

不同表面官能团和化学组成共聚物微球的表面生物矿化研究^{*}

石旭东¹ 张 玉² 于国强³ 孙 磊⁴ 甘志华^{1**}

(¹中国科学院化学研究所工程塑料院重点实验室 北京 100190)(²中国科学院过程工程研究所 北京 100190)

(³中国科学院化学研究所 北京 100190)(⁴北京积水潭医院北京市创伤骨科研究所 北京 100035)

摘 要 采用具有不同共聚物组成和端基官能团的聚己内酯-*b*-聚乙二醇共聚物(PCL-*b*-PEG),通过双乳液溶剂挥发法制备了一系列具有不同表面性质的生物降解高分子微球.采用生物模拟矿化的方法以磷灰石修饰微球表面.进一步通过扫描电镜、热重分析仪、X-射线衍射仪和光电子能谱仪对微球表面磷灰石的形貌、含量、结构和组成进行了分析.研究了微球表面亲水性、粗糙度、官能团以及矿化时间对于磷灰石形成的影响.最终实验结果表明,随着共聚物中 PEG 含量增加,微球表面粗糙度和亲水性增加,因此微球表面磷灰石含量增加.同时微球表面官能团以及矿化时间的不同也会对磷灰石的形成和分布产生明显影响.

关键词 脂肪族聚酯,微球,磷灰石,生物模拟矿化

生物降解脂肪族聚酯(如聚己内酯(PCL)、聚乳酸(PLA))由于具有良好的生物相容性和可控的降解速率,因此常用于组织工程支架的制备^[1-3].以其为原料制备的生物降解高分子微球由于形状尺寸的特殊性,所以具有其他支架材料不可比拟的优点,例如可为细胞的贴壁生长提供巨大的比表面积,或是通过微创注射的方式修复不规则的组织缺损等.然而生物降解高分子微球本身存在的一些不足,如材料的疏水性、低表面能、缺乏生物活性等缺点却大大限制了细胞在微球表面的黏附生长,进而影响微球在组织修复中的应用,因此需要对其进行改性.

以生物活性物质修饰组织工程支架材料是一种常用的改性方法.磷灰石(apatite)是人体牙齿和骨骼中的主要无机成分,具有良好的生物相容性和生物活性,常用作骨组织工程支架材料.1990 年 Kokubo 等^[1]通过生物模拟矿化的方法(biomimetic mineralization method)在材料表面成功引入磷灰石,随后这种方法便吸引了学者们的广泛关注.其具体过程是将材料浸泡在预先配制的模拟体液(simulated body fluid, SBF)中,然后在材料表面生成磷灰石.这一方法的反应条件温和,在一定程度上模拟了天然骨骼中矿物的形成过程,最终得到的磷灰石与天然骨骼中的无机矿物十分相似^[2].因

此可通过生物模拟矿化的方法提高材料的生物活性、骨传导性以及和宿主骨组织的结合能力^[3-5].

在生物体内一些带有负电荷的蛋白质对于调控磷灰石在胶原基质上的沉淀起着决定性的作用.已有的研究表明,基体材料的表面性质如化学官能团、拓扑形貌和亲水性等都会对钙磷酸盐的形成产生影响^[1-9].同样在生物模拟矿化过程中,引入带负电荷的基团将有利于磷灰石在材料表面的矿化沉积. Tanahashi 等^[10]通过自组装单层烷基硫醇的生物模拟矿化实验,发现功能基团诱导磷灰石形成的能力为: $\text{PO}_4\text{H}_2 > \text{COOH} > > \text{CONH}_2 \approx \text{OH} > \text{NH}_2 > > \text{CH}_3 \approx 0$.然而目前关于聚合物微球表面性质对生物模拟矿化过程中磷灰石形成的影响研究却较少见.

鉴于生物降解聚合物微球在骨组织工程中的广阔应用前景,采用生物模拟矿化法对其进行表面修饰,研究微球表面性质对磷灰石形成的影响是十分有意义的.本工作采用双乳液溶剂挥发法制备了一系列聚己内酯-*b*-聚乙二醇共聚物(PCL-*b*-PEG)微球,通过改变共聚物组成和分子链的端基官能团,得到具有不同表面性质的微球.通过微球的生物模拟矿化实验,研究了材料表面亲水性、粗糙度、官能团以及时间对于磷灰石形成的影响.

^{*} 仿生高分子与材料专题报道;2012-05-03 收稿,2012-05-28 修稿;国家自然科学基金(基金号 51003109,51025314 和 50573085)和中国科学院战略性先导科技专项(项目编号 XDA01030301)资助项目.

