

有机泡沫浸渍法制备多孔生物玻璃支架的研究

谢林^{1,2}, 陈晓峰^{1,2}, 赵娜如^{1,2}, 郭常亮^{1,2}

(华南理工大学 1. 材料学院 生物材料研究所; 2. 特种功能材料教育部重点实验室, 广州 510640)

摘要: 选用58S生物活性玻璃粉体为原料,利用预先处理过的聚氨酯泡沫作为模板,制备了一种孔隙率高,贯通性好,孔径可控的生物玻璃多孔支架. 并通过排水法、X射线衍射(XRD)、扫描电子显微镜(SEM)及傅里叶红外光谱(FTIR)等方法研究和表征了多孔支架的显气孔率、晶相组成、显微形貌和生物活性. 结果表明,浸料一次所得支架的显气孔率为93%左右,浸料二次下降为80%左右;在SBF溶液中,随着时间的延长,材料表面最初形成的颗粒状钙磷化合物逐渐矿化生成叶片状碳酸羟基磷灰石(HCA)层,表明该材料恒温37℃时具有较好的生物矿化性能和生物活性.

关键词: 生物活性玻璃; 有机泡沫浸渍法; 多孔支架; 碳酸羟基磷灰石

中图分类号: R318, TQ171

文献标识码: A

Study on Porous Bioglass Scaffold Prepared by Dipping with Polymer Foams

XIE Lin^{1,2}, CHEN Xiao-Feng^{1,2}, ZHAO Na-Ru^{1,2}, GUO Chang-Liang^{1,2}

(1. Biomaterials Research Institute, College of Materials Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China; 2. The Key Laboratory of Specially Functional Materials, Ministry of Education, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The porous bioglass scaffolds with high porosity and interconnectivity and controllable pore size were prepared by using the powder of sol-gel derived bioactive glass-58S as the material and the pre-produced polymer foam as the template. The apparent porosity, crystalline phases, micro-morphologies and bio-activity were investigated by using Archimedes drainage method, X-ray Diffraction (XRD), Scan emission Microscope (SEM) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) techniques. The results show that the apparent porosity of the porous scaffolds can reach about 93% when the materials are dipped once, while the apparent porosity decreases to 80% after dipped twice. The originally formed amorphous-phosphorus compounds on the surface of samples are mineralized to hydroxyl-carbonate-apatite (HCA) with increasing dipping time in the SBF solution as the reaction progressed. So it can be concluded that this kind of material has good bio-mineralization property and bioactivity in SBF solution at the constant temperature of 37℃.

Key words: bioactive glass; organic foam impregnation; porous scaffold; hydroxyl-carbonate-apatite (HCA)

生物活性玻璃是一种具有优良生物相容性及生物活性的无机类生物活性材料,它能够在植入部位迅速发生一系列表面反应,形成与骨和软组织都能产生良好结合的碳酸羟基磷灰石层^[1-3],近年来,生物玻璃作为一种优异的骨移植材料得到了迅速的发展,其中熔融法制备的45S5已进入临床应用多年,并取得了良好的治疗效果. 理想的骨组织修复支架材料应具备三维立体多孔结构,这种结构有利于细胞粘附增殖、细胞外基质沉积、营养和氧气进入及代谢产物排

出,也利于血管和神经长入^[4],而以生物活性玻璃为原料制备多孔支架材料近几年来已有广泛的研究报道^[5].

目前多孔支架材料的常见制备方法有添加造孔剂法、发泡法、有机泡沫浸渍法等. 其中添加造孔剂法难以得到高的孔隙率,并且易造成支架材料的孔径分布不均匀;而发泡法则很难控制气孔的分布,并且多孔体的机械强度往往不高;有机泡沫浸渍法是Schwartzwalden于1963年提出的^[6],由于该方法制备

工艺简单,制备的多孔材料孔隙率高,孔径大小容易调控,而且具有开孔三维网状骨架结构,能较好地满足骨组织工程支架材料对多孔结构的要求,所以该方法自提出以来得到了广泛的研究和应用^[7]. 本研究利用预先处理过的聚氨酯泡沫作为模板,再由溶胶-凝胶法制备的 58S 生物活性玻璃粉体浆料中浸泡后,除去模板制备了一种孔隙率高、贯通性好、孔径可控的生物玻璃支架材料. 并在模拟体液 (SBF) 中考察了此种生物玻璃多孔支架的生物活性.

