

利用自组装膜在模拟体液中诱导结晶的研究

郝娟玲 杜竹玮^{1*} 李浩然¹ 孙春宝

(北京科技大学土木与环境工程学院,北京 100083;中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室¹,北京 100080)

摘要 研究了聚电解质自组装膜的制备,及该膜在模拟体液中诱导羟基磷灰石(HA)结晶的实验。利用紫外吸收仪检测到自组装膜膜厚的增长,扫描电镜显示了在普通洁净玻璃表面与装有薄膜的玻璃表面上诱导结晶时所形成的晶体形貌之不同。

关键词 生物矿化 自组装膜 模拟体液 羟基磷灰石

中图分类号 Q813.2; **文献标识码** A

生物矿化材料是指由生命系统参与合成的天然生物陶瓷和生物高分子材料,比如骨骼、牙齿、贝壳等^[1]。目前,模拟人体骨骼中羟基磷灰石的生物矿化引起关注。人体骨骼中的羟基磷灰石是以有机基质作为模板,诱导人体体液中难溶磷酸钙以异相成核方式成核,同时塑造在生物矿化过程中的结晶方式,限制结晶的大小,形成微观纳米骨晶体。羟基磷灰石(HA)陶瓷因其与骨矿物质相似而成为骨骼修复材料^[2]。它可以作为骨替代物而进行骨缺陷修复,或涂覆于接骨材料表面使其植入人体后有更好的修复效果。等离子体喷涂法是目前常用的制造羟基磷灰石涂层材料的方法,但这种方法具有结合温度高,目标有效性不强,不能够非常准确地将HA涂层涂于受损伤表面,对基材的要求高及生物环境相容性不好等缺点^[3]。国外关于羟基磷灰石涂层采用的基底有 $\text{Na}_2\text{O-TiO}_2$ ^[4]、 $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ ^[5]、 Ti ^[6]、 Ag/AgAl ^[7]、 $\text{Si}_3\text{O}_5\text{H}_6$ ^[8],一般是直接在对无机材料表面进行HA的诱导结晶。

利用L/B膜和双头基两亲分子也可以进行诱导结晶的实验,但目前发现的符合形成L/B膜的分子和双头基两亲分子种类却较少,这就在一定程度上限制了它们的应用。本实验则更进一步地探索了在常温常压下,在无机材料表面先组装一层有机的薄膜材料(有机基质),再利用基质来诱导HA从SBF中析出时的情况,以期模仿天然生物矿化材料

的有机/无机微观结构,并体现有机物在无机矿物结晶时对它的指导作用。这种仿生方法能够在与基质水溶液接触的表面上形成均一的磷灰石涂层,涂层中可以含有有效的生物大分子。仿生磷灰石的组成、结构性能与骨更为相近,是比羟基磷灰石陶瓷更好的生物相容性骨修复材料。

实验中有有机基质的合成采用自组装式的、利用阴阳离子型聚电解质间相互静电吸引力形成薄膜基质的方法。这是一种简单易控却又很有成效的成膜方法。该自组装膜能在模拟体液(SBF)中成功地诱导羟基磷灰石在膜上析出晶体,晶体的形貌与自然析出时完全不同,体现了有机薄膜对晶体成核及成长的诱导性。

1 实验内容

1.1 主要试剂

聚苯乙烯磺酸钠(PSS),Acros Organics公司;20%聚二烯二甲基氯化铵(PDAC)溶液,Aldrich公司。

1.2 自组装膜的合成

PDAC和PSS聚电解质稀溶液浓度均为10 monomol/L(其中 monomol代表结构单元浓度)。膜组装前要对普通玻璃或石英玻璃表面进行严格处理,方法如下:将玻璃片依次用重铬酸钾溶液和氯仿清洗,然后用98%的浓硫酸和30%的 H_2O_2 按1:1的体积比配成的混合溶液浸泡6h,然后用超纯水反复冲洗,接着再将玻璃片浸入 $\text{H}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}_2$ /浓氨水(体积比为5:1:1)的溶液中浸泡6h,最后取出玻璃片反复冲洗,用吹风机吹干待用。

