

生物羟基磷灰石的合成*

李 蔚

(中国民用航空学院理学院, 天津 300300)

摘要 综述了生物羟基磷灰石合成研究的最新进展, 重点介绍和评述了羟基磷灰石的合成与制备方法, 讨论了各种方法的特点和应用前景。最新的研究动态表明, 羟基磷灰石研究从基本的化学反应合成向生物矿化与新生骨引导机理及硬组织再造技术方向发展。同时, 羟基磷灰石在金属、陶瓷等植入体表面的涂层, 以及天然材料制备羟基磷灰石依然是其合成研究的主要方向。

关键词 羟基磷灰石 合成 人工骨 生物材料 组织工程

中图分类号: TQ132.3; 0648.17 **文献标识码**: A

Synthesis of Hydroxyapatite Biomaterials

LI Yan

(College of Science, Civil Aviation University of China, Tianjin 300300)

Abstract New achievements in hydroxyapatite research are reviewed. The prospective, preparation methods and characteristics of hydroxyapatite materials are described and evaluated. It is concluded that the focus of hydroxyapatite research has shifted from simple chemical synthesis to biomineralization, inducing role of hydroxyapatite for newly-grown bone, and template mechanism of bio-tissue or bio-cell. Meanwhile, rapid advances are being made in the technology of hydroxyapatite coating on matrix of metals or ceramics and synthesis of hydroxyapatite from natural resources.

Key words hydroxyapatite, synthesis, biomaterials, tissue engineering, artificial bone

0 引言

羟基磷灰石(HA)是人体骨组织的主要无机物成分, 与人体组织具有良好的相容性, 并能与骨组织形成骨性结合, 比其它骨替代材料, 拥有不可比拟的优势, 因而在新型骨替代材料领域占有极其重要的地位。羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)作为植入材料可引导新骨的生长, 为新骨的形成提供生理支架。在齿科方面, 可用于生产人工齿根、骨水泥、牙膏。将HA与医用高聚物复合作为骨替换材料能对HA增强补韧, 并充分发挥HA良好的生物相容性, 是今后HA应用研究的主要方向。人自然骨中的磷灰石主要以纳米级针状晶体的形式沿一定方位分布在胶原网络之中, 从而改善了复合骨材料的植入效果。HA与脱矿化骨材料复合可以作为一种既有骨诱导作用, 又有增强体积和结构支持作用的移植体而用于颌面整形。本文对近年来羟基磷灰石的合成与工艺应用进行了综述, 讨论了羟基磷灰石材料的研究发展趋势。

1 化学法合成羟基磷灰石晶态粉体

基于天然牙釉质由大量羟基磷灰石晶体紧密排列形成, 人们在羟基磷灰石晶体合成和生长方面做了大量的工作, 并获得成功。但人工合成产量极低, 同时需要高温和高压条件, 也难以推广应用。研究[1]报道了一种直接合成羟基磷灰石晶体的简单便利的工艺方法, 将无水磷酸三钠(Na_3PO_4)与氯化钙在甲酰胺水溶液中反应。这种方法不仅能够直接合成牙釉质成分羟基磷

灰石晶体, 而且, 合成迅速、产量高。另外, 其他钙盐如硫酸钙、硝酸钙等钙盐均可用于其合成。研究表明, 过高浓度的钙盐导致合成产品的晶体粒径和形貌分布不均, 而在过低的浓度下无法获得预期的羟基磷灰石晶体。合成过程中, 溶剂的比例有着本质的影响, 一般情况下, 含水量在25%~90%, 有机溶剂为10%~75%之间。在本实验中, 以甲酰胺为最优, 甲酰胺/水=50/50(wt%)。如果单独使用有机溶剂, 会得到含氟的磷灰石产品, 得不到羟基磷灰石晶体。

Shimp等^[2]将氢氧化钙与磷酸反应制得球形多孔羟基磷灰石颗粒, 干燥后在1100~1200°C烧结, 然后球磨获得粒径小于250 μm 的球形致密羟基磷灰石粉末。Maurer等^[3]在pH=4~8, 温度为60~100°C的条件下, 将氢氧化钙与磷酸以 $\text{Ca}(\text{mol})/\text{P}(\text{mol})=1.667$ 的比例在强烈搅拌下混合反应制得羟基磷灰石, 适用于牙清洁材料。