1 实验部分

1.1 58S 溶胶-凝胶生物活性玻璃制备

溶胶-凝胶生物活性玻璃 58S 的化学组成为^[8]: SiO_2 60wt%, P_2O_5 4wt%, CaO 36wt%. 所用原料:去离子水;盐酸 (HCl) (分析纯);正硅酸乙酯 (TEOS) (分析纯);磷酸三乙酯 (TEP) (化学纯);四水硝酸钙 ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (分析纯). 其制备可分四步完成:① 溶胶液的配置:将 2mol/L 浓度的盐酸 (HCl) 溶液作为催化剂加入盛有去离子水的烧杯中,通过磁力搅拌使溶液均匀,将正硅酸乙酯 (TEOS) 加入上述溶液中,在室温条件下搅拌水解 30min 后,加入磷酸三乙酯 (TEP),继续搅拌 20min,最后缓慢加入颗粒状四水硝酸钙 ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$),充分搅拌均匀后获得透明均一稳定的溶胶;② 将溶胶在室温条件下静止陈化 5~7d,使水解缩聚反应充分进行,形成湿凝胶;③ 将湿凝胶置于鼓风干燥箱中,直至形成干凝胶;④ 再将干凝胶置于箱式炉中经过特定的热处理工艺过程获得 58S 生物活性玻璃.

1.2 聚氨酯泡沫的选择与处理

为了改善泡沫与生物玻璃浆料的润湿性,本研究先将裁剪好的聚氨酯泡沫体放入 1mol/L NaOH 溶液中浸泡 2h,洗涤、干燥;再将干燥好的泡沫体浸入 0.5wt% 的吐温-80 中浸泡 30min;最后,将改性好的泡沫体洗涤,干燥备用.

1.3 生物活性玻璃多孔支架的制备

将制备好的 58S 生物玻璃球磨 4h,取粒径小于 $15\mu\text{m}$ 的生物玻璃粉末待用. 在一定量的去离子水中加入 5wt% 的聚乙烯醇 (PVA) 做粘结剂,在 80℃ 恒温水浴中加热,剧烈搅拌,待 PVA 完全溶解后加入 40wt% 过筛后的 58S 生物活性玻璃粉体,剧烈搅拌 1h

制成浆料,将所得浆体经 10min 超声波震动混合均匀后,抽真空除去料浆中的气泡. 把预先准备好的聚氨酯泡沫浸渍到浆料里,待浸渍完全后把多余浆料挤出. 经浸渍成型后的泡沫坯体在室温下干燥 24h,再于 60℃ 下干燥 12h,选择其中若干干燥好的素坯以同样方法再次浸料干燥,既为二次浸料样品. 最后以 2℃/min 的升温速率在 1000℃ 下于箱式电阻炉中煅烧 2h 把泡沫除去,随炉冷却,即得到孔隙率高、贯通性好和孔径可控的生物玻璃支架材料.

1.4 多孔支架的结构与性能表征

本研究通过阿基米德排水法对样品的显气孔率进行测试;采用荷兰 Panlytical 公司生产的 XpertPRO X 射线衍射分析仪对 SBF 溶液浸泡前后样品生成的晶相进行分析测试;采用美国 Nicolet 公司生产的 NEXUS 傅立叶红外光谱仪测定样品的吸收光谱,从而对样品的生物矿化产物进行测定;采用德国 LEO 公司生产的 LE01530VP 扫描电子显微镜对原样及在 SBF 溶液中浸泡不同时间的试样进行表面形貌分析.

1.5 多孔支架的体外矿化实验研究

参照人体血浆中各离子浓度,由各种无机盐溶于去离子水中配制模拟生理溶液 (SBF),用于生物玻璃支架材料的体外矿化实验^[9,10]. SBF 溶液的离子浓度与人体血浆中各离子的离子浓度相近 (表 1). 样品尺寸为 $10\text{mm} \times 10\text{mm} \times 5\text{mm}$,所配制 SBF 溶液 pH 值在 7.25~7.40 之间. 将每个试样放置于 37℃ 恒温静态的 100mL SBF 溶液中,分别浸泡 2、5、10 和 15d 后取出矿化样品,用去离子水和丙酮反复冲洗多次后,置于 60℃ 电热恒温鼓风干燥箱中干燥 2h 后取出,密封保存,测试备用.

