

聚(丙交酯-co-乙交酯)/ β -磷酸三钙复合物的电纺研究*

吴殊斌¹ 姚 琛¹ 李新松^{1,2**}

(¹ 东南大学化工系 南京 210018) (² 东南大学生物材料和药物释放实验室 南京 210018)

摘 要 对生物可吸收聚(丙交酯-co-乙交酯)(poly(lactide-co-glycolide), PLGA)与 β -磷酸三钙(β -TCP)复合物体系进行了电纺,研究了PLGA的浓度, β -TCP与PLGA比例,加料速度,电压,喷头与接收体之间的距离等因素对电纺过程的影响,制备出纳米纤维膜,并用扫描电镜(SEM)等对纤维膜进行表征.结果表明,电纺溶液浓度越高,或者加料速度越快,纳米纤维的直径越粗.力学实验显示,复合物中 β -TCP的含量增加使纳米纤维膜的拉伸强度和杨氏模量下降.

关键词 电纺, 纳米纤维膜, 聚(丙交酯-co-乙交酯), β -磷酸三钙

静电纺丝是一种能够制备纳米纤维的重要方法,制得的纤维直径一般在数十纳米到数微米,已经有许多种聚合物被电纺成纳米纤维,如聚丙烯腈,聚环氧乙烷,聚乙烯醇,醋酸纤维素,聚乳酸和聚氨酯等^[1].由于电纺纳米纤维与肌体中细胞外基质的生物大分子(胶原等)纤维直径相近,可降解高分子材料的电纺研究尤为受到人们的关注,电纺可吸收高分子纳米纤维有望在生物医学领域得到广泛应用.近几年来,电纺胶原、丝素、聚乳酸纳米纤维被科学家用于构建血管,皮肤,骨组织工程支架和肌体修复材料^[1].国内在这方面的研究也已逐步展开^[2,3].

为了进一步开发聚乳酸类可吸收高分子电纺纳米纤维支架,将可吸收高分子与无机粒子复合电纺,可获得可吸收无机-有机复合纳米纤维^[1],这类材料可能用于引导性骨再生,骨组织工程支架等组织修复材料.Fan等将聚乳酸(PLA)与羟基磷灰石(HA)进行复合,利用电纺制成了PLA/HA复合物纳米纤维膜,并探讨了它的生物相容性^[4].但是由于PLA降解时间较长,且HA粒子晶体结构稳定不易完全吸收^[5],PLA/HA复合膜在引导性骨再生和骨组织工程支架等方面的应用可能受到限制.

聚(丙交酯-co-乙交酯)(PLGA)及它们与磷酸钙盐的复合物,是具有良好的生物相容性和生物吸收特性的一类生物材料^[6,7].Miller等发现^[8],丙交酯和乙交酯共聚后,其降解速率比丙交酯均聚物大大提高,而且可以通过调节共聚比来调节降

解时间.与HA相比较,磷酸三钙(β -TCP)有更好的生物降解吸收性能^[5].将 β -TCP引入可以抑制聚乳酸类高分子降解引起的pH值下降,有助于防止炎症反应的发生^[7].因此,研究PLGA与 β -TCP复合纳米纤维膜具有重要意义.本文将PLGA与超细 β -TCP粒子复合,采用电纺技术将其制成含超细 β -TCP粒子的纳米纤维膜,并改变原料的配比,浓度,以及电纺工艺条件,研究制备PLGA/ β -TCP复合纳米纤维膜,为研究开发新型组织修复材料奠定基础.

1 实验部分

1.1 材料与试剂

聚(丙交酯-co-乙交酯)(PLGA),合成方法参照文献[9],共聚比LA/GA = 4/1,粘均分子量 M_v 为 6.7×10^4 ;磷酸三钙(β -TCP),合成方法参照文献[10],所得生料在900℃下灼烧4 h,以质量比1:1.5的比例与一缩二乙二醇混合,在球磨机(南京大学仪器厂,QM-C1型)中球磨12 h,转速400 r/min,用丙酮替换出一缩二乙二醇即可获得超细 β -TCP.其他试剂均为市售分析纯.

1.2 电纺

1.2.1 电纺溶液的配制 将PLGA溶解于混合溶剂中(DMF/丙酮,体积比1/1),配成指定浓度的溶液,浓度以 c (g/100 mL溶剂)表示.再按比例加入 β -TCP,超声混匀.

