

有机相对魔芋葡甘聚糖/纳米羟基磷灰石/壳聚糖复合多孔骨组织工程支架材料性能的影响研究

雷云 黄洁 颜廷亭 李真 陈庆华*

(昆明理工大学材料科学与工程学院,昆明 650500)

摘要 以氨水为交联剂,冰乙酸为改性剂,生物相容性良好的可降解生物材料魔芋葡甘聚糖(KGM)、壳聚糖(CS)和纳米羟基磷灰石(纳米-HAP)为基本原料,在碱性溶液环境下将三者机械混合得到凝胶,经熟化、除碱和冷冻干燥等工艺手段,制备得到魔芋葡甘聚糖/纳米羟基磷灰石/壳聚糖(KHC)复合多孔支架。通过抗压强度和气孔率测试,以及X射线衍射、傅里叶红外光谱和扫描电镜等检测手段探讨KGM含量对复合支架材料结构与物化性能的影响,其后对实验较优组进行CS酸改性处理,并与未改性组进行对比分析。结果表明:当KGM含量为原比例(1KGM)时,支架材料有机相包裹无机相的能力最好,当KGM含量大于原比例(5/4KGM、3/2KGM)时,有机相包裹能力逐渐减弱;原比例组CS经酸改性后支架的包裹性能将进一步提升,酸改性组支架抗压强度最高,达到了1.1MPa。

关键词 生物相容性,魔芋葡甘聚糖,机械混合,支架材料

Investigation of the organic phase impact on the property of KHC porous scaffold

Lei Yun Huang Jie Yan Tingting Li Zhen Chen Qinghua

(Faculty of Materials Science and Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500)

Abstract Ammonia used as crosslinking agent, glacial acetic acid as modifier, and konjac glucomannan (KGM)/chitosan(CS)/nano-hydroxyapatite (nano-HAP) with good biocompatibility as raw materials, the gel with three components was prepared by magnetic stirring in the alkaline solution. Finally, the konjac glucomannan/nano-hydroxyapatite/chitosan (KHC) composite scaffold was prepared by the steps of aging, alkaline removing and freezing-drying. The effect of KGM content on the physical and chemical property were investigated by compressive strength test, porosity test, XRD, FT-IR and SEM. The experimental group was also investigated between CS modified with acid and unmodified. The results indicated that when KGM content was in the level of 1KGM, the organic phase of scaffold had the best ability to encapsulate the inorganic phase. When KGM content was higher than the original proportion (5/4KGM, 3/2KGM), the encapsulation capacity of organic phase decreased. It was also indicated that the ability of encapsulate could be further promoted by the acid modification, and the acid-modified group had the highest compressive strength, which can be reached to 1.1MPa.

Key words biocompatibility, konjac glucomannan, mechanical blending, scaffold material

人工骨修复材料在现今骨移植手术中有着不可替代的重要作用,寻找具有良好生物特性的骨修复材料一直是骨科研究的热点。尽管现在国际上各种骨修复材料纷繁复杂,但迄今没有一种能够非常完美地替代人骨^[1]。本实验旨在研究一种骨修复材料——魔芋葡甘聚糖/纳米羟基磷灰石/壳聚糖(KHC)复合多孔支架。魔芋葡甘聚糖(KGM)是魔芋块茎中所含的储备性多糖,具有很高的黏度,良好

的吸水、保湿、成膜、增稠性、凝胶性和一定的生物活性,可作为一种新型的生物材料应用于组织工程领域^[2]。羟基磷灰石(HAP)因与人体骨骼矿物质成分(碳酸钙磷盐)和结构(六角柱体)基本一致而常被用于生物材料。与普通羟基磷灰石相比纳米羟基磷灰石(纳米-HAP)具有更优的生物相容性,同时具有纳米材料独有的表面效应和体积效应,在力学和生物学方面有很大的优越性和应用潜力^[3]。壳聚糖

