

## 模板法制备羟基磷灰石纳米结构 微球及其机制探讨\*

肖东琴 匙峰 姚宁 张成栋 段可 翁杰\*\*

(西南交通大学材料科学与工程学院, 材料先进技术教育部重点实验室, 成都 610031)

**摘要** 羟基磷灰石作为人体和动物骨骼的主要无机成分, 被广泛应用于人体硬组织的修复和替换. 而羟基磷灰石微球因具有比表面积大、流动性好等优点, 成为生物医学领域的重要研究对象. 本文重点论述了采用软/硬模板合成羟基磷灰石纳米结构微球的方法、原理, 以及微球和纳米结构的形成机理. 提出了羟基磷灰石纳米结构微球研究中存在的问题, 并对其前景进行展望.

**关键词** 羟基磷灰石, 模板, 微球, 纳米结构, 自组装

**学科分类号** R318, TQ174

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2013.00285

羟基磷灰石(HA), 分子式为  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , Ca/P 原子比为 1.67, 晶体结构为六方晶系, 是人体和动物骨骼的主要无机成分, 具有良好的生物相容性、生物活性和骨传导作用. 可广泛应用于生物硬组织的修复和替换, 如口腔种植、耳小骨替换、人工关节假体活性涂层和脊椎骨替换等领域. 骨组织中的 HA 是在一定的生理环境下, 在胶原蛋白等物质的调控下, 经过复杂的物理、化学反应而形成的生物活性物质. 在骨质中, HA 大约占 60%, 是一种长 20~40 nm, 厚 1.5~3.0 nm 的纳米针状晶体<sup>[1]</sup>. 纳米级 HA 由于其纳米尺寸效应、表面电荷及表面能的作用, 以及针状纳米晶体有序排列等特性, 使骨组织表现出优异的生物力学性能<sup>[2]</sup>.

随着人们对 HA 形成的反应机理研究的深入, 发现, HA 组装体的构造和形貌等依赖于生物矿化过程中有机质对晶体的生长调制作用<sup>[3]</sup>, 即有机质通过自组装形成模板, 与无机离子在界面上利用静电匹配、几何匹配和立体化学互补等方式来控制纳米晶的成核和生长, 从而控制纳米晶体的结构和形貌. 因此, 采用模板法调控合成 HA 是近年来出现的制备纳米 HA 组装体较为新颖的方法. 这种方法通过加入一定的模板剂, 有效地控制合成 HA 的晶体形貌、表面性能和尺寸分布.

HA 微球材料具有比表面积大、流动性好、不易团聚、在生物体内易吸收等优点<sup>[4]</sup>, 在药物释放<sup>[5-6]</sup>、功能吸附材料<sup>[7-8]</sup>和生物分离介质<sup>[9]</sup>等方面有着广阔的应用前景. 目前制备微球的主要方法有溶胶-凝胶法<sup>[10-11]</sup>、喷雾干燥法<sup>[12-13]</sup>以及模板法<sup>[14-16]</sup>等. 其中模板法的出现为有效控制 HA 的组装体形貌和表面纳米结构形貌提供了简单而有效的途径. 本文对用于合成 HA 微球的模板物质以及这些模板物质对 HA 调控生长的机理进行综述.

### 1 模板物质的分类

采用模板法合成 HA 纳米结构微球过程中模板的选择很重要, 它在调控 HA 形成过程中起到限制成核位点与空间、提供异相成核界面的作用. 模板物质因其自身的结构和所含的官能团, 能促进 HA

\* 国家重点基础研究发展计划(973)资助项目(2012CB933602), 国家自然科学基金面上项目(51172188), 四川省科技支撑计划资助项目(2010FZ0048), 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(SWJTU11ZT11), 四川省青年科技基金创新团队项目(2010JQ0081)和 2013 年西南交通大学博士创新基金资助项目.

\*\* 通讯联系人.

Tel: 028-87601371, E-mail: jweng@swjtu.edu.cn

收稿日期: 2013-06-20, 接受日期: 2013-07-18

在特定位点上成核生长, 进而形成有序结构的 HA<sup>[7]</sup>. 模板主要分为两大类: 软模板和硬模板. 软模板一般指非固相模板, 包括聚合物、小分子和气泡等; 硬模板是指具有刚性结构的物质, 如碳酸钙微球、锂钙硼玻璃微球等. 软模板法在合成过程中, 对主客体匹配方面的要求较高, 可以通过控制合成条件, 如改变反应物比例、模板剂浓度等, 有效控制产物的形貌与结构. 而硬模板法, 对主客体匹配方面的要求比较低, 灵活性和适应性都更强.

## 2 软模板在制备 HA 微球中的应用

软模板合成 HA 微球是指模板分子在溶液等介质中通过特定官能团吸附(无机离子或晶面)或自组装形成特定形态的模板, 以此为基础调控 HA 的成核和生长, 最终形成球形 HA. 软模板制备 HA 微球, 能有效控制 HA 微球表面的纳米结构且模板去除简单, 但其对主客体匹配方面的要求较高. 根据其作用环境和机理的不同, 主要分为以下几类: 表面活性剂、聚合物、有强吸附能力的小分子、生物大分子和气泡等.

### 2.1 表面活性剂

表面活性剂是由亲水基(极性部分)和疏水基(非极性部分)组成的分子. 当表面活性剂的浓度达到其临界浓度(CMC)以上, 能发生自组装形成胶束或

微乳液、液晶及泡囊等有序微结构. 它们的尺寸大都在纳米范围内, 可以为化学反应提供特殊微环境, 并限制反应在一定空间内进行, 从而起到模板作用<sup>[8]</sup>, 因此用于微球合成时, 可以起到很好的控制微球尺寸和形貌的作用. Saha 等<sup>[9]</sup>采用非离子表面活性剂壬基酚聚氧乙烯醚(NP12)/ 环己烷 / 水反相微乳液体系, 在水相 / 油相(A/O)体积比 1 : 15, pH 值 9 的条件下, 制备出粒径为 ~25 nm 的球状 HA 颗粒. 结果表明, 随着 A/O 比和溶液 pH 值的增加, 合成 HA 纳米颗粒的形状从针状变为球状(图 1a, b). 同时他们探讨了表面活性剂在 HA 晶体生长过程中的作用: a.  $\text{Ca}^{2+}$  与表面活性剂的亲水基团相结合, 进而调控 HA 的生长. b. 反相胶束形成的极性核的尺寸和形状决定了合成 HA 粉体的形貌. c. 在水含量高的情况下(A/O=1 : 5), 胶束的形状和尺寸受形成的水通道(柱状)的影响, 形成柱状<sup>[20]</sup>, 进而调控生成针状 HA (图 1c). 在水含量低的情况下(A/O=1 : 15), 表面活性剂倾向于形成圆形的小尺寸胶束<sup>[20]</sup>, 小尺寸胶束进一步融合形成大尺寸的胶束来维持系统平衡, 进而调控生长球形 HA (图 1d). d. pH 值的升高, 会增强 OH<sup>-</sup>的浓度, 从而增强水相极性核和表面活性剂亲水头的排斥作用, 诱导模板形成球形结构来减弱这种排斥作用, 形成更稳定的胶束.

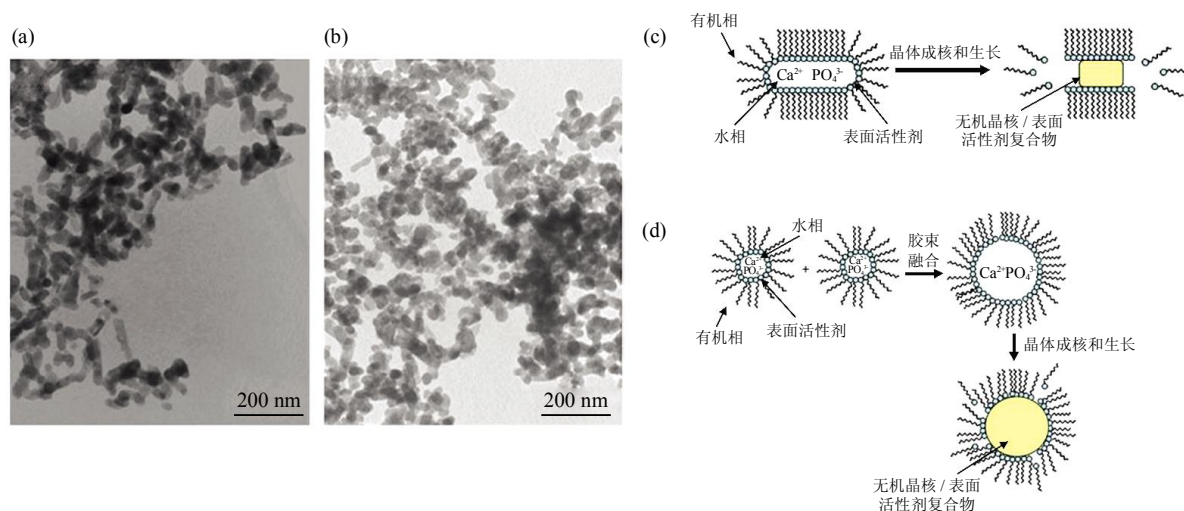


Fig. 1 TEM micrograph showing morphology of HA powder obtained using different A/O ratio and corresponding formation scheme<sup>[9]</sup>

图 1 在不同水/油比条件下合成 HA 的 TEM 图及形成示意图<sup>[9]</sup>

(a, b) 采用 NP12 为表面活性剂, 水 / 油体积比为: 1 : 5(a)和 1 : 15(b)条件下得到的 HA 的透射电镜图. (c)水 / 油比为 1 : 5 时, HA 在柱状胶束中的形成机理. (d)水 / 油比为 1 : 15 时, HA 在球形胶束中的形成机理.