2 结果与讨论

2.1 多孔支架的显气孔率

通过阿基米德排水法测试样品显气孔率的结果表明 (图 1):浸料一次得到的样品显气孔率均在 93% 左右,而浸料二次得到的样品显气孔率下降为 80% 左右. 造成这种现象可能是由于对素坯进行二次涂覆可以增加原来孔筋上浆料的厚度,使原来的部分大孔孔径减小、原来的部分微孔消失,从而使材料的显气孔率下降.

表 1 SBF 溶液和人体血浆的各离子浓度 (mmol/L)
Table 1 Ion concentrations (mmol/L) of SBF and human blood plasma

Ion concentrations	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ⁻	SO ₄ ⁻
SBF	142.0	5.0	1.5	2.5	147.8	4.2	1.0	0.5
Blood plasma	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	2.7	1.0	0.5

浸料一次所得多孔支架材料显气孔率虽然可以高达 90% 以上,但是其成品率太低,所以本工作的以下研究分析均是以二次浸料所得多孔支架为研究对象.

2.2 多孔支架矿化前后的 FTIR 分析

由图 2 所示样品的 FTIR 图谱可知,烧结的原样在 506 和 604 cm^{-1} 出现双峰,此成对峰是结晶态的 P—O 弯曲振动所致,这说明支架材料在 1000 $^{\circ}\text{C}$ 高温下烧结表面已有结晶态的 HA 生成^[11,12]. 随着浸泡时间的延长,此双峰存在先逐渐减弱又逐渐增强的趋势,这是由于先前在结晶材料表面生成的一层无定形态的磷酸盐逐渐变为结晶态的碳酸羟基磷灰石 (HCA, hydroxyl-carbonate apatite) 所致. 在 465 cm^{-1} 出现的吸收峰是由四面体 Si—O—Si 弯曲振动所致, 800 cm^{-1} 出现的吸收峰是由 Si—O—Si 在 Si—O 网络内的伸缩振动所引起的, 960 cm^{-1} 处出现的小肩峰是由含两个非桥氧的 Si—O 伸缩振动所致,通过 FTIR 图谱可以看出这三处的振动峰都随着浸泡时间的延长

逐渐变弱,表明 Si—O—Si 的玻璃网络逐渐遭到破坏,这可能是由于 Ca、P 离子从玻璃网络中逐渐溶出导致的^[13]. 材料矿化 2d 后在 1045 cm^{-1} 处的 P—O 伸缩振动(在玻璃网络内)变得明显. 同时在 871 cm^{-1} 位置出现了对应 C—O 弯曲振动峰,在 1419 和 1460 cm^{-1} 处出现了对应 C—O 伸缩振动的双峰^[14],说明原样表面生成的结晶态 HA 与溶液中的 CO_3^{2-} 继续反应生成了 HCA,且随着浸泡时间的延长,这三处标志 CO_3^{2-} 出现的吸收峰逐渐增强,表明材料表面矿化所形成的 HCA 结晶态逐渐提高,生成量逐渐增加^[15,16]. 因此,通过 FTIR 光谱可以看出此生物玻璃多孔支架材料具有良好的生物活性.