基金项目:国家自然科学基金(31260228);云南省自然科学基金国际合作项目(2011IA008)

作者简介:雷云(1991-),男,硕士,主要研究方向为生物功能材料。

联系人:陈庆华(1962-),男,博士,教授。

(CS)是一种天然阳离子型高分子,它的杀菌作用在于它能产生正电荷,从而能够与负电荷分子(如格兰氏阳性菌)相互作用,另外它还具有良好的生物相容性,因此常被用于伤口敷料^[4-5]。

Zhou等^[6-7]利用共沉淀法合成了KHC支架材料,并从原子角度研究了该三相复合材料的结合机理,得出该材料有望应用于骨组织工程和载药材料的应用前景。洪东峰等^[8]采用相同方法制备了同样的支架材料,并进一步研究了该材料的复合机理。尽管如此,支架材料所运用的纳米-HAP可能存在潜在的纳米致毒效应(纳米颗粒小易于穿透人体功能细胞并起破坏作用),通常可以通过表面修饰来调节纳米材料的生物效应^[9]。该方法可行与否在文献中鲜有报道,研究者也都未对此进行深入研究,另外其制备工艺较为复杂,只适用于小规模实验研究。采用有机相包裹无机相即通过表面修饰的方法,降低纳米颗粒的尺度效应,从而提高材料的生物相容性。本研究针对上述存在的问题,以优于前人的合成方法,采用机械共混制备了KHC支架材料,该方法简单易行且适宜扩大化生产。另外着重介绍了有机相对纳米颗粒表面包裹修饰效应,即探讨了不同KGM量以及酸改性CS包裹纳米-HAP的表面效果,以期从表面包裹情况初步了解该材料的毒性效应,以验证该方法的可行性。

1 实验部分

1.1 试剂

魔芋葡甘聚糖(KGM,食品级),成都协力魔芋科学种植加工园有限公司;纳米羟基磷灰石(HA)、壳聚糖(CS),均为分析纯,美国Sigma公司;氨水、冰乙酸,均为分析纯,天津风船化学试剂科技有限公司;蒸馏水,自制。

1.2 样品的制备

1.2.1 KHC复合支架的制备

在盛有40mL蒸馏水的烧杯中,依次加入8.5%(wt,质量分数,下同)纳米-HAP和2%CS并混合搅拌均匀,随后加入定量氨水调节溶液 $9 < \text{pH} < 11$,迅速加入配方量的KGM(1/2KGM、3/4KGM、KGM、5/4KGM、3/2KGM),特别需要指出是,本实验将1KGM定义为原比例KGM。随后将上述混合液高速搅拌均匀,静置稍许便得到混合凝胶。将其置于75℃水浴环境中熟化29h,以水浴水洗的方式除去凝胶残留碱,以水洗后蒸馏水 $\text{pH}=7.0$ 为水洗结束标准。最后将该凝胶冷冻干

燥,制样保存。

1.2.2 酸改性KHC复合支架的制备

在盛有20mL蒸馏水烧杯中加入0.05mL冰乙酸,搅拌均匀后加入0.5%CS,充分溶解后加入8.5%纳米-HAP和剩余的20mL水,并搅拌均匀,随后同时混入剩余的1.5%CS和配方量KGM,手动混合均匀,迅速加入定量氨水使该溶液呈碱性,并快速搅拌均匀,随后超声除泡10min,静置定型便得到凝胶。将其置于75℃水浴环境中熟化29h,以水浴水洗的方式除去凝胶残留碱,以水洗后蒸馏水 $\text{pH}=7.0$ 为水洗结束标准。最后将该凝胶冷冻干燥,制样保存。