1.2.2 电纺 自动电纺仪由东南大学生物材料和药物释放实验室研制,装置结构示意图见图1.

* 2004-07-27 收稿,2004-11-04 修稿;江苏省高技术研究基金(基金号BG2002002)、江苏省社会发展基金(基金号BS2001034)、南京市科学技术基金(基金号200301046)和东南大学防SARS专项基金(基金号FS031902)资助项目; ** 通讯联系人, E-mail: lixs@seu.edu.cn

电纺实验共分五组, 每组分别改变 PLGA 浓度(c), β -TCP/PLGA 质量比($W_{\beta\text{-TCP}}/W_{\text{PLGA}}$), 电压(U), 加料速度(feed rate), 喷头与接收体之间的距离(d), 电纺得到的纳米纤维膜经真空干燥除去溶剂。

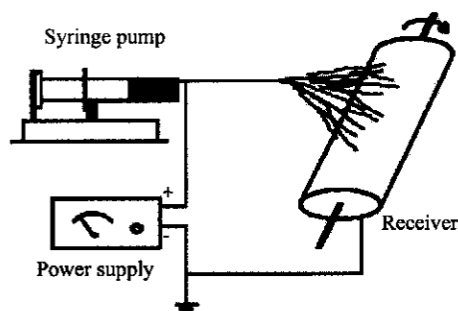


Fig. 1 Schematic diagram of the electrospinning system

1.3 扫描电镜(SEM)和透射电镜(TEM)观察

电纺所得纳米纤维膜进行喷金或喷碳处理, 通过 SEM(日立制作所, X-650 型)和 TEM(日本电子公司 JEOL, JEM2000EX 型)观察纤维膜的几何结构, 确定纤维直径范围。

1.4 力学性能测试

采用 INSTRON 力学试验机测定不同 β -TCP/PLGA 配比电纺复合膜的拉伸力学性质。每种样品用模具取 3 个相同规格样条, 样条宽 5 mm, 有效长度 15 mm, 厚度约 0.01 mm。拉伸速率为

50 mm/min, 测试结果取平均值。

2 结果与讨论

2.1 聚(丙交酯-co-乙交酯)/ β -磷酸三钙(PLGA/ β -TCP)复合物的电纺

2.1.1 聚合物浓度对电纺纤维结构的影响 相同 β -TCP 与 PLGA 的质量配比($W_{\beta\text{-TCP}}/W_{\text{PLGA}} = 1/10$), 不同浓度的一系列 PLGA/ β -TCP 复合物电纺得到含有无机粒子的纳米纤维膜材料, 其电镜照片见图 2。由图可见, 聚合物的浓度对纤维直径的影响十分明显, 纤维直径随聚合物 PLGA 浓度增大而增大。当聚合物浓度很小(如 $c = 5 \text{ g}/100 \text{ mL}$ 溶剂)时, 出现连珠结构, 珠体呈纺锤形, 珠体之间是直径很小的纤维, 直径范围大约在 100 ~ 300 nm 之间, 在纤维表面没有观察到 β -TCP 粒子。由 PLGA/ β -TCP 复合物膜的 SEM 图(见图 3)可观察到, β -TCP 粒子的粒径约 300 ~ 500 nm。因此, β -TCP 超细粒子不可能存在于直径小于 300 nm 的纤维中。为了考察 β -TCP 粒子去向, 采用 TEM 观察珠体的内部结构(见图 4), 结果显示, β -TCP 超细颗粒聚集在聚合物纺锤状珠体中, 而细小的纤维中看不到颗粒, 这可能是由于低浓度下 β -TCP 粒子易于局部簇聚所造成。

