

聚烯丙基氯化铵调控下多孔羟基磷灰石微球的合成 及作为药物载体的应用研究

马 芳, 崔名芳, 朱建华, 李雅丽

(安徽工业大学 冶金减排与资源综合利用教育部重点实验室, 马鞍山 243002)

摘 要: 选用聚烯丙基氯化铵(PAH)作为晶体生长调节剂, 在水热条件下成功制备了多孔羟基磷灰石(Hydroxyapatite, HAP)中空微球。详细研究了反应时间和添加剂浓度等因素的影响: 150℃水热反应 12 h, 控制 PAH 浓度 0.3~0.5 g/L, 可合成尺寸均匀、孔径密集的 HAP 中空微球。微球生长经历早期前驱体微结构、异相成核、相转化等不同阶段, 聚合物在各阶段都起到重要的调节作用。以典型的布洛芬(ibuprofen, IBU)作为模型药物, 研究微球的药物负载和脱附能力。结果显示: 多孔微球具有良好的药物负载和释放能力, 吸附量较好, 可达到 413.65 mg/g。且药物具有较好的 pH 响应释放行为, 可作为 pH 敏感靶向药物载体应用到生物医学等领域。

关 键 词: 羟基磷灰石; 聚烯丙基氯化铵; 多孔微球; 水热反应; 药物载体

中图分类号: TQ174 文献标识码: A

Porous Hydroxyapatite Microspheres Prepared by Using Poly (Allylamine Hydrochloride) and Its Application in Drug Delivery

MA Fang, CUI Ming-Fang, ZHU Jian-Hua, LI Ya-Li

(Key Laboratory of Metallurgical Emission Reduction & Resources Recycling of Ministry of Education, Anhui University of Technology, Maanshan 243002, China)

Abstract: Porous and hollow hydroxyapatite (HAP) microspheres were synthesized successfully in hydrothermal method utilizing poly(allylamine hydrochloride) (PAH) as the crystal growth regulator. Effects of reaction time and concentration of the polymer on the growth of final products were investigated. Uniform microspheres with dense pores can be synthesized by controlling the PAH concentration (0.3-0.5 g/L) after 12 h hydrothermal reaction at 150℃. Formation of hollow microspheres includes different stages of early precursor microstructures, heterogeneous nucleation and phase transformations. At different stages, the cationic polyelectrolyte PAH plays an important role in regulating growth of hollow microspheres. Ibuprofen (IBU) was chosen as a typical model drug to study the drug loading and the desorption ability. The results show that porous and hollow microspheres have relatively high drug loading capacity (413.65 mg/g). Drug release of the microspheres is favorably pH-responsive, which may have close relationship with the surface properties of HAP nanorods. Data from this study suggest that the porous microspheres will have potential application as the targeted-drug carrier in the biomedicine field.

Key words: hydroxyapatite; poly(allylamine hydrochloride); porous microspheres; hydrothermal method; drug carrier

收稿日期: 2017-01-18; 收到修改稿日期: 2017-03-13

基金项目: 国家自然科学基金(21571004); 安徽省高等学校自然科学基金重点项目(KJ2015A084)

National Natural Science Foundation of China (21571004); Natural Science Foundation of the Anhui Higher Education Institutions of China (KJ2015A084)

作者简介: 马 芳(1992-), 女, 硕士研究生. E-mail: 1649304362@qq.com

通讯作者: 朱建华, 副教授. E-mail: thesea@ustc.edu.cn

羟基磷灰石(hydroxyapatite, 简称 HAP)作为一种非常重要的生物矿物, 广泛存在于脊椎动物的骨骼和牙齿中^[1-2], 在生物体内起到非常重要的支撑和切割作用。因其具有良好的生物兼容性和生物可降解特性, HAP 被广泛应用于药物和基因传递^[3-4]、组织工程^[5]、骨组织修复^[6]以及其它生物医学领域^[7]。在过去的数十年中, 人们通过化学合成手段合成了不同形貌的 HAP 微/纳米结构, 如微/纳米球、纳米线和纳米管等^[8-9]。中空、多孔微/纳米 HAP 材料具有密度低、比表面积大, 且稳定性好和表面渗透能力强等优点, 在化学、生物、材料科学等领域有重要应用。目前, 合成孔隙体积大、低毒和优良生物相容性的 HAP 等级结构, 拓展其作为药物载体和缓释释放等方向领域, 仍然是 HAP 材料的研究热点。

国内外关于 HAP 的合成和改性方法报道很多, 常用的有溶胶-凝胶法、化学沉淀法、微波辅助法和水热法^[10-12], 在这些合成方法中, 水热法仍是获得高结晶度 HAP 等级材料的首选方法。Lin 等^[13]通过水热法制备的 HAP/Fe₃O₄ 中空微球, 具有较高的载药能力和持续的药物释放性能, 并将其用于负载万古霉素。在水热过程中, 借助有机添加剂作为晶体生长调节剂是非常高效的方法。我们前期采用海藻酸钠作为晶体生长调节剂, 低温快速制备出形貌均匀、长径比达 60~75 的 HAP 单晶纳米棒^[14]。常用的有机添加剂包括有机小分子、聚合物分子和生物大分子等^[15-16]。Lee 等^[17]曾利用磷酸钙骨水泥与海藻酸钠结合得到新型多孔支架材料, 并对牛血清白蛋白和溶解酵素进行药物吸脱附实验, 这两种蛋白释药时间长达 1 个月, 可作为优良的骨修复材料。

本工作采用阳离子聚电解质—PAH 作为晶体生长调控剂, 水热合成中空 HAP 多孔微球。在不同生长阶段, PAH 对晶体的生长过程起到重要的调控作用。微球特殊的微米结构使其对模型药物 IBU 有优良的吸附/脱附效果, 并在不同 pH 条件下显示不同的药物释放效果。