1.3 样品的处理与表征

采用仪器磁力搅拌机(杭州富华设备有限公司)对样品各原料进行混合;采用数显恒温水浴锅(金坛市大地自动化仪器厂)对样品进行水浴熟化和除碱;采用深冷冰箱(美菱公司)对凝胶样品进行冷冻;采用冷冻干燥机(FD-1-50型,北京博医康实验仪器有限公司)对样品进行干燥处理;采用X射线衍射仪(XRD,D/max-220X型,日本理学公司)对材料进行分析,检测条件为Cu靶,采样步宽为0.02,扫描速度 $4^\circ/\text{min}$,电压36kV,电流20mA,衍射角度为 $5 \sim 90^\circ$;采用扫描电镜(SEM,Quanta 200型,飞利浦FEI公司)分析样品的微观形貌,加速电压为10kV,分辨率为3.0nm;采用力学性能测试仪(HY-0230型,上海横翼精密仪器有限公司)对所制备支架材料进行力学测试;按照国家标准GB/1966—1996对多孔支架进行显气孔率分析。

2 结果与讨论

2.1 XRD分析

不同KGM含量支架的XRD谱图见图1。由图可知,该复合支架材料主要呈现出纳米-HAP的特征峰,从图中很难发现高分子所呈现的特征峰,如CS的特征峰为 10.6° 的(100)和 22.8° 的(002)^[10],只是在该位置上发现较弱的特征峰,推测是无机相被有机相包裹与高分子弥散峰叠加的结果;比较不同KGM含量下衍射峰强度可知,随着KGM的含量增多,羟基磷灰石强衍射峰[如(211)、(112)和(002)等]的强度呈现出先减后增的趋势,3/2KGM含量时达到了最大,当含量为原KGM比例时,各项峰的强度达到最小。由此可知,当KGM含量为原比例时,该复合支架材料有机相包裹无机相较充分,包裹性较好,而KGM含量低于或高于该值时,无机

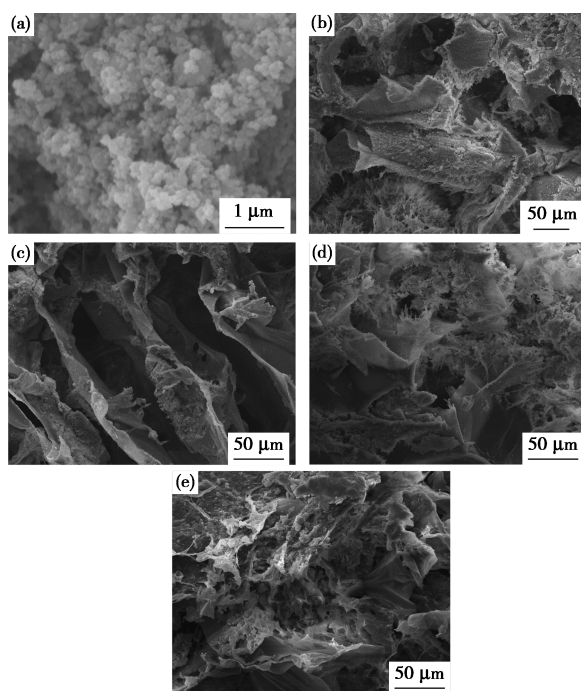


图5 试样的SEM图

[(a)纳米-HAP;(b)1/2KGM;(c)KGM;
(d)3/2KGM;(e)酸改性组]

2.4 力学性能及显气孔率分析

适宜的显气孔率和抗压强度是衡量一个生物支架材料的必备研究标准,对差异较大的3组不同KGM含量支架及酸改性CS支架进行重复测试实验,每组重复3次取平均值,结果见图6。