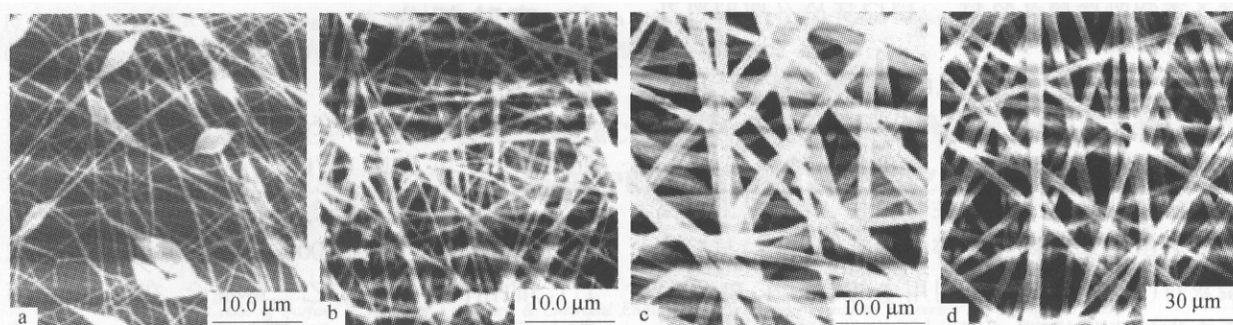


Fig. 2 The SEM photographs of PLGA/ β -TCP nanofiber mats with different concentrations of PLGA

Electrospinning condition: $W_{\beta\text{-TCP}}/W_{\text{PLGA}} = 1/10$, $d = 12 \text{ cm}$, feed rate = 6 mL/h, $U = 11 \text{ kV}$; c (g/100 mL): a) 5; b) 10; c) 15; d) 20

随着聚合物浓度的增加, 纤维直径逐渐增大。 c 为 10 g/100 mL 溶剂时, 纤维直径约 0.5 ~ 1 μm , 纤维表面结构不规则, 表面有许多突起, 这种现象在纯聚乳酸电纺体系中是不存在的。我们将这些突起归因于体系中存在的 β -TCP 超细粒子。当 c 为 15 g/100 mL 溶剂时, 纤维直径达 1 ~ 2 μm , 纤维表面只能观察到少量 β -TCP 颗粒突起, 这是因为纤维直径增大后, β -TCP 粒子直径(参见图 3)小于纤维直径, 大部分颗粒分布在纤维内部。 c 为

20 g/100 mL 溶剂时, 纤维直径达 2 ~ 4 μm , 纤维表面比较光滑, β -TCP 颗粒分布在纤维内部, 表面几乎观察不到颗粒。可以推测, 将 β -TCP 粒子与 PLGA 复合电纺, 可获得 β -TCP 粒子有效分散在其中的复合纳米纤维材料, 纤维直径与聚合物的浓度有关, 浓度越高, 直径越大, 这是因为聚合物浓度增大使得电纺体系粘度和表面张力增大, 从而阻碍射流的静电拉伸, 导致纤维直径增大^[11]。

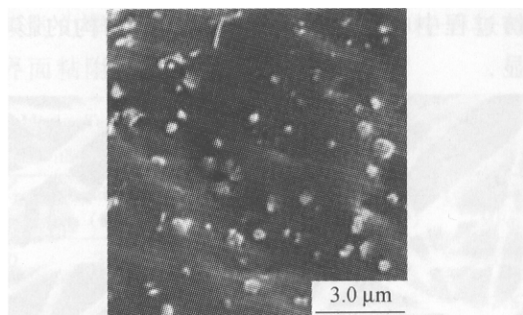


Fig. 3 The SEM photograph of PLGA/ β -TCP composite film

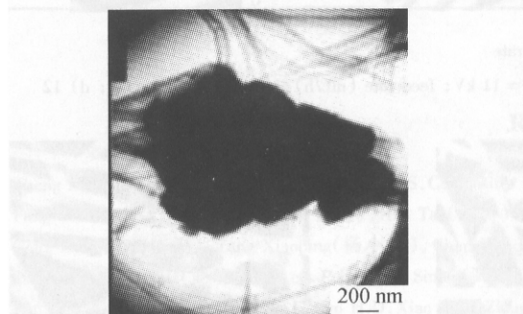


Fig. 4 The TEM photograph of beaded PLGA/ β -TCP nanofibers

Electrospinning condition: $c = 5 \text{ g/100 mL}$, $W_{\beta\text{-TCP}}/W_{\text{PLGA}} = 1/10$, $d = 12 \text{ cm}$, feed rate $= 6 \text{ mL/h}$, $U = 11 \text{ kV}$

