

# 可降解金属 Zn 的表面修饰及其性能表征

黄小彬, 何泽超\*

(四川大学化学工程学院, 四川 成都 610065)

**摘要:**为改善 Zn 作为骨缺损支架材料铸态性脆、力学强度低的缺点,以 Zn 作为基本研究材料,以 ZnO、壳聚糖作为修饰材料,对 Zn 进行表面修饰,并对得到的复合材料 Zn/ZnO/DOPA/CMCS 进行表征。SEM、TEM 及细胞外生物毒性等实验结果表明,电解沉积得到的 ZnO 薄膜具有良好的高度互联的规整纳米孔径,并且具有良好的孔隙率。Zn/ZnO/DOPA/CMCS 增加了 Zn 及 Zn/ZnO 材料的生物相容性,减少了细胞毒性。

**关键词:**骨缺损; 锌; 氧化锌; 壳聚糖; 细胞毒性

中图分类号: Q581

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2019)S-0112-03

DOI: 10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2019.S.024

## Surface modification of metallic zinc and characterization

HUANG Xiao-bin, HE Ze-chao\*

(School of Chemical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

**Abstract:** In order to overcome the shortcomings of zinc as a scaffold material for bone defect, such as as-cast brittleness and low mechanical strength, zinc oxide and chitosan are used as modifying materials to modify the surface of zinc and Zn/ZnO/DOPA/CMCS composite material is obtained and characterized. SEM, TEM and extracellular biological toxicity experiments show that ZnO thin films obtained by electrolytic deposition have good interconnectivity, regular nanopore diameter and good porosity. Zn/ZnO/DOPA/CMCS composite materials increase the biocompatibilities of zinc-based materials and Zn/ZnO materials, and reduce their cytotoxicity.

**Key words:** bone defect; Zn; ZnO; chitosan; cytotoxicity

可降解金属是一类能够在体内逐步被体液腐蚀降解的医用金属材料<sup>[1]</sup>,它们能够通过向机体内释放腐蚀产物而给机体带来良好的宿主反应<sup>[2]</sup>,并且会在帮助机体实现损伤组织修复使命之后全部被体液降解,不残留任何植入物<sup>[3]</sup>。相比于 Fe 基和 Mg 基材料,Zn 基金属材料因具有适宜的降解速度<sup>[4]</sup>和力学性能<sup>[5]</sup>而成为研究者眼中的“新星”,认为其可能成为理想型骨工程支架的候选者<sup>[6]</sup>。同时 Zn 元素也是人体必需的微量元素之一,在人体的骨骼生长发育和心血管健康中都发挥着无法替代的作用<sup>[7]</sup>,并且无法在体内合成,因此研究纯 Zn 及其作为全降解金属材料的可行性具有很重要的意义<sup>[8]</sup>。本文以可降解金属 Zn 作为基础材料,对其进行表面修饰,从而使其具有多种功能,降解速度得到调控。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

无水碳酸钠、碳酸氢钠、盐酸、二甲基亚砜(DMSO),AR,成都市科龙化工试剂厂;高纯锌片,纯度 99.5%,清河忠信金属材料有限公司;无水乙

醇、丙酮,AR,成都长联化工试剂有限公司;羧化壳聚糖(CMCS, BR)、多巴胺(DOPA),阿拉丁试剂(上海)有限公司;MC3T3-E1 细胞(小鼠胚胎成骨细胞前体细胞),通派(上海)科技有限公司;胎牛血清,美国 Sigma 公司; $\alpha$ -MEM 培养基(含 L-谷氨酰胺的最小必需培养基),美国 Gibco 公司;CCK-8 试剂,博士德。

JD030S 机械超声波清洗机,深圳市洁盟清洗设备有限公司;DZ47-60 RDX 高频开关电源,深圳市荣达信电镀设备有限公司;SRIX-4-13 箱式电阻炉,北京中兴伟业仪器有限公司;ESJ200-4A 电子天平,沈阳龙腾电子有限公司;PHS-3C pH 酸碱计,上海化电科学仪器股份有限公司;BC-JB0S 细胞培养箱,美国 Forma;Eon 酶标仪,美国 Biotek。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 Zn/ZnO 材料的制备