十六烷基三甲基溴化胺(CTAB)是一种阳离子表面活性剂. Shanthi 等<sup>[21]</sup>采用化学沉淀法, 以 CTAB 为模板(浓度为 4 mmol/L, 常温常压下, CTAB 临界胶束浓度为 3.88 mmol/L), 溶液 pH 值为 11.5, 适度搅拌的条件下, 合成了 200 nm 左右具有核壳结构的 HA 微球. 由于 CTAB 在临界胶束浓度上能自组装形成阳离子胶束, 继而和磷酸根发生静电吸引, 为 HA 生长提供成核位点. 加入  $\text{Ca}^{2+}$  后, 生成球形 HA. 煅烧去除模板胶束后, 得到空心微球. Cai 等<sup>[22]</sup>采用湿化学法, 在 50℃ 水浴条件下, 以 CTAB 为模板, 在超声条件下, 合成 HA 空心微球(图 2). 他们发现, CTAB 和超声的协同作用是合成 HA 空心微球的关键. 若不施加超声, 合成的 HA 为 ~20 nm 大小的实心颗粒; 若只施加超声, 不加 CTAB, 合成 HA 为针状颗粒. 赵欣等<sup>[23]</sup>以 CTAB 为模板, 用水热合成法制备 HA 微球.

Xiao 等<sup>[24]</sup>以阴离子表面活性剂十二烷基肌氨酸钠(Sar-Na)为模板, 采用水热合成法, 制备了直径 ~6 μm 的蒲公英状 HA 微球(图 3a, b). 随着 Sar-Na 浓度的增加, HA 的形貌由纳米颗粒状变成纳米棒状, 继而变成纳米棒放射状排列组成的蒲公英状微球. 当反应体系中未加入 Sar-Na 时, 溶液中存在大量自由的钙磷离子和氢氧根离子, 溶液的过饱和

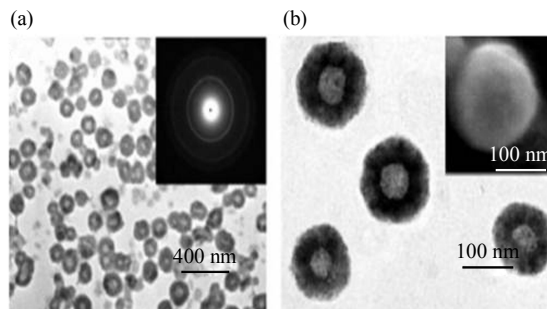


Fig. 2 TEM and SEM images of hollow calcium phosphate spheres synthesized from CTAB micelle templates under ultrasonic treatment<sup>[22]</sup>

图 2 在超声条件下, 以 CTAB 为模板制备磷酸钙空心微球的 TEM 图和 SEM 图<sup>[22]</sup>

增加, HA 快速成核生长, 因此形成 HA 纳米颗粒(图 3c). 当溶液中加入 Sar-Na 时, Sar-Na 离子化提供大量的  $-\text{COO}^-$ ,  $-\text{COO}^-$  和  $\text{Ca}^{2+}$  静电结合, 进而吸引  $\text{PO}_4^{3-}$  和  $\text{OH}^-$ , 局部过饱和度增加, HA 晶体成核. 首先, Sar-Na 分子首先自组装成囊泡, 随着浓度的增高, Sar-Na 分子形成层状胶束, 大量自由阴离子排列在层状结构之间, 从而吸引钙离子有序地排列在层状胶束表面, 引导 HA 成核生长, 从而

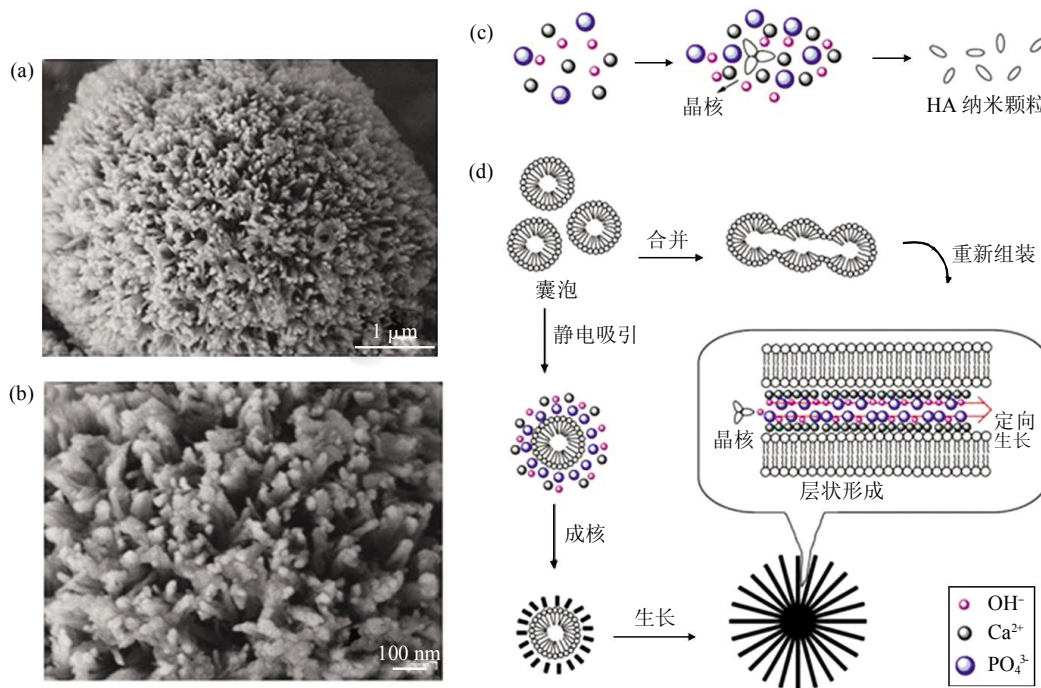


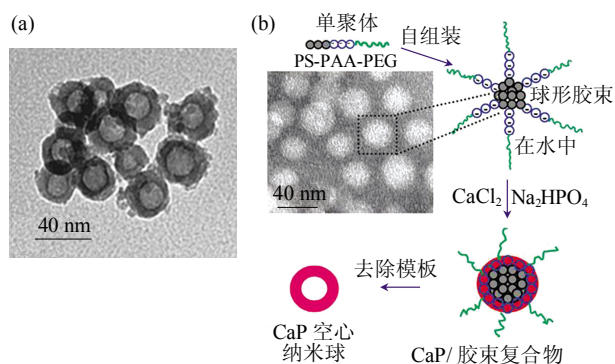
Fig. 3 SEM images of HA microspheres synthesized from sarcosyl templates and the possible mechanism of HA formation<sup>[24]</sup>

图 3 以十二烷基肌氨酸钠为模板合成 HA 微球的 SEM 图及可能的形成机理<sup>[24]</sup>

形成有机 - 无机 - 有机堆叠结构. 最后, 由中心的 Sar-Na 囊泡为核和周围 Sar-Na 层状胶束共同组成的模板, 引导 HA 由中心向周围发散生长, 形成三维蒲公英状微球结构(图 3d).

综上所述, 表面活性剂调控 HA 的形貌、结构和尺寸在很大程度上依赖于胶束的结构和稳定性, 而这又与实验反应参数(如温度、表面活性剂浓度、pH 值、溶剂、离子浓度等)密切相关. 因此, 在实际操作中, 对合成的控制具有一定的难度.

为解决这些问题, 人们开始采用表面活性剂 / 聚合物的复合物. 当表面活性剂 / 聚合物复合物的浓度达到“临界聚集浓度”时, 它们倾向于聚集形成胶束或囊泡. Bastakoti 等<sup>[25]</sup>采用聚苯乙烯 / 聚丙烯酸 / 聚乙二醇三嵌段共聚物(PS-PAA-PEG)自组装胶束作为模板合成 HA 空心微球(图 4). PS 为疏水物质, 形成胶束时, 存在于胶束内部, 作为胶束的核, 去除后有利于 HA 空心结构的形成; PAA 因含有大量羧基, 在碱性条件下带负电荷, 能有效捕捉  $Ca^{2+}$ , 形成金属 - 聚合物螯合粒子, 为 HA 的生长提供模板; PEG 链之间的相互排斥作用能稳定 HA 粒子, 阻止其聚集长大. 在溶液中形成 HA 微球后, 通过煅烧除去聚合物模板, 得到 HA 空心微球. Yao 等<sup>[26]</sup>采用 PEG/PAA/PCL 三嵌段共聚物自组装胶束为模板, 采用仿生矿化的方法合成 HA 微球. PEG/PAA/PCL 胶束既能与  $Ca^{2+}$  发生相互作用, 达到储存钙的目的, 加入  $PO_4^{3-}$ 、OH<sup>-</sup>后又能释放钙, 使其在胶束周围形成磷灰石层, 并阻止磷酸钙的相互聚集, 防止其长大. 此外, 嵌段式聚醚(P123 和 F127)自组装形成的胶束也常用于 HA 微球的合成<sup>[27-28]</sup>.