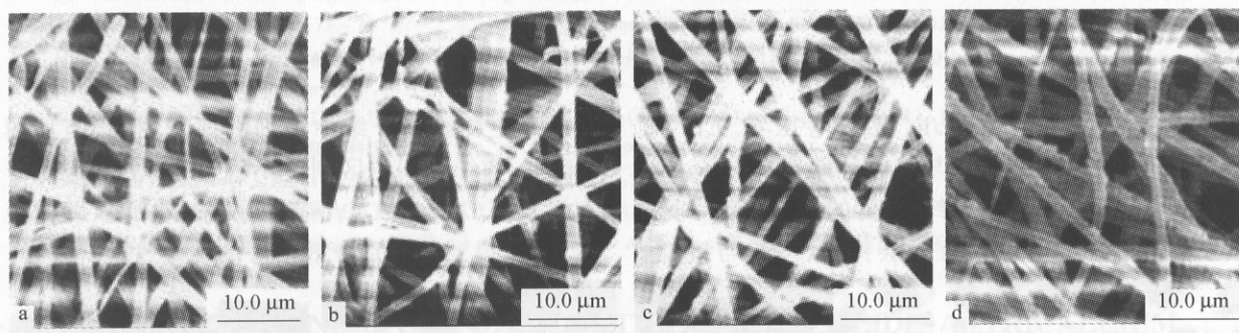


Fig. 5 The SEM photographs of PLGA/ β -TCP nanofiber mats with different $W_{\beta\text{-TCP}}/W_{\text{PLGA}}$ ratio

Electrospinning condition: $c = 15 \text{ g/100 mL}$, $d = 12 \text{ cm}$, feed rate $= 6 \text{ mL/h}$, $U = 11 \text{ kV}$; $W_{\beta\text{-TCP}}/W_{\text{PLGA}}$: a) 0; b) 1/20; c) 2/20; d) 4/20

拉伸后开始鞭动,在通常情况下纤维的鞭动速度非常快.而且,电纺过程中电压、加料速度、喷头与接收体之间的距离都会影响电纺纤维的形态.

配比和浓度恒定的 PLGA/ β -TCP 电纺体系 ($W_{\beta\text{-TCP}}/W_{\text{PLGA}}$ 为 1/10, c 为 15 g/100 mL 溶剂),固定喷头与接收体之间距离 12 cm,电纺电压约 12 kV,改变加料速度,得到的纳米纤维结构见图 6.可以看出随着加料速度的增大,纤维直径随之稍增大.可能是因为加料速度直接影响电纺射流拉伸和快速鞭动之前的直径,最终造成纳米纤维直径增大.

保持喷头与接收体距离 12 cm,加料速度 6 mL/h,改变电纺电压,纳米纤维的 SEM 照片见

2.1.2 β -TCP 含量对电纺纤维结构的影响

PLGA 的质量浓度保持不变 (c 为 15 g/100 mL 溶剂),改变 β -TCP 与 PLGA 的质量配比 $W_{\beta\text{-TCP}}/W_{\text{PLGA}}$ 为 0/20、1/20、2/20、4/20,电纺所得纳米纤维微观结构见 SEM 照片(图 5).

由结果可见,所得纤维的直径范围大致相同,都在 1 ~ 2 μm 之间,这一结果进一步说明纤维直径主要与电纺溶液的浓度有关.当电纺纯 PLGA 时,得到的纤维比较规则,纤维表面没有突起.体系中 $W_{\beta\text{-TCP}}/W_{\text{PLGA}}$ 为 1/20、2/20 时,一方面粒子含量较低,另一方面,纤维直径较大,超细 β -TCP 颗粒主要分散在纤维内部,所以在表面观察到的 β -TCP 颗粒突起很少.只有在 β -TCP 含量较高,如 $W_{\beta\text{-TCP}}/W_{\text{PLGA}}$ 达到 4/20 时,纤维表面可以观察到大量突起,显然这是因为有大量 β -TCP 粒子分布在纤维表面.

