

磷酸钙纳米材料的制备、性能及应用

漆超, 朱英杰, 吴进, 陈峰

中国科学院上海硅酸盐研究所, 上海 200050

摘要 磷酸钙作为生物体硬组织中主要的无机成分,具有良好的生物相容性、生物活性及生物可降解性,广泛应用于骨组织与牙齿修复和替换、药物运输和控制释放、基因转染及诊断成像等生物医学领域。人工合成磷酸钙材料的组成、结构、尺寸、形貌和结晶度等特性均与材料的制备方法有关,且材料的这些特性对其应用起到决定性作用。因此,发展不同的方法制备出具有特定组成、结构、尺寸、形貌、结晶度和性能的磷酸钙纳米材料对其应用至关重要。本文综述近年来在磷酸钙纳米材料的制备、表征、性能和应用研究方面所取得的最新进展,讨论室温制备法、溶剂热/水热合成法、微波辅助快速合成法、静电纺丝法及含磷生物分子磷源合成法等制备方法,分析磷酸钙纳米材料的性能及其在药物装载和可控释放、蛋白质吸附及释放、生物成像等领域的应用,展望磷酸钙纳米材料研究领域的发展趋势。

关键词 磷酸钙;羟基磷灰石;纳米材料;药物载体;医学应用

中图分类号 TB321

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2015.04.019

Preparation, properties and applications of calcium phosphate nanostructured materials

QI Chao, ZHU Yingjie, WU Jin, CHEN Feng

Shanghai Institute of Ceramics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China

Abstract As the important inorganic component of biological hard tissues, calcium phosphate materials have high biocompatibility, bioactivity and biodegradability. Therefore, they are widely investigated and used in various biomedical fields, such as bone and tooth repair and replacement, drug delivery, gene transfection and diagnostic imaging. The chemical composition, structure, crystallite size, morphology, and crystallinity of the synthetic calcium phosphate materials, which are strongly influenced by their preparation methods, play a decisive role in their applications. Therefore, to develop various synthetic methods for the desirable materials is important for their applications. This paper reviews recent research progress of our group in the preparation, characterization, properties and applications of calcium phosphate nanostructured materials, focusing on the preparation methods, including room-temperature synthesis, solvothermal/hydrothermal synthesis, microwave-assisted rapid synthesis, electrospinning, and phosphorus-containing biomolecules based synthesis, and their applications in drug delivery, protein adsorption and release, and bioimaging. The future research trends are also discussed.

Keywords calcium phosphate; hydroxyapatite; nanomaterials; drug delivery; biomedical application

磷酸钙如羟基磷灰石(HAP)等常以非化学计量比、离子取代或钙缺位的形式广泛存在于脊椎动物的骨骼和牙齿之中,并赋予这些硬组织必需的机械性能,包括强度、硬度、韧性及稳定性等^[1-3]。人工合成磷酸钙材料由于其优异的生物相容性和生物可降解性,广泛应用于生物矿化和生物医学等

领域^[4-6]。磷酸钙材料无毒性,进入体内后不会被当作外来物质产生排异反应,并且能够促进成骨细胞的黏附和增殖,可用于植入材料的表面涂层及牙齿的填充材料,并被广泛应用于骨修复和骨替代等组织工程领域^[7,8]。磷酸钙材料对蛋白质和DNA具有优良的吸附性能,可用于血液的净化和基因转

收稿日期:2014-09-15;修回日期:2014-10-26

作者简介:漆超,博士研究生,研究方向为纳米生物材料,电子信箱:qichao@student.sic.ac.cn;朱英杰(通信作者),研究员,研究方向为纳米生物材料、微波快速合成纳米材料,电子信箱:y.j.zhu@mail.sic.ac.cn.

引用格式:漆超,朱英杰,吴进,等.磷酸钙纳米材料的制备、性能及应用[J].科技导报,2015,33(4):111-119.