1 实验方法

1.1 实验原料与方法

将不同量 PAH 逐滴加入至 0.1 L Na₂HPO₄ 溶液(20 mmol/L)中, 匀速搅拌 30 min。按照 Ca/P 为 2:5 的摩尔比, 在上述溶液中滴加 8 mL Ca(CH₃COO)₂ 溶液(100 mmol/L), 并用 1 mol/L 盐酸调节溶液 pH 到 5.0, 匀速搅拌 30 min, 形成均匀的前驱体溶液。随后, 将 40 mL 混合液倒入体积为 50 mL 的反应釜

中, 在 150℃ 下水热反应。PAH 浓度控制在 0.06、0.24、0.36 和 0.42 g/L, 反应时间为 0、0.5、1.5、8 和 12 h。水热后反应釜自然冷却, 通过离心分离反应产物, 并用去离子水和无水乙醇洗涤 3 次, 干燥备用。中间产物通过快速冷却, 离心后进行冷冻干燥, 以备测试。

1.2 产物表征

采用 X 射线衍射仪(Ultimate IV, 日本)对产物进行物相分析, 2 θ 范围在 4°~80°, Cu 靶; 仪器自带 PDXL2 相成分分析系统。采用 JSM-6490LV 型场发射扫描电镜(日本)对产物形貌和结构进行分析, 并用 Jeol 2010 型透射电镜(日本)在 200 kV 下进行高分辨(HRTEM)和选区电子衍射(SAED)分析。借助红外光谱仪(Nicolet 6700, 美国)对样品中有机成分进行表征。采用 Zetasizer Nano S90 型动态光散射仪对样品的颗粒粒径及 Zeta 电位进行分析。

2 结果与讨论

2.1 PAH 作用下 HAP 多孔微球的形成

聚丙烯基氯化铵(PAH)的结构式如图 1 所示, 它在水里的溶解度高且热稳定性好。该聚合物分子侧链为 NH₃⁺, 研究表明在 pH=7.4~10 之间, 侧链 NH₃⁺ 发生部分水解; 在 pH=9.5 时分子内一半 NH₃⁺ 去质子化为胺基^[18]。研究表明, PAH 在水溶液中可与多种含氧酸根(碳酸根、磷酸根和硅酸根)耦合, 发生微相分离, 形成囊泡状结构^[19]。

水热反应前, 当 PAH 和 Na₂HPO₄ 溶液混合后, 形成 R-NH₃⁺/PO₄³⁻ 复合结构, 溶液逐渐变得乳浊。光学显微分析发现溶液发生微相分离, 形成类“囊泡”结构(图 2(a))。动态光散射分析(DSL)显示该微结构尺寸在 1.5 μ m 左右(图 3(a)), “囊泡”大小较均匀。由于 PAH 在表面的富集, 囊泡结构带正电荷, Zeta 电位达到 +48.7 mV(图 4(a)); 同时, 电荷间的排斥作用使得“囊泡”在溶液中分散均匀。

钙离子加入后, 溶液颗粒的电位降低到 +25.0 mV(图 4(b)), 颗粒尺寸变小至 780 nm 左右, 并且还有少量 100 nm 的颗粒图 3(b)。这是由于 Ca²⁺ 和“囊泡”表面的 PO₄³⁻ 发生异相成核, 形成磷酸钙纳米颗粒,

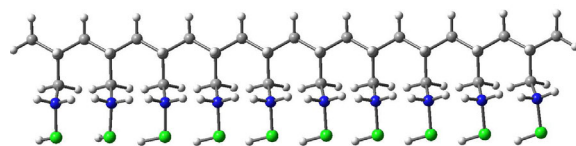


图 1 PAH 的结构式

Fig. 1 Structural formula of PAH

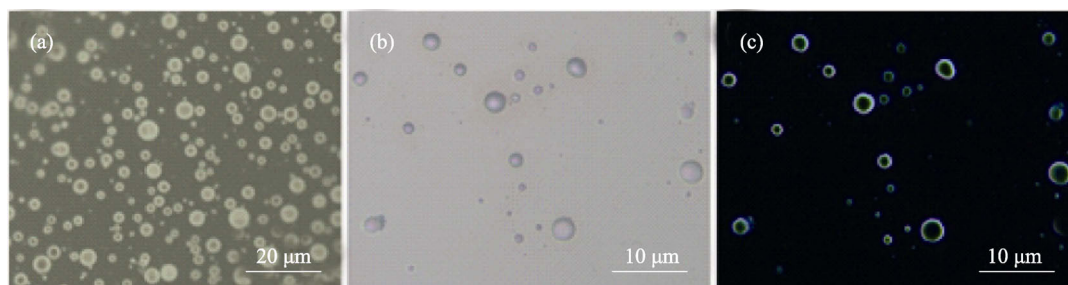


图 2 0.42 g/L PAH 和磷酸氢二钠溶液混合后形成的类“囊泡”结构

Fig. 2 Optical images of "vesicles" after addition of Na_2HPO_4 with PAH (0.42 g/L)

(a) "Vesicles" before introduction of calcium ions; (b) Aggregations after addition of Ca^{2+} ; (c) Polarized image after adding Ca^{2+}

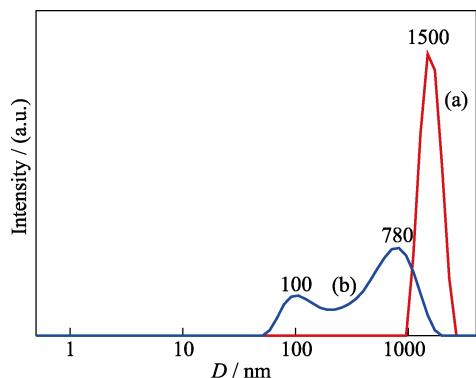


图 3 PAH 和磷酸氢二钠复合物的粒径分布分析(a)和钙离子加入后, 纳米颗粒的粒径分布(b)

Fig. 3 Diameter distributions of "vesicles", which were synthesized by 0.42 g/L PAH and disodium hydrogen phosphate solution before adding calcium ions (a) and calcium phosphate "vesicle structure" after adding calcium ions (b)