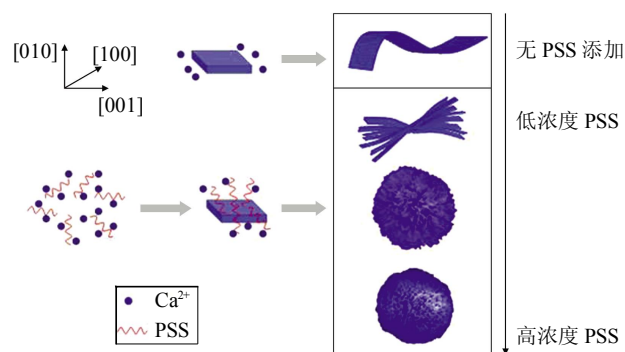
**Fig. 4 TEM images of hollow HA nanospheres synthesized from PS-PAA-PEG micelle templates and schematic illustration for synthesis of hollow HA nanospheres<sup>[25]</sup>**

**图 4 以 PS-PAA-PEG 胶束为模板合成磷酸钙中空微球及形成示意图<sup>[25]</sup>**

## 2.2 聚合物

目前, 聚合物已经被大量用于合成 HA 微球. 主要包括聚电解质和非电解质. 聚电解质如聚苯乙烯磺酸钠<sup>[29-30]</sup>和聚丙烯酸<sup>[31-32]</sup>等. 聚电解质具有独特的分子结构, 在水中能电离, 通过静电作用吸附无机粒子或被吸附到晶核表面, 影响晶体的生长. 非电解质聚合物, 如聚乙烯吡咯烷酮<sup>[33-34]</sup>、PEG<sup>[35]</sup>等, 在水溶液中独特的立体化学构象会对 HA 晶体的定向生长起到一定的诱导作用, 并对微粒起到表面修饰和控制作用. 聚合物浓度的变化在溶液中能形成不同形态的微结构, 从而为晶体生长提供不同形态的模板. 模板剂浓度增大时, 更有利于形成球形 HA<sup>[36]</sup>.

聚苯乙烯磺酸钠(PSS), 为聚阴离子, 其大分子链上的磺酸基团具有很强的分散能力. Wang 等<sup>[29]</sup>研究了 PSS 在水热条件对 HA 形貌和大小的影响. 发现随 PSS 浓度增加, HA 颗粒由带状变成球状, 而组成球状的单元由纳米纤维状变成纳米棒状, 最后变成纳米片状. 同时随着 PSS 浓度增高, 微球尺寸减小. 同时, 他们对其调控机理进行了解释(图 5): a. 在无外加 PSS 条件下, 溶液中存在大



**Fig. 5 Schematic illustration of the influence of PSS on the growth of HA crystallites<sup>[29]</sup>**

**图 5 不同浓度的 PSS 对 HA 生长的影响示意图<sup>[29]</sup>**

量自由钙离子, 晶体成核生长速度快. HA 属于六方晶系, 由于晶体固有生长习性导致晶体优先沿 [001]方向生长<sup>[37]</sup>, 得到针状 HA. b. 加入 PSS 后, 钙离子吸附到带负电的 PSS 长链上, 诱导溶液异相成核. c. 带负电的 PSS 长链能选择性吸附在晶核带正电的 [100]和 [010]面上. d. 当 PSS 浓度低时, PSS-Ca 复合物吸附在成核位点上, 一方面诱发二次成核, 另一方面延迟纤维晶体沿 [001]方向

的生长, 在低浓度下得到纤维束状的 HA 晶体; 当 PSS 浓度增大时, 带负电的 PSS 长链几乎完全覆盖核表面, 诱发二次成核, 同时抑制晶体生长, 从而使构成微球的晶体从纤维状变为短棒状. e. 当 PSS 浓度更高时, PSS 对  $\text{Ca}^{2+}$  的螯合作用增强, 有利于得到更小粒径的微球.

聚乙烯吡咯烷酮(PVP), 非离子型水溶性高分子聚合物. Qiu 等<sup>[33]</sup>和窦妍等<sup>[34]</sup>在溶液中加入 PVP, 分别采用生物仿生水热的方法, 都合成了球形 HA. 研究发现, 随着 PVP 浓度的增加, HA 形貌由絮状物变成片状物, 最后生成微球. 分析其原因: a. PVP 分子结构中的内酰胺是强极性基团, 具有亲水作用, 因此能吸附溶液中的 OH<sup>-</sup>或吸附晶面上的羟基. b. PVP 在溶液中的立体化学构象会影响 HA 颗粒的形貌. PVP 在低浓度下, 其高分子链延展成线性, 诱导生成针状 HA, 随浓度提高, 高分子链变为环状并交联成立体网状结构, 诱导 HA 生长为球形(图 6)<sup>[33]</sup>. Qiu 等<sup>[35]</sup>以 PEG 为模板, 采用仿生矿化的方法也得到了类似的结果.

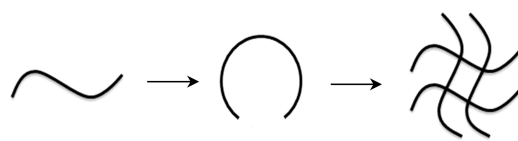


Fig. 6 Proposed model of stereochemical structure of PVP in aqueous solution as change of concentration<sup>[33]</sup>

图 6 不同浓度的 PVP 在水溶液中的立体化学结构示意图<sup>[33]</sup>

### 2.3 具有强吸附能力的有机小分子

除聚合物外, 具有强吸附能力的有机小分子也用于 HA 微球的合成. 目前应用较多的有机小分子为: 乙二胺四乙酸二钠(EDTA)<sup>[38-40]</sup>、酒石酸<sup>[41-42]</sup>、环糊精<sup>[43]</sup>和氨基酸<sup>[44-45]</sup>等.

EDTA 是六齿配体, 它对钙离子有很强的螯合作用<sup>[46]</sup>. 如图 7a 所示, EDTA 络合钙离子形成了五元环状结构. 以 EDTA 为模板, 采用水热合成的方法可以制备出尺寸均匀的花瓣状 HA 微球(图 7b). 人们对其调控机理进行了研究. He 等<sup>[39]</sup>研究了不同反应时间下 HA 颗粒的形貌(图 7c~e),

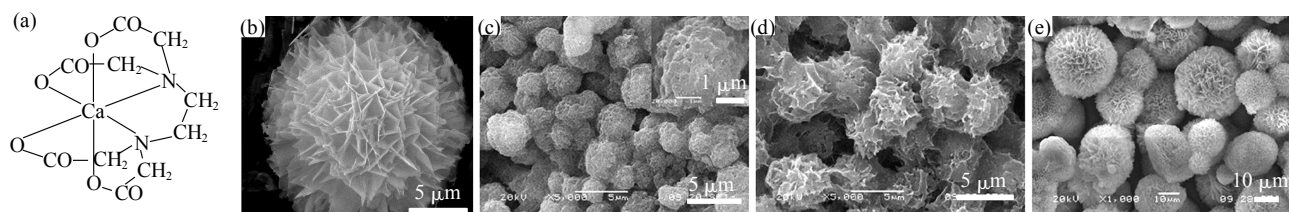


Fig. 7 Molecular structure of Ca-EDTA complex formed during the addition of  $\text{Ca}^{2+}$ -containing solution and SEM images of HA microspheres with template of EDTA<sup>[39]</sup>

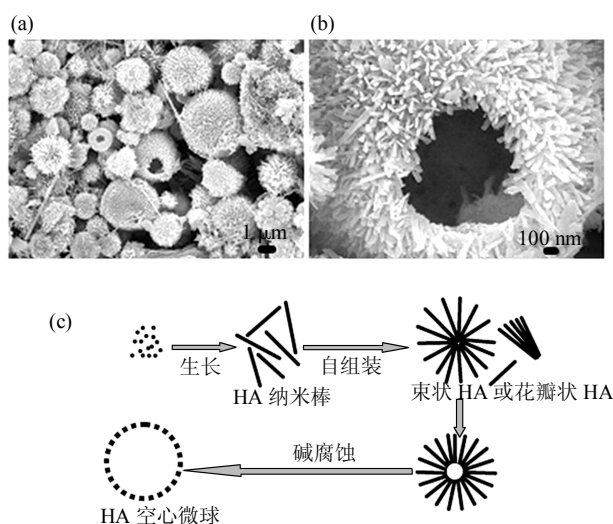
图 7 Ca-EDTA 复合物分子结构式及在 EDTA 调控下合成的 HA 微球的 SEM 图<sup>[39]</sup>

(a) Ca-EDTA 复合物的分子结构式. (b~e) 以 EDTA 为模板合成的 HA 微球形貌(b), 以及不同反应时间的 HA 形貌: (c) 3 min, (d) 10 min, (e) 60 min.