染等领域^[9,10]。另外,磷酸钙纳米材料作为药物载体,具有较高的药物装载能力及较长的药物缓释时间^[11,12]。

另一方面,材料的性能决定了材料的应用,而人工合成磷酸钙材料的理化性能与材料的制备方法密切相关,为此,研究者发展了多种制备磷酸钙纳米材料的方法以满足生物医学应用的需求。本文综述中国科学院上海硅酸盐研究所生物纳米技术研究课题组近几年来在磷酸钙纳米材料的制备、表征、性能和应用方面所取得的最新进展,并对磷酸钙纳米材料的发展趋势进行展望。对于本领域国内外的其他研究进展,可参阅已发表的相关综述^[1-3, 5-7, 13, 14]。

1 室温合成磷酸钙纳米材料、性能及其应用

在室温条件下,水溶液中过饱和的 Ca^{2+} 离子与 PO_4^{3-} 离子会直接成核并生长形成磷酸钙。在磷酸钙形成的初始阶段,产物主要为介稳相的无定形磷酸钙(ACP)团簇,该ACP团簇具有超高的比表面积及众多的药物吸附位点,因此利用该ACP团簇原位装载药物,可获得超高的药物装载量。例如在室温合成磷酸钙纳米材料的同时,原位装载疏水性药物布洛芬,其药物装载量可高达 1.96 g/g ^[11]。利用在室温条件下合成的ACP纳米颗粒装载Zn离子,形成载Zn的ACP纳米颗粒运输体系,该体系在口腔抗菌方面具有潜在的应用前景^[15]。另外,中国科学院上海硅酸盐研究所生物纳米技术研究课题组发展了一种简单绿色的制备方法,可获得同时装载牛血清白蛋白(BSA)和布洛芬药物的纳米磷酸钙双载药系统,并研究了牛血清白蛋白和布洛芬在磷酸钙纳米载体中的顺序装载及体外同时释放性能。在该方法中,牛血清白蛋白作为一种蛋白质模型,首先被原位装载于磷酸钙纳米载体;随后,布洛芬被装载到牛血清白蛋白/磷酸钙药物运输系统,形成布洛芬/牛血清白蛋白/磷酸钙双载药纳米运输系统。实验结果表明,先装入的牛血清白蛋白不仅提高了磷酸钙纳米载体的生物相容性,而且显著增加了布洛芬药物在磷酸钙纳米载体中的装载量,并显著延长了药物释放时间(800 h以上)。因此,采用该方法制备的布洛芬/牛血清白蛋白/磷酸钙双载药纳米运输系统在药物运输领域具有潜在的应用价值^[16]。

然而在室温条件下,随着沉积时间的增加,ACP会通过溶解、成核、再结晶的过程逐渐转变为磷酸钙晶体(主要为羟基磷灰石HAP)。通常为获得稳定的ACP物相,需要在室温合成磷酸钙的同时加入一些有机分子以稳定ACP物相。例如在室温条件下,通过搅拌含有 CaCl_2 、 $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ 和三嵌段共聚物P123的水溶液30 min便可获得直径小于100 nm的P123/ACP复合纳米球^[17]。所制备的P123/ACP复合纳米球对疏水性药物布洛芬具有良好的药物缓释性能,其药物释放时间可达156 h。在室温合成磷酸钙的过程中加入嵌段共聚物聚乙二醇-聚乳酸(PEG-PLA)^[18,19]、聚丙交酯乙交酯-聚乙二醇,聚乳酸-聚乙二醇(PLGA-mPEG)^[9]、聚乳酸-聚乙二醇(PLLA-mPEG)和聚乳酸-聚乙二醇-聚乳酸(PLLA-PEG-PLLA)^[20],则可以合成PEG-PLA/ACP、PLGA-mPEG/ACP、

