

硼酸盐玻璃的原位转化及对浸泡液酸碱度的影响

朱开平¹, 王德平^{1,2}, 范宏圆¹, 王会¹, 姚爱华¹, 叶松¹

(同济大学 1. 材料科学与工程学院; 2. 先进土木工程材料教育部重点实验室, 上海 201804)

摘要: 采用火焰喷球法制备了组成为 $10\text{Na}_2\text{O}-10\text{CaO}-80\text{B}_2\text{O}_3(\text{wt}\%)$ 和 $19\text{Na}_2\text{O}-17\text{CaO}-64\text{B}_2\text{O}_3(\text{wt}\%)$ 的钠钙硼(NCB)玻璃(分别记为 S1 和 S2)微球, 通过 pH 计、XRD、SEM、SEM-EDS、FTIR 和 BET 研究了两种微球原位转化为中空羟基磷灰石(HA)微球及对浸泡液酸碱度的影响, 并以万古霉素为模型药物, 进一步研究了中空 HA 微球的缓释性能。结果表明, S1-HA 微球具有较大的空腔体积和较好的药物负载性能, 其载药量和载药率分别达到 13.5 mg/g 和 16.8%; 而 S2 微球对浸泡液 pH 的影响相对较强, S2-HA 微球呈现显著的层状结构, 且具有较好的缓释性能, 其缓释时间可达到 60 h。

关键词: 硼酸盐玻璃; 酸碱度; 中空羟基磷灰石微球; 药物缓释

中图分类号: TQ171 文献标识码: A

In-situ Transformation of Borate Glass and Its Effect on pH of Soaking-liquid

ZHU Kai-Ping¹, WANG De-Ping^{1,2}, FAN Hong-Yuan¹, WANG Hui¹, YAO Ai-Hua¹, YE Song¹

(1. School of Materials Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 201804, China; 2. Key Laboratory of Advanced Civil Engineering Materials, Ministry of Education, Tongji University, Shanghai 201804, China)

Abstract: The Na-Ca-B glass microspheres with composition of $10\text{Na}_2\text{O}-10\text{CaO}-80\text{B}_2\text{O}_3(\text{wt}\%)$ and $19\text{Na}_2\text{O}-17\text{CaO}-64\text{B}_2\text{O}_3(\text{wt}\%)$ were prepared (denoted by S1 and S2, respectively) by flame spray ball method. The *in-situ* transformation of the microspheres into hollow hydroxyapatite(HA) and the influence on the pH value of the soaking-liquid were investigated by using pH meter, XRD, SEM, SEM-EDS, FTIR and BET measurements. In addition, the vancomycin was used as model drug to further investigate the sustained-release performance of hollow HA. The results indicate that S1-HA has larger cavity volume and better drug loading performance with 13.5 mg/g and 16.8% for its drug loading amount and efficiency, respectively. S2 microspheres can greatly influence the pH value of the soaking-liquid. Meanwhile, S2-HA present remarkable multilayered structure and better sustained-release performance with the release time of 60 h.

Key words: borate glass; pH value; hollow hydroxyapatite microspheres; drug sustained release

硼酸盐玻璃具有生物活性高、可完全降解、良好的骨传导和骨诱导等性能, 作为一类新型的骨组织修复材料有着良好的应用前景^[1-2]。研究表明, 硼酸盐玻璃制备的多孔支架可以促进成骨细胞的体外增殖, 植入大鼠皮下后, 能够支撑软组织的长入, 并可修复大鼠的颅骨缺损^[3-4]。此外, 与硅酸盐

生物玻璃相比, 较低的化学稳定性使得硼酸盐玻璃能够更快地降解, 并更完全地转化为类骨羟基磷灰石(HA)材料^[5-6]。已有研究发现^[7], 硼酸盐玻璃在降解过程中释放出的离子能够影响局部微环境的酸碱度。众所周知, 酸碱度对细胞增殖、分化以及血管生成有着重要的影响^[8], 然而关于硼酸盐玻

收稿日期: 2015-03-13; 收到修改稿日期: 2015-04-28

基金项目: 上海市科委基础研究重点项目(12JC1408500)

Key Project for Basic Research of Shanghai Science and Technology Commission (12JC1408500)

作者简介: 朱开平(1991-), 男, 硕士研究生. E-mail: zkp10580@126.com

通讯作者: 王德平, 教授. E-mail: wdpshk@tongji.edu.cn

璃影响环境酸碱度的系统研究却鲜有报道。与此同时,由于不同组成的硼酸盐玻璃降解形成的HA在形貌、结构以及性能上存在着较大差别,因此,了解其形成HA的规律及特性并加以比较分析具有重要的意义。