2004年7月7日收到

国家自然科学基金(20306029)资助

* 通讯作者:杜竹玮

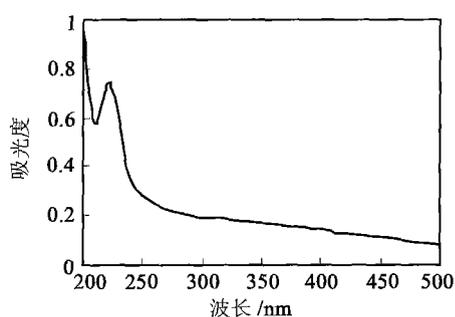
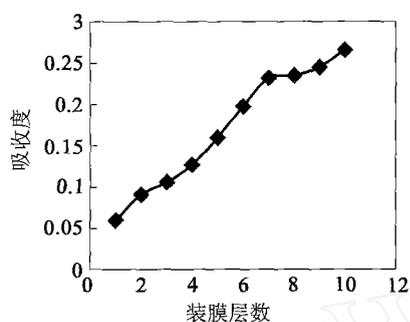


图1 PSS的吸收曲线

图2 220 nm处膜的紫外吸收
随组装层数的变化

将处理过的玻璃片用超纯水洗净,放入PDAC阳离子型聚电解质溶液中,20 min后取出用超纯水反复冲洗,吹干后放入PSS阴离子型聚电解质溶液中20 min,取出后再用超纯水冲洗,这样就完成了一次双层膜的制备。重复上述过程十次可制备十层自组装膜,记作(PDAC/PSS)₁₀膜。UV-2000型分

光光度计(UNICO仪器有限公司)检测膜的组装情况。

1.3 模拟体液的配制

依照人体血浆中的离子浓度配制 SBF 过饱和溶液,各盐离子浓度见表 1^[9]。

表1 SBF 过饱和溶液中各种无机物的浓度

化学药剂	NaCl	MgCl ₂ · 6H ₂ O	CaCl ₂ · 2H ₂ O	Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	NaHCO ₃
浓度 /mmol	146.7	1.5	2.5	1.0	4.2

1.4 矿化实验

将一片洁净的普通玻璃和已组装上有机薄膜的玻璃分别放入两份 SBF 过饱和溶液中,结晶时间均为 3 d,英国剑桥产 S250 扫描电镜观察各自形貌。

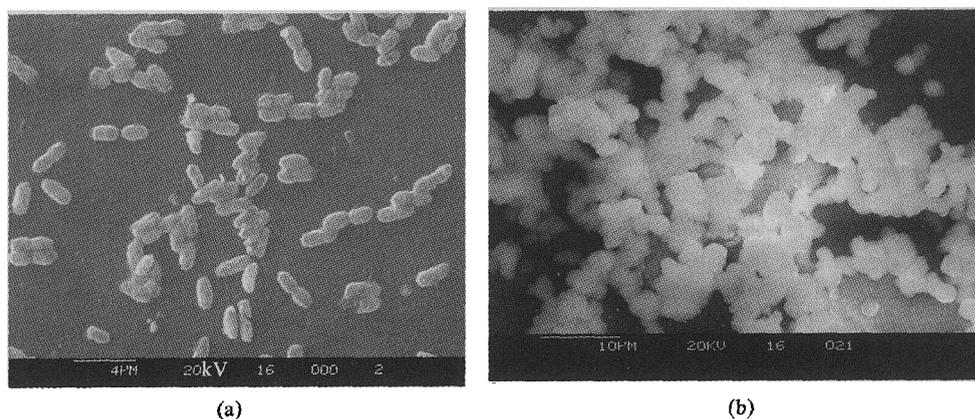
2 结果和讨论

2.1 紫外吸收表征膜的组装情况

紫外-可见光谱分析表明在波长 220 nm 时 PSS 有稳定的最大吸收(图 1),因此可以利用紫外吸收的方法,检测膜的组装情况。从图 2 可以看出,膜的紫外吸收值随组装膜层数的上升而在增加,表明膜厚都在增长,实验中可以通过控制装膜的层数来控制膜的厚度。

2.2 扫描电镜表征诱导结晶状况

图 3 中,(a)为在组装有薄膜的基底上 HA 晶体析出时的形貌,(b)为 SBF 中自然析出的 HA 晶体。两者形成时的溶液条件完全相同,可以明显地

图3 在不同基底上从 SBF 溶液中获得的羟基磷灰石结晶扫描电镜照片
(A) PDAC/PSS 表面;(B) 自然析出

观察到晶体在各方面所体现的不同:前者为椭圆状,晶体密度较小,晶粒平铺在基板上生长,这一结果归因于在无机-有机界面的晶格匹配,静电相互作用和分子识别^[10]。后者则为均一的球体,晶粒间紧密相连,密度较大,晶粒在立体空间内生长。