PLLA-mPEG/ACP、PLLA-PEG-PLLA/ACP复合多孔纳米球。利用获得的PEG-PLA/ACP复合多孔纳米球作为药物载体装载布洛芬,其药物装载量可达 158 mg/g ,药物持续释放时间可长达300 h^[18]。利用合成的PLGA-mPEG/ACP复合多孔纳米球作为基因载体装载质粒基因DNA与鲑鱼精DNA,其DNA装载量分别为 1060 mg/g 和 3400 mg/g ,这比文献[9]报道的介孔二氧化硅作为基因载体的装载量高出40~150倍。利用获得的PLLA-mPEG/ACP复合多孔纳米球作为药物载体装载布洛芬,其药物装载量可达 293 mg/g ,药物持续释放时间可达144 h^[20]。利用PLA-mPEG室温稳定ACP的同时引入稀土元素Tb,成功制备出Tb掺杂ACP纳米颗粒,该纳米颗粒具有良好的荧光性能,可用于生物体内成像,同时该纳米颗粒具有较高的药物装载能力及pH响应药物释放性能,而且装载抗癌药物多西紫杉醇的纳米颗粒对癌细胞具有较好的杀伤效果,因此该方法所制备的Tb掺杂ACP纳米颗粒在抗癌药物运输方面具有良好的应用前景^[21]。制备了无定形磷酸钙ACP纳米球/聚乳酸(PLA)复合材料用于钽(Ta)多孔支架的表面修饰。与无表面修饰的Ta片相比,ACP纳米球/PLA复合材料表面修饰的Ta片显示出在模拟体液中较高的生物矿化能力。此外,ACP纳米球/PLA复合材料表面修饰的Ta片的亲水性明显提高。装载牛血清白蛋白的ACP纳米球/PLA复合材料表面修饰的Ta片具有明显的缓释性能,同时显示良好的生物矿化性能。此外,ACP纳米球/PLA复合材料表面修饰的Ta多孔支架可以促进人成骨细胞MG63的黏附和铺展。装载血管内皮生长因子和转化生长因子的ACP纳米球/PLA复合材料表面修饰的Ta多孔支架用于兔软骨下骨缺损修复研究,实验表明所制备的ACP纳米球/PLA复合材料表面修饰的Ta多孔支架可以引导和促进体内骨再生,因此该材料在组织工程领域具有良好的应用前景^[22]。

如图1^[23]所示,在室温条件下采用两种带相反电荷的聚电解质-阳离子聚电解质聚二烯丙基二甲基氯化铵(PDADMAC)和阴离子聚电解质聚丙烯酸钠(PAS)作为双模板调控磷酸钙的生长过程,从而获得具有高度分散性、窄尺寸分布和高胶体稳定性的磷酸钙复合纳米载体,该磷酸钙复合纳米载体对抗癌药物多西紫杉醇的装载量可达 143 mg/g ^[23]。当药物释放介质的pH值为7.4时,药物持续释放时间可达60 h,最终药物释放量为53%,当药物释放介质的pH值为4.5时,药物释放时间可达109 h,最终药物释放量为74%。实验结果表明,装载抗癌药物多西紫杉醇载药体系对人体胃癌细胞具有较好的杀伤效果,因此该方法所制备的磷酸钙复合纳米载体在抗癌药物的运输方面具有良好的应用前景。

室温合成磷酸钙的过程中同时添加稀土元素,可获得稀土掺杂的磷酸钙纳米结构材料,该磷酸钙纳米结构材料在药物运输及医学成像等领域具有良好的应用前景。例如,在室温条件下,以双亲嵌段共聚物(PLA-mPEG)为调控剂成功制备了直径为10~20 nm的囊泡状ACP纳米球,并成功实现了稀土元素铕、钆离子的双掺杂^[24]。该方法制备的囊泡状ACP

纳米球具有较高的比表面积(86.7 m²/g)、良好的生物相容性、良好的分散性及光致发光性能(发射峰616、700 nm),可用于体外/体内近红外成像和X-射线成像等医学诊断。负载布洛芬药物的Eu³⁺和Gd³⁺共掺杂的囊泡状ACP纳米球经压片后在