^{**} 通讯联系人, E-mail: zhgan@iccas.ac.cn

doi:10.3724/SP.J.1105.2012.12132

1 实验部分

1.1 实验原料

微球制备所用聚合物为本实验室合成的聚己内酯-聚乙二醇共聚物 $\text{PCL}_x\text{-}b\text{-PEG}_y\text{-Z}$ (其中 x 和 y 分别代表 PCL 和 PEG 段分子量, Z 代表不同端基官能团), 具体合成方法见文献^[11]. 所用共聚物有 $\text{PCL}_{10\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$, $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$, $\text{PCL}_{30\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$, $\text{PCL}_{40\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{2\text{K}}\text{-OCH}_3$ 和 $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-COOH}$.

1.5 倍模拟体液 (1.5SBF) 制备所用原料均为分析纯, 其中 NaCl 、 Na_2SO_4 、 $(\text{CH}_2\text{OH})_3\text{CNH}_2$ 、乙醇由北京化学试剂公司生产; NaHCO_3 、 KCl 、 HCl 和 CaCl_2 由北京化工厂生产; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 由北京益利精细化学品有限公司生产; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 由广东汕头市西陇化工厂生产. 1.5SBF 配制方法具体见参考文献^[12,13].

1.2 微球制备实验

采用双乳液溶剂挥发法制备聚合物微球^[14]. 首先配制 7.5 mL, 5% 的 $\text{PCL-}b\text{-PEG}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 溶液, 向聚合物溶液中注入预先配制好的 0.1% 的 PVA 水溶液 0.5 mL, 同时用超声波细胞粉碎机 (JY92-2D, 宁波新芝生物科技股份有限公司) 进行超声乳化得到初乳液, 然后于室温下将初乳液逐滴加到正在机械搅拌的 160 mL, 0.25% 的 PVA 水溶液中, 滴加完毕后继续搅拌 2 h, 待 CH_2Cl_2 完全挥发后得到 $\text{PCL-}b\text{-PEG}$ 微球, 洗涤并收集.

1.3 微球矿化实验

将 $\text{PCL-}b\text{-PEG}$ 微球放置于 50 mL 塑料离心试管中, 加入过量 1.5SBF 浸泡, 37°C 下于恒温摇床中间歇振荡, 从而使微球与模拟体液充分接触. 每 2 天更换模拟体液, 在矿化不同时间后取出微球进行测试.

1.4 微球表征

将 $\text{PCL-}b\text{-PEG}$ 微球用双面胶固定在扫描电镜样品台上, 真空镀铂后用扫描电镜 (Hitachi S-4300, JEOL 公司) 对微球形貌进行分析.

采用热重分析仪 (Pyris 1 TGA, Perkin-Elmer 公司) 对矿化的 $\text{PCL-}b\text{-PEG}$ 微球进行测试. 测试条件: $50 \sim 750^\circ\text{C}$, 升温速率 20 K/min , N_2 气氛. 从失重残余量得到微球中磷灰石的含量.

将矿化的 $\text{PCL-}b\text{-PEG}$ 微球用广角 X-射线衍射仪 (D/Max-2500, 日本理学公司) 进行测试, 测试条件: $\text{CuK}\alpha$ 射线 ($\lambda = 0.154 \text{ nm}$, 40 kV , 200

mA), 扫描范围为 $2\theta = 10^\circ \sim 70^\circ$, 扫描速度为 $8 (^\circ)/\text{min}$.

对微球表面磷灰石用 VG Scientific ESCALab220i-XL 型光电子能谱仪分析. 激发源为 $\text{Al K}\alpha$ X 射线, 功率约 300 W .

2 结果与讨论

2.1 不同共聚物组成微球的矿化

图 1 为不同共聚物组成 $\text{PCL-}b\text{-PEG-NH}_2$ 微球的 SEM 照片, 可以看到随着共聚物中 PEG 含量的降低, 微球表面由粗糙逐渐变得光滑. PEG 是一种具有高的亲水性和生物相容性的聚合物. 在双乳液溶剂挥发法制备微球的过程中, 当含有共聚物 $\text{PCL-}b\text{-PEG-NH}_2$ 的乳液液滴分散到外水相后, $\text{PCL-}b\text{-PEG-NH}_2$ 中的 PEG 组分会趋向在水相中分布, 而 PCL 组分则主要分布在二氯甲烷中. 当二氯甲烷挥发完全后, 聚合物沉淀析出, 乳液液滴变成微球, PEG 链段则富集在微球的外表面^[15-17]. 亲水的 PEG 链段使微球外表面在水分子的作用下溶胀, 从而使微球具有一层疏松的表面. 此外聚合物中 PEG 链段的引入会造成乳液液滴相结构的变化, 进而影响微球内部相结构以及表面粗糙度. 因此随着共聚物中 PEG 含量的减少, $\text{PCL-}b\text{-PEG-NH}_2$ 微球表面逐渐光滑.

