与讨论

2.1 复合材料的形成机理和物相

壳聚糖乙酸溶液的 pH 值为 4.2, 小于壳聚糖的 pKa 值^[15], 在乙酸溶液中壳聚糖分子链上的氨基主要以 $-\text{NH}_3^+$ 形式存在, 同时氨基中的氮原子的孤电子对具有良好的络合能力, 能与 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 形成络合物^[16~18], 有稳定化离子和产生纳米颗粒生成

位点的作用. 有机基质界面的活性位点决定了无机物质的有规律地成核, 决定了无机颗粒的空间取向和结构^[16]. 预先形成的将磁性 HA/CS 前驱体溶液与凝固液隔开的纯壳聚糖膜具有选择渗透性^[19], 只允许小分子 (Na^+ , OH^- , CH_3COO^- , Cl^-) 在渗透压的作用下扩散通过, 而与壳聚糖分子形成络合物的离子不能扩散移动, 壳聚糖大分子也不能通过. 渗透到纯壳聚糖膜内的 OH^- 形成一层均匀的负电层, 引起质子化的壳聚糖分子链迁移. 壳聚糖分子链的结构特征使壳聚糖分子链趋于平行壳聚糖膜模板排列, 有利于最大几率的进行中和反应, 引起壳聚糖分子的沉积. 同时, OH^- 与磁性 HA 前驱体溶液反应, 生成磁性颗粒和羟基磷灰石. 壳聚糖分子链空间位阻的影响, 保证了磁性颗粒和羟基磷灰石的纳米尺寸和分散均匀性. 磁性颗粒、HA 和壳聚糖分子链的同时沉积形成了第一圈层磁性 HA/CS 复合材料, 随着 OH^- 的渗透进入和与金属离子发生络合作用的壳聚糖分子链的迁移, 引起磁性颗粒、羟基磷灰石和壳聚糖分子链的沉积, 最终得到三维磁性 HA/CS 凝胶棒.

在图 1 中, 后注为 CS 的是标准谱线, 以壳聚糖作为标样. 位于 $2\theta = 19.82^\circ$ 和 11.12° 处的峰是壳聚糖基质的特征衍射峰. 由于壳聚糖基质的结晶性较差, 其峰形弥散. 从图 1 可见, 随着无机含量的增加, 壳聚糖基质衍射峰的强度减弱. 这表明无机物的引入破坏了壳聚糖分子链间的氢键作用, 使其结构的有序性被破坏, 导致了结晶度的降低. 通过与标准 XRD 图谱的比较, 标有 “○” 的谱线在 35.49° 、 42.8° 和 62.5° 附近出现的峰为 Fe_3O_4 的特征衍射峰, 而标有 “◎” 谱线在 25.76° 、 29.97° 和 31.95° 处的衍射峰与 HA 对应. 可见, 复合棒材的无机成分主要是 HA 和 Fe_3O_4 . 衍射峰的宽度随着晶粒尺寸的减小而增大^[20], 表明壳聚糖对 Fe_3O_4 晶粒的生长有较强的抑制作用. 在 $\text{pH} > 12$ 的碱性环境中, 被 OH^- 中和的壳聚糖分子沉积在 Fe_3O_4 晶核的表面, 阻止其长大. 因此, 生成了尺寸较小的 Fe_3O_4 颗粒.

2.2 HA/CS 棒材的超顺磁性

作为生物医用的磁性粒子不仅需要单分散性, 还必须是超顺磁性的^[8]. 图 2 表明, HA/CS 棒材

表 1 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ 棒材的组成

Table 1 Composition of the $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ rods

Composite	Component (mass ratio) (CS/ Fe_3O_4 /HA)	Fe_3O_4		HA		CS
		Fe^{2+} (mmol)	Fe^{3+} (mmol)	Ca^{2+} (mmol)	H_2PO_4^- (mmol)	CS(g)
a	95:2.5:2.5	2.15	4.30	4.98	2.99	19.0
b	90:5:5	4.30	8.60	9.96	5.98	18.0
c	85:7.5:7.5	6.45	12.90	14.94	8.97	17.0