体外具有超长的药物缓释时间,药物缓释时间在2000 h以上,并且累计药物释放量与释放时间的平方根具有较好的线性关系,如图2^[24]所示。

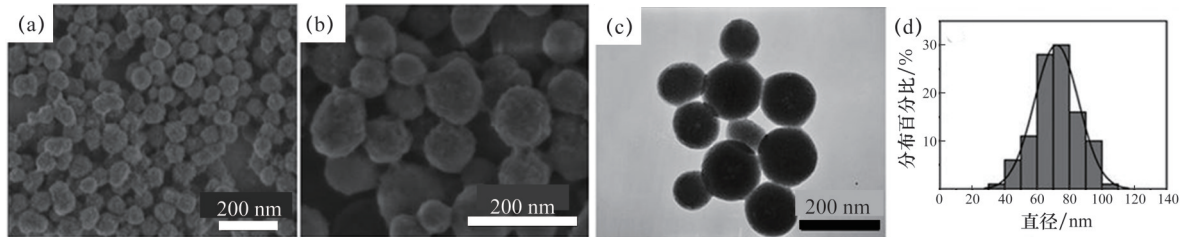
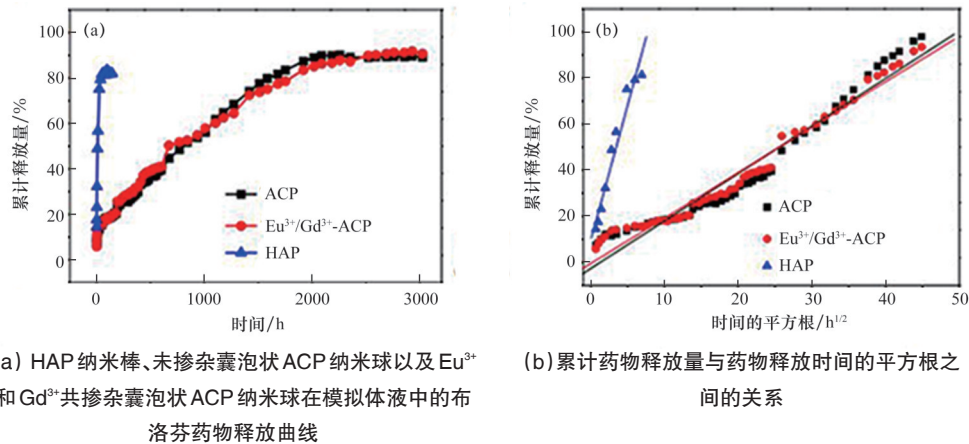


图1 利用阳离子聚电解质聚二烯丙基二甲基氯化铵(PDADMAC)和阴离子聚电解质聚丙烯酸钠(PAS)作为双模板合成的磷酸钙复合纳米载体的扫描电子显微镜SEM照片((a),(b))、透射电子显微镜TEM照片(c)及尺寸分布(d)

Fig. 1 SEM ((a) and (b)), TEM (c) micrographs and size distribution (d) of calcium phosphate hybrid nanoparticles obtained by using the PDADMAC/PAS dual templates



(a) HAP纳米棒、未掺杂囊泡状ACP纳米球以及Eu³⁺和Gd³⁺共掺杂囊泡状ACP纳米球在模拟体液中的布洛芬药物释放曲线

(b) 累计药物释放量与药物释放时间的平方根之间的关系

图2 所制备的磷酸纳米结构材料的药物释放性能

Fig. 2 Drug release properties of the as-prepared calcium phosphate nano structured materials

另外,在室温条件下利用碳酸钙作为模板,将碳酸钙加入到磷酸盐溶液中,则会在碳酸钙的表面发生反应并形成羟基磷灰石HAP纳米片结构,然后利用稀醋酸溶液将碳酸钙内核除去,则可以成功制备出HAP多孔空心椭球。该HAP多孔空心椭球的厚度可以通过调节溶液中磷酸根离子的浓度来有效调控。利用该HAP多孔空心椭球装载布洛芬药物,其药物装载量高达459.5 mg/g^[25]。