基于上述分析,本研究在前期完成的玻璃组分实验基础上,筛选两种不同组成的钠钙硼(NCB)玻璃微球,并将它们浸泡于生物模拟液中,研究它们对浸泡液酸碱度的影响;并且利用它们在含磷溶液中的原位转化反应,制备了中空HA微球,研究了玻璃组成对中空HA微球形貌结构的影响,且以万古霉素为模型药物,进一步研究了微球的缓释性能。

1 实验方法

1.1 试剂

碳酸钠(Na_2CO_3 , AR), 碳酸钙(CaCO_3 , AR), 硼酸(H_3BO_3 , AR), 无水乙醇($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, AR), 氯化钾(KCl, AR), 氯化钠(NaCl, AR), 磷酸氢二钠(Na_2HPO_4 , AR), 磷酸氢二钾(K_2HPO_4 , AR), 磷酸二氢钠(NaH_2PO_4 , AR)等均购于上海国药集团化学试剂有限公司; 万古霉素(Vancomycin, USP)购于上海阿拉丁试剂有限公司; 去离子水为本课题组自制。

1.2 NCB玻璃微球的制备

采用高温熔融法制备组成分别为 $10\text{Na}_2\text{O}-10\text{CaO}-80\text{B}_2\text{O}_3(\text{wt}\%)$ 和 $19\text{Na}_2\text{O}-17\text{CaO}-64\text{B}_2\text{O}_3(\text{wt}\%)$ 的钠钙硼玻璃^[9]。实验中称取一定量的 Na_2CO_3 、 CaCO_3 和 H_3BO_3 粉料, 混合均匀后, 在 1150°C 于铂金坩埚中熔制 30 min, 获得无气泡的玻璃液, 然后将玻璃液淬冷于两块钢板之间, 得到透明无析晶玻璃。将玻璃破碎后过筛, 收集 100~150 目之间的玻璃颗粒(粒径约为 $97\sim154\ \mu\text{m}$)。采用火焰喷球法对颗粒反复球化, 得到形状规则、直径约为 $120\ \mu\text{m}$ 的 NCB 玻璃(分别记为 S1 和 S2)微球, 置于干燥器皿中备用。

1.3 NCB玻璃微球浸泡液的 pH 测试

称取 0.1 g NCB 玻璃微球分别浸泡于 10 mL 的 $0.01\ \text{mol/L}$ 磷酸盐缓冲溶液(PBS, $\text{pH}=7.4$)中, 置于 37°C 恒温箱, 利用 pH 计(FE20, Mettler Toledo)测试浸泡液 pH 随浸泡时间的变化。

为了系统分析 NCB 玻璃微球对 PBS 溶液酸碱度的影响行为, 实验中每隔 1.5 h 更换新鲜 PBS 溶液, 利用 pH 计测试浸泡液 pH 在间隔时间内的变化。

1.4 中空 HA 微球的制备与表征

分别称取 1 g 不同组分的 NCB 玻璃微球浸泡于 100 mL $0.2\ \text{mol/L}$ K_2HPO_4 溶液中, 置于 37°C 恒温箱, 48 h 后取出。使用去离子水和无水乙醇各清洗 3 次后, 置于 60°C 烘箱中干燥 12 h, 经 600°C 热处理 2 h 后随炉冷却, 收集备用, 分别记为 S1-HA 微球和 S2-HA 微球。

采用 X 射线衍射仪(XRD, D/max 2550, Japan)对样品进行物相分析; 采用红外光谱仪(FTIR, EQUINOXSS, Germany)测试样品的 Fourier 变换红外光谱; 采用扫描电子显微镜(SEM, S-2360, Japan)观察微球的形貌; 采用比表面测定仪(BET, Nova2200e, USA)测量微球的比表面积和孔结构参数; 采用上海中晨公司 JS94H 型微电泳仪测定微球表面 Zeta 电位。

1.5 中空 HA 微球的缓释性能测试

万古霉素溶液吸光度标准曲线的测定: 万古霉素在 280 nm 处有一个吸光度极大值, 因此采用 280 nm 为检测波长^[10], 采用上海第三分析仪器厂的 UV756 型紫外可见分光光度计测量一系列标准浓度(0、25、50、75、100 $\mu\text{g/mL}$)万古霉素溶液的吸光度, 绘制标准曲线, 根据缓释溶液的吸光度及标准曲线计算溶液中万古霉素的浓度。