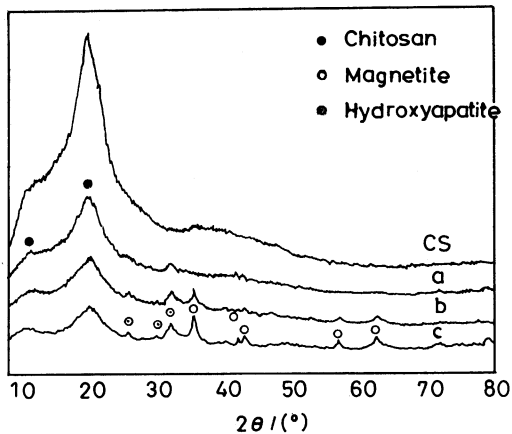


图1 磁性 HA/CS 棒材的 XRD 谱图

Fig.1 X-ray diffraction patterns of pure chitosan

- (a) CS/HA/Fe₃O₄ (w/w/w) = 95/2.5/2.5,
 (b) CS/HA/Fe₃O₄ (w/w/w) = 90/5/5,
 (c) CS/HA/Fe₃O₄ (w/w/w) = 85/7.5/7.5

在 298 K 下几乎没有剩磁及矫顽力, 表明这三种组分棒材都具有超顺磁性. 其原因是, 用原位法制备的磁性颗粒粒径小于单畴超顺磁性 Fe₃O₄ 颗粒的理论临界尺寸 25 nm^[21]. 当受到外加磁场作用时, HA/CS 棒材中所有的磁畴取向都顺着外磁场, 在外加磁场消失时, 又恢复到杂乱无序的状态, 因此没有剩磁及矫顽力存在. 同时, 磁性 HA/CS 棒材的饱和磁化强度明显低于纳米 Fe₃O₄ 颗粒的理论饱和磁化强度 (92 emu/g) (表 2), 因为在没有磁性的聚合物包覆层^[22]与 HA、Fe₃O₄ 和 CS 之间存在着相互作用.

2.3 棒材的微观结构

从图 3 可见, 在制备 Fe₃O₄/HA/CS(2.5/2.5/95) 棒材时, 生成的无机粒子分布均匀, 没有出现团聚, 且无机粒子在壳聚糖基质中没有相分离的现象 (图 3a). 虽然是断裂面, 但颗粒周围的基质完好, 说明形成的无机粒子没有造成应力集中, 因此对壳聚糖棒材的力学性能没有破坏作用. 从照片还可以清楚的看到棒材