当 3 组微球在模拟体液中浸泡 4 天后, 微球表面均没有观察到磷灰石的沉积. 当浸泡时间为 8 天时, 微球表面出现磷灰石, 其中 $\text{PCL}_{30\text{K}}\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$ 微球表面只有极少量的磷灰石, $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$ 微球表面磷灰石含量较多, 而 $\text{PCL}_{10\text{K}}\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$ 微球表面则均匀的分布着一层磷灰石的球形小颗粒. 说明在同一浸泡时间下, 随着聚合物中 PEG 含量增加, 微球表面磷灰石含量增加. 并且随着浸泡时间的增加, 3 组微球表面的磷灰石均明显增加.

图 2(A) 是浸泡 20 天后 3 组微球的 XRD 结果, 其中在 21.3° 和 23.5° 处为 PCL 的特征峰, 将局部区域放大后可以看到 3 组微球在 25.9° , $31.8^\circ \sim 32.2^\circ$ 处均出现了磷灰石的 2 个特征峰, 说明微球表面生成的无机物是磷灰石. 从图 2(B) 3 组微球浸泡 20 天后的 TGA 结果中可以得到 $\text{PCL}_{10\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$, $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$ 和 $\text{PCL}_{30\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$ 复合微球的失重残余分别为 19.7% , 15.7% 和 3.9% . 以上结果进一步表明由于 PEG 含量的增加, 微球表面亲水性和粗糙度均增加, 因此微球表面的磷灰石含量

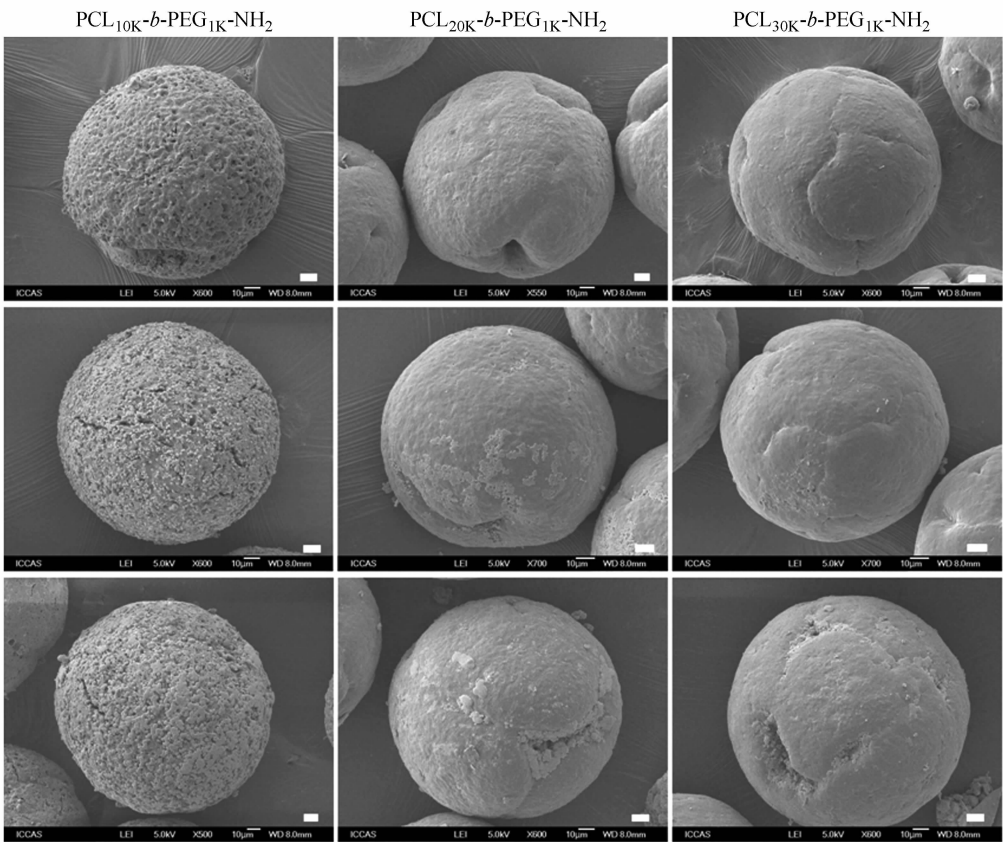


Fig. 1 SEM results of PCL-*b*-PEG-NH₂ microspheres with different PCL/PEG ratios after immersed in 1.5SBF for different days

增加.进一步采用XPS对矿化20天的共聚物微球进行了表征.表1的结果表明3组微球的Ca/P均

小于羟基磷灰石的 $Ca/P = 1.67$,说明此时微球表面磷灰石层的结晶并不完善.