中空 HA 微球载药^[11]: 将万古霉素溶于去离子水中, 制成浓度为 $4\ \text{mg/mL}$ 的万古霉素溶液, 称取 0.1 g S1-HA 和 S2-HA 微球浸泡于 2 mL 万古霉素溶液中, 并将其置于真空环境下, 保持真空度 $0.01\ \text{MPa}$ 左右, 1 h 后移出万古霉素溶液, 最后将载药微球经冷冻干燥后备用, 根据微球吸附前后溶液中万古霉素的浓度变化, 计算微球的载药量(Drug Loading Amount, DLA)和载药率(Drug Loading Efficiency, DLE)。

中空 HA 微球释药^[12]: 称取 100 mg 载有万古霉素药物的微球, 并浸泡于 10 mL PBS 溶液中, 每隔一定时间, 移取 3 mL 上层缓释液并用新鲜 PBS 溶液进行补充, 累积释药量按下式计算:

$$Q = C_n \times V + (C_1 + C_2 + C_3 + \dots + C_{n-1}) \times V_0 \quad (1)$$

式中: Q 为累计释放量; C_n 为取液 $n-1$ 次后缓释液的浓度; V 为缓释液的体积(10 mL); V_0 为每次取出的缓释液体积(3 mL)。

2 结果与讨论

2.1 NCB 玻璃微球对浸泡液酸碱度的影响

S1 微球和 S2 微球的 PBS 浸泡液 pH 随浸泡时

间的变化如图 1 所示。由图可知, 2 h 后, PBS 溶液的 pH 由初始的 7.4 分别迅速升至 8.45 和 8.65, 随后上升速度放缓, 10 h 后, 分别达到 8.57 和 8.73。图 2 为每隔 1.5 h 更换一次新鲜 PBS 溶液后, 其 pH 随时间的变化情况。由图 2 可知, S1 微球前 3 次更换 PBS 后, pH 均以相似的速率升高至 8.45, 但若继续更换 PBS 溶液, 其所能达到的最大 pH 显著下降; 而 S2 微球虽经更换同样次数的 PBS 溶液, 但浸泡液 pH 均能迅速升高至 8.58 附近。由此可知, 不同组成的 NCB 玻璃微球对 PBS 浸泡液酸碱度的影响存在着差异, 且 S2 微球的影响相对较强。

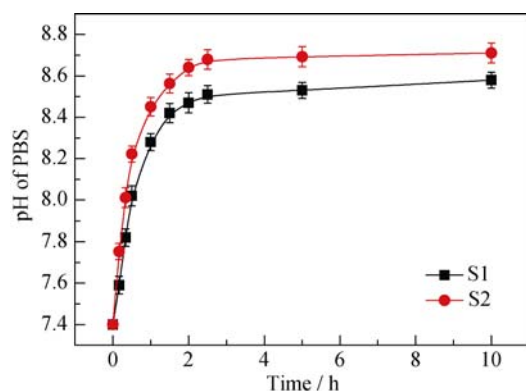


图 1 NCB 玻璃微球对 PBS 浸泡液 pH 的影响
Fig. 1 Effect on pH of PBS of NCB glass microspheres

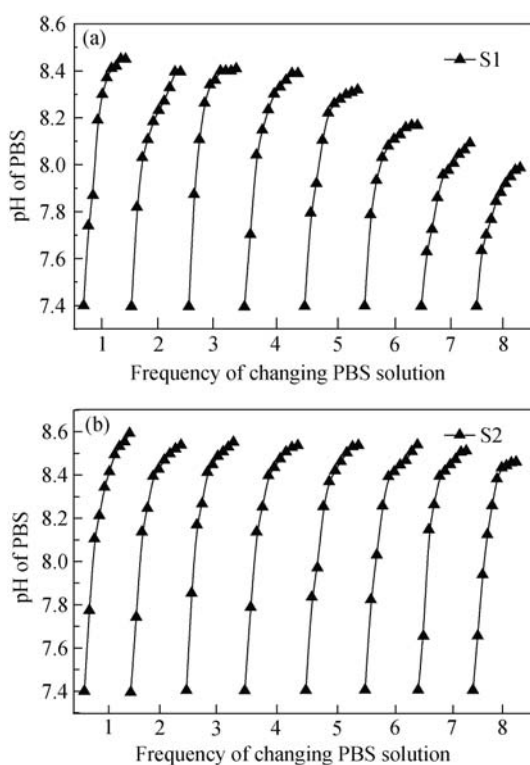


图 2 NCB 玻璃微球对 PBS 酸碱度的多次影响效果
Fig. 2 Multiple effect of glass microspheres on pH of PBS
(a) S1 microspheres; (b) S2 microspheres