饱和溶液中晶体形核有两种方式,一种是在溶液体相中发生的均相成核,另一种则是异相成核,一旦溶液中有其他物质,就容易发生异相成核。本实验中,诱导结晶的有机薄膜基质是以 PSS 结尾的,它的末端带有 $-\text{SO}_3^-$ 。 $-\text{SO}_3^-$ 基团的引入改变了过饱和溶液在它周围的状况^[11],影响了各离子在溶液中的稳定性,使离子朝着析出晶体的方向发生运动。正是它的存在,诱导了 HA 以异相成核的方式析出晶体,显示了其与均相成核完全不同的形貌特征。这是因为 PSS 的 $-\text{SO}_3^-$ 阴离子型侧链,与钙离子有强烈的亲和作用^[10],它能吸引 Ca^{2+} 与其结合,造成局部过饱和浓度增大,析出 HA 晶体。

磷酸钙晶体在基质表面成平面生长的现象表明磷酸钙晶体的整个成核与生长过程都能通过生物仿生的途径进行控制^[12]。通过选择适当的阴阳离子型聚电解质成膜来改变膜的堆积情况,为研究无机矿物晶体在具有预构造的有机大分子基体影响下的结晶矿化过程提出了一个很好的模型。可以改变功能性基团,辅助以分子设计,制备出具有特殊功能的有机薄膜,从而在诱导结晶时改变 HA 纳米晶体的取向及其晶体类型。

参 考 文 献

- 1 崔福斋,冯庆玲. 生物材料学. 北京: 科学出版社. 1996
- 2 王夔,韩万书. 中国生物无机化学十年进展. 北京: 高等教育出版社. 1997
- 3 杜竹玮,李浩然,等. 生物矿化材料的形成机制及模拟应用. 有色金属, 2003; 55(4): 35—40
- 4 Kokubo K, Kim H-M, Takadama, *et al.* Mechanism of apatite formation on bioactive titanium metal. MRS, 1999; 599: 129—134
- 5 Barrere F, Layrolle P, Van Blitterswijk C A. *et al.* Fast formation of biomimetic Ca-P coatings on Ti6Al4V. MRS, 1999; 599: 135—140
- 6 Kokubo T, Kushitani H, Sakka S, *et al.* J Biomed Mater Res. 1990; 24: 721—734
- 7 Tsurv K, Takemoto S, Shayakama S, *et al.* Apatite formation on electrochemically treated titanium. MRS, 1999; 599: 141—146
- 8 Sahaj A, Tossell J A. Molecular orbital study of apatite nucleation at silica bioceramic surface. MRS, 599: 147—152
- 9 Barrere F, Van Blitterswijk C A. *et al.* Influence of ionic strength and carbonate on the Ca-P coating formation from SBFX5 solution. Biomaterials, 2002; 23: 1921—1932
- 10 欧阳健明,姚秀琼. 单分子膜诱导下的矿物晶体生长. 化学研究与应用, 2001; 13(4): 353—358
- 11 Olaf G, Peer L. Biomimetic nucleation and growth of CaCO_3 in hydrogels incorporating carboxylate groups. Biomaterials. 2004; 25(2): 277—282
- 12 Zoulgami Maruam, Lucas Anita, *et al.* A self-setting single-component calcium phosphite cement. Biomaterials, 2001; 22: 1933—1937

Study on Induced Crystallization from Simulated Bone Fluid by Polyelectrolyte Self-assemble Multilayer

HAO Juanling, DU Zhuwei^{1*}, LI Haoran¹, SUN Chunbao

(School of Civil and Environmental Engineering, University of Science and Technology of Beijing, Beijing 100083;
National Key Laboratory of Biochemical Engineering, Institute of Process Engineering, CAS¹, Beijing 100080)

[Abstract] Preparation of polyelectrolyte self-assembled multilayer was presented. Induced crystallization of HA from the Simulated Bone Fluid utilizing the membrane was studied. The influence of pH on the shape and size of the crystals are investigated. Growth of the multilayers was detected with Ultraviolet Absorption Spectrophotometer and SEM photos display the difference between the crystals on the ordinary glass surface and the glass coated with the organic thin film.

[Key words] biomineralization self-assembled multilayer simulated bone fluid hydroxylapatite