2.3 多孔支架矿化前后的 XRD 分析

从图 3 可以看出,由于支架材料是在 1000 $^{\circ}\text{C}$ 高温下烧结而成,且烧结速率缓慢,导致材料出现部分结晶,通过分析可知形成的是以 CaSiO_3 (JCPDS #27-0088) 为主晶相的结晶态物质^[17]. 硅酸钙具有较高的生物活性,在 SBF 溶液浸泡过程中可以诱导 HA 的生成^[18,19]. 而 Siriphannon 等^[20] 的研究工作则表明 HA 在硅酸钙表面形成的时间比同样条件下在 A-W 微晶玻璃表面的要早. 同时也可以看到材料在 16 $^{\circ}$ 、29 $^{\circ}$ 、30 $^{\circ}$ 、34 $^{\circ}$ 、49.5 $^{\circ}$ 出现相对较弱的衍射峰,它们分别代表了磷灰石的 (101)、(102)、(210)、(202) 和 (213) 晶面,而硅酸钙在 26 $^{\circ}$ 和 31.7 $^{\circ}$ 的衍射峰变宽是因为与磷灰石的 (002)、(211) 晶面的衍射峰发生了耦合的缘故^[19],说明材料在烧结后形成了少量磷灰石晶相^[21,22],这在 FTIR 图谱中也得到了证明. 材料在 SBF 溶液中浸泡 15d 后,即在 25.8 $^{\circ}$ 、31.7 $^{\circ}$ 、39 $^{\circ}$ 、47 $^{\circ}$ 、64 $^{\circ}$ 出现了较为明显的衍射峰,这些衍射峰分别是碳酸羟基磷灰石 (HCA) 的 (002)、(211)、(310)、(222)、(304) 晶面发生衍射形成的^[23,24],原来结晶物 CaSiO_3 的衍射峰消失. 这表明支架材料矿化 15d 后即生成了结晶态的 HCA,这与从 FTIR 图谱中分析的结果一致.

图 1 浸料不同次数所得多孔支架的显气孔率
Fig. 1 Apparent porosity of the porous scaffolds with different dipping times

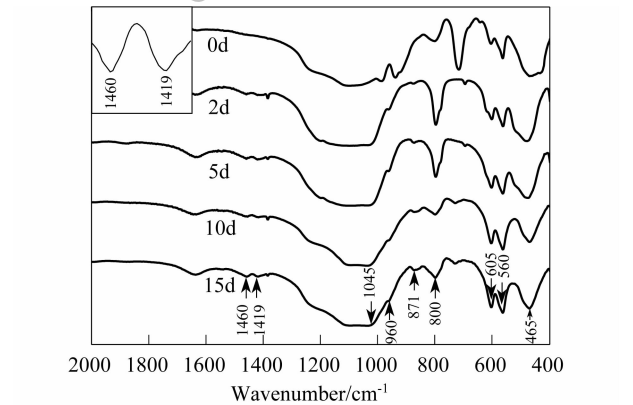


图 2 多孔支架在 SBF 溶液中浸泡不同时间的 FTIR 图谱
Fig. 2 FTIR spectra of the porous scaffolds with different SBF immersion times

图 3 多孔支架矿化前后的 XRD 图谱
Fig. 3 XRD results of porous scaffold before and after mineralization

2.4 多孔支架矿化前后 SEM 分析

从图 4(a)可见,多孔支架的孔隙相互贯通,且分布均匀,孔径均在 100 ~ 500 μm 之间;将图 4(a)多孔支架孔壁继续放大后得到图 4(b),发现原来在低倍镜下看似平整的结构在高倍镜下是由孔径为 1 ~ 5 μm 的孔组成,这些孔呈层叠式分布. 这种结构与动物松质骨相似,有利于细胞、骨组织、血管等的长入. 最近,诸多学者研究发现^[25-27],这种富有小孔和大孔的结构是材料具有骨诱导性的重要条件. 所以从孔隙率、孔隙尺寸及贯通情况等方面来看,本实验所制备的 58S 生物玻璃多孔支架能够较好地满足多孔型骨组织修复材料的基本要求.

从图 5 可以看出,多孔材料在矿化 2d 后即在表面形成颗粒较小的 HCA 矿化沉积物;矿化 5d 后 HCA 逐渐长大为绒毛状,数量也明显增多;矿化 10d 后绒毛状的 HCA 长成为针状,数量进一步增多;待多孔支架矿化 15d 后,原来针状的 HCA 生长转变为叶片状,并且形成层状堆积(图 5(d)),试样表面几乎完全被 HCA 覆盖(图 5(e))^[14]. 这进一步证明了 FTIR 和 XRD 的分析结果,说明此生物玻璃多孔支架虽然是在 1000 $^{\circ}\text{C}$ 高温下烧结而成,但仍具有较高的生物活性.