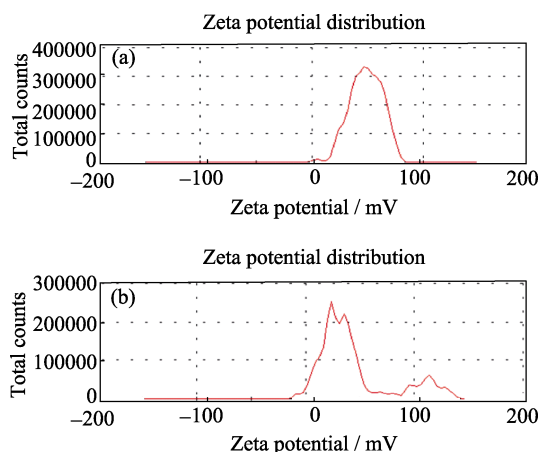


图 4 钙离子加入前(a)后(b), 溶液中颗粒的 Zeta 电位

Fig. 4 Zeta potential of "vesicles" before introduction of calcium ions (a); Zeta potential of nucleated particles after addition of calcium ions (b) ([PAH]=0.42 g/L)

该过程会造成“囊泡”的尺寸收缩; 同时, 少量均相成核生成的小颗粒也会在溶液体相中形成, 它们的尺寸较小, 在 100 nm 左右。偏光显微分析显示该早期颗粒未呈现双折射现象(图 2(c)), 表明颗粒处于非晶状态, 对应于无定形的磷酸钙(ACP)。

2.2 反应时间对合成产物的影响

为了合成多孔的 HAP 微球, 在 150℃ 对混合后的前驱物溶液进行水热反应。当反应进行 0.5 h 时, 快速冷却水热釜终止反应, 并借助离心分离和冷冻干燥的方法获取中间产物, 此时主要反应产物为大小不等的刺状微球(图 5(a))。

XRD 分析显示反应 0.5 h 的产物在 $20^\circ \sim 35^\circ$ 有一个明显峰包(图 7(a)), 这表明此时产物含大量的 ACP。通过软件 PDXL2 分析得出 ACP 含量为 53%,

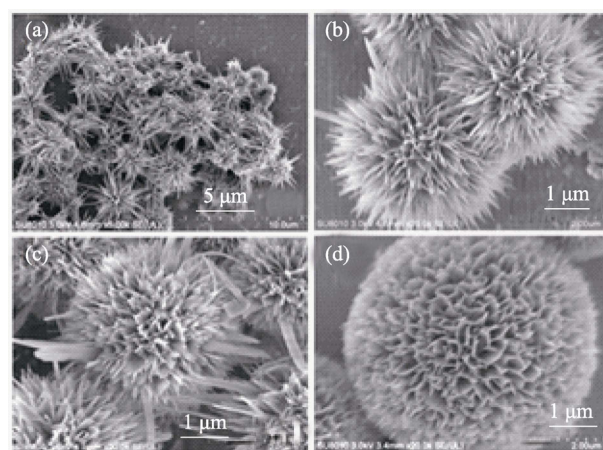


图 5 不同反应时间得到的 HAP 的 SEM 照片

Fig. 5 SEM images of the HAP samples after reacting for different time

(a) 0.5 h; (b) 1.5 h; (c) 8 h; (d) 12 h

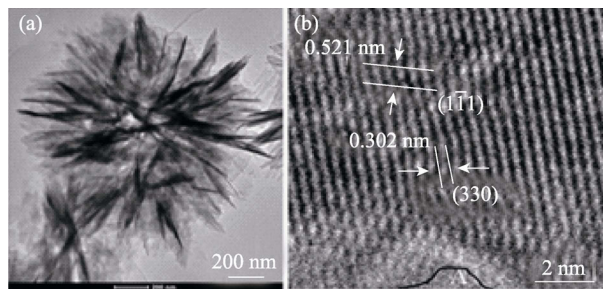


图 6 水热反应 1.5 h 产物的透射电镜(a)和高分辨率透射电镜(b)分析结果

Fig. 6 TEM (a) and HRTEM images (b) of samples after hydrothermally reacting for 1.5 h

而且 XRD 图在 $2\theta=4.7^\circ$ 存在磷酸八钙(OCP)(100)晶面的特征峰^[20], 表明此阶段产物中含有一定量的 OCP(含量为 47%)。文献报道, ACP 倾向于向亚稳定的中间相 OCP 转化, 并进一步向更加稳定的 HAP 转化^[21]。在 PAH 调控的水热反应中, 应经历类似的相变过程。

水热反应 1.5 h 的主要产物仍为刺状微球, 但是微球尺寸逐渐变大(图 5(b))。TEM 分析显示此时球状产物尺寸在 2 μm 左右, 主要由纳米薄片构成, 微球中心松散, 外部较紧密, 为中空结构(图 6(a))。HRTEM 分析揭示微球内有两相共存(图 6(b)): A 为无定形区域, 对应于 ACP 相; 其它区域有明显的晶格条纹, 晶格间距为 0.521 nm 和 0.302 nm, 分别对应于 OCP 的(1 $\bar{1}$ 1)和(330)晶面。XRD 分析同样证实水热反应 1.5 h 产物主要含有 ACP(含量 45%)和 OCP(含量 50%), 同时还含有少量的 HAP(含量 5%)(图 7(b))。这表明随着水热反应时间的延长, ACP 经过亚稳的 OCP, 逐渐向更加稳定的 HAP 转化^[22-23]。

水热反应 8 h 的产物为形貌尺寸较均一的微球, 尺寸在 3 μm 左右(图 5(c))。XRD 分析表明产物中 ACP 消失, 由 OCP 和 HAP 的混合相组成。其中 OCP 衍射峰减弱, HAP (002) 的峰强度显著变强(图 7(c))。结合软件 PDXL2 得出 OCP 含量为 77%, HAP 含量为 23%, 表明在水热条件下, 随着水热反应时间的延长, 亚稳的 OCP 相会逐渐向热力学更加稳定的 HAP 转化^[24]。水热反应 12 h 的合成产物只有 HAP, 且微球形貌较均一(图 5(d))。XRD 分析显示此时 OCP 衍射峰消失, 产物完全转化为稳定的 HAP 相(图 7(d))。FT-IR 图谱(图 8(a))显示: 水热反应前, 在 3440 和 1647 cm^{-1} 处的吸收峰对应水分子中的 -OH 振动峰, 530 cm^{-1} 处的单峰表示产物为 ACP, 这与