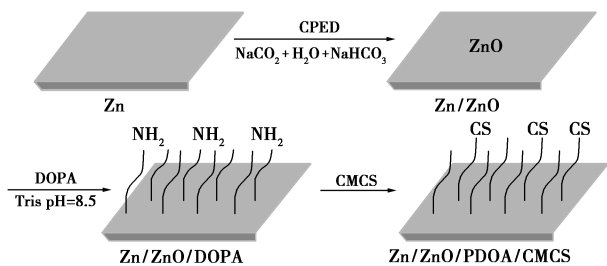
高纯度 Zn 片用丙酮、无水乙醇及纯化水分别超声清洗、打磨进行前处理<sup>[9]</sup>。以 5.6 mmol/L 的碳酸钠和 5.8 mmol/L 的碳酸氢钠混合溶液作为电解液<sup>[10]</sup>,恒定电压 10 V,电镀 10 min 得到 ZnO 薄膜后,在 400℃ 下退火 4 h<sup>[11]</sup>,获得 Zn/ZnO 材料。

收稿日期: 2019-02-15; 修回日期: 2019-06-11

作者简介: 黄小彬(1993-),女,硕士生,研究方向为生物医药材料,1310868630@qq.com;何泽超(1961-),男,博士,副教授,研究方向为生化产品分离、污染物的生物净化,通讯联系人,hezecao@scu.edu.cn。

### 1.2.2 表面修饰壳聚糖的 Zn/ZnO 材料制备

用多巴胺溶液将壳聚糖修饰到 Zn/ZnO 材料上<sup>[12]</sup>,获得表面涂覆壳聚糖的 Zn/ZnO 材料,标记为 Zn/ZnO/PDOA/CMCS。图 1 是 Zn/ZnO/DOPA/CMCS 的制备流程。



CPED:两槽电解池电沉积技术。

图 1 Zn/ZnO/DOPA/CMCS 的制备流程

### 1.2.3 材料的表征

采用扫描电子显微镜(SEM)对高纯度金属 Zn、Zn/ZnO 和 Zn/ZnO/DOPA/CMCS 的微观形貌、纳米管的粒径及分布状况等进行分析;用红外光谱仪(IR)对 Zn/ZnO/DOPA/CMCS 的官能团进行检测与分析,确定其表面化学成分;采用透射电子显微镜(TEM)对试样的微观形态以及纳米管管径等做进一步分析。

### 1.2.4 体外细胞毒性检测

根据 GB/T 16886.12—2005 标准,用  $\alpha$ -MEM 细胞培养液提取样品所含  $Zn^{2+}$ 。最适合的浸泡比例为:试样表面积( $cm^2$ )与  $\alpha$ -MEM 细胞培养液体积(mL)比为 1.25:1,浸泡 24 h 得到浸提液。以空白实验组以及 DMSO 作为对照组,Zn、Zn/ZnO 以及 Zn/ZnO/DOPA/CMCS 浸提液作为实验组,分别与 MC3T3-E1 细胞共同培养。用 CCK-8 试剂检测法来评价和检测所制备材料的细胞毒性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 试样的表征分析

#### 2.1.1 样品的 SEM 分析

图 2 是 Zn 的 SEM 图。可以看出,表面因为没

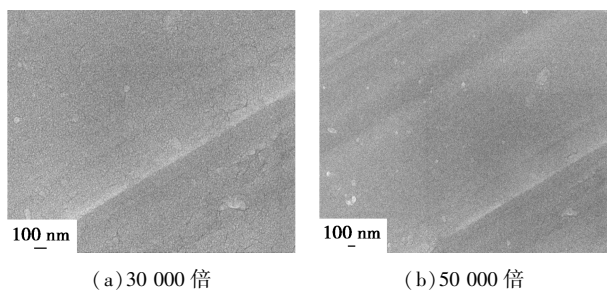


图 2 Zn 的 SEM 图

有任何修饰,即使在低倍镜下观察,也是较为光滑且没有任何明显的特征,其中细小的白点为铂颗粒,是在 SEM 制样过程中加入的。

图 3 是 Zn/ZnO 的 SEM 图。可以明显看出,得到的 ZnO 纳米结构为管状,分布较为密集且杂乱,呈现簇状。图 3(b)为局部放大后的图片。可以看出,ZnO 纳米管表面很光滑,没有任何附着物,纳米管细长而纵横交错,部分相互交联,而且纳米管之间具有一定的孔隙。孔隙率高,因此具有良好的骨传导性,适合骨的生长与粘附。