Ota等^[4]报道了一种羟基磷灰石纤维的合成方法, 首先制得偏磷酸钙纤维、氧化钙、氢氧化钙或碳酸钙混合物; 通过加热将偏磷酸钙转化为羟基磷灰石; 接着将混合物在1200°C热处理, 时间小于1h, 然后浸入水中将氧化钙溶解剔除, 获得纯净的羟基磷灰石晶体粉末。在用作生物材料时, 要求其具有高的力学性能和韧性、以及低的弹性模量。而羟基磷灰石的性能与其晶体形态关系密切, 因此, 形貌的控制是合成羟基磷灰石的关键。通过相转变也可以制得羟基磷灰石晶体粉末^[5]。以磷酸钙、含有碱金属离子、碱土金属离子或铵离子的盐组成的电解液, 通过电沉积迅速形成透钙磷石。大约1%~5%的钙离子被碱金属离子、

* 教育部博士点基金(98053301)、中国民航总局科技基金(06051)

李蔚: 1968年生, 男, 副教授, 博士后, 从事无机材料研究与教学工作 Tel: 022-24092519. E-mail: liyan.999@163.com

碱土金属离子或铵离子替代。在 20~37℃ 条件下将透钙磷石浸入生物体液或模拟体液中,透钙磷石就会转变为具有化学计量的羟基磷灰石。

羟基磷灰石粉体主要用于生物陶瓷骨移植材料的制备,以及作为牙和骨的填补和修复水泥原料使用。陈惠贤等^[6]利用多孔羟基磷灰石陶瓷对兔颅骨进行了修复试验,结果表明,术后恢复良好,精神和行为无异常表现,无头皮下积液,手术切口均在短期愈合。多孔 HAC 植片标本 8 例,均可见肉芽组织、纤维组织和新生血管自颅骨膜向植片微孔中生长,并向周围延伸,其深度逐月增加,至术后第 3 个月深达植片的 2/3,逐渐与颅骨融合。羟基磷灰石除了在动物身上广泛试用外,国外已经开始用于病人的临床和推广^[7]。如颈椎、腰椎骨替换,腰椎接合等等。Y. Yamashita 等^[8]报道了有关利用羟基磷灰石治疗骨髓炎的 18 个临床案例。首先切除发炎的骨组织以及软组织,将含有抗生素的羟基磷灰石注入已切除的部位,3 个月后,病变部位已经愈合,且通过 24 至 75 个月的观察结果,骨髓炎没有再次发生。

2 金属或陶瓷表面羟基磷灰石涂层

Rey 等^[9]把金属或陶瓷基体材料浸入 pH=6.8~8 的含有磷酸钙和重碳酸盐的溶液中,然后加热至 50~80℃。提高 pH 至 8 以上,从而在基体上沉积碳酸盐化的羟基磷灰石涂层。涂层具有生物活性高、相容性好、可整形和可被生物体吸收的特点。羟基磷灰石涂层一般以等离子喷涂方法制得,但该方法制得的涂层中的非晶态成分含量多,作为生物植入体,容易过早降解或分解,严重影响使用寿命。延长降解周期的方法是提高涂层的结晶度。也就是将磷酸三钙(TCP)、非晶磷酸钙、羟基磷灰石(HA)的混合物以等离子喷涂工艺制成涂层,然后水热处理促使其向晶态羟基磷灰石转变。但该工艺无法获得结晶度大于 90% 的涂层。Lee 等^[10]报道了一种对人工骨或牙植入体表面羟基磷灰石涂层重结晶的工艺,目的在于提高涂层的结晶度,从而提高其力学、物理化学以及生物相容性。首先制备一种羟基磷灰石含量在 0.01~10wt% 的水相分散溶液体系,将附载有羟基磷灰石涂层的植入体浸入该溶液体系中,在温度为 100~300℃,压力为 0.1~15MPa,以及缺氧的气氛中进行水热处理,获得重结晶的羟基磷灰石涂层。另外,也可将羟基磷灰石(HA)在 240MPa 下压制成形,密度为 1.52g/cm³。在真空中采用 KrF 激光器以波长 248nm 的平行激光束照射羟基磷灰石转靶,从而在基底上沉积薄层羟基磷灰石^[11]。