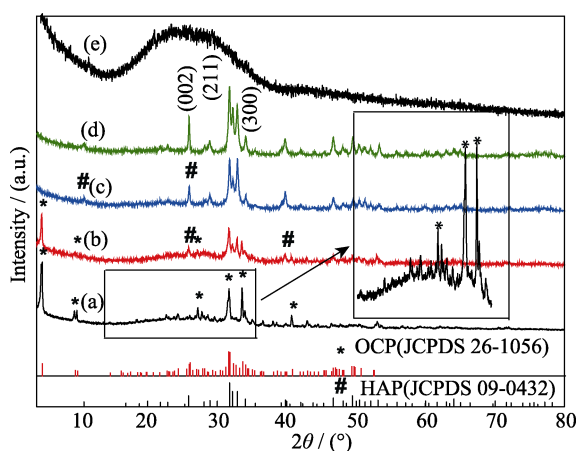


图 7 不同反应时间产物的 XRD 图谱

Fig. 7 XRD patterns of HAP samples after being reacted for various time

(a) 0.5 h; (b) 1.5 h; (c) 8 h; (d) 12 h; (e) 0 h

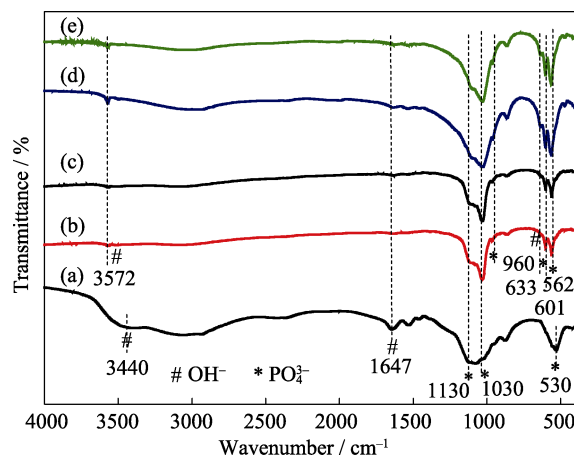


图 8 不同水热时间合成产物的 FTIR 图谱

Fig. 8 FTIR spectra of the products synthesized by hydrothermal method for different time

(a) 0 h; (b) 0.5 h; (c) 1.5 h; (d) 8 h; (e) 12 h

XRD 的分析结果相符(图 7(e))。水热反应 1.5 h 后, 3572 和 633 cm^{-1} 处的 -OH 摆动振动峰逐渐增强, 说明产物中有 HAP(图 8(d), (e))。此时合成 HAP 的 FT-IR 图谱显示在 1130、1030、960、601 和 562 cm^{-1} 附近有 PO_4^{3-} 的特征谱带, 前两处峰对应 PO_4^{3-} 的非对称伸缩振动峰, 960 cm^{-1} 处峰对应 PO_4^{3-} 的对称伸缩振动峰, 其余对应 PO_4^{3-} 的弯曲振动峰^[25]。633 cm^{-1} 附近峰对应 -OH 的摆动振动峰^[26], 601 和 562 cm^{-1} 附近的分裂峰则表明产物已经结晶^[27], 这些特征谱带进一步证实合成产物为 HAP。

水热反应 12 h 产物为直径 3 μm 左右的微球(图 9(a)), 表面主要为纳米短棒, 直径在 30~50 nm。虽然纳米棒整体以球为中心发散排列, 但在小区域内仍呈现紧密排列趋势, 有时会形成片状结构。在很多生物矿物中, 无机成分在基质调控下微观尺度上经常呈现高度组装特性。如脊椎动物牙齿中 HAP 纳米棒呈现较为有序的排列状态, 这对保持牙齿良好的耐磨性能非常重要。在实验合成的 HAP 纳米棒组成的微球中, 纳米棒间也呈现一定的组装特性, 这应与“软模板”PAH 在表面吸附有关^[28]。吸附有 PAH 分子的纳米棒之间可借助氢键相互作用, 有序排列^[29-30]。

HRTEM 图片(图 9(c))显示纳米棒具有良好的结晶性, 晶格条纹清晰; 0.344 nm 和 0.308 nm 的晶格间距分别对应于 HAP 的(002)和(210)晶面。SAED 花样呈规则的矩形点阵, 表明 HAP 纳米棒为正交相单晶, 晶体沿着 $\langle 002 \rangle$ 方向生长。

2.3 PAH 浓度对合成产物的影响

在其它条件不变的情况下, 改变 PAH 浓度研究 PAH 浓度对合成产物的影响。在未添加 PAH 时, 水热合成的 HAP 为不规则的棒状或片状, 纳米棒之间

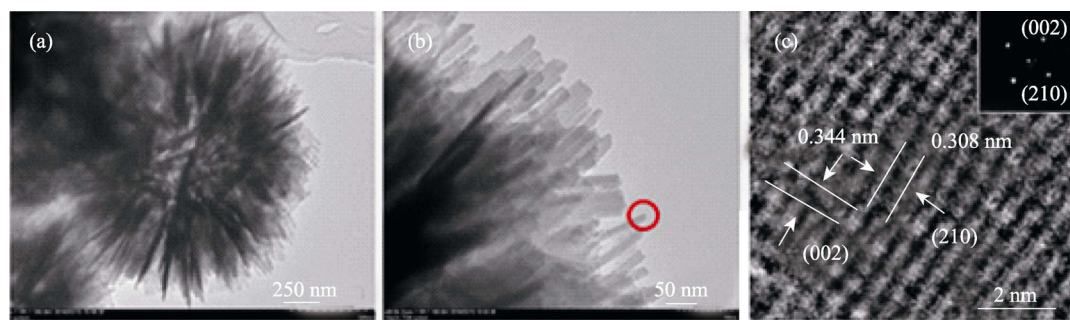


图 9 水热反应 12 h 产物的 TEM 照片(a, b)和 HRTEM 分析结果(c), (c)图中的插入图为选区电子衍射花样
Fig. 9 TEM (a, b) and HRTEM (c) images of HAP microspheres after reacting for 12 h. Inset in (c) shows the selected area diffraction (SAED) pattern([PAH]=0.42 g/L)