2.1.3 电纺条件对电纺纤维结构的影响

Shin 和 Hohman 等研究表明^[12],电纺的关键机理是聚合物流体的快速鞭动.当流体在高电压作用下从喷嘴头喷出后,流体沿电场力方向经过一段静电

图 7.一般地,喷头与接收装置间距一定时,随着电压增大,高分子纺丝液的射流有更大的表面电荷密度,因而有更大的静电斥力,同时,更高的电场强度使射流获得更大的加速度,这两个因素均能引起射流及形成的纤维有更大的拉伸应力^[13],导致有更高的拉伸应变速率,有利于制得更细的纤维.但实验中发现,电压较低时,纺丝头处难以形成良好的 Taylor 锥,挤出的聚合物液滴因不稳定而出现乱甩的现象,当电压升高到一临界值 ($U = 4.5 \text{ kV}$) 以上之后,喷射逐渐稳定,液体流自喷头呈锥体状伸长喷射,而当电压过高时(如 $U = 16 \text{ kV}$),液体流自喷射头直接喷射且在喷头

处出现干结的聚合物细纤维,有时能引起喷头的堵塞.从图 7 结果看来,在 PLGA/ β -TCP 复合体系

电纺过程中电压的变化对纤维几何结构的影响不明显.

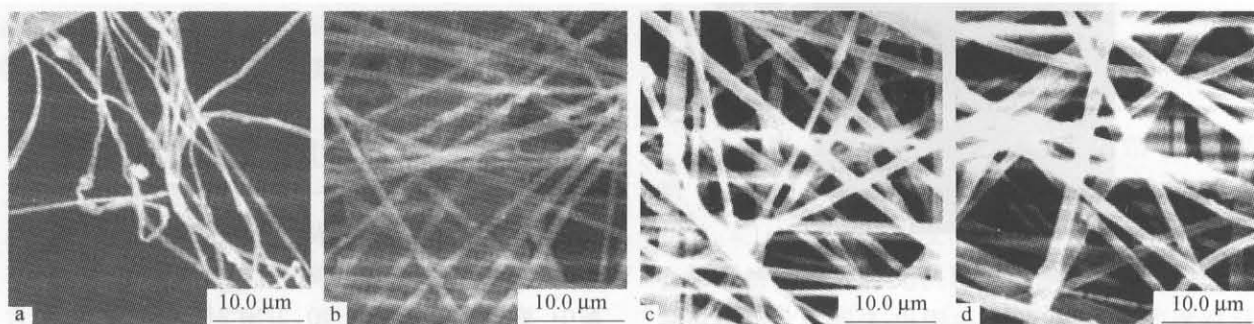


Fig. 6 The SEM photographs of PLGA/ β -TCP nanofiber mats with different feed rate

Electrospinning condition: $c = 15$ g/100 mL, $W_{\beta\text{-TCP}}/W_{\text{PLGA}} = 1/10$, $d = 12$ cm, $U = 11$ kV; feed rate (mL/h): a) 0.2; b) 2; c) 6; d) 12

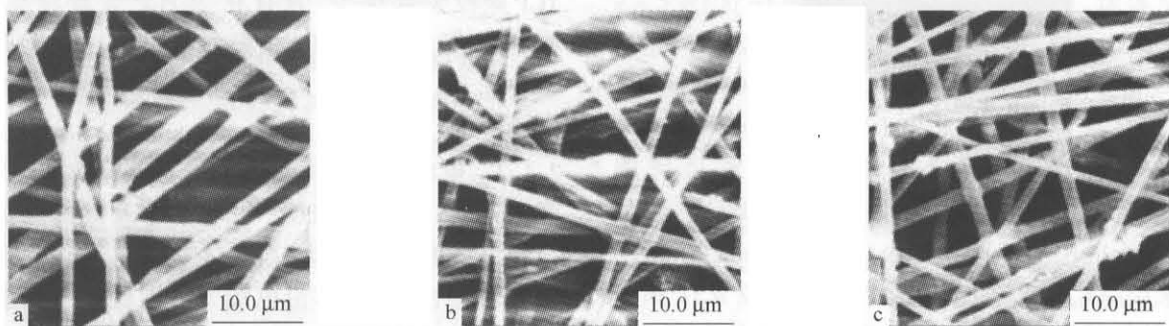


Fig. 7 The SEM photographs of PLGA/ β -TCP nanofiber mats with different voltages

Electrospinning condition: $c = 15$ g/100 mL, $W_{\beta\text{-TCP}}/W_{\text{PLGA}} = 1/10$, $d = 12$ cm, feed rate = 6 mL/h; U (kV): a) 6.4; b) 10.4; c) 14.4