硅凝胶表面涂羟基磷灰石的方法是,首先将数毫升正硅酸乙酯(TEOS,化学纯)、11mL 乙醇、15mL 蒸馏水混合,在强烈搅拌下加入 40% 的 HF2mL,继续搅拌约 7min,形成氧化硅凝胶。分别以甲酰胺、甘油、MEG、DEG 作为添加剂来控制氧化硅凝胶的干燥速度,同时通过影响表面张力来控制凝胶颗粒的尺寸^[12]。凝胶的干燥在室温下与乙醇饱和蒸气中进行 1 星期。然后用纯乙醇清洗氧化硅干凝胶数遍,去除多余的 TEOS、水、低聚物。将氧化硅凝胶切割成规则的立方体样品。将 NaHCO₃、KCl、K₂HPO₄、CaCl₂·H₂O、MgCl₂·NaCl、Na₂SO₄ 按一定比例溶解在蒸馏水中获得模拟体液(SBF)。在 37℃ 条件下,氧化硅凝胶立方体在模拟体液中浸泡五星期,在此过程中保持体液的成分不变。样品的分析测试表明,氧化硅凝胶表面不同程度的生长了一层羟基磷灰石,其中,以甘油为添加剂时,羟基磷灰石的生长最迅速。

A. Lopez-Sastre 等^[13]分别将生物玻璃涂层和羟基磷灰石

涂层的钛合金材料植入绵羊大腿骨内,并对两种材料的效果进行了对照。分别经过 2、4、6、8、12、16 星期的观察发现,羟基磷灰石涂层的植入体表面与羊骨结合更容易,时间更短,自然骨长入植入体表面更迅速。G. Loupasis 等^[14]报道了以羟基磷灰石涂层植入体对 71 例大腿骨损伤病人的临床治疗。英国哈里斯医疗机构评估的结果为骨修复优良率达到 84% 以上。48~82 月的长时间 X 射线摄影观察表明,自然骨完全长入植入体内,没有任何骨质疏松表现,植入手术全部成功。

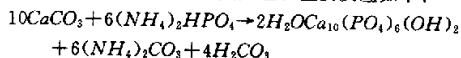
3 特殊晶形羟基磷灰石的制备

不同条件和工艺方法制备的羟基磷灰石的形貌和结构有着较大的差异,这种差别决定了羟基磷灰石生物材料不同的性能。许多如环状、花瓣状、针状或纤维状、空心球体的羟基磷灰石得到成功合成。研究表明,针状或纤维状的羟基磷灰石更适宜于制备生物材料,更能满足力学和生物相容性的要求。一般针状羟基磷灰石的制备方法有:水热法、回流法(reflux)、琼脂凝胶法、羧酸盐纺纱法等。Luo^[15]将羟基磷灰石制成浆体,调整浆料的 pH 值、粘度(0.5cst~50cst)、浓度(HA 0~0.5vol%),在一定的压力条件下喷雾干燥(400~500℃)获得无孔的粒径小于 8μm 的羟基磷灰石球形颗粒。接着进行焙烧,制得羟基磷灰石空心球粒或圆环。在不同的 pH、粘度、浓度和喷雾压力与温度条件下,可获得具有不同形貌特征的羟基磷灰石,从而实现对其形貌的控制。由该类颗粒制备的块体材料具有蜂窝状结构,可用于蛋白质、DNA 的分离,水的纯化、生物硬组织移植等方面。Nishioka 等^[16]将直径为 0.1~0.5μm 的重质碳酸钙、烯磷酸或粒径为 2~10μm 的磷酸二氢钙或磷酸氢钙在温度为 10~60℃ 水溶液中混合均匀。在低于 700℃ 条件下干燥,并陈化 1~48h。通过该工艺可获得花瓣状的多孔羟基磷灰石粉末。该种粉末分散性优良,用途广泛。可作为催化剂、医药、农药、微生物、植物生长剂等的载体材料,也可用作吸附剂、缓释剂、陶瓷原料、以及填料等。

4 天然原料制备羟基磷灰石

化学合成的羟基磷灰石因其孔隙结构达不到骨生长的结构要求,临床应用受到一定的限制。随着海洋资源的研究和开发,海珊瑚具有与人体骨组织结构相类似的相互连通的孔隙结构被发现。将海珊瑚通过水热交换处理,使珊瑚碳酸钙转变成珊瑚羟基磷灰石。通过水热交换处理得到的珊瑚羟基磷灰石既具有羟基磷灰石良好的生物相容性,又保持了珊瑚的原始孔隙结构^[17]。通过对水热反应条件的控制,考察了反应温度、pH 值和矿化剂对珊瑚水热转换反应的影响。