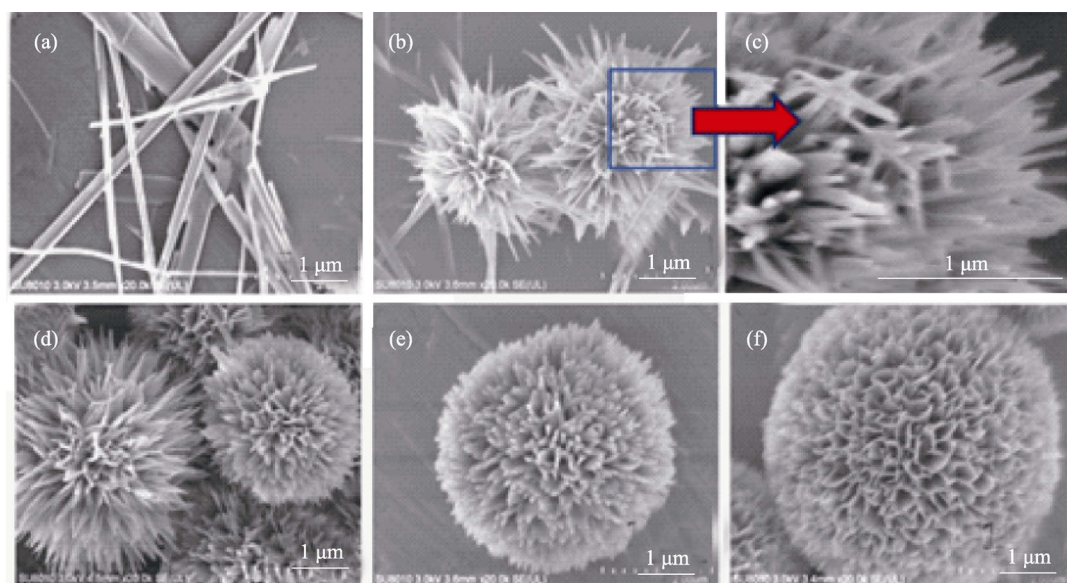


图 10 不同 PAH 浓度下水热合成产物的 SEM 图片

Fig. 10 SEM images of the HAP samples synthesized by hydrothermal method with different PAH concentrations
(a) 0 g/L; (b) 0.06 g/L; (c) 0.06 g/L; (d) 0.24 g/L; (e) 0.36 g/L; (f) 0.42 g/L

无任何组装特性(图 10(a))。PAH 浓度低于 0.06 g/L 时, 主要产物为长度不一的短棒构成的 HAP 刺状微球(图 10(b)-(c)), 尺寸为 2~3 μm 。当 PAH 浓度为 0.24 g/L 时, 合成 HAP 微球产量增加, 组装基元主要为尺寸均匀的针状(图 10(d))。PAH 浓度为 0.36 g/L 时, 溶液中部分 PAH 吸附在 HAP 棒的表面, 使得表面带有一定的电荷, 从而有利于纳米棒之间的有序排列, 针状逐渐向片状转化(图 10(e))。显然, PAH 浓度较低不利于片状自组装基元的 HAP 微球的生成。随着 PAH 反应浓度继续升高(0.42 g/L), HAP 纳米棒之间的有序排列越明显, 针状有序排列形成片状, 最终形成片状组装基元的 HAP 多孔微球(图 10(f)), 粒径大小为 3~4 μm 、孔径大小为 0.2~0.5 μm , 且片状组装基元尺寸较均匀。

不同 PAH 浓度条件下合成产物的 XRD 分析结果表明(图 11), 水热合成的产物均为正交相的 HAP (PDF 09-0432, $a=b=0.9418$ nm, $c=0.6884$ nm, 空间

群 $P6_3/m$)。随着 PAH 浓度逐渐升高, 产物(002)的衍射峰相对强度逐渐增强。

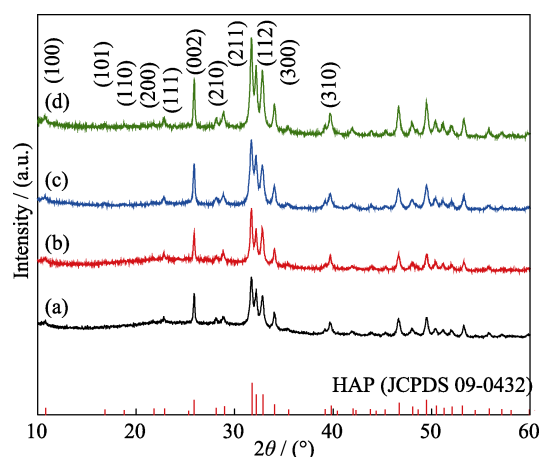


图 11 不同 PAH 浓度条件下产物的 XRD 图谱

Fig. 11 XRD patterns of the HAP samples synthesized by hydrothermal method with different PAH concentrations
(a) 0.06 g/L; (b) 0.24 g/L; (c) 0.36 g/L; (d) 0.42 g/L

当 PAH 浓度为 0.42 g/L 时, HAP (002)晶面的衍射峰相对强度达到 71.08%, 而标准卡片的相对强度为 40%, 说明 HAP 有沿 c 轴取向生长的倾向, 符合 HAP 晶胞结构的特性(具有沿 c 轴排列生长的优势^[31])。这表明, PAH 可以通过表面吸附促进 HAP 在<002>方向的生长, 随着 PAH 浓度的增加, 这种促进作用更加明显。

结合 SEM 和 XRD 分析结果, 可以得到合成 HAP 的最佳 PAH 浓度为 0.3~0.5 g/L, 150℃ 水热反应 12 h, 此时合成的微球直径在 3~4 μm , 孔径大小为 0.2~0.5 μm 。

