

新型改性的 n-HA 与 PLGA 复合材料的制备及性能研究

蒋立新^{1,2}, 蒋柳云¹, 马 驰^{1,2}, 韩崇涛^{1,2}, 徐莉娟^{1,2}, 熊成东¹

(1. 中国科学院 成都有机化学研究所, 成都 610041; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘 要: 采用硅烷偶联剂(KH550)和 L-丙交酯 LLA 联合接枝处理的新方法对纳米羟基磷灰石(n-HA)进行表面改性, 然后将其与聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)作不同比例复合(n-HA 为 3wt%、10wt%、20wt%及 30wt%), 得到改性 n-HA/PLGA 复合材料(g-n-HA/PLGA)。将其与未改性 n-HA 及未改性 n-HA/PLGA 复合材料作对比检测。结果表明, 该联合处理方法是 n-HA 进行表面接枝改性的新型有效方法。且改性处理后的 n-HA 与未改性处理的 n-HA 相比, 能更好地在 PLGA 基体中分散均匀, 并能提高 PLGA 结晶能力和 PLGA 的力学性能。当改性处理后的 n-HA 添加量为 10wt%时, 其复合材料抗弯强度和拉伸强度分别比未改性 n-HA/PLGA 提高 14.4%和 11.3%。该新型 g-n-HA/PLGA 复合材料有望用作骨折固定材料。

关 键 词: 纳米羟基磷灰石; 表面改性; 复合材料; PLGA

中图分类号: R318 文献标识码: A

Preparation and Characterization of Nano-hydroxyapatite/PLGA Composites with Novel Surface-modified Nano-hydroxyapatite

JIANG Li-Xin^{1,2}, JIANG Liu-Yun¹, MA Chi^{1,2}, HAN Chong-Tao^{1,2}, XU Li-Juan^{1,2}, XIONG Cheng-Dong¹

(1. Chengdu Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China; 2. Graduated University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Nano-hydroxyapatite (n-HA) was modified by a new method of combining silane coupling reagent (KH550) with surface-grafting L-lactide LLA. Then, the surface-modified n-HA (g-n-HA) was introduced into poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) to prepare a series of g-n-HA/PLGA composites with the concentration of 3wt%, 10wt%, 20wt% and 30wt%. The properties of the g-n-HA/PLGA composites were characterized and compared with PLGA and n-HA/PLGA composites. The results show that n-HA is successfully modified by KH550 and L-LA. The g-n-HA particles could disperse more uniformly in PLGA matrix and promote PLGA to crystallize. The obtained g-n-HA/PLGA composites has better mechanical properties than those of n-HA/PLGA composites with the same amount of n-HA. Moreover, the bending and tensile strength of g-n-HA/PLGA composite containing 10wt% g-n-HA are 14.4% and 11.3% which is higher than that of pure PLGA, respectively. Therefore, the g-n-HA/PLGA composite is promising for bone fracture internal fixation material in future.

Key words: nano-hydroxyapatite (n-HA); surface modification; composite; PLGA

收稿日期: 2012-08-17; 收到修改稿日期: 2012-10-18

基金项目: 中国科学院“西部之光”人才培养计划项目; 国家自然科学基金(31000440)

Talent Training Project of West Light Foundation of Chinese Academy of Science; National Natural Science Foundation of China (31000440)

作者简介: 蒋立新(1987-), 男, 硕士研究生. E-mail: jlx198765@126.com

通讯作者: 蒋柳云, 副研究员. E-mail: jlytxg@163.com

聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)是由 L-丙交酯和乙交酯两种单体共聚合而成的高分子共聚物,是目前常用的骨折固定材料,但单纯的 PLGA 材料作为骨折固定材料在临床应用中仍然存在一些缺点,如力学强度不足,降解酸性产物过多,且缺乏成骨活性。随着纳米技术的出现,将无机纳米粒子添加于 PLGA 基体中以改善其固有的缺陷已成为研究热点^[1-2]。