转化的基本方法为:珊瑚清洗,烘干,切割成形(10×10×5mm)。将片状珊瑚与等质量的磷酸氢二铵放入高压釜内,注入约 50mL 蒸馏水,在一定温度下水热处理。主要反应如下:



反应温度越高,文石向羟基磷灰石转变的速度越快。加入矿化剂 KH₂PO₄,能够促进文石向羟基磷灰石的直接转变,抑制文石向方解石的转变,加快反应速率。碱性较强的环境不利于珊瑚羟基磷灰石的生成。同时,羟基磷灰石也可从牛骨制成^[18],系牛松质骨经一系列理化处理,去除有机质制成。它能够引导骨骼生长,并且无毒性,组织相容性好,因而适合作为骨替代材料用于骨缺损修补。

骨组织工程研究的重点是寻求能够作为细胞移植和引导的

支架材料。良好的支架材料应具有以下条件:良好的生物相容性,对机体无毒副作用,不引起机体的排斥反应;良好的骨传导和骨诱导性;多孔结构;降解速率与骨组织再生速率相匹配;能维持细胞的形态和表型,有利于细胞的粘附和增殖。韩亮等^[19]以美国 Interpore 200 珊瑚转化多孔羟基磷灰石复合基因重组人骨形成蛋白-2 成功修复了大鼠的颅骨缺损。CHA 易消毒,加工性能好,使用方便,目前在国外已得到广泛应用,国内也已得到国家卫生部批准临床使用。史培良等^[20]采用天然珊瑚经特殊处理后得到的珊瑚转化羟基磷灰石(Corallinehydroxyapatite, CHA)作为支架材料,用组织工程的方法成功构建了组织工程骨。

5 羟基磷灰石的生物矿化作用

骨骼是一种最低等的生物组织,但人工构建是一件极其复杂和困难的工作,因为骨组织包含着许许多多不同在纳米层次上不同的有机相和无机相。而采用精心设计的有机组织或有机相作为模板来完成像羟基磷灰石这种无机相的成核与晶体生长是可能的。羟基磷灰石晶体在缩氨酸分子纤维表面的生长得到了实验验证^[21]。具体过程是,将交联的缩氨酸两性分子纤维束浸入氯化钙和磷酸氢钠混合溶液中,经过10min后,发现缩氨酸纤维表面富集钙离子。20min后,明显观察到羟基磷灰石晶体出现在缩氨酸纤维表面。30min后羟基磷灰石完全覆盖缩氨酸分子束。研究揭示了羟基磷灰石晶体沿着缩氨酸纤维的c轴方向以自组装的方式排列成纳米纤维状阵列,这无疑是骨的生物矿化的重要特征。它能够建构不同矿物(羟基磷灰石)/胶原纤维组成比的多孔性生物组织。在组织工程和生物矿化方面,可以通过选择不同的缩氨酸分子来调整体系的自组装特征。通过pH的调节可以控制胶原纤维等生物模板的状态和形式,引发不同的自组装过程。该方面的研究势必将羟基磷灰石生物骨替换材料的研究应用推向更深层次,特别是在制备和合成具有完全天然骨特征的骨组织修复材料方面具有重大的理论指导意义。

6 结语

由于羟基磷灰石的生物相容性,以及无组织排异和中毒反应而在生物医学、硬组织替换和修补方面展现出美好的前景。目前,羟基磷灰石的合成研究主要集中在下面几个方面:(1)不同形态和结构羟基磷灰石晶体粉末的合成;(2)天然材料制备羟基磷灰石材料;(3)羟基磷灰石/高聚合物复合材料的制备;(4)金属和陶瓷的表面涂层;(5)羟基磷灰石的生物矿化和生物细胞等作为模板的晶体生长研究。无疑,随着合成技术的进步,羟基磷灰石在生物组织工程、硬组织整形和修复、医药等等领域将发挥愈来愈重要的作用。和国外相比,我国在羟基磷灰石生物材料方面的研究与应用层次较低,合成工艺单一,材料种类少。国内以羟基磷灰石粉体、羟基磷灰石陶瓷合成与制备报道常见。羟基磷灰石涂层以及复合骨替换材料报道少,在骨的生物矿化与模板合成研究上与国际前沿差距较大。国外已经较多的将羟基磷灰石材料应用于骨组织修复临床方面,而且取得了良好的效果。但我国还仅仅处于临床试验或在动物体试验的个别案例阶段。因此,我国的羟基磷灰石研究与应用急需加强,特别要注意向合成与应用深层次方向发展,大力推动应用研究。