如图 3 所示, 微球对浸泡液酸碱度的影响主要有两个方面, 玻璃组成离子的溶出导致浸泡液 pH 上升; 而浸泡液中离子的沉积则使得浸泡液 pH 下降。当微球浸泡于 PBS 溶液时, 由于 PO_4^{3-} 与 OH^- 的浓度较低, OH^- 沉积缓慢, 因而离子沉积因素对浸泡液酸碱度影响较小, 因此主要从离子溶出因素分析浸泡液酸碱度的变化^[13]。S1 微球和 S2 微球组成中钠与硼的组分摩尔比分别为 0.139 和 0.333, 因此 S1 微球降解时, 扩散溶出的钠相对较少, 而硼相对较多, 使得 S1 微球导致 PBS 溶液的 pH 上升程度小于 S2 微球, 如图 1 所示的结果。同理, 当多次更换 PBS 溶液后, S1 微球离子扩散溶出导致 PBS 溶液的 pH 所达到的最大值显著下降, 而 S2 微球导致 PBS 溶液的 pH 所达到的最大值无明显变化, 如图 2 所示的结果。

2.2 中空 HA 微球的物相分析

为了了解硼酸盐玻璃经 K_2HPO_4 溶液浸泡后的物相变化, 对其进行了 XRD 物相分析, 结果如图 4 所示。其中(a)、(b)分别为 S1 微球和 S2 微球反应产物在 60°C 下干燥 12 h 及 600°C 下热处理 2 h 的样品。由图可知, 微球经 60°C 干燥后均显示出典型的非晶态特征, 而经 600°C 热处理后, 产物微球均从非晶态转变为晶态, 形成 HA 晶体。

图 5 是两种微球反应产物经 600°C 热处理后的红外光谱图, 图中的 1639 和 3440 cm^{-1} 为水的吸收峰, 3572 cm^{-1} 为羟基的吸收峰, 472 、 572 、 607 和 1039 cm^{-1} 为磷酸根(PO_4^{3-})的吸收谱带。此外, 两种中空 HA 微球均出现了一定程度的碳酸根(CO_3^{2-})吸收谱带(1459 、 1407 、 906 cm^{-1}), 尤其是在 $1400\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ 间 C-O 非对称伸缩振动吸收带出现了分裂, 形成了双峰(1407 、 1459 cm^{-1}), 此双峰表明 CO_3^{2-} 取代了部分 PO_4^{3-} 形成了 B 型碳酸 HA, 微球中出现的 CO_3^{2-} 吸收峰是由于热处理过程中吸收了空气中的 CO_2 ^[14]。

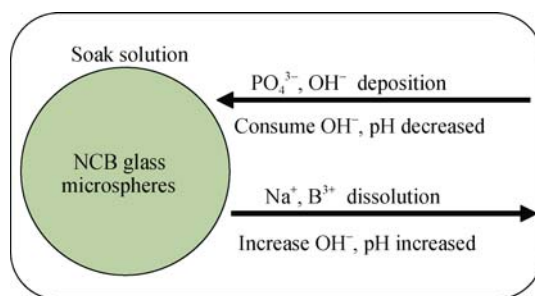


图 3 NCB 玻璃微球对浸泡液酸碱度的影响原理
Fig. 3 Effect principle of NCB glass microspheres on pH of soaking liquid

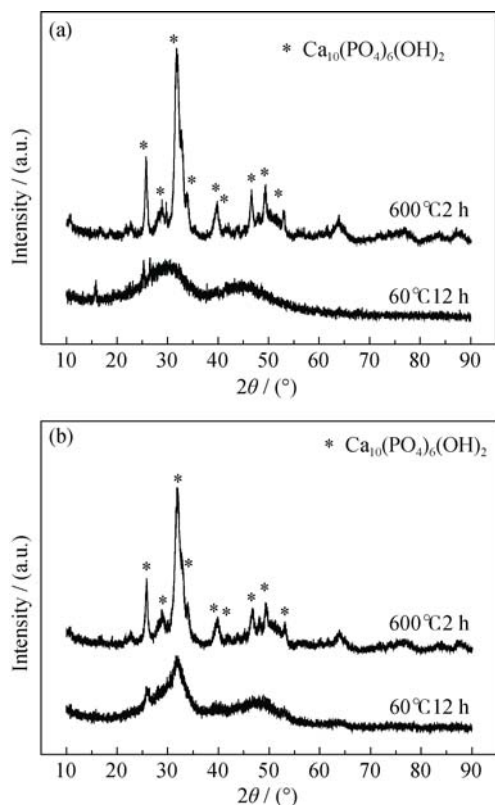


图 4 不同热处理温度下中空 HA 微球的 XRD 图谱

Fig. 4 XRD patterns of hollow HA microspheres heat-treated at different temperatures