反应 3 min 后, 溶液中出现类球形的晶核, 晶核表面存在凹陷和弯曲. 10 min 后, 晶核表面长出了薄片, 形成直径为 3.5  $\mu\text{m}$  的微球. 60 min 后, 形成表面由纳米片构成的 HA 微球. EDTA 与钙离子很强的螯合作用, 降低了晶体生长的界面能, 促进 HA 的快速生长. 带负电荷的 EDTA 容易吸附到晶体带正电的 a (或 b) 面, 使 a (或 b) 面的生长受到抑制, 从而有利于薄片的发育.

酒石酸钾钠是一种羟基羧酸盐, 能与钙离子发生螯合作用. Ma 等<sup>[40]</sup>采用酒石酸钾钠为模板, 以水 /N, N- 二甲基甲酰胺(DMF)为溶剂, 在高温高压下制备出具有多级结构的 HA 空心微球(图 8a, b).

酒石酸钾钠作为螯合剂用于 HA 微球的合成和自组装, 也用于 CuO 微球的制备<sup>[47]</sup>. 由于酒石酸中  $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6^{2-}$  强的配位能力, 与  $\text{Ca}^{2+}$  形成复合物. 反应初始阶段, 由于晶体各向异性生长, 形成 HA 纳米棒, 然后自组装为束状, 最后形成花瓣状微球. 随溶液 pH 上升, 微球从中心腐蚀, 形成空心微球(图 8c). 实验证明, 酒石酸钾钠和 DMF 对 HA 空心微球的合成起着非常重要的作用. 当 DMF 的浓度降低时, 只得到花瓣状颗粒, 而不能形成空心微球. 随着 DMF 浓度的增加, 形成的空心微球增加. DMF 作为碱性添加剂, 在加热的条件下能生成 OH<sup>-</sup>, 使溶液 pH 升高, 促进 HA 成核生长. 但



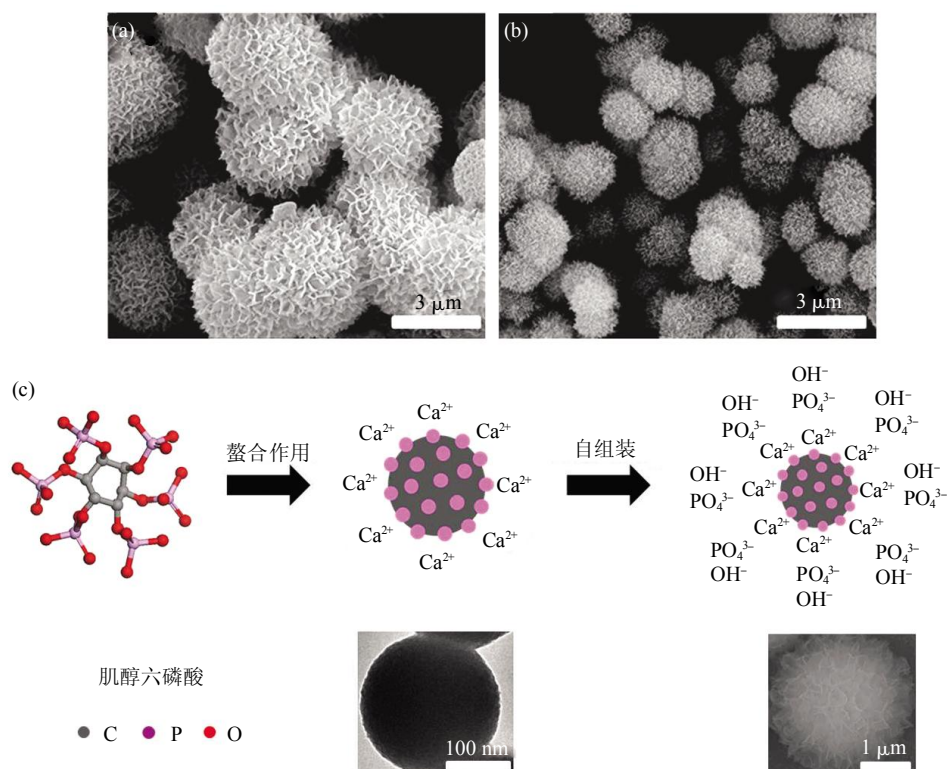
**Fig. 8 SEM micrographs of hierarchically nanostructured HA hollow spheres with the template of potassium sodium tartrate and schematic representation of the formation mechanism of HA hollow spheres<sup>[41]</sup>**  
 图 8 以酒石酸钾钠为模板合成的具有多级结构的 HA 空心微球及其形成机理示意图<sup>[41]</sup>

当 DMF 浓度过高时, HA 成核生长过快, 也得不到 HA 空心微球. 当溶液中缺乏酒石酸钾钠时, 形成微管状 HA 而不是微球状 HA. Yang 等<sup>[42]</sup>采用酒

石酸钾钠 / 柠檬酸三钠复合物为模板剂, 在高温高压下也合成出花瓣状 HA 微球.

环糊精是由环糊精葡萄糖基转移酶作用于淀粉而形成的一类环状低聚糖. 其分子形状呈锥形的圆环, 具有腔内疏水, 腔外亲水的特殊结构. 环糊精含大量—OH, 使其分子以范德华力、疏水作用力和氢键等与客体分子发生作用, 是有机-无机发生相互作用的主要动力. Xiao 等<sup>[43]</sup>以环糊精为模板, 采用生物仿生方法合成 HA 微球. 实验证实环糊精与钙离子发生相互作用, 这种相互作用可能是环糊精对 HA 晶体成核和生长造成影响的主要原因. 另外, 氨基酸(如酪氨酸、丝氨酸等)的加入也能促进 HA 微球的合成<sup>[44]</sup>, 但其机理尚不明确.

肌醇六磷酸(IP6)广泛存在于动植物体内, 该分子具有 6 个磷酸酯基团, 表现出很强的电负性, 对二价和三价金属离子有极强的亲和力; 环己烷六羧酸(H6L)分子结构上带有 6 个羧酸基团, 也表现出强电负性, 对钙离子有强吸附力. 本文作者<sup>[48]</sup>利用这两种带有强负电性的小分子为模板剂, 在水热条件下合成大小为 1~5 μm 的 HA 微球. 以 IP6 为模板合成表面由纳米片状结构组成的 HA 微球(图 9a), 而加入 H6L 得到表面由纳米线状结构组成的 HA



**Fig. 9 SEM images of HA microspheres assisted with IP6 and H6L under hydrothermal condition and illustration of the growth process of the microspheres**  
 图 9 以 IP6 和 H6L 为模板剂, 在水热条件下合成 HA 微球形貌以及形成机理示意图

微球(图 9b), 通过调整模板剂的浓度可以得到不同形状的 HA 晶体. 通过透射电镜观察微球随时间的变化, 对其调控机理进行研究. 以 IP6 为例(图 9c), IP6 首先与钙离子螯合形成大小为 200 nm 左右的纳米颗粒, 以此纳米颗粒为模板, 在其周围自组装形成表面具有纳米片状结构的 HA 微球. 从透射电镜发现, 随着时间的延长, 纳米颗粒分解, 形成空心 HA 微球.

2.4 生物大分子

生物大分子指构成生命的基础物质, 包括蛋白质、核酸和碳水化合物等. 这些大分子可以调控矿物的形成, 如釉原蛋白对牙釉质矿化起着重要作

用. Tarasevich 等<sup>[49]</sup>研究了釉原蛋白对磷酸钙成核和生长的影响. 研究发现, 牙釉蛋白与其他蛋白相比较疏水, 但其能自组装成纳米微球结构<sup>[50]</sup>, 使所带羧基和氨基聚集, 从而使钙磷离子富集, 降低成核界面能, 有利于 HA 的成核生长, 最终在溶液中形成 HA 微球. 卵清蛋白广泛存在于蛋清中. Zhao 等<sup>[51]</sup>以卵清蛋白为表面活性剂, 采用生物矿化法制备了 HA 微球. 研究发现, 蛋白质的成分和结构对 HA 合成起到重要作用, 主要机理如图 10. 蛋白质的极性基团与钙离子发生相互作用, 有利于 HA 成核生长, 而蛋白质结构变化形成球形囊泡, 以此为模板形成球形磷酸钙.