3 机理分析

综合以上分析结果, 可以得出多孔 HAP 微球的生成机理(图 12), 主要包括: “囊泡”状微结构(I)、异相成核(II)、表面调控与定向生长(III)等生长阶段。

1) 早期基质微结构: Stage I 阶段, 在常温、酸性条件下, PAH 中的胺基主要以 $\text{RNH}_3^+\text{Cl}^-$ 形式存在, 并在溶液中和磷酸根相互作用, 发生微相分离, 形成“囊泡”状微结构的前驱体溶液(图 2(a))。此时 PAH 作为软模板, 提供成核位点。

2) 异相成核: Stage II 阶段, 常温下, 反应物 CaCl_2 溶液逐滴加入 Stage I 阶段的前驱体溶液中并快速成核, 此时形成大量的 PAH-ACP 微球(图 2(b), (c))。

3) 表面调控与定向生长: Stage III 阶段初期, 是 ACP 和 OCP 混合相的形成阶段(图 7(a), (b))。水热条件促使 ACP 向亚稳相 OCP 转化, 同时部分 PAH 被释放到溶液中。溶液中的 PAH 通过氢键吸附在 HAP 的表面, 调控 HAP 定向生长, 从而调控粒子形貌, 另由于 PAH 的空间位阻作用, 形成了由针状自组装的两相混合的微球, 此时针状自组装基元尺寸不均一。Stage III 阶段中期, 随着反应的进行, 无定形相完全消失, OCP 持续向 HAP 稳定相转化(图

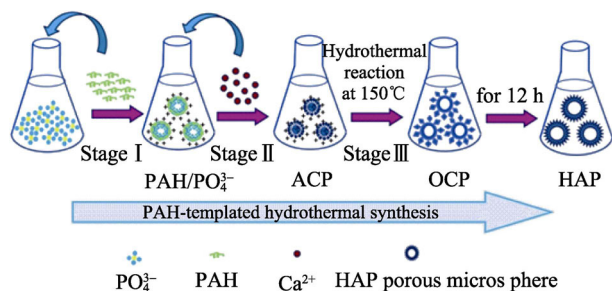


图 12 HAP 多孔微球的形成机理示意图

Fig. 12 Illustration for the strategy of HAP porous microspheres

7(c)). Stage III 阶段后期, OCP 完全转化为 HAP 稳定相(图 7(d)), 同时大部分 PAH 被释放到溶液中。此时, 部分 PAH 吸附在 HAP 的表面上, PAH 中的 (NH_2-) 与 HAP 结构中的 $-\text{OH}$ 形成氢键, 调控棒状 HAP 间的有序排列, 最终形成了片状组装的 HAP。

4 HAP 在药物传输上的应用

4.1 多孔微球的比表面积和孔径分析

HAP 的 N_2 吸脱附等温曲线及孔径分布图如图 13 所示, 根据国际纯粹与应用化学联合会, 图中的等温吸附曲线属于第 IV 类型的等温线循环。据此可计算出微球的 BET 比表面积为 $S_{\text{BET}}=18.75 \text{ m}^2/\text{g}$, 平均孔隙大小为 110 nm 左右, 其孔径属于大孔。

4.2 多孔微球的药物吸/脱附

实验以布洛芬(IBU)作为模型药物, 对多孔 HAP 微球的药物负载与释放行为进行研究。由药物加载前后 IBU 溶液的紫外-可见光谱(图 14(a)~(b)) 和反应 6 h 时 IBU 释放到磷酸缓冲液(PBS, $\text{pH}=7.4$) 中的紫外-可见光谱(图 14(c))显示, 吸光度曲线峰型和峰位基本一致, 说明 IBU 在吸脱附过程中, 性质没有改变。在药物实际应用时, 确保药物在加载与释放过程中性质保持不变非常重要。

在 37℃ 条件下, 多孔 HAP(100 mg)在 50 mL IBU 己烷溶液(40 mg/mL)中吸附 24 h。实验结果表明, 多孔 HAP 对 IBU 的吸附量较好, 可以达到 413.65 mg/g。良好的载药性能主要归于以下几个原因: 首先, HAP 的多孔结构能够对 IBU 提供较强的吸附力; 其次, HAP 微球表面容易吸附带正电荷的 PAH 聚电解质, 较容易在溶液中通过静电吸附作用结合带负电荷的 IBU 分子; 最后, IBU 中的 $-\text{COOH}$

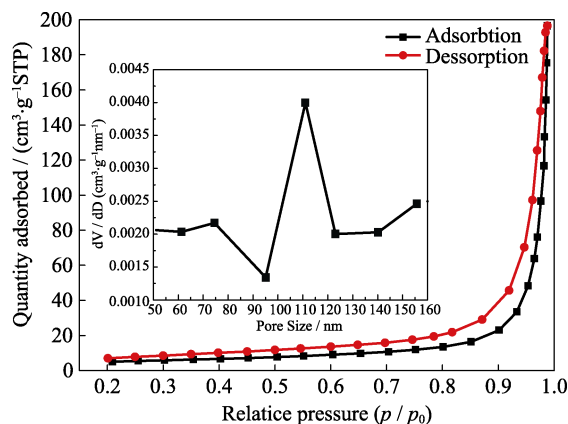


图 13 HAP 的 N_2 吸脱附等温曲线及孔径分布图

Fig. 13 N_2 adsorption-desorption isotherm and the pore size distribution of HAP porous microspheres prepared by a hydrothermal method at 150℃ for 12 h