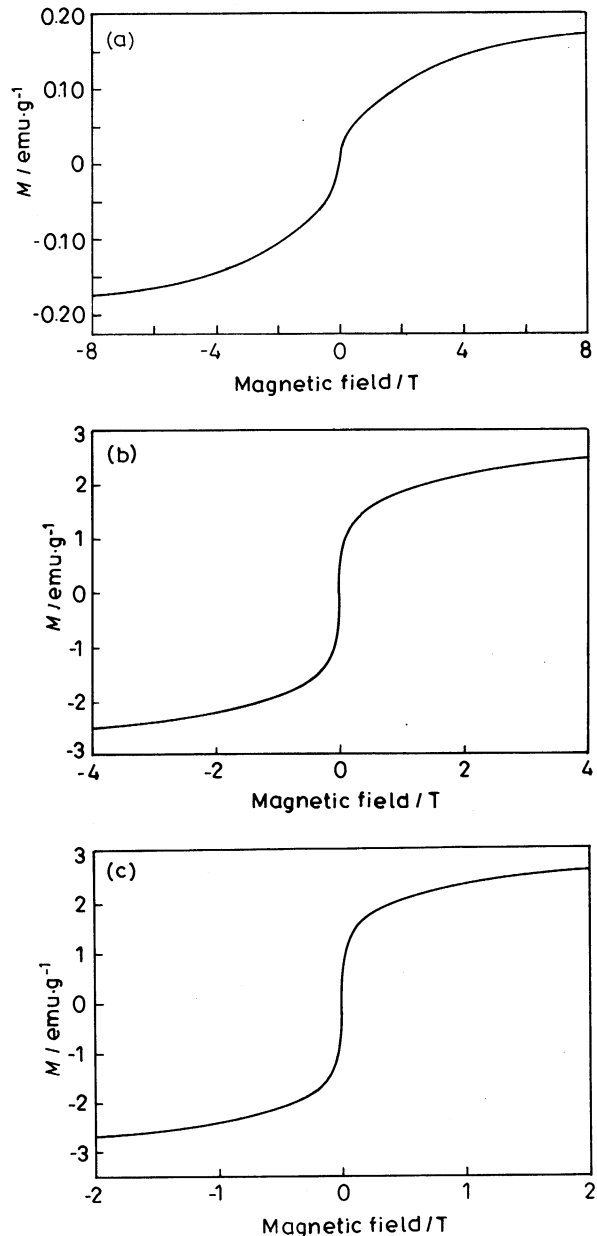


图2 不同组分的 HA/CS 棒材在 298 K 下的磁滞回线

Fig.2 Hysteresis loop of (a) CS/HA/Fe₃O₄ (w/w/w) = 95/2.5/2.5, (b) CS/HA/Fe₃O₄ (w/w/w) = 90/5/5, (c) CS/HA/Fe₃O₄ (w/w/w) = 85/7.5/7.5 measured at 298 K

表 2 CS/HA/Fe₃O₄ 在 298 K 时的磁性能

Table 2 Magnetic properties of CS/HA/Fe₃O₄ with different ratio at 298 K

Content of samples(%) (CS/HA/Fe ₃ O ₄)(w/w/w)	Saturation magnetic moment of sample (emu/g)	Saturation magnetic moment of Fe ₃ O ₄ (emu/g)	Percent of magnetite /%
95/2.5/2.5	0.175	7	2.5
90/5/5	2.48	49.6	5
85/7.5/7.5	2.68	35.7	7.5

的层状结构. 无机粒子和壳聚糖分子链同时沉积形成了第一圈层磁性 HA/CS 复合材料, OH^- 的渗透进入和与金属离子发生络合作用的壳聚糖分子链的迁移, 引起磁性颗粒、羟基磷灰石和壳聚糖分子链的沉积, 最终得到宏观圈层结构磁性 HA/CS 凝胶棒. 这种圈层结构有利于材料力学性能的提高. 表 3 给出了 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}=1:1$ 、壳聚糖与无机物总量的比例不同的 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ 棒材的力学性能. 可以看出, 在无机物含量较低时, 棒材的力学性能有了显著的提高.

分散在壳聚糖基质中的长条状无机颗粒的尺寸大约为长 30 nm, 宽 20 nm, 颗粒

大小比较均一(图 3b). 在保证颗粒的物理化学性质的一致性, 且无机颗粒分散均匀, 没有明显的团聚现象出现. 当有外力作用于材料时, 不会因团聚体的存在引起应力集中导致材料的力学性能下降.

3 结 论

用原位复合法制备的 HA/CS 棒材具有超顺磁性, 其中的超顺磁性 Fe_3O_4 和 HA 纳米颗粒在壳聚糖基质中分布均匀, 颗粒尺寸均一, 大约长 30 nm, 宽 20 nm.

参 考 文 献

表 3 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ 棒材的力学性能

Table 3 Composition of the as-prepared $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ rods

Content of HA / Fe_3O_4	Bending strength /MPa	Bending modulus /GPa
0	92.4	4.1
5	110.2	2.8
10	109.2	2.2
15	118.5	2.3
20	80.2	1.8

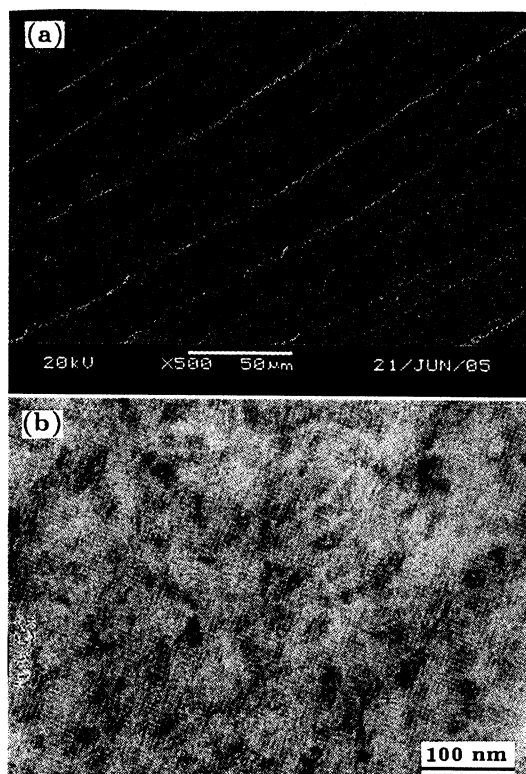


图 3 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}(2.5/2.5/95)$ 棒材的 SEM(a) 和 TEM(b) 照片

Fig.3 SEM micrograph (a) and TEM micrograph (b) of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}(2.5/2.5/95)$ rod