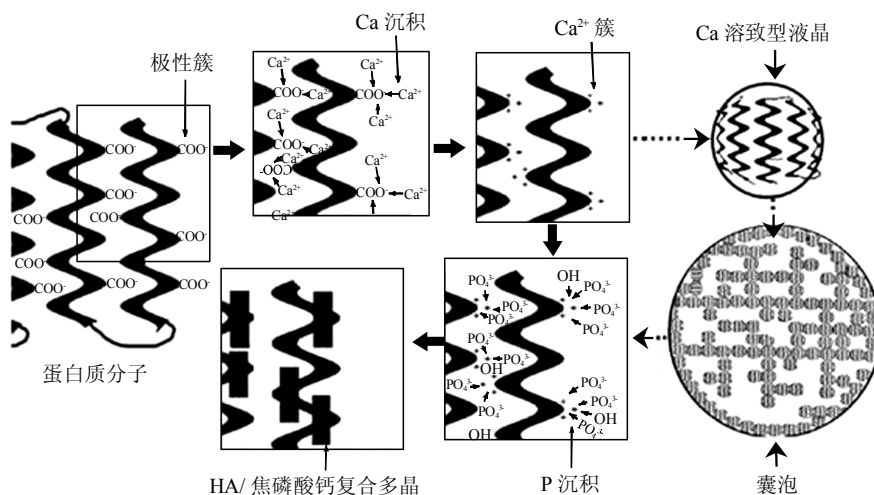


Fig. 10 Schematic illustration of ovalbumin-mediated crystallization process of HA-CPP as the solid arrows denote, and the formation of CLC(calcium liquid crystal)as the dotted arrows denote<sup>[51]</sup>

图 10 卵清蛋白调控合成 HA-CPP 晶体(实心箭头)和 CLC(点组成箭头)的形成过程示意图<sup>[51]</sup>

HA-CPP: HA/ 焦磷酸钙复合物, CLC: 钙液晶.

Jiang 等<sup>[52]</sup>以聚天冬氨酸为模板, 采用水热合成法制备 HA 空心微球(图 11). 聚天冬氨酸的骨架

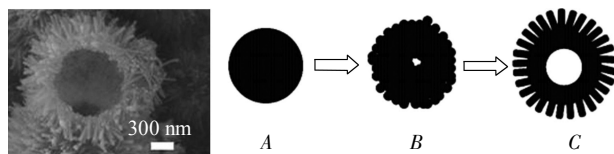


Fig. 11 SEM images of the hollow HAp microspheres with the template of polyaspartic acid and schematic illustration for formation of hollow HAp microspheres<sup>[52]</sup>

图 11 以聚天冬氨酸为模板合成 HA 空心微球及其形成机理示意图<sup>[52]</sup>

A: 聚天冬氨酸调控合成无定形磷酸钙(ACP); B: 颗粒表面形成 HA 晶体, 核密度降低; C: 具有多级结构的磷酸钙空心微球的形成.

上含有大量的羧基, 有利于钙的聚集, 为无定形磷酸钙的生长提供成核位点, 生成无定形磷酸钙后, 在奥斯特瓦尔德熟化作用下, 生成 HA 空心微球.

2.5 气泡

利用气泡来控制磷酸钙微球的多孔结构近年来也得到研究<sup>[53-54]</sup>. Cheng 等<sup>[53]</sup>利用尿素分解产生气泡, 通过控制压力来研究气泡对 HA 微球表面多孔结构的影响. 结果表明, 在表面张力的作用下, 尿素分解产生的 CO<sub>2</sub> 聚集形成微米级的气泡, 在螯合剂的作用下, 使钙离子定向排列在气泡周围, 从而形成 HA 片状结构. 最后, 气泡消失, 片状结构相互连接形成 HA 微球表面的多孔结构, 并且 HA 微球表面孔径尺寸与气泡大小一致. 随着气压的增

加, 微球表面的气泡变小, 从而使微球表面的气泡分布变得密集, HA 薄片变小, 使 HA 微球表面孔

径减小(图 12).

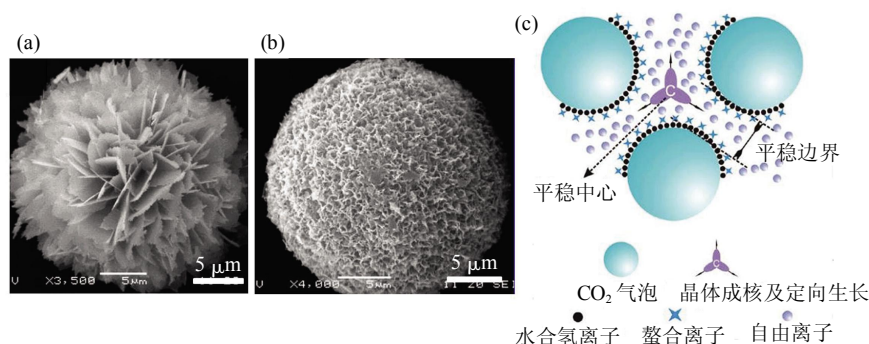


Fig. 12 SEM images of HA microspheres assisted with EDTA and bubbles under different pressures and illustration of the growth process of the flakes<sup>[53]</sup>

图 12 以 EDTA 为螯合剂, 在不同压力下气泡对 HA 表面微结构的影响以及形成机理示意图<sup>[53]</sup>

(a, b) 在压力为 1.5 atm(a)和 26 atm(b)条件下合成 HA 微球表面. (c) HA 表面纳米片状形成机理示意图.

综上所述, 软模板用于合成 HA, 能否形成球形, 在很大程度上是由模板物质的性质所决定. 即模板物质中含有的活性官能团、所具有的空间结构以及模板物质的分子质量等都对 HA 的性质产生影响.

带正电荷或负电荷活性官能团的物质能够促进 HA 晶体的成核生长. 模板物质螯合前驱体溶液中的正电荷或负电荷, 使局部离子浓度增大, 从而进一步吸引更多的带相反电荷的离子, 使得阴阳离子浓度增大到有利于晶体成核生长的临界浓度<sup>[55]</sup>, 最后晶体在模板上成核长大.

晶体的形貌取决于晶体沿各个方向的相对生长速率. 模板物质表面官能团的分布以及空间结构与成核晶体在立体化学结构上是否匹配对晶体的选择性生长有重要影响. 除了分子结构本身的差异, 模板物质分子质量的不同也会导致模板局部官能团的含量和空间位相的不同. 一般, 大分子质量的有机模板分子链长, 分子链上局部活性官能团数目多, 且分子链在局部空间内扭曲, 易形成类圆形, 导致立体化学构象能量高, 诱导 HA 微球的形成<sup>[36]</sup>. 因此我们可以通过添加适当的模板来诱导晶体各向同性生长, 从而获得球形的 HA 晶体. 分析以上软模板可知, 含有类圆形分布官能团的分子结构有利于球形 HA 的形成.

### 3 硬模板在制备 HA 微球中的应用

硬模板法制备 HA 微球是指利用无机或有机固

态微球为模板, 通过异相成核或离子交换等方法在模板上合成 HA 微球, 其关键在于模板的选择和去除. 此法的优点在于通过控制模板的大小可以获得相应尺寸的 HA 微球, 且对主客体匹配方面的要求比较低. 常用的硬模板有: 碳酸钙微球、锂钙硼玻璃微球、聚合物微球和微生物等.

#### 3.1 碳酸钙

以碳酸钙微球为硬模板已广泛应用于 HA 微球的合成<sup>[56-58]</sup>. Guo 等<sup>[56]</sup>将碳酸钙微球置于磷酸盐溶液中, 采用水热法制备 HA 微球. 在水热条件下, 碳酸钙分解释放出  $\text{Ca}^{2+}$ , 与溶液中的  $\text{PO}_4^{3-}$  和  $\text{OH}^-$  作用生成 HA. 由于水热条件下, HA 沉积速率大于  $\text{Ca}^{2+}$  释放速率, 因此在碳酸钙微球表面原位沉积形成 HA 微球. 此过程为溶解-再沉积的过程. 同时他们<sup>[58]</sup>将碳酸钙微球置于 CTAB/ $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ /环己烷/丁醇的微乳液环境中进行反应, 也生成 HA 微球. 实验证实 CTAB 胶束的稳定性对 HA 微球的多孔结构有重要影响. 然后他们<sup>[59]</sup>将原位合成的 HA 微球浸入柠檬酸溶液中, 除去中心的碳酸钙微球, 最后得到了 HA 空心微球. 其机理如图 13. 刘莹等<sup>[60]</sup>以中空碳酸钙微球为模板, 在常压溶液条件下合成 HA 中空微球, 完整地保持了碳酸钙的中空结构. 实验发现反应温度决定反应速率, 过高过低都不利于球形结构形成.