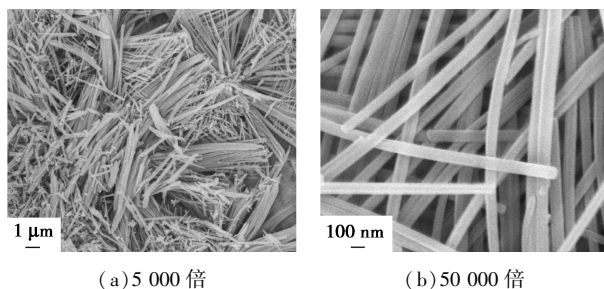


图 3 Zn/ZnO 的 SEM 图

图 4 是 Zn/ZnO/DOPA/CMCS 的 SEM 图。从图 4(a)中可以明显看出壳聚糖的团聚现象,特别是簇状区域明显被困聚的修饰材料覆盖。对比图 3(b)和图 4(b)可以看出,放大 50 000 倍后,都显示出具有较为规整的直径约为 100 nm、长度约为 600~700 nm 的 ZnO 纳米管结构。

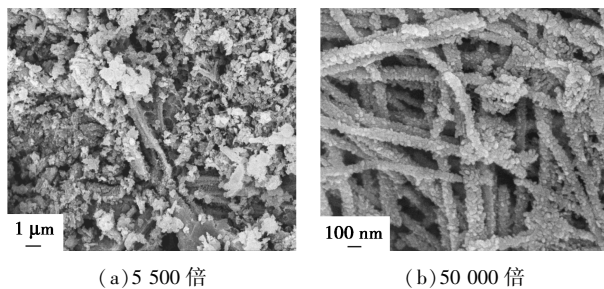


图 4 Zn/ZnO/DOPA/CMCS 的 SEM 图

#### 2.1.2 IR 分析

Zn 及其表面修饰后材料的 IR 图如图 5 所示。

从图 5 可知,3 组样品的红外光谱波峰都集中在指纹区,这是金属红外图谱的特点。而在特征区,只有 Zn/ZnO/DOPA/CMCS 材料有着较为明显的波峰。对比 3 组图谱可知,Zn/ZnO/DOPA/CMCS 的红外光图谱在  $1\,500\,cm^{-1}$  处有 2~4 个峰出现,为芳香化合物的特征峰;在  $3\,400\,cm^{-1}$  有峰出现,且  $3\,000\,cm^{-1}$  处的峰得到了加强,说明有氨基出现,证明多巴胺成功地包覆在 Zn/ZnO 表面;在  $1\,081\,cm^{-1}$  处有新的峰出现,为 C—O 的弯曲振动吸收峰,可能

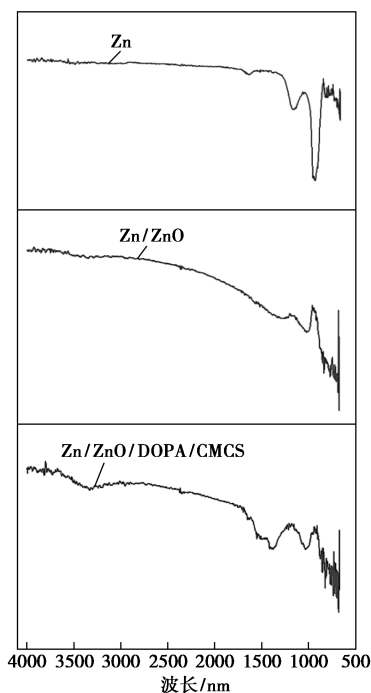
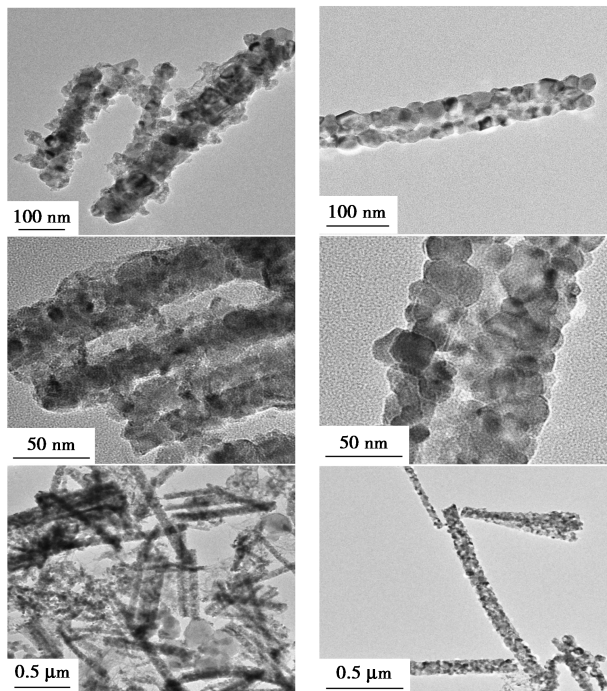