3 结论

1) 利用聚氨酯泡沫作为模板浸渍 58S 生物玻璃浆料可以制备孔隙率高、贯通性好和孔径可控的生物活性多孔材料,且浸料一次所得多孔支架的显气孔率为 93% 左右,浸料二次后下降为 80% 左右.

2) 实验制备的 58S 生物玻璃多孔支架材料虽然是在 1000 $^{\circ}\text{C}$ 高温下烧制而成,且生成了 CaSiO_3 晶体,但矿化 15d 后即可在表面生成结晶态的 HCA,表明材

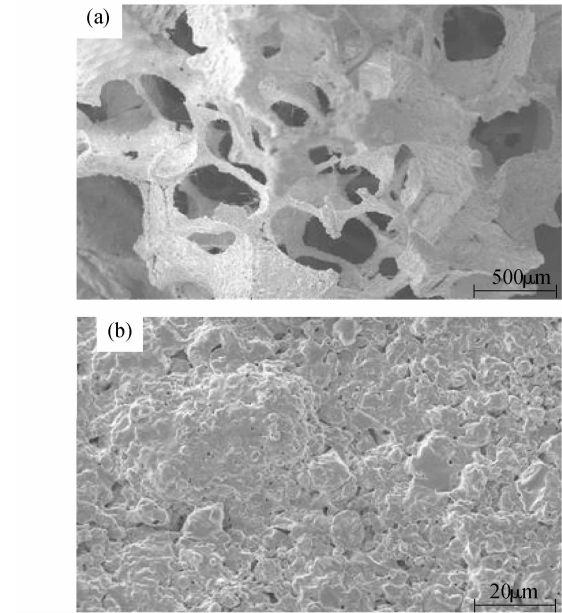


图 4 多孔支架在 SBF 溶液中浸泡前扫描电镜图
Fig. 4 SEM of porous scaffolds before immersed in SBF solution

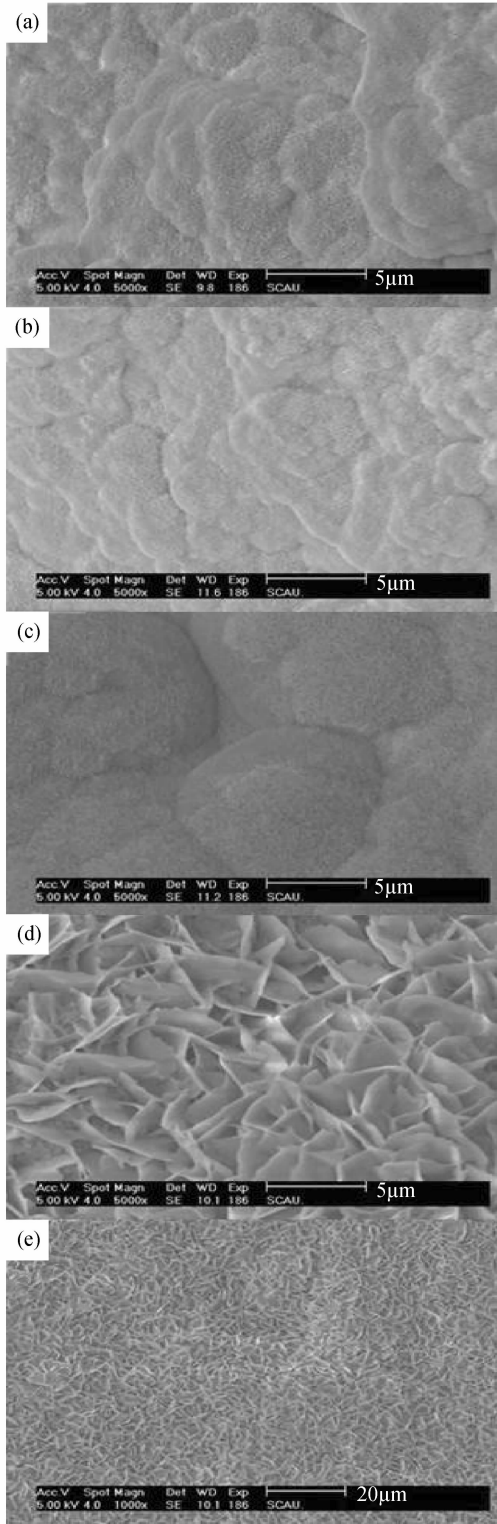


图 5 多孔支架在 SBF 溶液中浸泡不同时间的扫描电镜照片
Fig. 5 SEM of the porous scaffolds with different SBF immersion times:
(a) 2d; (b) 5d; (c) 10d; (d) 15d; (e) 15d