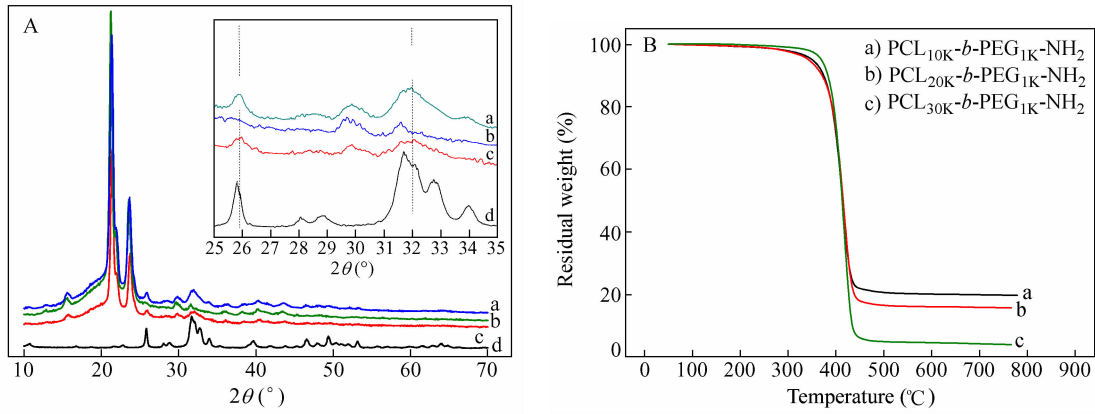


Fig. 2 (A) XRD and (B) TGA results of PCL-*b*-PEG-NH₂ microspheres with different PCL/PEG ratios, having immersed in 1.5SBF for 20 days: (a) $PCL_{10K}-b-PEG_{1K}-NH_2$, (b) $PCL_{20K}-b-PEG_{1K}-NH_2$, (c) $PCL_{30K}-b-PEG_{1K}-NH_2$ and (d) commercial hydroxyapatite

Table 1 Ca/P ratios of PCL-*b*-PEG-NH₂ microspheres which were immersed in 1.5SBF for 20 days

Element composition	PCL _{10K} - <i>b</i> -PEG _{1K} -NH ₂	PCL _{20K} - <i>b</i> -PEG _{1K} -NH ₂	PCL _{30K} - <i>b</i> -PEG _{1K} -NH ₂
Ca (at%)	0.73	0.83	0.29
P (at%)	0.51	0.58	0.18
Ca/P	1.43	1.43	1.61

2.2 不同表面官能团 PCL-*b*-PEG 微球的矿化

图3中的3组微球是由相同共聚物组成不同端基官能团的聚合物所制备,其中共聚物亲水链端的末端分别带有一OCH₃、—COOH和—NH₂.从照片中可以看到由于共聚物的PCL/PEG比例相同,3组微球的表面形貌相差不大.然而由于共聚

物中 PEG 链段的亲水性作用,使连接在 PEG 段的端基也跟随 PEG 趋向于分布在微球的表面,因此使 3 组微球表面带有不同的官能团^[18].

将 3 组微球在模拟体液中浸泡 4 天后发现,微球表面均没有观察到磷灰石沉积. 随着微球在 1.5SBF 中浸泡时间的增加,微球表面磷灰石的含量逐渐增加. 在浸泡 8 天后 3 组微球表面均出现了磷灰石,其中 $\text{PCL}_{40\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{2\text{K}}\text{-OCH}_3$ 微球表面磷灰石含量最少,且只堆积在微球表面的孔隙处. $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-COOH}$ 微

球上的磷灰石量最多,磷灰石呈微小的球形颗粒均匀分布于微球表面. $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$ 微球表面磷灰石含量居中,并不规则的分布于微球表面.

对于表面为电中性的 $\text{PCL}_{40\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{2\text{K}}\text{-OCH}_3$ 微球,由于生物模拟矿化过程所形成的磷灰石与微球间的结合力较低,因此磷灰石很容易从微球表面脱落. 从进一步放大的 SEM 照片(图 4)知道上述 3 组微球表面的磷灰石均是由许多纳米尺度的磷灰石晶片构成.