图 5 Zn 及表面修饰后材料的 IR 谱图

为醚类化合物,但不能确证壳聚糖的存在。而且化学键的波峰不明显,难以判断其连接方式。

2.1.3 TEM 分析

图 6 是 Zn/ZnO 和 Zn/ZnO/DOPA/CMCS 的 TEM 图。对比两组 TEM 图片可以发现,ZnO 纳米管的直径在 80~100 nm 之间,长短不一,可能是在制样过程中出现折断情况。图 6(b)的 ZnO 纳米管管



(a) Zn/ZnO (b) Zn/ZnO/DOPA/CMCS

图 6 Zn/ZnO 及 Zn/ZnO/DOPA/CMCS 的 TEM 图

径明显变大,从而可知,成功接枝上壳聚糖,且主要是粘附在纳米管表面,纳米管表面不光滑,部分区域呈现出黑点,说明壳聚糖的涂覆不均匀,有部分团聚,而且纳米管之间有明显的丝状连接,说明纳米管之间也有壳聚糖的涂覆,甚至包裹了几根纳米管。

2.2 体外细胞毒性检测

CCK-8 实验测定的吸光度值(OD)及相对增殖率(RGR)见表 1。

表 1 不同组别的吸光度值及相对增殖率(n=5)

项目	1 d		3 d		5 d	
	OD	RGR/%	OD	RGR/%	OD	RGR/%
CCK-8	0.1550					
Zn	2.1303	103.98	1.8021	86.66	2.1425	99.79
Zn/ZnO	2.0320	94.24	1.8241	87.81	2.1377	99.55
Zn/ZnO/DOPA/CMCS	2.1973	107.51	1.9193	92.83	2.1665	101.00
空白对照	2.0547	100.00	2.0557	100.00	2.1467	100.00
DMSO	0.1450	0	0.1573	0.12	0.1593	0.22

细胞在不同材料的浸提液中培养 1、3 及 5 d 后,相对增殖率均大于 80%,根据 ISO10993.5 标准,Zn/ZnO/DOPA/CMCS 材料的细胞毒性评级为 0~1 级,表明 Zn、Zn/ZnO 和 Zn/ZnO/DOPA/CMCS 材料对 MC3T3-E1 细胞没有明显毒性作用,生物相容性好,比较适合小鼠成骨细胞的生长与粘附。

对比同一天的 3 种不同材料可以看出,接枝壳聚糖的实验组细胞吸光度值和相对增殖率均最高,说明壳聚糖的成功接枝提高了材料的生物相容性,促进了细胞在材料上的生长,达到表面修饰的目的。用 spss19.0 软件对各组材料的浸提液细胞增殖活性进行统计学分析,得到 P<0.05,即无显著性差异,表明修饰材料的选取以及材料的制备较为成功。

3 结论

实验主要研究了可降解金属 Zn 表面修饰材料的制备及其性能表征,并对其生物相容性进行了初步的探讨和研究,测定其细胞毒性,为临床应用提供了一定的数据基础。

在制备 Zn/ZnO 的实验中,采用两极电解槽的电沉积技术,通过稳压电镀,使 Zn 表面成功附着上光滑且密集的 ZnO 纳米管,使其具有较高的孔隙率。而壳聚糖涂层则是通过多巴胺将壳聚糖粘附在纳米管表面实现接枝,从而改善了材料的生物相容性。

(下转第 119 页)