料在 37℃ 恒温 SBF 溶液中显示具有较高的生物活性。

参考文献:

- [1] Hench L L. *J. Am. Ceram. Soc.*, 1998, **81**(7): 1705-1727.
- [2] Hench L L, Wilson J. An introduction to bioceramics. 北京: 清华大学出版社, 1993. 1-24.
- [3] 赵莉, 林开利, 常江(ZHAO Li, *et al.*). 无机材料学报 (Journal of Inorganic Materials), 2003, **18**(6): 1280-1286.
- [4] Cerroni L, Filocamo R, Fabbri M, *et al.* *Biomol. Eng.*, 2002, **19**(2-6): 119-124.
- [5] 于胜吉, 邱贵兴, 辛大江, 等. 中国医学科学院学报, 2005, **27**(2): 185-189.
- [6] Schwartzwalde, Somess AV. Method of making porous ceramic articles. US Pat. 30990094, 1963.
- [7] 薛明, 冯丹歌, 李光大, 等. 无机化学学报, 2007, **23**(4): 708-712.
- [8] Hench L L, West J K. *Chem. Rev.*, 1990, **90**(1): 33-72.
- [9] Ohtsuki C, Kokubo T, Yamamuro T. *J. Non-Crystal Solids*, 1992, **143**(1): 84-92.
- [10] Kokubo T, Kushitani H, Sakka S, *et al.* *J. Biomed. Mater. Res.*, 1990, **24**(6): 721-734.
- [11] Oliveira J M, Correia R N, Fernandes M H. *Biomaterials*, 2002, **23**(2): 371-379.
- [12] Lenka M, Frank A M. *Acta Biomaterialia*, 2006, **2**(2): 181-189.
- [13] 李玉莉, 陈晓峰, 王迎军, 等(LI Yu-Li, *et al.*). 无机材料学报 (Journal of Inorganic Materials), 2007, **22**(4): 617-621.
- [14] 张晓凯, 刘玮, 陈晓峰. 化学物理学报, 2004, **17**(4): 495-498.
- [15] Ito Atsuo, Nakamura Satoshi, Aoki Hideki. *Journal of Crystal Growth*, 1996, **163**(3): 311-317.
- [16] Koutsopoulos S. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2002, **62**(4): 600-612.
- [17] Liu Jianli, Miao Xigeng. *Ceramics International*, 2004, **30**(7): 1781-1785.
- [18] Siriphannon P, Kameshima Y, Yasumori A, *et al.* *J. Biomed. Mater. Res.*, 2000, **52**(1): 30-39.
- [19] Siriphannon P, Kameshima Y, Yasumori A, *et al.* *J. Eur. Ceram. Soc.*, 2002, **22**(4): 511-520.
- [20] Siriphannon P, Hayashi S, Yasumori A, *et al.* *J. Mater. Res.*, 1999, **14**(2): 529-536.
- [21] Ragel C V, Vallet-Regi M, Rodriguez-Lorenzo L M, *et al.* *Biomaterials*, 2002, **23**(8): 1865-1872.
- [22] Salinas A J, Roman J, Vallet-Regi M, *et al.* *Biomaterials*, 2000, **21**(3): 251-257.
- [23] Kokubo T, Ito S, Huang ET, *et al.* *J. Biomed. Mater. Res.*, 1990, **24**(3): 331-337.
- [24] Peitl O, Zanotto E D, Hench L L. *J. Non-crystal Solids*, 2001, **292**(1-3): 115-126.
- [25] Padilla S, Roman J, Vallet-Regi M. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 2002, **13**(12): 1193-1197.
- [26] Fujibayashi S, Neo M, Kim H M, *et al.* *Biomaterials*, 2004, **25**(3): 443-450.
- [27] Habibovic P, Yuan Huipin, Chantal M, *et al.* *Biomaterials*, 2005, **26**(17): 356.