(a) S1-HA microspheres; (b) S2-HA microspheres

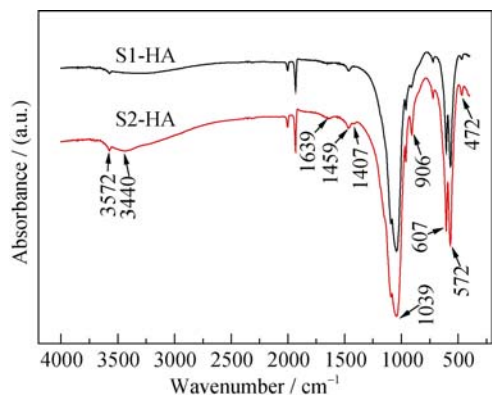


图 5 中空 HA 微球的红外光谱

Fig. 5 Infrared spectra of hollow HA microspheres

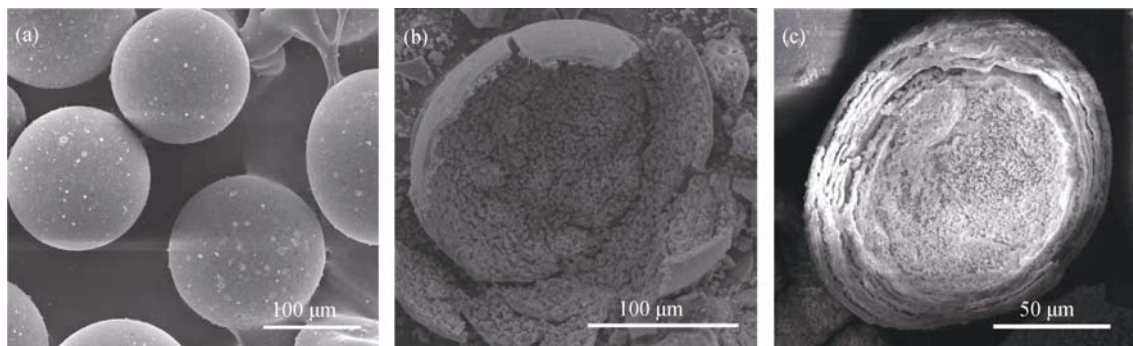


图 6 NCB 玻璃微球反应前后的 SEM 照片

Fig. 6 SEM images of NCB glass microspheres before and after reaction

(a) S1 microspheres before reaction; (b) Fractured section of S1-HA microspheres; (c) Fractured section of S2-HA microspheres

2.3 中空 HA 微球的形貌观察

图 6 为 NCB 玻璃微球在 K_2HPO_4 溶液中反应前后的 SEM 照片。由图可知, 反应前微球表面光滑(图 6(a)); 反应后, 两种微球均形成了中空结构, S1-HA 微球球壳较薄, 厚度约为 $7\ \mu\text{m}$ 左右(图 6(b)); S2-HA 微球球壳较厚且呈现多层状, 厚度达到 $15\ \mu\text{m}$ 左右(图 6(c))。这主要是由于 NCB 玻璃微球反应完全后, 钠与硼组分全部溶出, 而钙组分沉积下来形成产物微球, S1 微球组成中钙组分所占的比例相对较小, 导致产物微球的球壳相对较薄; 另外, 硼酸盐玻璃浸泡于含磷溶液后, 由于局部离子浓度呈现出间歇性梯度变化, 导致其降解产物较易形成层状的堆积结构^[15]。

图 7 为中空 HA 微球表面的 SEM 照片及 EDS 能谱图。由图可知, 微球球壳均由纳米尺寸球状磷灰石晶体组成的多孔三维网络结构构成(图 7(a,c)), 且 S1-HA 微球孔径明显小于 S2-HA 微球。能谱分析显示 S1-HA 微球的 Ca/P 为 1.41, 而 S2-HA 微球的 Ca/P 为 1.93, 表明中空 HA 微球的 Ca/P 与其原始玻璃组成密切相关。中空 HA 微球的表面特性和孔结构对其药物缓释性能有着重要的影响, 相关数据如表 1 所列, S1-HA 微球比表面积(SA)和表面 Zeta 电位(ZP)绝对值相对较大, 分别达到 $38.79\ \text{m}^2/\text{g}$ 和 $4.98\ \text{mV}$, 孔容(PV)和平均孔径(PS)相对较小, 分别为 $0.12\ \text{cm}^3/\text{g}$ 和 $11.44\ \text{nm}$; 而 S2-HA 微球 SA 和 ZP 相对较小, 分别为 $31.17\ \text{m}^2/\text{g}$ 和 $3.37\ \text{mV}$, PV 和 PS 相对较大, 分别为 $0.17\ \text{cm}^3/\text{g}$ 和 $28.29\ \text{nm}$ 。