纳米针状羟基磷灰石(n-HA)微晶在形态、晶体结构和结晶度上与人体骨组织的磷灰石相似,具有良好的生物相容性和骨传导性,是公认的性能良好的骨修复材料^[3]。但由于 n-HA 粒子粒径小极易团聚、亲水性好,不易与疏水性 PLGA 基体界面相容,导致复合材料力学性能不佳,因而需要对 n-HA 粒子表面进行改性^[4]。近年来,有关 n-HA 的表面改性有聚多酸、硅烷偶联剂和十二烷醇等^[5-7],其中丙交酯接枝处理效果较好^[8-9],即利用 n-HA 表面的羟基引发丙交酯开环聚合,得到表面接枝有聚乳酸的 n-HA,从而改善其与 PLGA 复合的界面相容性。但通常将 n-HA 直接与丙交酯接枝时,由于亲水性 n-HA 在疏水性溶剂中很难均匀稳定分散,且 n-HA 本身表面的-OH 活性不高,因而不利于接枝反应,以致复合后的材料力学性能不能有效提高,尤其是 n-HA 以高含量复合时抗弯强度获得提高的报道甚少,而抗弯强度是骨折固定材料的一个重要力学性能指标,因而有必要探索 n-HA 的新型改性法以获得 PLGA 抗弯强度能有效提高的复合材料。

本研究采用新的改性方法对 n-HA 粒子进行表面处理,即先将 n-HA 用硅烷偶联剂(KH550)处理,再与丙交酯接枝处理,一方面可以改善 n-HA 接枝前的表面疏水性,以防止其团聚,另一方面也可利用 KH550 的-NH₂ 引发丙交酯开环聚合,以改善其接枝反应。将上述改性得到的 n-HA 以不同比例与 PLGA 复合,以纯 PLGA 及未改性的 n-HA/PLGA 复合材料作为对照,考察该新型改性法处理的 n-HA 在 PLGA 基体中的分散性、复合材料的热力学性能和力学性能。

1 材料和方法

1.1 原材料

n-HA 粒子长径为 100~120 nm,短径为 20~40 nm,PLGA(95/05)分子量为 $3.6 \times 10^5 \sim 3.9 \times 10^5$,均由本实验室自制; γ -氨丙基三乙氧基硅烷(KH550),四川晨光工程设计院;L-丙交酯,Purac 公司;辛酸亚锡,美国 Sigma 公司;其它试剂都为分析纯。

1.2 n-HA 的表面改性

将 10 g n-HA 超声分散于 60 mL 乙醇和水的混合液中,加入含 2 g KH550 的 50 mL 乙醇和水(9:1)混合的水解液,用 NaOH 溶液调节 pH 为 9~10,70℃下反应 8 h,离心并用热水洗涤 3 遍,产物于 130℃下真空干燥 8 h,记为 KH550-n-HA。将 KH550-n-HA 超声分散于 100 mL 二甲苯中,加入 0.05 g 辛酸亚锡催化剂,于氮气保护下 138℃反应 2 h 后,再加入 100 mL 含 10 g 丙交酯的二甲苯溶液,继续反应 18 h,用二氯甲烷离心洗涤 5 遍,于 50℃下真空干燥 24 h。最终改性产物记为 g-n-HA。

1.3 g-n-HA/PLGA 复合材料的制备

将 g-n-HA 粉末于二氯甲烷和乙醇混合液中超声分散后,按质量分数分别为 3wt%、10wt%、20wt%、30wt%的量加入 PLGA 的二氯甲烷溶液中,超声搅拌 4 h 后用大量无水乙醇沉淀。将沉淀过滤并用无水乙醇洗涤 3 遍,40℃真空干燥备用。复合材料记为 g-n-HA/PLGA。同时按以上过程制备一系列同比例 n-HA 未经改性的 n-HA/PLGA 复合材料用于对比研究。

1.4 测试与表征

将 KH550-n-HA、g-n-HA 和 n-HA 粉末用美国 Nicolet 公司(6700)红外光谱仪进行测试;将 g-n-HA 和 n-HA 粉末用 X SAM-800 型 XPS 对样品表面元素状态进行分析,用 Perkin-Elmer 7 型热重分析仪在 N₂ 气氛中以 10℃/min 速率从室温升至 700℃,测定样品失重率;用 JEM-100CX 型电子显微镜和直观照片分别观察形貌及其在疏水性溶剂中的分散稳定性。