参考文献

1 Barsa John J, Farris Edward T, Lagow Richard J. Synthesis

- for crystalline hydroxyapatite. US pat, 4046858. 1977
- 2 Shimp Lawrence A, Renkema, Peter J. Spherical hydroxyapatite particles and process for the production thereof. US Pat 5702677. 1977
- 3 Maurer Alexander, Raab Gudrun, Raad Guenter, et al. Taenzler, Richard Process for the preparation of hydroxyapatite. US Pat, 5405436. 1995
- 4 Ota Yoshio, Iwashita Tetsushi, Kasuga Toshihiro, et al. Process for producing hydroxyapatite fibers. US Pat 6228339. 2001
- 5 Riley, Clyde Kumar, Mukesh. Modified brushite surface coating, process therefor, and low temperature conversion to hydroxyapatite. US Pat, 6045683. 2000
- 6 陈惠贤, 王文琪, 刘盛明, 等. 多孔羟基磷灰石陶瓷修复颅骨缺损的实验研究, 中国修复重建外科杂志, 1997, 11(3): 129
- 7 Jeffrey M, Spivak, Amir Hasharoni. Use of hydroxyapatite in spine surgery. Eur Spine J, 2001, (10): S197
- 8 Yamashita Y, Uchida A, Yamakawa T, et al. Treatment of chronic osteomyelitis using calcium hydroxyapatite ceramic implants impregnated with antibiotic. International Orthopaedics (SICOT), 1998, (22): 247
- 9 Rey Christian, Ranz, Xavier. Process for preparation of hydroxyapatite coatings. US Pat 6280789. 2001
- 10 Lee Dusuk Duke, Conner, William T. Hydroxyapatite coatings and a method of their manufacture. US Pat, 5958504. 1999
- 11 Fern'andez-Pradas J M, Cl'eries L, Serra P, et al. Evolution of the deposition rate during pulsed laser deposition of hydroxyapatite coatings and its relation with target morphology. Appl Phys, 2001, A72: 613
- 12 Rivera-Muñoz E, Brostow W, Rodriguez R, et al. Growth of hydroxyapatite on silica gels in the presence of organic additives: kinetics and mechanism. Mat Res Innovat, 2001, (4): 222
- 13 Lopez-Sastrel A, Gonzalo-Orden J M, Altónaga J A R, et al. Coating titanium implants with bioglass and with hydroxyapatite. International Orthopaedics (SICOT), 1998, (22): 380
- 14 Loupasis G, Hyde I D, Morris E W. The Furlong hydroxyapatite-coated femoral prosthesis. Arch Orthop Trauma Surg, 1998, (117): 132
- 15 Luo Ping. Methods of synthesizing hydroxyapatite powders and bulk materials. US Pat, 5858318. 1999
- 16 Nishioka Hidehiko, Takiyama Shigeo, Hanazaki Minoru. Fine particles of petaloid porous hydroxyapatite and process for producing the same. US Pat, 6033780. 2000
- 17 徐晔, 王立志, 汤洪高, 等. 珊瑚水热转换羟基磷灰石中的影响因素. 化学物理学报, 2001, 14(3): 340
- 18 陈力, 等. 牛骨羟基磷灰石复合游离骨髓肌肉内植入成骨的计量研究. 中国修复重建外科杂志, 1996, 10(4): 207
- 19 韩亮, 毛天球, 戴毅敏, 等. 珊瑚转化多孔羟基磷灰石复合rhBMP-2人工骨的动物实验研究. 实用口腔医学杂志, 1999, 15(4): 286
- 20 史培良, 顾晓明, 陈富林, 等. 以珊瑚转化羟基磷灰石为支架材料构建组织工程骨的实验研究. 中国修复重建外科杂志, 2001, 15(6): 373
- 21 Jeffrey D Hartgerink, Elia Beniash, Samuel I Stupp. Self-Assembly and Mineralization of Peptide-Amphiphile Nanofibers. Science, 2001, 294(5547): 1684

(责任编辑 张明)