2.4 中空 HA 微球的缓释性能分析

中空 HA 微球载药释药性能数据如表 2 所列, S1-HA 微球的 DLA 和 DLE 分别达到 $13.5\ \text{mg/g}$ 和 16.8% , 均大于 S2-HA 微球的 DLA 和 DLE 分别为 $10.6\ \text{mg/g}$ 和 13.2% , 这是由于微球 S1 具有更大的比表面积和空腔体积, 对万古霉素的负载能力更强。

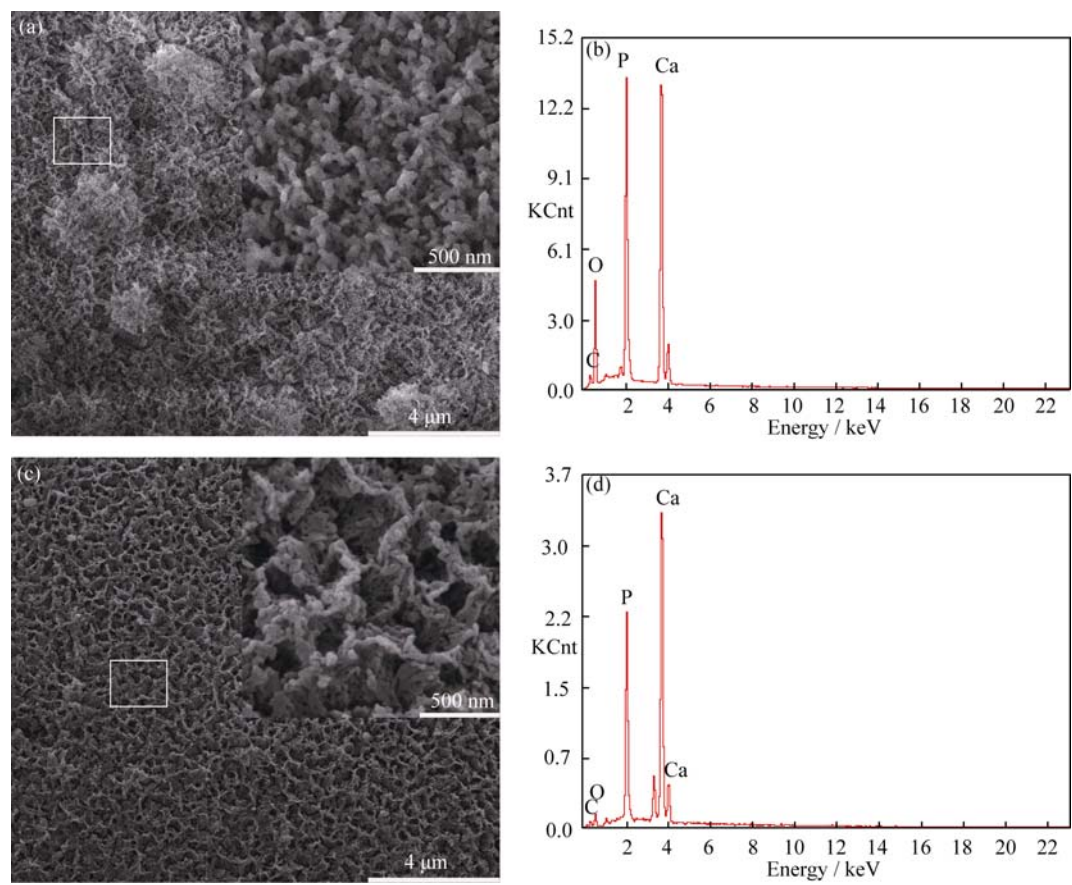


图 7 中空 HA 微球表面的 SEM 形貌以及能谱图

Fig. 7 SEM images (a,c) and EDS spectrum (b,d) of the surface of S1-HA microspheres (a, b) and S2-HA microspheres (c, d) Insets in (a, c) show the high magnification images of the surface. The white boxed areas indicate the positions where the EDS spectrum were taken