保持加料速度 6 mL/h, 电纺电压在 9.0 ~ 12.0 kV 范围内. 改变喷头与接收体距离 ($d = 6, 9, 12, 15$ cm), 得到的纳米纤维膜的 SEM 照片见图 8. 由于溶剂在电纺过程中会挥发, 喷头与接收

体间距主要影响纤维中溶剂的挥发程度. 但从图 8 看出, 各纤维间的区别并不明显. 这主要是由于室温较高 (25 ~ 30 $^{\circ}\text{C}$), 溶剂挥发较快, 所以即使距离较近, 得到的也是分散很好的纤维.

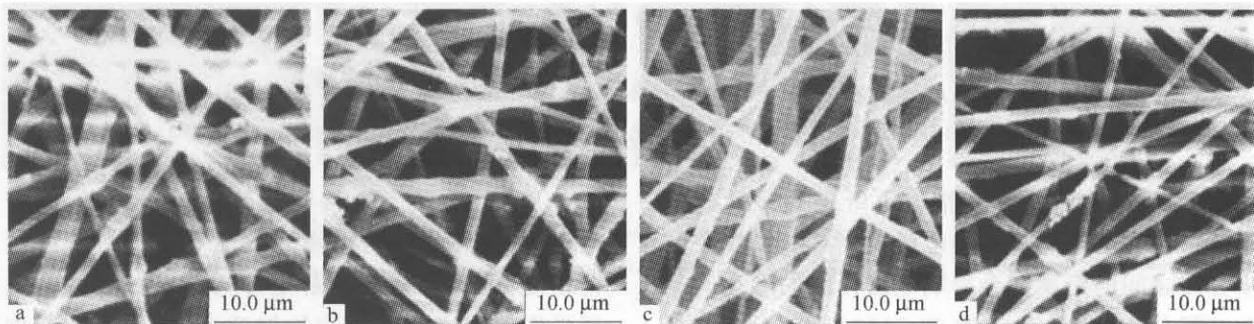


Fig. 8 The SEM photographs of PLGA/ β -TCP nanofiber mats with different distance (d) between the tip and the receiver

Electrospinning condition: $c = 15$ g/100 mL, $W_{\beta\text{-TCP}}/W_{\text{PLGA}} = 1/10$, feed rate = 6 mL/h; d (cm): a) 6; b) 9; c) 12; d) 15

2.2 聚(丙交酯-co-乙交酯)/ β -磷酸三钙 (PLGA/ β -TCP) 复合物纳米纤维膜的力学性能

将不同 β -TCP 与 PLGA 的质量配比复合物电纺所得纳米纤维膜用模具切成哑铃形标准样条, 进行拉伸力学性能测试, 测试结果见表 1. 结果显示, 由 PLGA 及 PLGA/ β -TCP 复合材料所制备的纳

米纤维膜均有较好的力学性能. 纯 PLGA 纳米纤维膜的拉伸强度为 27.76 MPa, 杨氏模量达到 371.7 MPa. 随着 β -TCP 含量的增加, 膜的拉伸强度和杨氏模量有所下降, 当 β -TCP 与 PLGA 质量比达 1/5 时, 复合膜的拉伸强度降至 17.64 MPa. 显然, 超细 β -TCP 粒子的加入没有提高复合纳米纤

维膜的力学性能,可能是因为 β-TCP 粒子与 PLGA 的界面粘附情况不佳所造成的。

Table 1 Tensile strength and modulus of PLGA/β-TCP nanofiber mats with different $W_{\beta-TCP}/W_{PLGA}$ ratios

$W_{\beta-TCP}/W_{PLGA}$	Yield strength (MPa)	Tensile strength (MPa)	Extension at break (%)	Young modulus (MPa)
0	30.60	27.76	172.93	371.70
1/20	28.60	24.36	141.63	242.87
2/20	20.11	17.09	116.89	183.38
4/20	17.64	17.64	78.62	164.37