2 水热法/溶剂热法合成磷酸钙纳米材料、性能及应用

室温条件下合成磷酸钙纳米材料具有简单便捷的优点,但也存在一些缺点,如不能合成高结晶性的磷酸钙材料、所制备的磷酸钙纳米材料结构和形貌单一。因此,采用水热法即溶剂热法可以弥补室温条件下合成磷酸钙的不足,从而获得具有丰富结构和形貌的磷酸钙纳米材料。在水热合成磷酸钙材料的同时加入嵌段共聚物PLGA-mPEG作为调控剂,可以获得长约100 nm、直径约25 nm、尺寸相对均匀的HAP纳米棒^[10]。利用该HAP纳米棒吸附质粒基因DNA与鲑鱼精

DNA,其DNA吸附量很高,分别为930 mg/g和3170 mg/g,同时吸附DNA后的HAP纳米棒载体也容易将DNA释放出来,因此该HAP纳米棒在基因运输与转染方面具有良好的应用前景。在水热合成磷酸钙纳米结构材料的同时加入牛血红蛋白作为软模板,可以获得HAP纳米片自组装微球,该HAP纳米片自组装微球对重金属离子具有较高的吸附能力,并且对铅离子具有选择性的吸附,因此可应用于污水的处理^[26]。利用鲑鱼精DNA分子作为模板,通过静电相互作用将Ca²⁺离子吸附在DNA表面,并与溶液中的PO₄³⁻离子反应成核生长形成HAP纳米片,在水热条件下DNA分子水解后留下空腔,从而形成HAP纳米片自组装空心微球^[27]。通过调控反应体系中DNA的加入量,可以有效控制HAP空心微球空腔的大小。采用该方法合成的HAP空心微球具有良好的生物相容性,并对布洛芬药物及牛血红蛋白具有较高的装载量和持续的药物释放性能,其布洛芬装载量为200 mg/g、牛血红蛋白的吸附量为120 mg/g。该HAP空心微球有望应用于药物运输与蛋白吸附等领域。

最近,本课题组以油酸钙为前驱体,采用溶剂热法成功制备出羟基磷灰石超长纳米线,并以该羟基磷灰石超长纳米线作为纸的构建材料,成功制备出新型高柔韧性羟基磷灰石耐火纸。这种新型耐火纸呈现优质白色,具有高柔韧性,可以任意卷曲,可用于高质量彩色打印和书写,而且还能耐高温,不燃烧,因此该新型耐火纸有望作为永久和安全的信息存储介质,可应用于需要长久保存的重要纸质文件例如档案等。此外,该新型耐火纸也具有其他多种潜在用途,具有良好的应用前景,如作为从废水中有效去除有机污染物的可再生吸附剂、生物医用材料、医用纸、阻燃材料和耐高温材料等^[28]。

如图3^[28]扫描电子显微镜(SEM)和透射电子显微镜(TEM)照片显示,前驱体经溶剂热法处理后得到的产物为羟基磷灰石超长纳米线(图3(a)~(c)),且单根纳米线呈单晶结构(图3(c)插图)。所制备的羟基磷灰石超长纳米线长达几十微米甚至100 μm以上,长径比高达几百甚至1000以上,而且具有高柔韧性,可弯曲而不折断(如图3中箭头所示)。将该羟基磷灰石纳米线分散在乙醇中,用玻璃棒搅拌,可形成很长的纤维(如图3(d)所示,长度为28 mm),进一步证明了所制备羟基磷灰石超长纳米线的高柔韧性。研究认为所制备羟基磷灰石超长纳米线的高柔韧性主要由高长径比引起。另外,所制备的羟基磷灰石纳米材料还具有可调的亲疏水性。由于通常情况下应用于生物医药领域的羟基磷灰石材料需要具备较好的亲水性,所以疏水性的羟基磷灰石材料的制备和研究较为少见。通过改变实验条件可以调节羟基磷灰石纳米线的亲疏水性,并分别得到亲水性和疏水性的产物。产物的亲水性和疏水性可能与其表面吸附的油酸分子或油酸根的量有关。