将 g-n-HA/PLGA 与 n-HA/PLGA 复合材料加工成型后,取样品断面喷金后在扫描电子显微镜(SEM, S-520, 日本 HITACHI 公司)下观察其微观结构;用差示扫描量热仪(DSC, Q20, 美国 TA instruments 公司)测试复合材料及纯 PLGA 的热力学性能;采用万能材料试验机(SANSCMT4503, 中国深圳 SANS 公司)对复合材料及纯 PLGA 按 GB/T1042-92 标准测试弯曲及拉伸性能,每个样品测 5 个平行样取平均值。

2 结果与讨论

2.1 n-HA 的改性

2.1.1 IR 分析

图 1 为 n-HA、KH550-n-HA 及 g-n-HA 的红外光谱图。从图可知,未改性的 n-HA(图 1a)特征峰有

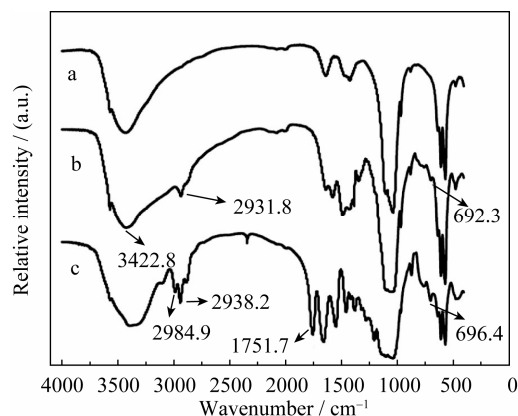


图1 n-HA 改性前后的红外光谱图

Fig. 1 IR spectra of n-HA before and after modification
(a) n-HA; (b) KH550-n-HA; (c) g-n-HA

PO_4^{3-} 吸收峰(962.0、1038.7、1091.5、471.8、565.1 以及 602.7 cm^{-1})和-OH吸收峰(3570.1 及 630.6 cm^{-1}); 另外在 1452 和 1413 cm^{-1} 还出现双峰, 属 CO_3^{2-} 反对称伸缩峰, 表明 CO_3^{2-} 进入 HA 晶格, 与文献报道相一致^[10]。对于 KH550-n-HA 样品(图 1b), 相比于 n-HA, PO_4^{3-} 吸收峰无明显变化, 而 3570.1 以及 630.6 cm^{-1} 处的-OH 吸收峰变弱, 且在 2931.8 cm^{-1} 处出现 C-H 伸缩振动峰, 在 3422.8 和 692.3 cm^{-1} 处分别出现了-NH₂ 的 N-H 的伸缩振动峰和弯曲振动峰, 表明 KH550 与 n-HA 之间存在化学键合作用, 即 KH550 已接枝在 n-HA 表面。g-n-HA 样品(图 1c) 显示依然出现 n-HA 特征峰, 但 692.3 cm^{-1} 的-NH₂ 的 N-H 峰发生了轻微的偏移, 同时在 2984.9 、 2938.2 和 2880.2 cm^{-1} 处出现更强的 C-H 伸缩振动峰, 且在 1751.7 cm^{-1} 处出现酯羰基吸收峰^[11-12], 证明聚乳酸已接枝于 n-HA 表面, 且改性后的 g-n-HA 其主要化学组分并未发生改变。由此证明采用 KH550 和 LLA 联合处理法可对 n-HA 有效接枝。

2.1.2 XPS 能谱分析

为进一步确证其接枝改性成功, 采用 XPS 对 n-HA 与 g-n-HA 进行了表面化学元素分析。图 2 和表 1 分别给出了改性前后的全扫描 XPS 能谱图和元素含量。从图可以看出, 改性前主要有 Ca、P、O 及 C 元素, 改性后还出现了 Si、N 元素, 证明 KH550 已接枝于 n-HA 表面; 从元素含量变化也可看出 g-n-HA 中新增了 Si 和 N 元素, 且 C 元素含量比改性前明显提高, 证明 KH550 和聚乳酸已成功接枝于 n-HA 表面^[6], 这与红外分析结果一致。