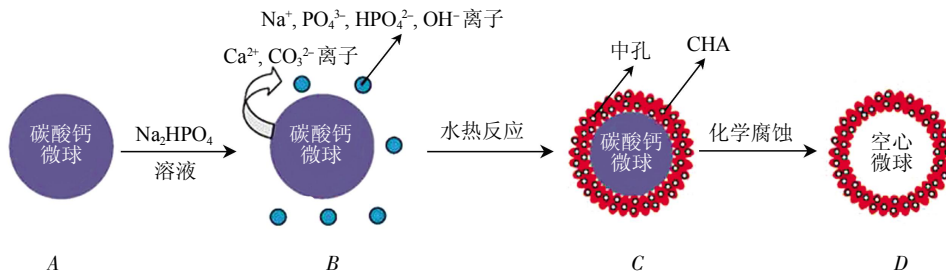


Fig. 13 Illustration of the fabrication strategy of HCHAs on the surface of CCM<sup>[59]</sup>

图 13 用碳酸钙微球合成空心 HA 微球机理示意图<sup>[59]</sup>

A: 碳酸钙微球作为硬模板; B: 碳酸钙微球浸入 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液中; C: 水热条件下, 在碳酸钙微球表面沉积 HA; D: 采用化学腐蚀法去除碳酸钙核得到 HA 空心微球。

### 3.2 硼酸盐玻璃

Li<sub>2</sub>O-CaO-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (LCB) 玻璃, 为典型的硼酸盐玻璃。这类玻璃具有较高的化学反应活性<sup>[61]</sup>。将其置入磷酸盐溶液中, 可以原位生成具有多孔结构的 HA 微球<sup>[62-63]</sup>。在碱性条件下, LCB 玻璃空间网络断裂, 并逐渐溶解, 网络间隙的 Li<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、B<sup>3+</sup> 溶出。其中, Ca<sup>2+</sup> 与溶液中的 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 形成磷酸钙沉淀物(Ca-P-OH), 原位沉积在 LCB 玻璃微球表面上, 而 Li<sup>+</sup> 和 B<sup>3+</sup> 不与磷酸盐形成沉淀物, 溶出形成孔隙, 使微球呈现多孔结构。Ca-P-OH 化合物的多孔结构, 使 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 极易通过该层向玻璃内部扩散, 最终形成 HA 空心微球。

### 3.3 聚合物微球和微生物等

带有一COOH 和一NH<sub>2</sub> 等利于磷酸钙异相成核

基团的聚合物微球和球形微生物为制备 HA 微球提供了良好的模板。在模板表面沉积磷酸钙, 再利用溶解或煅烧的方法去除模板, 即可得到 HA 中空微球。

Ethirajan 等<sup>[64]</sup>将聚苯乙烯微球用作模板合成 HA 微球。研究发现, 当聚苯乙烯微球表面无功能基团时, 微球表面无法沉积 HA。当聚苯乙烯微球表面引入丙烯酸后, HA 沉积在微球表面形成 HA 微球(图 14)。Zhang 等<sup>[65]</sup>利用聚丙烯酸的羧基与壳聚糖的氨基反应生成中空微球, 再以明胶为交联剂(明胶含有大量羧基, 既能与壳聚糖的氨基相互作用, 又能与钙离子相互作用), 诱导 HA 在微球表面成核生长, 得到 HA 中空微球。

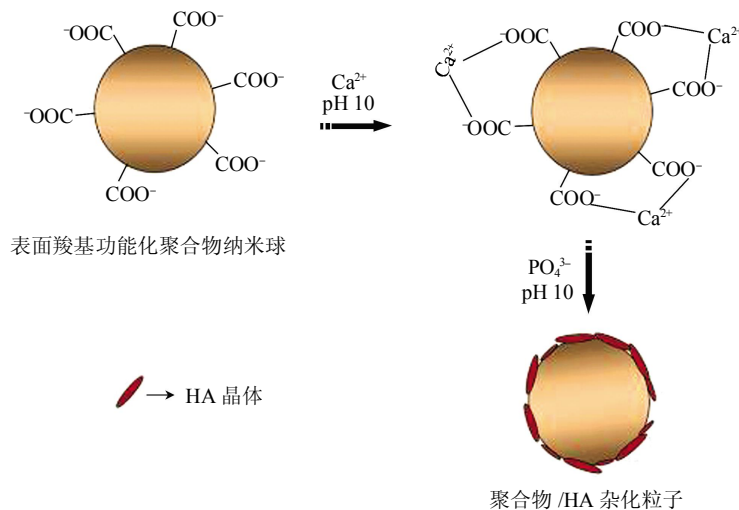


Fig. 14 Schematic illustration of HA formation on the surface of a carboxyl-functionalized polymeric nanoparticle<sup>[64]</sup>

图 14 在羧基功能化的聚合物颗粒表面沉积 HA 示意图<sup>[64]</sup>

Huang 等<sup>[66]</sup>采用酵母菌为模板合成 HA 中空微球。首先通过自组装的方法在酵母菌表面形成二烯丙基二甲基氯化铵和聚丙烯酸的电解质层,使酵母菌表面带有大量羧基,从而有利于磷酸钙的成核生

长,最后煅烧除去酵母菌得到 HA 中空微球(图 15)。利用微生物作为模板合成 HA,尺寸均匀,形貌统一,同时也为制备 HA 中空微球提供了新思路。

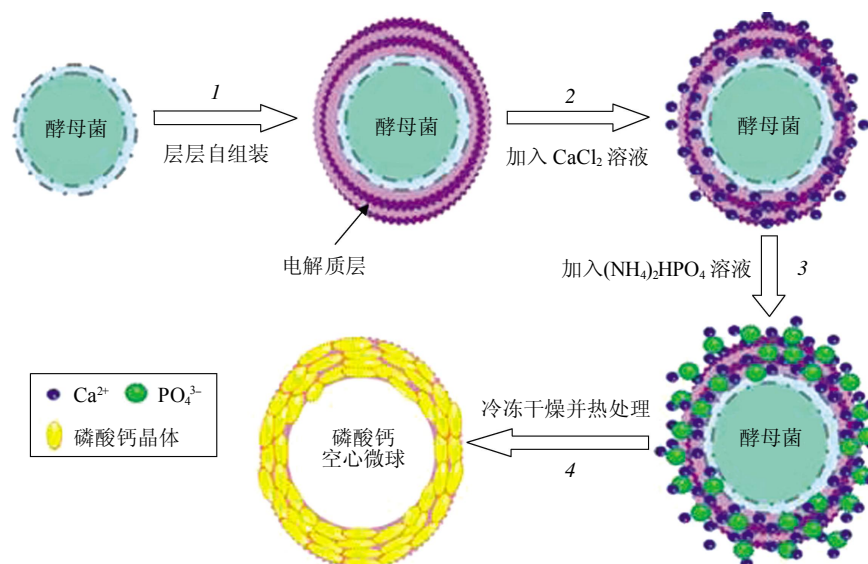


Fig. 15 Procedures involved in the preparation of CP microcapsules with the template of yeast cells<sup>[66]</sup>

图 15 以酵母菌为模板合成磷酸钙空心微球示意图<sup>[66]</sup>

硬模板制备 HA 微球,尺寸均匀,适应性强。但要大规模获得硬模板,其合成过程复杂。模板去除需要溶解或煅烧步骤,且要控制 HA 微球表面纳米结构存在困难。

HA 纳米结构微球具有良好的生物相容性、比表面积大和流动性好等特点,可用作蛋白质<sup>[67-68]</sup>、DNA<sup>[69]</sup>和药物<sup>[70-71]</sup>等的载体,也可直接用作细胞支架<sup>[72-73]</sup>或堆积构建多孔支架<sup>[74]</sup>等领域。

#### 4 结论及展望

HA 微球良好的生物相容性、良好的流动性及其表面独特的微纳结构,使其受到众多研究者的关注。在 HA 微球制备的众多方法中,模板法是近年来出现的制备 HA 微球较为新颖的方法,这种方法通过加入一定的模板剂,使无机物在模板上堆砌、缩合,形成连续相后去除模板,用以制备具有不同结构的新材料。模板法用于制备 HA 微球,可以有效地控制 HA 的形貌、尺寸和表面纳米结构。软模板可以有效控制 HA 微球表面微结构,模板去除简单,无需煅烧,但其对主客体匹配方面要求相对较高。硬模板用于 HA 微球合成,对主客体匹配方面

的要求较低,适应性更强,但大规模制备硬模板存在一定难度,且要控制 HA 微球表面形貌存在困难。

目前,用模板法制备 HA 微球的研究还存在以下主要问题: a. 对工艺过程的研究,如在不同溶液浓度、温度、压强条件下晶体生长动力学、形成机理方面的系统研究还不充分; b. 制备具有功能化表面 HA 微球的研究有待深入,限制其在某些领域(如载药等)的应用; c. 在反应过程中,如何对反应条件进行控制,获得大量单分散、尺寸均匀及表面形貌可控的 HA 微球还存在困难。因此,开展这些方面的研究不仅能为 HA 微球的制备提供理论指导,同时也为高质量和功能化的 HA 微球开拓更为广阔的应用前景。

#### 参 考 文 献

- [1] 顾汉卿,徐国风.生物医学材料学.天津:天津科技翻译出版公司,1993:83-90  
Gu H Q, Xu G F. Biomedical Materials. Tianjin: Tianjin Science and Technology Translation Publishing Company, 1993: 83-90
- [2] 陈景帝,王迎军,魏 坤,等.HA 的可控制备及其研究.材料科学与工艺,2007,15(4):515-518