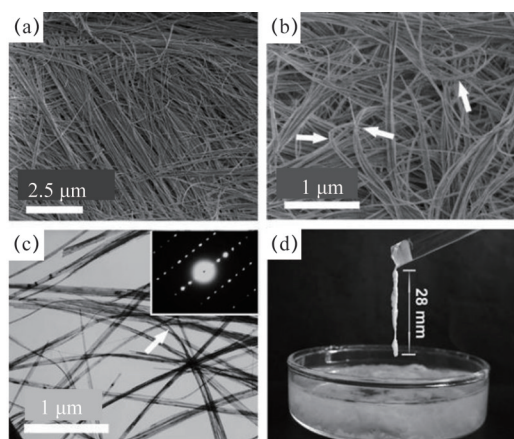


图3 典型超长HAP纳米线的表征

Fig. 3 Characterization of typical ultralong HAP nanowires

采用所制备的高柔韧性羟基磷灰石超长纳米线做原料成功制备出新型高柔韧性羟基磷灰石耐火纸(图4(a))。耐火纸的面积和厚度可以通过改变漏斗的大小和羟基磷灰石纳米线的用量调控。所制备的羟基磷灰石耐火纸具有高柔韧性,可以任意卷曲而无明显损伤。对比试验表明,采用羟基磷灰石短纳米棒则不能通过同样的方法制备出高柔韧性耐火纸,说明纳米线的长度对羟基磷灰石耐火纸的柔韧性具

有很大的影响。所制备的羟基磷灰石耐火纸可以用于书写和彩色打印,并具有优良的书写和打印效果,利用普通喷墨打印机可以将不同颜色的图案和中英文字体清晰地打印在羟基磷灰石耐火纸上(图4(b))。

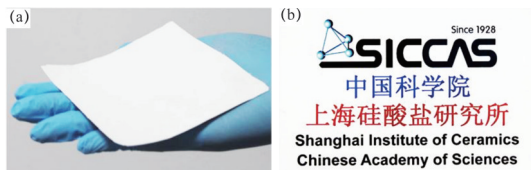


图4 新型高柔韧性羟基磷灰石耐火纸

Fig. 4 As-prepared highly flexible and nonflammable inorganic HAP paper

所制备的羟基磷灰石耐火纸也具有好的耐火性能和热稳定性。如图5所示^[28],当用酒精灯加热时,普通的打印纸迅速燃烧仅几秒钟就化为灰烬(图5(a)~(c))。而所制备的羟基磷灰石耐火纸即使在酒精灯上加热5 min后仍完好无损,而且采用耐高温石墨书写的字体也保存完好(图5(d)~(f))。此外,将羟基磷灰石耐火纸在450℃电阻炉中加热1 h,耐火纸及其上面所书写的字体仍能完好保持,进一步表明羟基磷灰石耐火纸的热稳定性(图5(g)~(i))。所制备的羟基磷灰石耐火纸具有优异的耐火性和热稳定性,有望作为一种新型安全和长久的信息存储介质用于保存重要的纸质文件(如档案和文献等)。此外,在制备羟基磷灰石耐火纸的过程中通过加入合适的无机添加剂可以显著提高耐火纸的力学强度等性能^[28]。



图中字体由毛笔蘸石墨的乙醇分散液书写而成

图5 羟基磷灰石耐火纸耐火性能、热稳定性及其与普通打印纸的对比

Fig. 5 Illustration of the excellent nonflammability and resistance to high temperature of the highly flexible inorganic HAP paper