2.1.3 TGA 测试

图 3 热失重曲线显示 n-HA 的失重率为 4.703%, 这主要是由于 n-HA 表面的水分、结晶水以及 HA 晶格中的水造成的, 与文献报道数据基本一致^[13]。

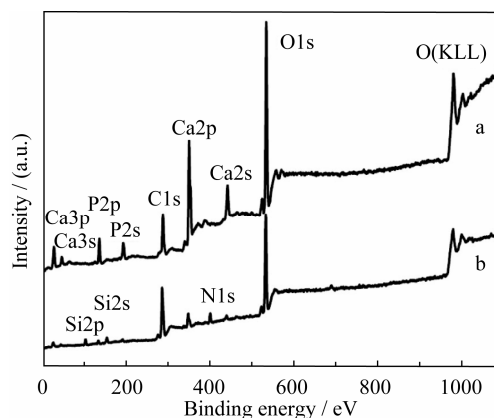


图2 n-HA 经表面改性前后的全扫描 XPS 能谱图

Fig. 2 XPS spectra of n-HA before and after modification
(a) n-HA; (b) g-n-HA

表1 表面改性前后 n-HA 粒子的元素分析(at%)

Table 1 Contents of different elements of n-HA particles before (n-HA) and after (g-n-HA) modification(at%)

	C	Ca	O	P	Si	N
n-HA	16.66	16.40	53.08	13.86	0	0
g-n-HA	54.74	2.60	31.98	1.96	4.32	4.39

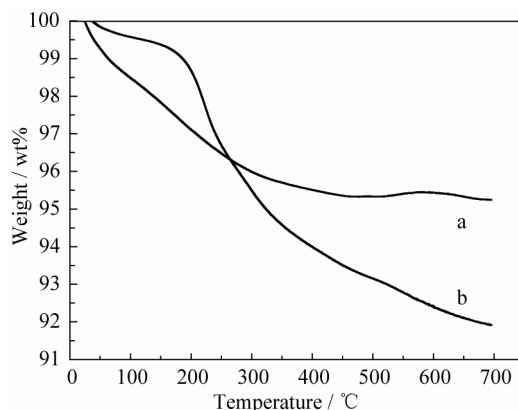


图3 n-HA 改性前后的 TGA 曲线

Fig. 3 TGA curves of HA before and after modification
(a) n-HA; (b) g-n-HA

而 g-n-HA 的失重率为 8.097%, 结合前面 IR 及 XPS 分析, 分析其失重主要是由接枝的 KH550 及聚乳酸在升温过程中燃烧造成的, 由此更定量说明该新型接枝改性确已在 n-HA 表面发生。

2.1.4 分散性观察

图 4 和图 5 是考察改性后 n-HA 在疏水性溶剂二氯甲烷中分散性的结果, 图 4 为 n-HA 和 g-n-HA 的 TEM 照片。照片显示 n-HA 改性后形貌尺寸略有变大, 为表面接枝包覆引起。从图 5 可看出, n-HA 在 30 min 内已从二氯甲烷中逐渐沉淀完全, 而 g-n-HA 则在 2 h 内仍然保持良好的分散。这说明经表面改性的 g-n-HA 分散性明显改善, 将有助于其与 PLGA 在二氯甲烷溶液中进行均匀复合^[14]。