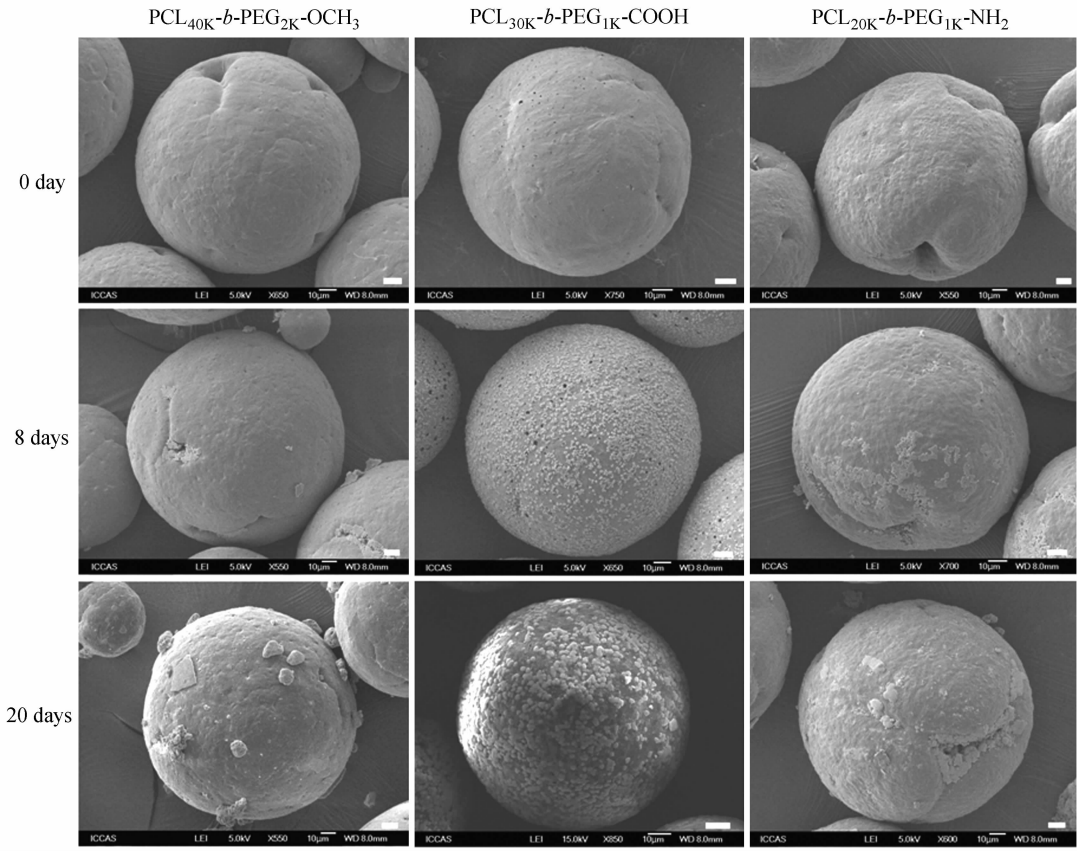


Fig. 3 SEM results of PCL-*b*-PEG microspheres with different surface functional groups, which were immersed in 1.5SBF for different time

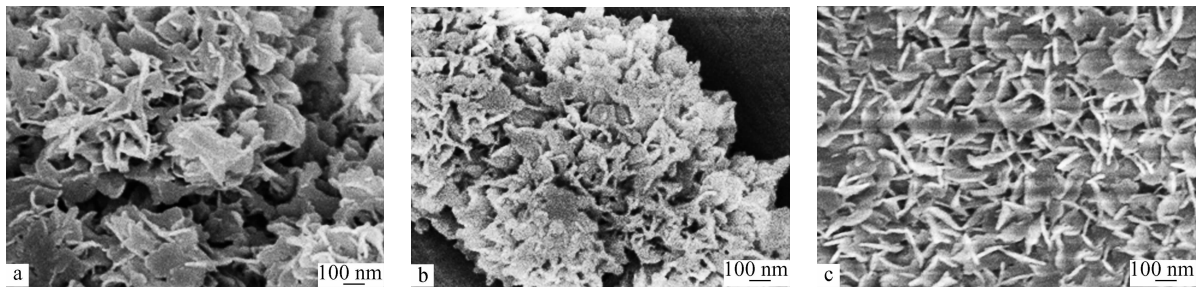


Fig. 4 Enlarged SEM results of PCL-*b*-PEG microspheres with different surface functional groups, which were immersed in 1.5SBF for 20 days: (a) $\text{PCL}_{40\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{2\text{K}}\text{-OCH}_3$, (b) $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-COOH}$ and (c) $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$