脊椎动物的牙釉质是由HAP晶体的高度有序阵列组成的。然而,脊椎动物骨骼和牙齿在体内的生物矿化是一个非常缓慢的过程,通常需要很多年,因此模仿骨和牙釉质的生长过程是一个巨大的挑战,该漫长的体内自然生物矿化过程并不具备实际的应用价值。近年来,研究者采用有机分子、模板或衬底等辅助手段合成HAP有序结构,但这些合成方法具有一定的局限性,例如,所得到的HAP有序结构的尺寸较小,通常小于几微米的量级;而且去除硬模板或衬底容易造成有序结构的损坏。尺寸大于100 μm 的HAP高度有序结构材料的制备是一个巨大的挑战,也很少有报道。最近,课题组发展了一种大尺寸三维羟基磷灰石高度有序仿生材料的溶剂热合成技术,这一新方法可以合成毫米级大尺寸三维高度有序羟基磷灰石微米管阵列,该材料模仿牙釉质的结构,如图6^[29]所示。由于所制备的羟基磷灰石高度有序仿生材料具有微管结构,因此可以提供空间和通道装载药物、生长因子或抗生素等功能物质,用于植入手术后的消炎、抗菌和治疗等,且还有利于动物软组织在生物分子水平与材料紧密结合并嵌入生长进入管状结构内部。因此,这一制备技术和所制备的仿生材料在牙齿和骨硬组织缺损修复领域具有非常良好的应用前景^[29]。

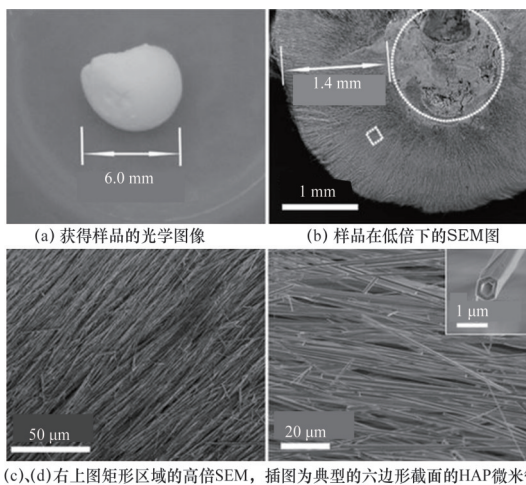


图6 利用油酸钙作为前驱体在含有 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、乙醇和去离子水的混合溶剂中通过 180°C 溶剂热反应48 h获得的高度有序HAP超长微米管阵列的表征
Fig. 6 Characterization of the three-dimensional bulk materials with large sizes (millimeter scale) that are made of highly ordered arrays of ultralong HAP microtubes synthesized by solvothermal transformation of calcium oleate precursor in a solution containing $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ethanol, and deionized water at 180°C for 48 h

另外,在水热/溶剂热反应过程中,溶剂对产物结构的影响很大。例如,在合成磷酸钙材料的过程中采用水和DMF混合溶剂,在 160°C 反应24 h可以获得HAP微米管^[30]。采用水/乙醇/DMF三元混合溶剂在 200°C 反应24 h可以获得HAP纳米线/纳米管有序阵列结构^[31]。