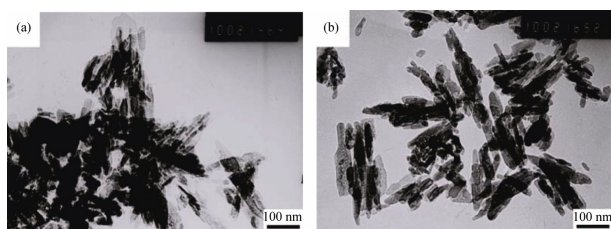


图 4 n-HA 改性前后的 TEM 照片

Fig. 4 TEM micrographs of HA before and after modification (a) n-HA; (b) g-n-HA

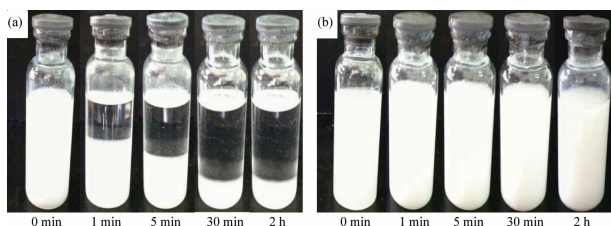


图 5 改性前后的 n-HA 在二氯甲烷中分散不同时间点的照片

Fig. 5 Photographs of n-HA (a) and g-n-HA (b) dispersed in dichloromethane at different stages

2.1.5 改性机理分析

通过以上分析,该新型改性机理推测如下:首

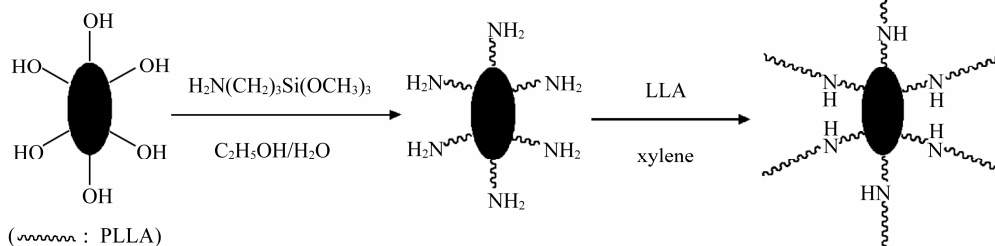


图 6 n-HA 表面改性的示意图

Fig. 6 Illustration for the surface modification of n-HA

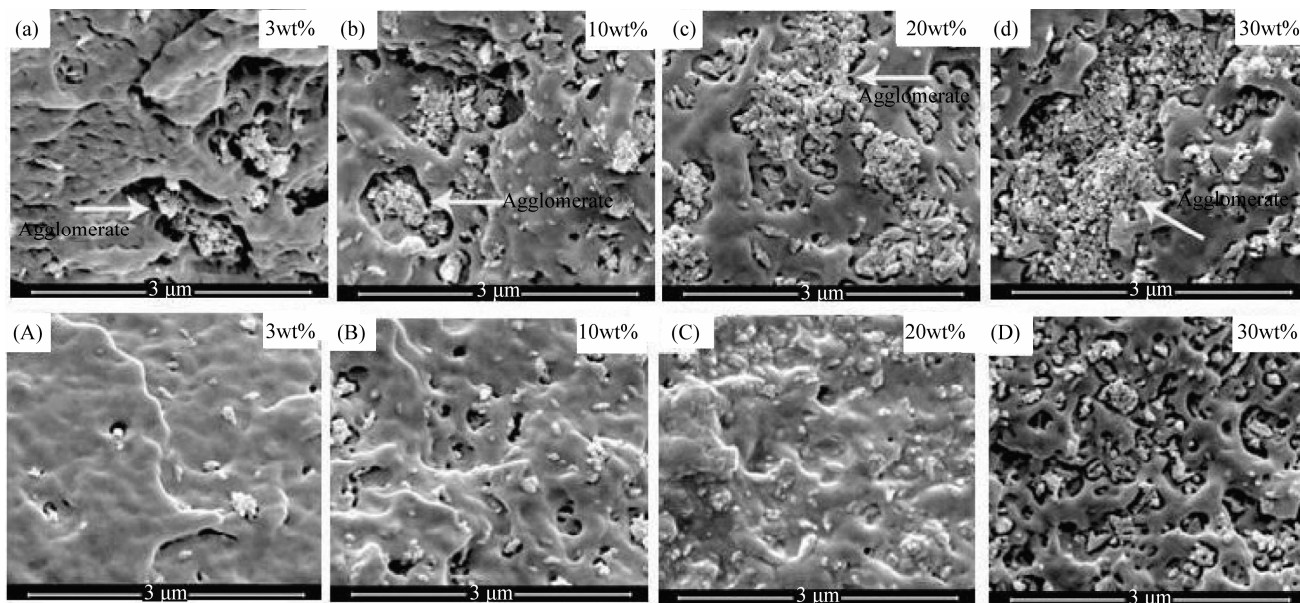
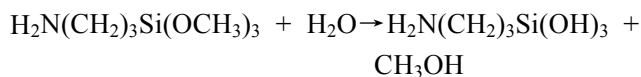