由此可见,利用静电纺丝方法可以纺制 PLGA/β-TCP 复合纳米纤维膜,纤维直径在 0.1 ~ 4 μm 之间;聚合物的浓度,电纺溶液加料速度,电压,喷头与接收物之间的距离对所得纤维的直径都有影响,其中聚合物的浓度的影响最为明显,因此通常多用调节聚合物浓度的方法来控制纤维的直径,从而获得所需复合纳米纤维膜材料;另外,要想实现 β-TCP 粒子在纳米纤维膜中的力学增强效果,可能还需改善超细 β-TCP 粒子在 PLGA 中界面粘附情况。

REFERENCES

1 Zheng M H, Zhang Y Z, Kotaki M, Ramakrishna S. *Composites Science and Technology*, 2003, 63: 2223 ~ 2253
2 Fang Zhuangxi (方壮熙), Zhang Lu (张璐), Han Tao (韩涛), Hu Ping (胡平). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2004, (4): 500 ~ 505
3 Gong Huajun (龚华俊), Yang Xiaoping (杨小平), Chen Guoqiang (陈国强), Liu Taiqi (刘太奇), Zhang Shumin (张淑敏), Deng Xuliang (邓旭亮), Hu Xiaoyang (胡晓阳). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2005, (2): 297 ~ 300
4 Fan H S, Cai B, Wen X T, Tan Y F, Cao H D, Xiao Y M, Zhang X D. *Transactions of the 7th World Biomaterials Congress*. Victoria: Australian Society for Biomaterials Inc., 2004. 31 ~ 31
5 Liu Wencheng (刘文成), Guan Kai (关凯), Shi Shushan (时述山). *The Journal of Cervicodynia and Lumbodynia* (颈腰痛杂志), 2004, 25 (2): 136 ~ 138
6 Murakami H, Kobayashi M, Takeuchi H, Kawashima Y. *International Journal of Pharmaceutics*, 1999, 187: 143 ~ 152
7 Fei Xiaochen (费小琛), Yan Yongnian (颜永年), Xiong Zhuo (熊卓), Sun Lei (孙磊), Chen Lei (陈磊), Tao Jianfeng (陶剑锋). *Materials Review* (材料导报), 2003, 17 (12): 73 ~ 76
8 Miller R A, Brandy J M, Cutright D E. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1977, 11: 711 ~ 719
9 Gilding D K, Reed A M. *Polymer*, 1979, 20: 1459 ~ 1460
10 Wang Shibin (王仕斌), Weng Lianjin (翁连进), Zheng Changqiong (郑昌琼), Ran Junguo (冉均国). *Journal of Huaqiao University (Natural Science)* (华侨大学学报(自然科学版)), 1999, 20 (3): 287 ~ 290
11 Deitzel J M, Kleinmeyer J, Harris D, Beck Tan N C. *Polymer*, 2001, 42: 261 ~ 272
12 Shin Y M, Hohmen M M, Brenner M P, Rutledge G C. *Polymer*, 2001, 42: 9955 ~ 9967
13 Qin Xiaohong (覃小红), Wang Shanyuan (王善元). *Hi-Tech Fiber & Application* (高科技纤维与应用), 2004, 29 (2): 28 ~ 32

ELECTROSPINNING OF POLY(LACTIDE-co-GLYCOLIDE)/β-TRICALCIUM PHOSPHATE COMPOSITES

WU Shubin¹, YAO Chen¹, LI Xinsong^{1,2}

(¹ Department of Chemistry and Chemical Engineering, Southeast University, Nanjing 210018)
(² Biomaterials and Drug Delivery Laboratories, Southeast University, Nanjing 210018)

Abstract The Bioresorbable nanofiber mats of poly(lactide-co-glycolide)/β-tricalcium phosphate composites (PLGA/β-TCP) were electrospun. The effects of the most important processing parameters including PLGA solution concentration, β-TCP/PLGA weight ratio, feed rate, voltage, and distance between the tip and the receiver on the composite nanofiber mats were investigated in detail. Then, the composite nanofiber mats were characterized by scanning electron microscopy (SEM), TEM (transmission electron microscopy) and tensile tester. The SEM images showed that the diameters of PLGA/β-TCP nanofibers were increased with the increasing of the concentration of PLGA and feed rate. The results of tensile tests revealed that the tensile strength and Young's modulus of the composite nanofiber mats were lowered with increasing the content of β-TCP.

Key words Electrospinning, Nanofiber mats, Poly(lactide-co-glycolide), β-Tricalcium phosphate