- Chen J D, Wang Y J, Wei K, *et al.* Materials Science and Technology, 2007, **15**(4): 515-518
- [3] Heuer A H, Fink K J, Laraia V J. *et al.* Innovative materials processing strategies: a biomimetic approach. Science, 1992, **255**(5408): 1098-1105
- [4] Luo P, Nieh T G. Synthesis of ultrafine hydroxyapatite particles by a spray dry method. Materials Science and Engineering: C, 1995, **3**(2): 75-78
- [5] Komlev V S, Barinov S M, Koplík E V, *et al.* A method to fabricate porous spherical hydroxyapatite granules intended for time-controlled drug release. Biomaterials, 2002, **23** (16): 3449-3454
- [6] Boonsongrit Y, Abe H, Sato K, *et al.* Controlled release of bovine serum albumin from hydroxyapatite microspheres for protein delivery system. Materials Science and Engineering: B, 2008, **148**(1): 162-165
- [7] Coram A, D'Acapito F, Mignardi, *et al.* Removal of Cu from aqueous solutions by synthetic hydroxyapatite: EXAFS investigation. Materials Science and Engineering: B, 2008, **149** (2): 209-213
- [8] Corami A, Mignardi S, Ferrini V. Copper and zinc decontamination from single- and binary-metal solutions using hydroxyapatite. Journal of Hazardous Materials, 2007, **146**(1): 164-170
- [9] Barroug A, Fastrez J, Lemaitre J, *et al.* Adsorption of succinylated lysozyme on hydroxyapatite. Journal of Colloid and Interface Science, 1997, **189**(1): 37-42
- [10] Bose S, Saha S K. Synthesis of hydroxyapatite nanopowders *via* sucrose-templated sol-gel method. J American Ceramic Society, 2003, **86**(6): 1055-1057
- [11] Hutchens S A, Benson R S, Evans B R, *et al.* Biomimetic synthesis of calcium-deficient hydroxyapatite in a natural hydrogel. Biomaterials, 2006, **27**(26): 4661
- [12] Cho J S, Ko Y N, Koo H Y, *et al.* Synthesis of nano-sized biphasic calcium phosphate ceramics with spherical shape by flame spray pyrolysis. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2010, **21**(4): 1143-1149
- [13] Sun R, Chen K, Lu Y. Fabrication and dissolution behavior of hollow hydroxyapatite microspheres intended for controlled drug release. Materials Research Bulletin, 2009, **44**(10): 1939-1942
- [14] Wang Y, Zhang S, Zhao N, *et al.* Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanopowders using cationic surfactant as a template. Materials Letters, 2006, **60**(12): 1484-1487
- [15] Yuan Y, Zhang Y, Shan X. Sol-gel auto-combustion synthesis of hydroxyapatite nanotubes array in porous alumina template. Materials Chemistry and Physics, 2008, **112** (1): 275-280
- [16] Rhee S H, Tanaka J. Self-assembly phenomenon of hydroxyapatite nanocrystals on chondroitin sulfate. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2002, **13**(6): 597-600
- [17] 段 祥, 郝瑞然, 王德平, 等. 基质调控下模板物质对 HA 矿化的作用及影响. 材料导报, 2007, **21**(F11): 381-384  
Duan X, Hao R R, Wang DP, *et al.* Materials Review, 2007, **21**(F11): 381-384
- [18] 汪雁南, 陈 虎, 邓春林, 等. 表面活性剂模板法在制备纳米 HA 中的应用. 中国陶瓷, 2009 (4): 21-24  
Wang Y N, Chen H, Deng C L, *et al.* China Ceramics, 2009 (4): 21-24
- [19] Saha S K, Banerjee A, Banerjee S, *et al.* Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite using surfactant template systems: role of templates in controlling morphology. Materials Science and Engineering: C, 2009, **29**(7): 2294-2301
- [20] Pileni M P. The role of soft colloidal templates in controlling the size and shape of inorganic nanocrystals. Nature Materials, 2003, **2**(3): 145-150
- [21] Shanthi P, Mangalaraja R V, Uthirakumar A P, *et al.* Synthesis and characterization of porous shell-like nano hydroxyapatite using Cetrinide as template. J Colloid and Interface Science, 2010, **350**(1): 39-43
- [22] Cai Y, Pan H, Xu X, *et al.* Ultrasonic controlled morphology transformation of hollow calcium phosphate nanospheres: a smart and biocompatible drug release system. Chemistry of Materials, 2007, **19**(13): 3081-3083
- [23] 赵 欣, 王德平, 邱雯青, 等. 掺镧量对 HA 形貌及其荧光特性的影响. 无机材料学报, 2012, **28**(1): 45-50  
Zhao X, Wang D P, Qiu W Q, *et al.* J Inorganic Materials, 2012, **28**(1): 45-50
- [24] Xiao X, Zheng X, Liu R, *et al.* N-Lauroyl sarcosine sodium salt mediated formation of hydroxyapatite microspheres *via* a hydrothermal route. Materials Chemistry and Physics, 2012, **135**(1): 32-37
- [25] Bastakoti B P, Inuoe M, Yusa S, *et al.* A block copolymer micelle template for synthesis of hollow calcium phosphate nanospheres with excellent biocompatibility. Chemical Communications, 2012, **48**(52): 6532-6534
- [26] Yao J, Wu H, Ruan Y, *et al.* "Reservoir" and "barrier" effects of ABC block copolymer micelle in hydroxyapatite mineralization control. Polymer, 2011, **52**(3): 793-803
- [27] Ye F, Guo H, Zhang H, *et al.* Polymeric micelle-templated synthesis of hydroxyapatite hollow nanoparticles for a drug delivery system. Acta Biomaterialia, 2010, **6**(6): 2212-2218
- [28] Zhao Y F, Ma J. Triblock co-polymer templating synthesis of mesostructured hydroxyapatite. Microporous and Mesoporous Materials, 2005, **87**(2): 110-117
- [29] Wang Y, Hassan M S, Gunawan P, *et al.* Polyelectrolyte mediated formation of hydroxyapatite microspheres of controlled size and hierarchical structure. J Colloid and Interface Science, 2009, **339**(1): 69-77
- [30] 刘 芳, 肖秀峰, 刘榕芳. 以聚苯乙烯磺酸钠为模板合成球状 HA. 化工时刊, 2008, **22**(8): 18-21  
Liu F, Xiao X F, Liu R F. Chemical Industry Times, 2008, **22**(8): 18-21
- [31] Liu J K, Cao T J, Lu Y, *et al.* Facile preparation of assembly hydroxyapatite spheres to produce nanocomposite. Materials Technology: Advanced Performance Materials, 2009, **24**(2): 88-91
- [32] Wang P, Yook S W, Jun S H, *et al.* Synthesis of nanoporous calcium phosphate spheres using poly (acrylic acid) as a structuring unit. Materials Letters, 2009, **63**(13): 1207-1209
- [33] Qiu C F, Xiao X F, Liu R F, *et al.* Biomimetic synthesis of spherical nano-hydroxyapatite with polyvinylpyrrolidone as template. Materials Science and Technology, 2008, **24**(5): 612-617
- [34] 窦 妍, 曹 丰, 李延报, 等. 水热条件下以聚苯乙烯吡咯烷酮为模