(3)当 HAPCP 的添加量达到 4 g/100 g EPDM 以上时,极限氧指数大于 27,包覆层试样表现出高难燃特性。

### 参考文献

- [1] 张以河,孙维钧,孙隆丞,等.高分子材料在固体火箭包覆层中的应用[J].工程塑料应用,1994,22(5):37-41.
- [2] 侯林法,张春森,周学刚,等.复合固体推进剂[M].北京:宇航出版社,1994.
- [3] 阿兰·达文纳斯.固体火箭推进技术[M].北京:航天工业总公司第三十一研究所,1995.
- [4] 吴战鹏,张腾,吴德珍,等.低特征信号绝热层及衬层基体材料发展新趋势——聚磷腈[A].2006年中国宇航学会年会论文集[C].北京:中国宇航学会,2006:241-247.
- [5] 赵凤起,王新华,鲍冠苓,等.白炭黑对推进剂的硅橡胶包覆层材料性能的影响[J].含能材料,1997,5(2):82-86.
- [6] 路向辉,杨士山,刘晨,等.填料对三元乙丙橡胶包覆层性能影响研究[J].化工新型材料,2013,41(10):131-132.
- [7] 李冬,陈聆,任黎.三元乙丙基固体推进剂包覆层拉伸性能影响因素研究[J].化工新型材料,2011,39(9):98-99.
- [8] Agrawal J P. Genesis of development of inhibition technology for rocket propellants and recent work[J].Sci Ind Res,1992,51:375-382.
- [9] Schreuder-Gibson H L. Adhesion of solid rocket materials [J]. Rubber World,1990,11:928-931.
- [10] 赵凤起.国外无(少)烟聚氨酯包覆层研制情况[J].火炸药学报,1993,16(1):15.
- [11] Weil E. Melamine phosphates and pyrophosphates in flame-retardant coatings: Old products with new potential [J]. Journal of Coatings Technology, 1994, 66(839):75-82.
- [12] 赵凤起,王新华.应用于绝热包覆层中的填料及其选用的某些规律初探[J].火炸药学报,1994,17(1):34-38.
- [13] 肖啸,甘孝贤,刘庆,等.六(4-醛基苯氧基)环三磷腈的合成、表征及其热性能研究[J].化学推进剂与高分子材料,2011,9(5):72-75.
- [14] Meredith P L. Flame retardant polymeric compositions containin ghalogen substituted hexakis-(substitutedphenoxy) cyclotriphosphazene; USP4029634[P].1977-06-14.
- [15] Arlin L W, Steven G O, Toshiki F, et al. Synthesis and characterization of methionine- and cysteine-substituted phosphazene [J]. Macromolecules, 2010, 43(12):5205-5210.
- [16] Ji Y C, Heung J J, Man J H. A melt processable ethynylphenoxy group substituted cyclotriphosphazene; Synthesis and thermal polymerization [J]. Bull Korean Chem Soc, 1995, 16(7):675-677.
- [17] Lu S Yu, Hamerton I. Recent developments in the chemistry of halogen free flame retardant polymers [J]. Prog Polym Sci, 2002, 27:1661-1712.
- [18] 徐应麟,王元宏,夏国梁.高聚物材料的实用阻燃技术[M].北京:化学工业出版社,1987.
- [19] Yoshifumi N, Tadao Y, Yuji T, et al. Flame retardants for resins and flame-retardanted resin compositions containing the same; EP 1219677[P].2002-07-03. ■

(上接第 114 页)

### 参考文献

- [1] Wang M. Developing bioactive composite materials for tissue replacement [J]. Biomaterials, 2003, 24:2133-2151.
- [2] Yang S M, Kim S Y, Lee S J, et al. Tissue response of calcium polyphosphate in beagle dog [J]. Key Engineering Materials, 2002, 218/220:657-660.
- [3] 张利,李玉宝,魏杰,等.纳米羟基磷灰石/壳聚糖复合骨修复材料的共沉淀法制备及性能表征[J].功能材料,2005,36(3):441-444.
- [4] 郑玉峰,秦岭,杨柯.可降解金属[M]北京:科学出版社,2016.
- [5] Erne P, Schier M, Resink T J. The road to bioabsorbable stents: Reaching clinical reality? [J]. Cardiovascular and Interventional Radiology, 2006, 29(1):11-16.
- [6] Erbel R, Mario C D, Bartunek J, et al. Temporary scaffolding of coronary arteries with bioabsorbable magnesium stents: A prospective, non-randomised multicentre trial [J]. Lancet (North American Edition), 2007, 369(9576):1869-1875.
- [7] Hermawan H, Dubé D, Mantovani D. Developments in metallic bio-degradable supports [J]. Acta Biomaterialia, 2010, 6(5):1693-1697.
- [8] Peeters P, Bosiers M, Verbist J D, et al. Preliminary results after application of absorbable metal stents in patients with critical limb ischemia [J]. Journal of Endovascular Therapy, 2005, 12(1):1-5.
- [9] Peuster M, Wohlsein P, Brugmann M, et al. A novel approach to temporary stenting: Degradable cardiovascular stents produced from corrodible metal-results 6-18 months after implantation into New Zealand white rabbits [J]. Heart, 2001, 86(5):563-569.
- [10] Peuster M, Hesse C, Schloo T, et al. Long-term biocompatibility of a corrodible peripheral iron support in the porcine descending aorta [J]. Biomaterials, 2006, 27:4955-4962.
- [11] Laurenti M, Cauda V. ZnO Nanostructures for tissue engineering applications [J]. Nanomaterials, 2017, 7:374.
- [12] Li Z J, Gu X N, Lou S Q, et al. The development of binary Mg-Ca alloys for use as biodegradable materials within bone [J]. Biomaterials, 2008, 29(10):1329-1344.
- [13] Williams D. New interests in magnesium [J]. Med Device Technol, 2006, 17(3):9-10. ■