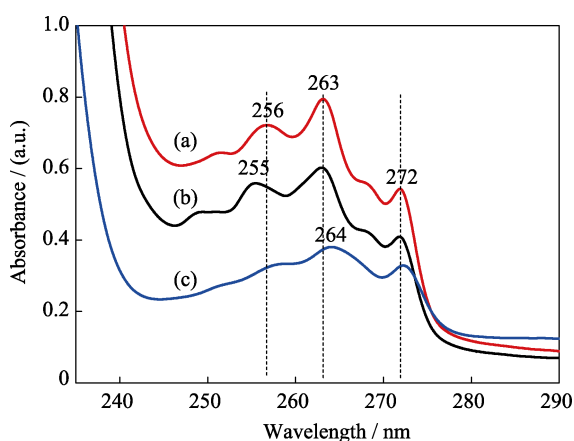


图 14 (a) IBU 正己烷溶液和(b)IBU 被 HAP 吸附后溶液的紫外-可见光谱; (c)IBU 释放 6 h 后, PBS 溶液中的紫外-可见光谱

Fig. 14 UV-Vis spectra of IBU before (a) and after (b) adsorption onto the surface of porous microspheres, UV-Vis spectrum of IBU in the PBS solution after releasing for 6 h (c)

与 HAP 中的-OH 之间形成氢键, 促进 HAP 对 IBU 的吸附。

负载 IBU 微球的释放曲线(图 15)是在 10 mL 磷酸缓冲液(PBS, pH=4.0、5.6、7.4)中测定, 实验选取在不同时间间隔内, 每次从释放溶液中取出 2 mL, 用于紫外分析。HAP/IBU(50 mg)的释放浓度可以通过以下公式计算:

$$y = 0.03463 + 1.56053c \quad (1)$$

y 代表吸光度值, c 代表 IBU 在 PBS 中的浓度。

IBU 在 PBS 溶液(pH=4.0、5.6、7.4)中的释放量, 由公式(2)计算得出:

$$m = c \cdot V \quad (2)$$

m 表示 IBU 在 PBS 溶液(pH=4.0、5.6、7.4)中的释放量, c 代表 IBU 在 PBS 溶液中的浓度, V 表示 PBS 溶液的总体积。

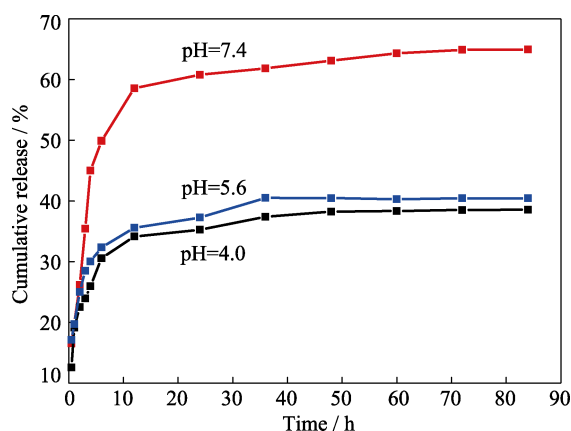


图 15 负载 IBU 的多孔 HAP 微球在 pH=4.0、5.6 和 7.4 的 PBS 溶液中的释放曲线, 37℃

Fig. 15 IBU release profiles of porous microspheres in PBS solution of pH at 4.0, 5.6 and 7.4, under 37℃

从图 15 中看出, HAP/IBU 在 pH=7.4 的 PBS 溶液中释放较快, 在释放时间为 12 h 时, 累积释放率达到 58.57%。随着释放时间的延长, HAP/IBU 在 PBS 溶液中释放趋于平缓。当释放时间超过 60 h 以后, 药物释放达到平台期, 累积释放率维持在 64.95%。而 HAP/IBU 在 pH=4.0 和 5.6 的 PBS 溶液中释放较为缓慢, 且累积释放率分别为 38.55% 与 40.42%。对比得出, IBU 在 pH=7.4 的 PBS 溶液中释放较多, 但仍不能完全从 HAP/IBU 中释放出来。这应归因于在酸性或接近于酸性的条件下, IBU 中的-COOH 与 HAP 中的-OH 之间形成氢键, IBU 与 HAP 之间有较强的吸附作用。

5 结论

1) 在较低的 PAH 浓度(0.3~0.5 g/L)调控下, 可以较短时间(12 h)内水热合成由纳米棒组装形成的中空微球。多孔微球的生长经历了“囊泡”聚集体结构(I)、异相成核(II)和相转变(III)三个阶段。

2) PAH 可以促进 HAP 在囊泡表面的异相成核, 并促进 HAP 纳米棒在<002>方向优先生长。部分 PAH 吸附在 HAP 基元表面, 借助氢键作用, 调控棒状 HAP 的有序排列, 最终组装形成片状组装的 HAP 多孔微球。

3) HAP 多孔微球对药物 IBU 吸附 24 h 后的加载量为 413.65 mg/g。随着释放时间的延长, HAP/IBU 在 pH=7.4 的 PBS 溶液中释放率较大。当释放时间大于 60 h 以后, 药物释放达到平台期, 累积释放率维持在 64.95% 左右, 且不随时间的变化而变化。

参考文献:

- [1] DOROZHKIN S V. Calcium orthophosphates in nature, biology and medicine. *Materials*, 2009, **2**(2): 399-498.
- [2] PALMER L C, NEWCOMB C J, KALTZ S R, *et al.* Biomimetic systems for hydroxyapatite mineralization in inspired by bone and enamel. *Chemical Reviews*, 2009, **108**(6): 4754-4783.
- [3] WANG K W, ZHU Y J, CHEN X Y, *et al.* Flower-like hierarchically nanostructured hydroxyapatite hollow spheres: facile preparation and application in anticancer drug cellular delivery. *Chemistry-An Asian Journal*, 2010, **5**(12): 2477-2482.
- [4] TANG Q L, ZHU Y J, WU J, *et al.* Calcium phosphate drug nano-carriers with ultrahigh and adjustable drug-loading capacity one-step synthesis, *in situ* drug loading and prolonged drug release. *Nanomedicine Nanotechnology Biology & Medicine*, 2011, **7**(4): 428-434.
- [5] DEVILLE S, SAIK E, TOMSIA A P. Freeze casting of hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 2006, **27**(32): 5480-5489.
- [6] WANG C, WANG Y, MENG H Y, *et al.* Research progress regard-