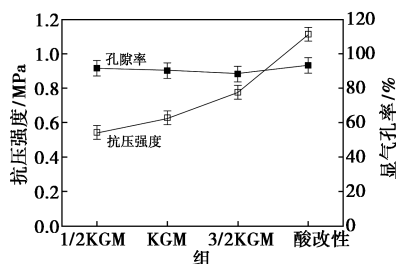


图6 不同KGM含量和酸改性CS支架显气孔率、抗压强度曲线图

由图可知,4组支架显气孔率都为90%左右,抗压强度变化较大,在0.5~1.2MPa范围内,其中酸改性组支架抗压强度最高,达到了1.1MPa;对于不同KGM含量的支架,随着KGM含量的增加,该支架的显气孔率呈现缓慢衰减的趋势,而相应的抗压强度增幅较迅速,酸改性后的支架相对前3组支架,支架的显气孔率有部分提高,且抗压强度增加较明显。其中的原因可能是,大多KGM分子与无机粒子之间并未发生化学缠结,只是物理性混合,随着KGM含量的增多,KGM溶胀占的体积逐渐增加使得支架的显气孔率变小,而抗压强度却随之增

长^[12];抗压强度增长的另一原因可能为,酸改性组由于CS为聚阳离子性高分子,且在酸的作用下所带正电荷量更多,与纳米-HAP中的 Ca^{2+} 产生静电斥力,从而使得支架抗压强度得到稳步提升^[13]。

3 结论

(1)XRD、FT-IR和SEM综合分析结果表明,随着KGM含量的增加,KGM包裹纳米-HAP的能力先增后减,原比例时的支架材料包裹能力最好,酸改性CS后支架材料的包裹能力得到进一步的提高。

(2)力学性能和显气孔率分析结果表明,随着KGM含量的增加,该支架的显气孔率缓慢衰减,而相应的抗压强度迅速增加;酸改性CS后的支架,显气孔率有了部分的提高,且抗压强度增加更明显。

(3)以纳米颗粒表面包裹情况为表面修饰判定依据可知,对有机相进行酸改性的表面修饰方式优于提高有机相含量的方法。

参考文献

- [1] 辛雷,苏佳灿.人工骨修复材料的现状与展望[J].创伤外科杂志,2011,13(3):272-284.
- [2] 景森,张峰,陈庆华,等.魔芋葡甘聚糖结构改性及其生物学特性在组织工程复合材料中的应用[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,35(11):7053-7056.
- [3] 齐保闯,唐辉,周田华,等.纳米羟基磷灰石骨修复材料研究进展[J].国际骨科学杂志,2010,31(5):305-307.
- [4] Lee D W, Lim H, Chong H N, et al. Advance in chitosan material and its hybrid derivatives: a review[J]. The Open Biomaterials Journal, 2009, 1(1): 10-20.
- [5] Jackie S H, Elaine G, Greenwood M, et al. Chitosan: a natural solution for wound healing[J]. Journal of Communications and Networks, 2014, 28(1): 48-54.
- [6] Zhou G, Li Y, Zhang L, et al. The study of tri-phasic interactions in nano-hydroxyapatite/konjac glucomannan/chitosan composite[J]. Journal of Materials Science & Technology, 2007, 42(8): 2591-2597.
- [7] Zhou G, Li Y, Zhang L, et al. Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/chitosan/konjac glucomannan composite[J]. Journal of Biomedical Research Part A, 2010, 83A(4): 931-939.
- [8] 洪东峰,雷力,董会,等.HAP/CS/KGM复合骨组织工程支架的研究[J].武汉理工大学学报,2010,32(5):72-76.
- [9] 徐莺莺,林晓影,陈春英.影响纳米材料毒性的关键因素[J].科学通报,2013,58(24):2466-2478.
- [10] 黄勇,韩曙光,丁琼琼,等.壳聚糖/SrHAP复合涂层的制备及其FT-IR分析[J].光谱学与光谱分析,2013,33(9):2379-2382.
- [11] Jiao W, Zhao X, Lu Y, et al. Growth of schwann cells in silk fibroin scaffolds with different pore sizes[J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2011, 15(25): 4607-4610.
- [12] 薛冬杰,刘荣桂,徐荣进.再生骨料透水性混凝土的制备与基本性能研究[J].混凝土,2013(6):124-127.
- [13] 张海斌.羟基磷灰石晶粒/粒子的水热控制合成[D].长沙:中南大学,2011.

收稿日期:2016-11-10