图 5 (A) 为浸泡 20 天后 3 组微球的 XRD 结果,将局部区域放大后可以看到 3 组微球在 25.9° 、 $31.8^{\circ} \sim 32.2^{\circ}$ 处均出现了磷灰石的 2 个特征峰,说明微球表面无机物为磷灰石.然而图 5 (B) 的 TGA 结果表明 $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-COOH}$,

$\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$ 和 $\text{PCL}_{40\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{2\text{K}}\text{-OCH}_3$ 3 组微球表面的磷灰石含量相差不大.矿化 20 天微球的 XPS 结果表明 3 组微球的 Ca/P 均小于 1.67,说明此时微球表面磷灰石层的结晶并不完善(见表 2).

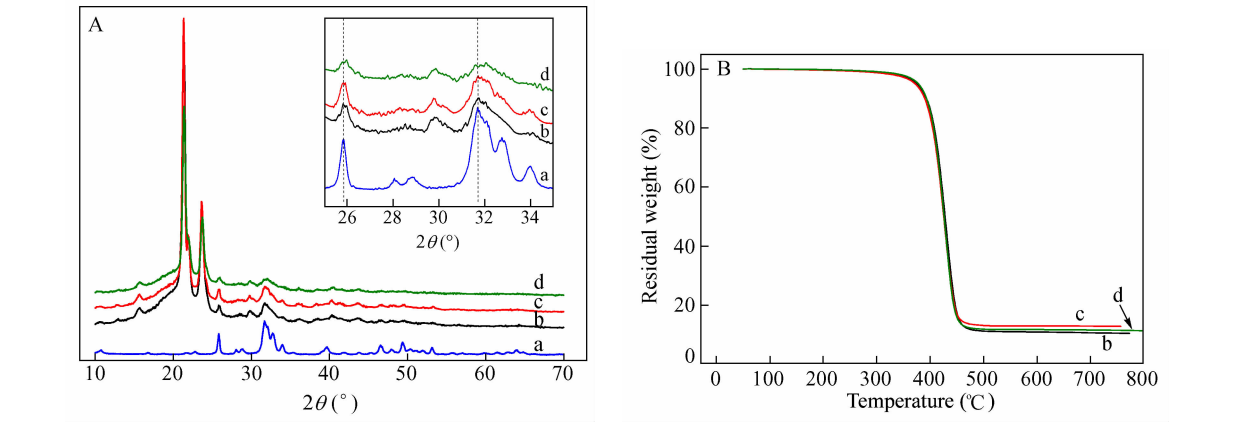


Fig. 5 (A) XRD and (B) TGA results of $\text{PCL}\text{-}b\text{-PEG}$ MS with different surface function groups, which were immersed in 1.5SBF for 20 days; (a) commercial HAP, (b) $\text{PCL}_{40\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{2\text{K}}\text{-OCH}_3$, (c) $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-COOH}$ and (d) $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$

Table 2 Ca/P ratios of the microspheres prepared from $\text{PCL}\text{-}b\text{-PEG}$ with different end-groups and immersed in 1.5SBF for 20 days

Element composition	$\text{PCL}_{40\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{2\text{K}}\text{-OCH}_3$	$\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-COOH}$	$\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$
Ca (at%)	1.35	3.57	0.83
P (at%)	1.03	2.61	0.58
Ca/P	1.31	1.37	1.43

$\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-COOH}$ 微球表面带有负电荷的 -COOH 基团容易结合 1.5SBF 中的钙离子,并作为成核位点引发磷灰石矿化,因此微球表面磷灰石均匀分布.对于带有正电荷的 $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-NH}_2$ 微球, -NH_2 的存在可以通过结合 1.5SBF 中

的磷酸根,然后结合钙离子,继而引发磷灰石在微球表面的矿化沉积^[19,20].尽管文献报道功能基团诱导磷灰石形成的能力为: $\text{COOH} > \text{NH}_2 > \text{CH}_3 \approx 0$.然而在本实验中,TGA 结果却表明 3 组微球表面磷灰石含量相差不多.这可能是由于 TGA 测试所选微球样品的矿化时间过长(20 天)所致,具体原因有待进一步的实验研究.