图 7 n-HA/PLGA 复合材料的断裂面 SEM 照片

Fig. 7 Fracture surfaces of n-HA/PLGA composites (a)-(d): n-HA/PLGA; (A)-(D): g-n-HA/PLGA

先是偶联剂 KH550 在碱性水溶液中主要发生如下反应:



由于 n-HA 浆料具有较大的比表面积,在溶液中其表面存在很多悬空键,有大量活性中心,可与水解后的偶联剂反应。其偶联结合方式有两种^[6]: 第一种是 Si-OH 与 n-HA 上的-OH、 HPO_4^{2-} 、 PO_4^{3-} 基团形成强的化学键;第二种可能是硅羟基或氨基与 n-HA 表面的-OH、 HPO_4^{2-} 形成氢键。但由于产物经水热洗涤过多遍,结合以上 IR 分析结果推测该新型改性可能以第一种结合方式为主,即 KH550 连接在 n-HA 表面后,再利用其末端氨基引发 L-LA 的开环聚合。整个改性过程如图 6 所示。

2.2 复合材料

2.2.1 SEM 观察

由于纳米粒子在高聚物基体中的微观结构与复合材料的力学强度紧密相关,故本研究观察了复合材料断面 SEM 形貌(图 7)。从照片可知,未经改性

的 n-HA 纳米粒子在基质中的团聚现象严重(图中箭头所示), 且界面结合较差; 而改性处理后的 g-n-HA 粒子则具有更好的分散性和界面结合。n-HA 采用直接接枝后含量为 15wt%时在 PLLA 中的分散会出现大块团聚^[15]。相比之下, 本研究中的 g-n-HA 分散性明显改善, 说明所探索的新型改性方法能有效改善 n-HA 在 PLGA 中的分散性及界面相容性。

2.2.2 DSC 分析

对材料的 DSC 分析可以从微观上了解其结晶性能。表 2 数据显示, 复合材料的熔点 T_m 和玻璃化温度 T_g 都比纯 PLGA 低; 熔融焓 ΔH_m 和结晶度 X_c 都随着 n-HA 含量的增加呈递增趋势, 且添加相同量的 n-HA 时, g-n-HA/PLGA 复合材料的 ΔH_m 和 X_c 都比 n-HA/PLGA 的大。这一方面是由于添加的 n-HA 起到了异相成核作用^[16], 加快了 PLGA 成核的速度, 另一方面是由于加入 n-HA 后基质链段可以吸附在其表面有序排列, 提高结晶速率, 从而使结晶能力增强; 同时经改性的 n-HA 表面接枝的

PLLA 链段能更有效地与基质 PLGA 链段相互穿插缠绕, 使得界面结合强度增加, 从而使基质链段更易于吸附于 n-HA 粒子表面成核结晶, 此外, 改性后的 n-HA 粒子在 PLGA 基体中更好的分散性也可提高复合材料的结晶能力。显然, 复合材料结晶能力的提高也有利于其力学性能的提高。

2.2.3 力学性能测试

对于骨折固定材料来说, 材料的初始力学性能是临床应用中重要的指标。图 8 给出了两类复合材料的抗弯强度及拉伸强度随 n-HA 含量变化的曲线图。从图可知, n-HA/PLGA 复合材料的抗弯强度和拉伸强度比不添加 n-HA 的纯 PLGA 要低, 且添加量越高, 强度越低, 未体现出纳米粒子对 PLGA 力学性能提高的效果。而 g-n-HA/PLGA 复合材料在添加量不超过 10%时, 抗弯强度和拉伸强度均有提高, 当添加量为 10wt%时达到最高值, 其抗弯强度和拉伸强度分别比不添加 n-HA 的 PLGA 提高了 14.4%和 11.3%。与文献报道相比^[15], 本研究制备的