图 8 为两种中空 HA 微球载药后在 PBS 溶液中的药物累积释放曲线。由图可知, 在释药开始的 3 h 内, S1-HA 微球和 S2-HA 微球均产生了一定程度的突释现象, 累积释放率(Cumulative Release Efficiency, CRE)分别达到了 38%和 26%左右, 这是由于药物释放初始阶段, 微球外表面壳层孔道吸附的药物最先接触到 PBS, 由于 PBS 的溶解作用, 这部分药物很快得以释放。与此同时, 微球壳层之间及

空腔内部负载的药物在浓度差的作用下通过孔道逐壳层向表面扩散, 以低浓度缓慢释放。释药 40 h 后, S1-HA 微球的累积释药曲线趋于平缓, CRE 达到 87%; 而 S2-HA 微球在释药 60 h 后, 累积释药曲线才趋于平缓, 显示出了更好的缓释性能, 其 CRE 约为 83%。

这些结果说明, S1-HA 和 S2-HA 均表现出良好的药物缓释性能, 造成这种现象的原因有多种: 首

表 1 样品的表面特性和孔结构参数

Table 1 Surface characteristics and pore structure parameters of the sample

Sample	SA/(m ² ·g ⁻¹)	PV/(cm ³ ·g ⁻¹)	PS/nm	ZP/mV
S1-HA	38.79	0.12	11.44	-4.98
S2-HA	31.17	0.17	28.29	-3.37

表 2 中空 HA 微球载药释药性能

Table 2 Performance of drug-loading and drug-release for hollow HA microspheres

Sample	DLA/(mg·g ⁻¹)	DLE/%	CRE/%
S1-HA	13.5±0.5	16.8±0.6	87.3±1.3
S2-HA	10.6±0.3	13.2±0.4	81.9±1.8

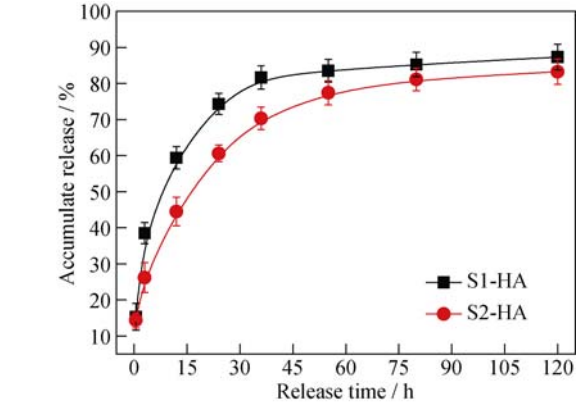


图 8 载药中空 HA 微球在 PBS 中的药物累积释放曲线
Fig. 8 Cumulative drug release curve in PBS of the drug-loaded hollow HA microspheres

先, 中空 HA 微球具有较大的比表面积, 药物从某一磷灰石晶体表面上脱附后, 很容易被其他未载药磷灰石晶体表面再次吸附, 这种再吸附现象显著降低了药物的释放量^[16]; 其次, 中空 HA 微球球壳的纳米磷灰石晶体组成了复杂的孔道结构, 导致药物释放的阻力较大, 降低了药物的释放速度^[17]; 再者, 中空 HA 微球表面 Zeta 电位和负电荷密度较高, 对盐酸万古霉素的吸附能力较强^[13]。另外, 与 S1-HA 微球相比, S2-HA 微球具有更好的缓释性能, 这主要是由于 S2-HA 球壳较厚, 多层球壳之间的孔道连接更为复杂, 万古霉素通过孔道逐壳层向外扩散的阻力更大, 导致其缓释效果更好^[16]; 与此同时, 复杂的孔道结构也导致部分药物滞留在微球球壳内部, 导致 S2-HA 微球最终的 CRE 有所减小。

3 结论

采用火焰喷球法制备得到组成为 $10\text{Na}_2\text{O}-10\text{CaO}-80\text{B}_2\text{O}_3(\text{wt}\%)$ 和 $19\text{Na}_2\text{O}-17\text{CaO}-64\text{B}_2\text{O}_3(\text{wt}\%)$ 的 NCB 玻璃微球, 在生理模拟液的作用下可以原位转化为中空 HA 微球, 作为一种药物载体材料具有较好的应用前景。中空 HA 微球的载药量和释药速率与原始玻璃的组成密切相关, S1-HA 微球载药量和载药率相对较高, 分别达到 13.5 mg/g 和 16.8% , 但其球壳较薄, 缓释性能较差; S2-HA 微球载药量和载药率相对较低, 但其球壳较厚, 缓释性能较好, 释药时间可达 60 h , 因此可以根据具体要求设计相应组成的硼酸盐玻璃加以应用。