- 1 A.Sellinger, P.M.Weiss, A.Nguyen, Y.F.Lu, R.A.Roger, A.Assink, W.L.Gong, C.J.Brinker, *Nature*, **394**(6690), 256(1998)
- 2 Myung Chul Chang, Ching-Chang Ko, William H. Douglas, *Biomaterials*, **24**, 2854(2003)
- 3 Qiaoling Hu, Baoqiang Li, Mang Wang, Jiacong Shen, *Biomaterials*, **25**, 780(2004)
- 4 I.Yamaguchi, K.Tokuchi, H.Fukuzaki, Y.Koyama, K.Takakuda, H.Monma, J.Tanaka, *J. Biomed. Mater. Res.*, **55**, 20(2001)
- 5 Michio Ito, Yuichi Hidaka, Mituharu NakaJima, Hiroshi Yagasaki, A.H.Kafrawy, *J. Biomed. Mater. Res.*, **45**, 204(1999)
- 6 G.Sarawathy, S.Pal, C.Rose, T.P.Sastry, *Bull. Mater. Sci.*, **24**(4), 415(2001)
- 7 Andrew C. A. Wan, Eugene Khor, Garth W. Hastings, *J. Biomed. Mater. Res.*, **38**, 236(1997)
- 8 K.G.Ajay, G.Mona, *Biomaterials*, **26**, 3995(2005)
- 9 S.Z.Vladimir, S.F.Dmitry, A.P.Igor, J.G.Richard, Benjamin Chu, *J. Colloid Interface Sci.*, **212**, 49(1999)
- 10 K.G.Ajay, S.G.C.Adam, *J. Mater. Sci.: Material in Medicine*, **15**, 493(2004)
- 11 Hyperthermia. Kenji Takegami, Tetsuya Sano, Hiroki Wakabayashi, Jun Sonoda, Takashi Yamazaki, Seiichi Morita, Takehiro Shibuya, Atsumasa Uchida, *J. Biomed. Mater. Res.*, **43**, 210(1998)
- 12 Athina E. Markaki, T. William Clyne, *Biomaterials*, **25**, 4805(2004)
- 13 I.M.Baibekov, Khanapiyaev U. Kh., *Bulltin of Experimental Biology and Medicine*, **131**, 399(2001)
- 14 SUN Shuzhen, XU Xiaohong, PENG Chanqi, Wu Hua, ZHU Tongbo, *Journal of Wuhan University of Technology*, **16**, 102(1994)
(孙淑珍, 徐晓虹, 彭长琪, 吴 华, 朱通伯, 武汉工业大学学报, **16**, 102(1994))
- 15 LIU Qun, XUE Weiming, YU Weiting, LIU Xiudong, YAN Ruoyuan, LI Jinuun, MA Xiaojun, *Chem. J. Chinese Universities*, **7**, 1420(2002)
(刘 群, 薛伟明, 于炜婷, 刘袖洞, 严若媛, 李金云, 马小军, 高等学校化学学报, **7**, 1420(2002))
- 16 WANG Jingmei, YAO Songnian, *Chinese J. Inorg. Chem.*, **18**(3), 250(2002)
(王静梅, 姚松年, 无机化学学报, **18**(3), 250(2002))

- 17 ZHANG Xujun, LANG Huiyun, WEI Yongfei, ZHANG Weiping, *Chin. J. Applied. Chem.*, **20**, 749(2003)
(张秀军, 郎惠云, 魏永峰, 张维平, *应用化学*, **20**, 749(2003))
- 18 S.C.Bhatia, N.Ravi, *Biomacromolecules*, **1**, 413(2000)
- 19 HU Qiaoling, QIAN Xiuzhen, LI Baoqiang, SHEN Jiacong, *Chem. J. Chinese Universities*, **3**, 528(2003)
(胡巧玲, 钱秀珍, 李保强, 沈家骢, *高等学校化学学报*, **3**, 528(2003))
- 20 Lopez Perez, J. A., Lopez Quintela, M. A., Mira, J.; Rivas, J., Charles, S. W., *J. Phys. Chem. B*, **101**, 8045(1997)
- 21 Lee J., Isobe T., Senna M., *J. Colloid Interface Sci.*, **177**, 490(1996)
- 22 Santra S., Tapeç R., Theodoropoulou N, Dobson, J., Hebard A., Tan W., *Langmuir*, **17**, 2900(2001)