- ing nanohydroxyapatite and its composite biomaterials in bone defect repair. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 2016, **65**(12): 601–610.
- [7] ZHANG G D, CHEN J D, YANG S, *et al.* Preparation of amino-acid-regulated hydroxyapatite particles by hydrothermal method. *Materials Letters*, 2011, **65**(3): 572–574.
- [8] DING G J, ZHU Y J, QI C, *et al.* Amorphous calcium phosphate nanowires prepared using beta-glycerophosphate disodium salt as an organic phosphate source by a microwave-assisted hydrothermal method and adsorption of heavy metals in water treatment. *RSC Advances*, 2015, **5**(50): 40154–40162.
- [9] LU B Q, ZHU Y J, CHEN F, *et al.* Solvothermal transformation of a calcium oleate precursor into large-sized highly ordered arrays of ultralong hydroxyapatite microtubes. *Chemistry*, 2014, **20**(23): 7116–7121.
- [10] LIU D M, YANG Q, TROCZYNSKI T, *et al.* Structural evolution of Sol-Gel derived hydroxylapatite. *Biomaterials*, 2002, **23**(7): 1679–1687.
- [11] KIM W, SAITO F. Sonochemical synthesis of hydroxyapatite from H_3PO_4 solution with $Ca(OH)_2$. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2001, **8**(2): 85–88.
- [12] WANG K W, ZHU Y J, CHEN F, *et al.* Microwave-assisted synthesis of hydroxyapatite hollow microspheres in aqueous solution. *Materials Letters*, 2011, **65**(15): 2361–2363.
- [13] LIN K L, CHEN L, LIU P Y, *et al.* Hollow magnetic hydroxyapatite microspheres with hierarchically mesoporous microstructure for pH-responsive drug delivery. *CrystEngComm*, 2013, **15**(15): 2999–3008.
- [14] MA L, ZHU J H, HUANG L. Rapid synthesis of hydroxyapatite nanorods at low temperature controlled by sodium alginate. *Journal of Inorganic Materials*, 2015, **30**(3): 311–317.
- [15] ZHAO H, ZHU Y D, SUN J, *et al.* Synthesis of hollow hydroxyapatite nanospheres by the control of nucleation and growth in a two phase system. *Chemical Communications*, 2014, **50**(83): 12519–12522.
- [16] WU Y J, TSENG Y H, CHAN J C C. Morphology control of fluorapatite crystallites by citrate ions. *Crystal Growth & Design*, 2010, **10**(10): 4240.
- [17] LEE G S, PARK J H, SHIN U S, *et al.* Direct deposited porous scaffolds of calcium phosphate cement with alginate for drug delivery and bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 2011, **7**(8): 3178–3186.
- [18] CANTAERT B, KIM Y Y, LUDWIG H, *et al.* Think positive: phase separation enables a positively charged additive to induce dramatic changes in calcium carbonate morphology. *Advanced Functional Materials*, 2012, **22**(5): 907–915.
- [19] HIROFUMI D, EITARO M, SATOSHI M. Fabrication of hollow poly-allylamine hydrochloride/poly-sodium styrene sulfonate microcapsules from microbubble templates. *Soft Matter*, 2010, **6**(9): 1892–1897.
- [20] SUZUKI O, KAMAKURA S, KATAGIRI T, *et al.* Bone formation enhanced by implanted octacalcium phosphate involving conversion into Ca-deficient hydroxyapatite. *Biomaterials*, 2006, **27**(13): 2671–2681.
- [21] DING H C, PAN H H, XU X R, *et al.* Toward a detailed understanding of magnesium ions on hydroxyapatite crystallization inhibition. *Crystal Growth & Design*, 2014, **14**(2): 763–769.
- [22] ZHAN J, TSENG Y, CHAN J C C, *et al.* Biomimetic formation of hydroxyapatite nanorods by a single-crystal-to-single-crystal transformation. *Advanced Functional Materials*, 2005, **15**(12): 2005–2010.
- [23] LIN K, CHANG J, ZHU Y, *et al.* A facile one-step surfactant-free and low-temperature hydrothermal method to prepare uniform 3D structured carbonated apatite flowers. *Crystal Growth & Design*, 2009, **9**(1): 177–178.
- [24] ZHANG Y J, LU J J, WANG J Q, *et al.* Synthesis of nanorod and needle-like hydroxyapatite crystal and role of pH adjustment. *Journal of Crystal Growth*, 2009, **311**(23/24): 4740–4746.
- [25] REN F, LENG Y, DING Y, *et al.* Hydrothermal growth of biomimetic carbonated apatite nanoparticles with tunable size, morphology and ultrastructure. *CrystEngComm*, 2013, **15**(11): 2137–2146.
- [26] VISWANATH B, RAVISHANKAR N. Controlled synthesis of plate-shaped hydroxyapatite and implications for the morphology of the apatite phase in bone. *Biomaterials*, 2008, **29**(36): 4855–4863.
- [27] ZHANG X J, LIN D Y, YAN X H, *et al.* Evolution of the magnesium incorporated amorphous calcium phosphate to nanocrystallized hydroxyapatite in alkaline solution. *Journal of Crystal Growth*, 2011, **336**(1): 60–66.
- [28] GORDON L M, COHEN M J, MACRENARIS K W, *et al.* Amorphous intergranular phases control the properties of rodent tooth enamel. *Science*, 2015, **347**(6223): 726–750.
- [29] CHEN F, ZHU Y J, ZHAO X Y, *et al.* Solvothermal synthesis of oriented hydroxyapatite nanorod/nanosheet arrays using creatine phosphate as phosphorus source. *CrystEngComm*, 2013, **15**(22): 4527–4531.
- [30] QI C, ZHU Y J, LU B Q, *et al.* Hydroxyapatite hierarchically nanostructured porous hollow microspheres: rapid, sustainable microwave-hydrothermal synthesis by using creatine phosphate as an organic phosphorus source and application in drug delivery and protein adsorption. *Chemistry*, 2013, **19**(17): 5332–5341.
- [31] VALLET-REGÍ, GONZÁLEZ-CALBET J M. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. *Progress in Solid State Chemistry*, 2004, **32**(1): 1–31.