表 2 HA/PLGA 复合材料的热力学性能
Table 2 Thermal properties of HA/PLGA nano-composites determined by DSC

Sample	PLGA/HA	$T_g/^{\circ}\text{C}$	$T_m/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H_m/(\text{J} \cdot \text{g}^{-1})$	$X_c/\%^a$
PLGA	100	57.4	166.78	2.423	2.606
PLGA/n-HA	97/3	57.1	166.14	2.483	2.670
	90/10	55.09	164.01	2.953	3.175
	80/20	55.07	162.74	4.881	5.248
	70/30	54.84	162.61	6.016	6.469
	97/3	55.92	164.94	5.150	5.537
PLGA/g-n-HA	90/10	56.97	162.74	9.779	10.51
	80/20	56.64	163.13	10.40	11.18
	70/30	55.29	161.37	11.61	12.48

^a Crystallinity(%)=($\Delta H_m/93.0$) \times 100%

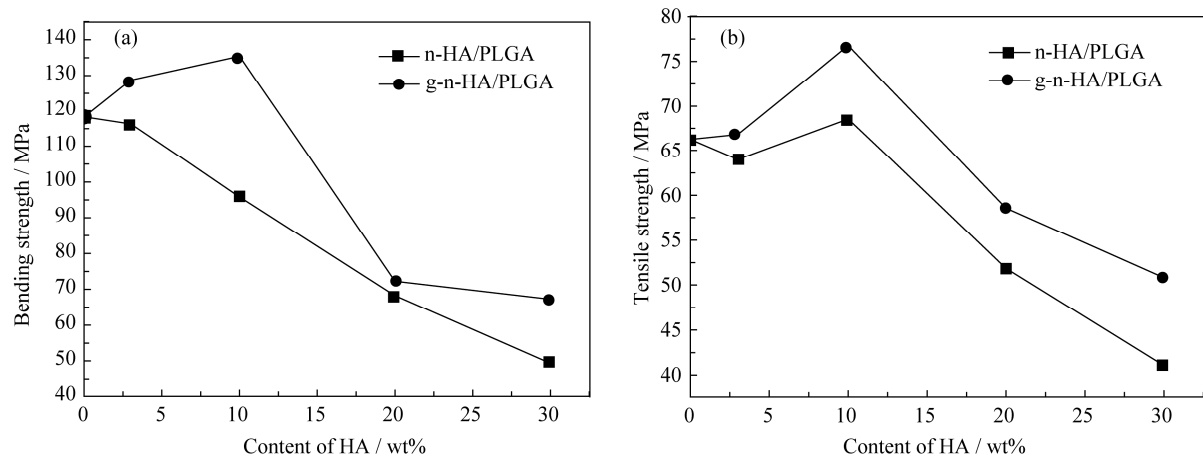


图 8 HA/PLGA 复合材料的力学强度
Fig. 8 Mechanical properties of HA/PLGA composites
(a) Bending strength; (b) Tensile strength

g-n-HA 添加量可更高,力学性能增强效果也更明显,可满足松质骨固定力学性能的要求。但添加量过高时,力学性能反而比纯 PLGA 低,这与纳米粒子增强聚合物力学性能的一般规律相符。

3 结论

1) 基于 KH550 的偶联剂作用及提供-NH₂与丙交酯开环聚合的特性,采用联合接枝处理法对 n-HA 进行了表面改性,经各种表征证实该联合处理法能有效对 n-HA 进行表面接枝,是一种新型 n-HA 改性方法。

2) 将新型改性法处理得到的 g-n-HA 以不同质量比与 PLGA 复合后,与未经改性的 n-HA/PLGA 复合材料相比,前者更能在 PLGA 基体中均匀分散,更有效提高 PLGA 结晶能力和力学性能。