- 板制备 HA 微球 // 赵光明. 第七届中国功能材料及其应用学术会议论文集 (第 3 分册). 重庆: 《功能材料》 期刊社, 2010: 286-290
- Dou Y, Cao F, Li Y B, *et al.* In hydrothermal synthesis of hydroxyapatite microspheres with polyvinylpyrrolidone as template // Zhao G M. The 7th Functional Materials and Applied Academic Conference Proceedings (3rd Branch). Chongqing: Journal of Functional Materials, 2010: 286-290
- [35] Qiu C, Xiao X, Liu R. Biomimetic synthesis of spherical nano-hydroxyapatite in the presence of polyethylene glycol. *Ceramics International*, 2008, **34**(7): 1747-1751
- [36] 窦 妍, 李东旭, 曹 丰, 等. HA 微球制备方法的研究进展. 材料导报: 纳米与新材料专辑, 2010 (002): 417-419
- Dou Y, Li D X, Cao F, *et al.* Progress on the study of preparation process of hydroxyapatite microspheres. *Materials Review*, 2010 (002): 417-419
- [37] Markov I V. *Crystal Growth for Beginners: Fundamentals of Nucleation, Crystal Growth and Epitaxy*. Singapore: World Scientific, 2003: 284-301
- [38] He Q J, Huang Z L. Template-directed growth and characterization of flowerlike porous carbonated hydroxyapatite spheres. *Crystal Research and Technology*, 2007, **42**(5): 460-465
- [39] He Q J, Huang Z L. Controlled growth and kinetics of porous hydroxyapatite spheres by a template-directed method. *J Crystal Growth*, 2007, **300**(2): 460-466
- [40] He Q, Huang Z, Liu Y, *et al.* Template-directed one-step synthesis of flowerlike porous carbonated hydroxyapatite spheres. *Materials Letters*, 2007, **61**(1): 141-143
- [41] Ma M G, Zhu J F. Solvothermal synthesis and characterization of hierarchically nanostructured hydroxyapatite hollow spheres. *European J Inorganic Chemistry*, 2009, **2009**(36): 5522-5526
- [42] Yang L X, Yin J J, Wang L L, *et al.* Hydrothermal synthesis of hierarchical hydroxyapatite: Preparation, growth mechanism and drug release property. *Ceramics International*, 2012, **38**(1): 495-502
- [43] Xiao X, Liu R, Qiu C, *et al.* Biomimetic synthesis of micrometer spherical hydroxyapatite with  $\beta$ -cyclodextrin as template. *Materials Science and Engineering: C*, 2009, **29**(3): 785-790
- [44] Hagemeyer D, Ganesan K, Ruesing J, *et al.* Self-assembly of calcium phosphate nanoparticles into hollow spheres induced by dissolved amino acids. *J Materials Chemistry*, 2011, **21**(25): 9219-9223
- [45] Zhang H G, Zhu Q, Wang Y. Morphologically controlled synthesis of hydroxyapatite with partial substitution of fluorine. *Chemistry of Materials*, 2005, **17**(23): 5824-5830
- [46] Lak A, Mazloumi M, Mohajerani M, *et al.* Self-assembly of dandelion-like hydroxyapatite nanostructures *via* hydrothermal method. *J American Ceramic Society*, 2008, **91**(10): 3292-3297
- [47] Xu Y, Chen D, Jiao X. Fabrication of CuO prickly microspheres with tunable size by a simple solution route. *J Physical Chemistry B*, 2005, **109**(28): 13561-13566
- [48] Xiao D Q, Zhang C D, Fu Y K, *et al.* Hydrothermal fabrication of hierarchical hollow hydroxyapatite microsphere with nano-structured surface assisted by inositol hexakisphosphate. The 10th Korea-China Symposium on Biomaterials & Nano-Biotechnology in Conjunction with NEMS-based Diagnostics in Cornell University. Seoultech, Korea, 2012: 30
- [49] Tarasevich B J, Howard C J, Larson J L, *et al.* The nucleation and growth of calcium phosphate by amelogenin. *J Crystal Growth*, 2007, **304**(2): 407-415
- [50] Moradian-Oldak J, Paine M L, Lei Y P, *et al.* Self-assembly properties of recombinant engineered amelogenin proteins analyzed by dynamic light scattering and atomic force microscopy. *J Structural Biology*, 2000, **131**(1): 27-37
- [51] Zhao H, He W, Wang Y, *et al.* Biomimetic synthesis of mesoporous hydroxyapatite-calcium pyrophosphate polycrystal using ovalbumin as biosurfactant. *Materials Chemistry and Physics*, 2008, **111**(2): 265-270
- [52] Jiang S D, Yao Q Z, Zhou G T, *et al.* Fabrication of hydroxyapatite hierarchical hollow microspheres and potential application in water treatment. *J Physical Chemistry C*, 2012, **116**(7): 4484-4492
- [53] Cheng X K, He Q J, Li J Q, *et al.* Control of pore size of the bubble-template porous carbonated hydroxyapatite microsphere by adjustable pressure. *Crystal Growth & Design*, 2009, **9**(6): 2770-2775
- [54] Cheng X, Huang Z, Li J, *et al.* Self-assembled growth and pore size control of the bubble-template porous carbonated hydroxyapatite microsphere. *Crystal Growth & Design*, 2010, **10**(3): 1180-1188
- [55] McGrath K M. Probing material formation in the presence of organic and biological molecules. *Advanced Materials*, 2001, **13**(12-13): 989-992
- [56] Guo Y P, Yao Y, Ning C Q, *et al.* Fabrication of mesoporous carbonated hydroxyapatite microspheres by hydrothermal method. *Materials Letters*, 2011, **65**(14): 2205-2208
- [57] Wang Y, Moo Y X, Chen C, *et al.* Fast precipitation of uniform CaCO<sub>3</sub> nanospheres and their transformation to hollow hydroxyapatite nanospheres. *J Colloid and Interface Science*, 2010, **352**(2): 393-400
- [58] Guo Y P, Zhou Y, Jia D C, *et al.* Mesoporous structure and evolution mechanism of hydroxycarbonate apatite microspheres. *Materials Science and Engineering: C*, 2010, **30**(3): 472-479
- [59] Guo Y J, Wang Y Y, Chen T, *et al.* Hollow carbonated hydroxyapatite microspheres with mesoporous structure: Hydrothermal fabrication and drug delivery property. *Materials Science and Engineering: C*, 2013, **33**(6): 3166-3172
- [60] 刘莹, 赵旭, 潘琰, 等. 简单方法制备 HA 中空微球. 物理化学学报, 2009, **25**(7): 1467-1471
- Liu Y, Zhao X, Pan Y, *et al.* *Acta Physico-Chimica Sinica*, 2009, **25**(7): 1467-1471
- [61] 赵 颖, 徐 为, 姚爱华, 等. 多孔 HA 微球的原位转化制备研究. 功能材料, 2010, **41**(7): 1124-1126
- Zhao Y, Xu W, Yao A H, *et al.* *Functional Materials*, 2010, **41**(7): 1124-1126
- [62] 徐 为, 姚爱华, 艾凡荣, 等. 多孔 HA 微球的药物缓释性能. 材料研究学报, 2011, **25**(4): 439-443
- Xu W, Yao A H, Ai F R, *et al.* *Chin J Materials Research*, 2011, **25**(4): 439-443
- [63] Yao A, Ai F, Liu X, *et al.* Preparation of hollow hydroxyapatite microspheres by the conversion of borate glass at near room temperature. *Materials Research Bulletin*, 2010, **45**(1): 25-28
- [64] Ethirajan A, Ziener U, Landfester K. Surface-functionalized

- polymeric nanoparticles as templates for biomimetic mineralization of hydroxyapatite. *Chemistry of Materials*, 2009, **21** (11): 2218–2225
- [65] Zhang H, Zhou K, Li Z, *et al.* Synthesis of hollow hybrid hydroxyapatite microspheres based on chitosan-poly (acrylic acid) microparticles. *Biomedical Materials*, 2009, **4**(3): 031002
- [66] Huang M, Wang Y. Synthesis of calcium phosphate microcapsules using yeast-based biotemplate. *J Materials Chemistry*, 2012, **22**(2): 626–630
- [67] Xiao W, Fu H, Rahaman M N, *et al.* Hollow hydroxyapatite microspheres: a novel bioactive and osteoconductive carrier for controlled release of bone morphogenetic protein-2 in bone regeneration. *Acta Biomaterialia* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2013.05.029>
- [68] Fu H, Rahaman M N, Day D E. Hollow hydroxyapatite microspheres for controlled delivery of proteins. *Advances in Bioceramics and Porous Ceramics IV: Ceramic Engineering and Science Proceedings*, 2011, **548**: 101
- [69] Zhao X Y, Zhu Y J, Chen F, *et al.* Nanosheet-assembled hierarchical nanostructures of hydroxyapatite: surfactant-free microwave-hydrothermal rapid synthesis, protein/DNA adsorption and pH-controlled release. *CrystEngComm*, 2013, **15**(1): 206–212
- [70] Guo Y J, Long T, Chen W, *et al.* Bactericidal property and biocompatibility of gentamicin-loaded mesoporous carbonated hydroxyapatite microspheres. *Materials Science and Engineering: C* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.04.021>
- [71] Lin K, Chen L, Liu P, *et al.* Hollow magnetic hydroxyapatite microspheres with hierarchically mesoporous microstructure for pH-responsive drug delivery. *CrystEngComm*, 2013, **15**(15): 2999–3008
- [72] Mima Y, Fukumoto S, Koyama H, *et al.* Enhancement of cell-based therapeutic angiogenesis using a novel type of injectable scaffolds of hydroxyapatite-polymer nanocomposite microspheres. *PLoS One*, 2012, **7**(4): e35199
- [73] Park J S, Hong S J, Kim H Y, *et al.* Evacuated calcium phosphate spherical microcarriers for bone regeneration. *Tissue Engineering Part A*, 2010, **16**(5): 1681–1691
- [74] Peng Q, Jiang F, Huang P, *et al.* A novel porous bioceramics scaffold by accumulating hydroxyapatite spherules for large bone tissue engineering *in vivo*. I. Preparation and characterization of scaffold. *J Biomedical Materials Research Part A*, 2010, **93** (3): 920–929

## Nanostructured Hydroxyapatite Microspheres by Templated Synthesis: Formation and Mechanisms\*

XIAO Dong-Qin, CHI Feng, YAO Ning, ZHANG Cheng-Dong, DUAN Ke, WENG Jie\*\*

(Key Laboratory of Advanced Technologies of Materials, School of Materials Science and Engineering,

Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China)

**Abstract** As a main inorganic component of the human bone, hydroxyapatite (HA) is widely used in hard tissue repair and replacement. With high surface area and excellent fluidity, HA microspheres have gained extensive interests for biomedical applications. This article reviews the synthesis of HA microspheres with nanostructures, with a special focus on the use of soft and hard templates. The formation mechanism of these microspheres and related nanostructures are also discussed in detail. Problems in current synthesis methods are identified and the future trends of this emerging field are also discussed.

**Key words** hydroxyapatite, template, microspheres, nanostructure, self-assemble

**DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2013.00285

\* This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2012CB933602), The National Natural Science Foundation of China (51172188), Science and Technology Pillar Project of Sichuan (2010FZ0048), Fundamental Research Funds for Central Universities (SWJTU11ZT11), Youth Science and Technology Foundation of Innovative Team Project of Sichuan (2010JQ0081) and the 2013 Doctoral Innovation Funds of SWJTU.

\*\*Corresponding author.

Tel: 86-28-87601371, E-mail: [jweng@swjtu.edu.cn](mailto:jweng@swjtu.edu.cn)

Received: June 20, 2013 Accepted: July 18, 2013