此外, NCB 玻璃微球在降解为羟基磷灰石的过程中, 玻璃组成离子的溶出导致浸泡液形成碱性环境, 并且 S1 微球对浸泡液 pH 的影响要弱于 S2 微球。NCB 玻璃形成的碱性微环境虽有利于病灶位置的抗菌消炎作用, 但也需考虑酸碱度波动对生物细胞等的影响, 需要做进一步的研究探讨。

参考文献:

- [1] HUANG WEN-HAI, DAY DE, KITTIRATANAPIBOON KANISA, *et al.* Kinetics and mechanisms of the conversion of silicate (45S5), borate, and borosilicate glasses to hydroxyapatite in dilute phosphate solutions. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2006, **17**(7): 583–596.
- [2] ZHANG XIN, JIA WEI-TAO, GU YI-FEI, *et al.* Borate bioglass based drug delivery of teicoplanin in for treating osteomyelitis. *Journal of Inorganic Materials*, 2010, **25**(3): 293–298.
- [3] ZHANG XIN, JIA WEI-TAO, HUANG WEN-HAI, *et al.* Teicoplanin-loaded borate bioactive glass implants for treating chronic bone infection in a rabbit tibia osteomyelitis model. *Biomaterials*, 2010, **31**(22): 5865–5874.
- [4] FU QIANG, RAHAMAN MN, FU HAI-LUO, *et al.* Silicate, borosilicate, and borate bioactive glass scaffolds with controllable degradation rate for bone tissue engineering applications. Preparation and *in vitro* degradation. *Journal of Biomedical Materials Research-Part A*, 2011, **95**(1): 164–171.
- [5] LIANG WEN, RAHAMAN MN, DAY DE, *et al.* Bioactive borate glass scaffold for bone tissue engineering. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2008, **354**(15/16): 1690–1696.
- [6] RAHAMAN MN, DAY DE, Bal BS, *et al.* Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomater.*, 2011, **7**(6): 2355–2373.
- [7] RAHAMAN MN, BROWN RF, DAY DE, *et al.* Bioactive glasses for non-bearing applications in total joint replacement. *Semin Arthroplasty*, 2007, **17**(3/4): 102–112.
- [8] XU TENG, SU HANG, GANAPATHY SUTHAKAR, *et al.* Modulation of autophagic activity by extracellular pH. *Autophagy*, 2011, **7**(11): 1316–1322.
- [9] FU HAI-LUO, RAHAMAN MN, BROWN RF, *et al.* Evaluation of BSA protein release from hollow HA microspheres into PEG hydrogel. *Mater. Sci. Eng. C*, 2013, **33**(4): 2245–2250.
- [10] ZHANG LI-FANG, YANG DE-JUAN, CHEN HE-CHUN, *et al.* An ionically crosslinked hydrogel containing vancomycin coating on a porous scaffold for drug delivery and cell culture. *Int. J. Pharm.*, 2008, **353**(1/2): 74–87.
- [11] FU HAI-LUO, RAHAMAN MN, DAY DE, *et al.* Hollow hydroxyapatite microspheres as a device for controlled delivery of proteins. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2011, **22**(3): 579–591.
- [12] JIANG FEI, WANG DE-PING, YE SONG, *et al.* Strontium-substituted, luminescent and mesoporous hydroxyapatite microspheres for sustained drug release. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2014, **25**(2): 391–400.
- [13] WANG QING, HUANG WEN-HAI, WANG DE-PING, *et al.* Preparation of hollow hydroxyapatite microspheres. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2006, **17**(1): 641–646.
- [14] WANG YIN-CHUN, YAO AI-HUA, HUANG WEN-HAI, *et al.* *In situ* fabrication of hollow hydroxyapatite microspheres by phosphate solution immersion. *Journal of Crystal Growth*, 2011, **327**(1): 245–250.
- [15] PAN HAO-BO, ZHAO XIAN-LIANG, ZHANG XIN, *et al.* Strontium-borate glass: potential biomaterial for bone regeneration. *J. R. Soc. Interface*, 2010, **7**(48): 1025–1031.
- [16] XIAO WEI, FU HAI-LUO, RAHAMAN MN, *et al.* Hollow hydroxyapatite microspheres: A novel bioactive and osteoconductive carrier for controlled release of bone morphogenetic protein-2 in bone regeneration. *Acta Biomaterialia*, 2013, **9**(9): 8374–8383.
- [17] YAO AI-HUA, XU WEI, AI FAN-RONG, *et al.* Study on hollow hydroxyapatite microspheres as delivery system for human bone morphogenetic protein. *Journal of Inorganic Materials*, 2011, **26**(9): 974–978.