3) 当改性得到的 g-n-HA 添加量达 10wt%时,g-n-HA/PLGA 复合材料抗弯强度及拉伸强度分别比纯 PLGA 提高了 14.4%和 11.3%,有望用作骨折固定材料。

参考文献:

- [1] Fiedler T, Belova I V, Murch GE, *et al.* Tailoring elastic properties of PLGA/TiO₂ biomaterials. *Computational Materials Science*, 2012, **61**(8): 283–286.
- [2] Ebrahimian-Hosseiniabadi M, Ashrafizadeh F, Etemadifar M, *et al.* Evaluating and modeling the mechanical properties of the prepared PLGA/nano-BCP composite scaffolds for bone tissue engineering. *Journal of Materials Science & Technology*, 2011, **27**(12): 1105–1112.
- [3] Orlovskii V P, Komlev V S, Barinov S M. Hydroxyapatite and hydroxyapatite-based ceramics. *Inorganic Materials*, 2002, **38**(10): 973–984.
- [4] Yang C, Cheng K, Weng W, *et al.* OTS-modified HA and its toughening effect on PLLA/HA porous composite. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2009, **20**(3): 667–672.
- [5] Liu Q, de Wijn JR, Bakker D, *et al.* Polyacids as bonding agents in hydroxyapatite polyester-ether (polyactiveTM 30/70) composites. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 1998, **9**(1): 23–30.
- [6] LIAO Jian-Guo, WANG Xue-Jiang, ZUO Yi, *et al.* Surface modification of nano-hydroxyapatite with silane agent. *Journal of Inorganic Materials*, 2008, **23**(1): 145–149.
- [7] Borum-Nicholas L, Wilson Jr OC. Surface modification of hydroxyapatite. Part I. Dodecyl alcohol. *Biomaterials*, 2003, **24**(21): 3671–3679.
- [8] Cui Y, Liu Y, Cui Y, *et al.* The nanocomposite scaffold of poly(lactide-co-glycolide) and hydroxyapatite surface-grafted with l-lactic acid oligomer for bone repair. *Acta Biomaterialia*, 2009, **5**(7): 2680–2692.
- [9] 于婷, 刘娅, 王宇, 等(YU Ting, *et al.*) 改性纳米羟基磷灰石/PLGA 复合材料的制备及生物活性. 高等学校化学学报(Chem. J. Chinese U.), 2009, **30**(7): 1439–1444.
- [10] Jiang L Y, Li Y B, Zhang L, *et al.* Preparation and properties of a novel bone repair composite: nano-hydroxyapatite/chitosan/carboxymethyl cellulose. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, 2008, **19**(3): 981–987.
- [11] Hong Z, Qiu X, Sun J, *et al.* Grafting polymerization of l-lactide on the surface of hydroxyapatite nano-crystals. *Polymer*, 2004, **45**(19): 6699–6706.
- [12] Li J, Lu X L, Zheng Y F. Effect of surface modified hydroxyapatite on the tensile property improvement of HA/PLA composite. *Applied Surface Science*, 2008, **255**(2): 494–497.
- [13] Tonsuaadu K, Peld M, Leskela T, *et al.* A thermodynamic study of synthetic carbonate-containing apatites. *Thermochimica Acta*, 1995, **256**(1): 55–65.
- [14] Wei J, Liu A, Chen L, *et al.* The surface modification of hydroxyapatite nanoparticles by the ring opening polymerization of γ -benzyl-L-glutamate N-carboxyanhydride. *Macromolecular Bioscience*, 2009, **9**(7): 631–638.
- [15] Hong Z K, Zhang P B, He C L, *et al.* Nano-composite of poly(L-lactide) and surface grafted hydroxyapatite: mechanical properties and biocompatibility. *Biomaterials*, 2005, **26**(32): 6296–6304.
- [16] LI Hai-Yan, TAN Ye-Qiang, ZHANG Lu, *et al.* Bio-filler from mussel shell: preparation and its effects on polypropylene composites properties. *Journal of Inorganic Materials*, 2012, **27**(9): 977–983.