2.3 时间对磷灰石形成的影响

图 6(A) 是商品 HAP 和在 1.5SBF 中浸泡不同时间的 $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-COOH}$ 微球的 XRD 结果.从放大的图中可以看到浸泡 4 天后微球的 XRD 结果同没有矿化的微球基本相同,而矿化

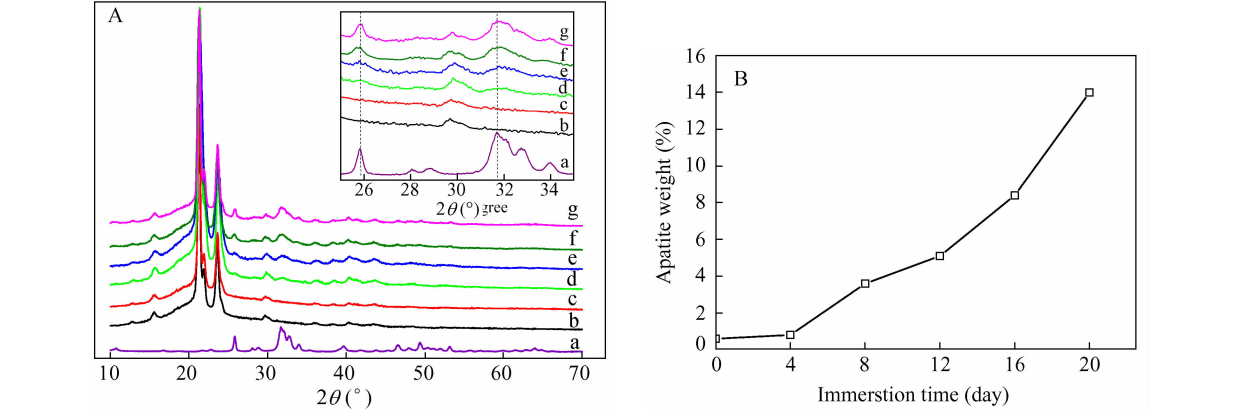


Fig. 6 (A) XRD results of $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-COOH}$ microspheres immersed in 1.5SBF for different time; (a) commercial HAP, (b) 0 day, (c) 4 days, (d) 8 days, (e) 12 days, (f) 16 days and (g) 20 days; (B) Apatite weight which was calculated form the TGA results of $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-COOH}$ microspheres immersed in 1.5SBF for different time

8 天后的微球在 $(25.9^\circ, 31.8^\circ \sim 32.2^\circ)$ 处出现了 2 个不明显的磷灰石特征峰, 它们分别对应着磷灰石的 (002) 和 (211) (112) 面. 随着浸泡时间的延长这两个特征峰的强度增加, 说明随浸泡时间的延长, 微球表面磷灰石含量增多.

进一步将矿化不同时间的 $\text{PCL}_{20\text{K}}\text{-}b\text{-PEG}_{1\text{K}}\text{-COOH}$ 微球进行 TGA 测试. 图 6(B) 是由 TGA 结果得到的微球热失重残余随矿化时间的变化图, 可以看到微球上的磷灰石含量随着矿化时间的延长而增加. 矿化 4 天后微球的残余量与没有矿化的微球相差不多, 说明此时为磷灰石的成核期. 矿化 8 天后失重残余量明显增加, 然后随着矿化时间的增加, 微球的失重残余逐渐增加, 说明此时微球表面的磷灰石处于晶体的生长期.

3 结论

采用具有不同共聚物组成和端基官能团的 $\text{PCL-}b\text{-PEG}$, 通过双乳液溶剂挥发法制备得到具有不同表面粗糙度、亲水性和官能团的生物降解聚合物微球. 微球的生物模拟矿化试验表明, 随着共聚物中 PEG 含量的增加, 微球表面粗糙度和亲水性增加, 因此微球表面磷灰石的含量增加. 同时微球表面官能团的不同也会对磷灰石的形成和分布产生明显影响. 随着矿化时间的增加, 微球表面磷灰石含量增加. 本研究结果表明, 可通过调控共聚物化学结构和组成的方法来改变微球表面性质, 进一步结合矿化时间等条件的改变, 调控微球表面磷灰石的形成. 本研究将为改善细胞在生物降解高分子微球表面的黏附生长行为提供科学依据.

REFERENCES

- 1 Abe Y, Kokubo T, Yamamuro T. *J Mater Sci-Mater M*, 1990, 1(4): 233 ~ 238
- 2 Lu H, El-Amin S F, Scott K D, Laurencin C T. *J Biomed Mater Res A*, 2003, 64A(3): 465 ~ 474
- 3 Cowan C M, Shi Y Y, Aalami O O, Chou Y F, Mari C, Thomas R, Quarto N, Contag C H, Wu B, Longaker M T. *Nature Biotechnol*, 2004, 22(5): 560 ~ 567
- 4 Barrere F, Snel M M E, van Blitterswijk C A, de Groot K, Layrolle P. *Biomaterials*, 2004, 25(14): 2901 ~ 2910
- 5 Qiu Yongbing(邱永兵), Qiu Zhi(仇植), Chen Yuanwei(陈元维), Luo Xianglin(罗祥林). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2012, (7): 714 ~ 719
- 6 Tanahashi M, Yao T, Kokubo T, Minoda M, Miyamoto T, Nakamura T, Yamamuro T. *J Appl Biomater*, 1994, 5(4): 339 ~ 347
- 7 Tanahashi M, Yao T, Kokubo T, Minoda M, Miyamoto T, Nakamura T, Yamamuro T. *J Mater Sci-Mater M*, 1995, 6(6): 319 ~ 326
- 8 Tanahashi M, Yao T, Kokubo T, Minoda M, Miyamoto T, Nakamura T, Yamamuro T. *J Am Ceram Soc*, 1994, 77(11): 2805 ~ 2808
- 9 Jam M, Areva S, Pore V, Peltonen J, Linden M. *Langmuir*, 2006, 22(19): 8209 ~ 8213
- 10 Tanahashi M, Matsuda T. *J Biomed Mater Res*, 1997, 34(3): 305 ~ 315
- 11 Yu G Q, Zhang Y, Shi X D, Li Z S, Gan Z H. *J Biomed Mater Res A*, 2008, 84A(4): 926 ~ 939
- 12 Qu X, Cui W J, Yang F, Min C C, Shen H, Bei J Z, Wang S G. *Biomaterials*, 2007, 28(1): 9 ~ 18
- 13 Shi X D, Jiang J, Sun L, Gan Z H. *Colloid Surface B*, 2011, 85(1): 73 ~ 80
- 14 Shi Xudong(石旭东), Sun Lei(孙磊), Gan Zhizhua(甘志华). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2011, (8): 866 ~ 873
- 15 Chen D R, Chen H L, Bei J Z, Wang S G. *Polym Int*, 2000, 49(3): 269 ~ 276
- 16 Bouillot P, Ubrich N, Sommer F, Duc T M, Loeffler J P, Dellacherie E. *Int J Pharmaceut*, 1999, 181(2): 159 ~ 172
- 17 Dorati R, Genta I, Colonna C, Modena T, Pavanetto F, Perugini P, Conti B. *Polym Degrad Stabil*, 2007, 92(9): 1660 ~ 1668
- 18 Yu Guoqiang(于国强), Shi Xudong(石旭东), Gan Zhizhua(甘志华). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2006, (5): 740 ~ 744
- 19 Li J J, Chen Y P, Yin Y J, Yao F L, Yao K D. *Biomaterials*, 2007, 28(5): 781 ~ 790
- 20 Chen Y, Mak A F T, Wang M, Li J S. *J Biomed Mater Res B*, 2006, 77B(2): 315 ~ 322

BIOMINERALIZATION ON COPOLYMERIC MICROSPHERES SURFACE WITH DIFFERENT FUNCTIONAL GROUPS AND COMPOSITION

Xu-dong Shi¹, Yu Zhang², Guo-qiang Yu³, Lei Sun⁴, Zhi-hua Gan¹

(¹ The CAS Key Laboratory of Engineering Plastics, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190)

(² Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190)

(³ Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190)

(⁴ Beijing Institute of Traumatology and Orthopaedics, Jishuitan Hospital, Beijing 100035)

Abstract PCL-*b*-PEG with different composition and functional groups were used to prepare microspheres with different surface properties by means of the double emulsion solvent evaporation method. Then, the biomineralization of microspheres was performed in the 1.5 simulated body fluid (1.5SBF). The effects of the hydrophilicity, roughness and functional groups of microsphere surface on the formation of apatite were studied. It was found that the higher molar ratio of PEG to PCL leads to rougher and more hydrophilic microsphere surface, which results in the formation of more apatite. The functional groups were found to have great influence on the formation and distribution of apatite on the surface of microspheres. Apatite was distributed homogeneously on the surface of PCL_{20K}-*b*-PEG_{1K}-COOH microspheres. Moreover, the amount of apatite on microsphere surface increased with the mineralization time. The biomineralization had an initial period of *ca.* 4 days for apatite nucleation, followed by normal gradual growth. The results of this work indicate that the surface properties of microspheres such as hydrophilicity, roughness and functional groups as well as the biomineralization time could be used to control the apatite formation on microsphere surface. These results are expected to be used in the construction of tissue engineering scaffolds.

Keywords Aliphatic polyester, Microspheres, Apatite, Biomimetic mineralization method