3 微波辅助快速合成磷酸钙纳米材料、性能及其应用

与传统加热方式相比,微波加热具有快速、省时、效率高、节能、绿色环保等优势。微波对反应体系加热属于体加热模式,而且迅速、均匀,并具有选择性,因此微波加热技术被广泛应用于化学合成和材料制备等各个领域^[32]。在磷酸钙纳米材料的合成中,采用微波加热不仅能缩短反应时间,而且还能获得具有独特结构和形貌的磷酸钙纳米材料。例如,磷酸钙均匀分散在聚丙烯酰胺中的有机/无机复合纳米材料可以通过含有钙盐、磷酸盐和丙烯酰胺单体的水溶液在微波加热条件下获得^[33]。通过微波加热含有 $\text{CaCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 、 NaH_2PO_4 与十二烷基硫酸钠的水/乙醇混合溶液制备得到磷酸氢钙纳米片,将该纳米片浸泡在 NaOH 溶液中则可转变为羟基磷灰石纳米结构^[34]。HAP纳米片自组装空心微球可以通过微波加热含有 $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 、 Na_2HPO_4 、 NaH_2PO_4 及柠檬酸钠的水溶液合成得到^[35]。利用微波加热含有 $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的水溶液,当微波加热温度为 100°C 时获得的产物为HAP纳米片组装的花状结构,当微波加热温度为 200°C 时获得的产物为多面体^[36]。采用微波辅助离子液体法在合成磷酸钙的同时加入 Fe_3O_4 纳米颗粒,则可合成出由HAP纳米片与 Fe_3O_4 纳米颗粒复合而成的多级纳米结构材料^[37]。利用嵌段共聚物PLA-PEG作为调控剂,采用微波加热的方法同样也可以获得如图7^[38]所示的HAP纳米片组装花状空心微球,该HAP空心微球对抗癌药物米托蒽醌的装载量为 73.2 mg/g ,药物持续释放时间为168 h,并且装载米托蒽醌的HAP空心微球可以成功进入细胞,因此该HAP空心微球在抗癌药物的输运方面具有良好的应用前景^[38]。

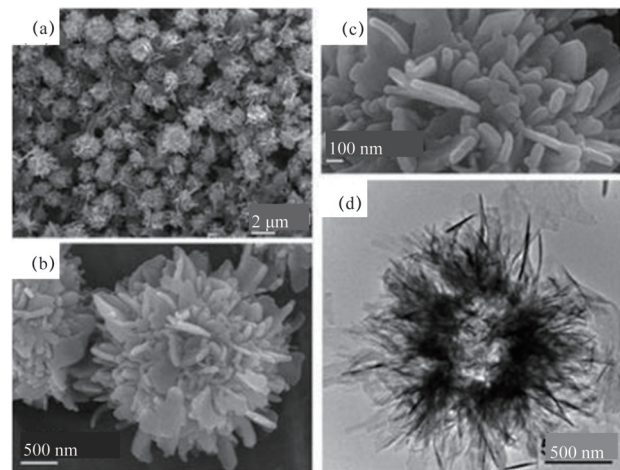


图7 利用PLA-PEG在 120°C 微波加热反应1 h获得的HAP纳米片组装花状空心微球的SEM图及TEM图
Fig. 7 SEM and TEM micrographs of the flower-like nanostructured HAP hollow spheres prepared using PLA-PEG by microwave heating at 120°C for 1 h

将室温合成的钕掺杂ACP/PLA-mPEG复合纳米结构在DMF溶剂中 200°C 微波加热1 h,可获得钕掺杂ACP多孔纳米球,该钕掺杂ACP多孔纳米球作为布洛芬药物的输运载体,

其药物的释放时间约为 40 h,同时还具有良好的生物相容性及荧光特性,因此可应用于生物体内的成像^[39]。采用微波合成的 Eu³⁺和 Gd³⁺双掺杂 HAP 纳米棒具有良好的生物相容性以及良好的分散性和光致发光性能,可用于体外/体内核磁共振成像、光致发光成像以及计算机断层扫描(CT)成像。Eu³⁺和 Gd³⁺双掺杂 HAP 纳米棒对布洛芬药物的装载量高达 841.4 mg/g,药物持续释放时间为 140 h^[39]。

4 静电纺丝合成磷酸钙纳米复合材料及其应用

在生物医学应用中,有时需要用到聚合物纤维或者有机/无机复合纳米纤维材料,静电纺丝作为一种简便有效的可制备聚合物纳米纤维的技术,在人工合成生物医用材料方面具有良好的应用前景。如图 8^[40]所示,采用静电纺丝技术可以将合成的 HAP 纳米棒与聚乙烯吡咯烷酮(PVP)复合成纳米纤维结构,该纳米纤维可进一步制成二维有序阵列以及三维织物,进一步热处理如煅烧后可得到相应的单相 HAP 二维有序阵列及三维管状结构等。体外实验表明由该方法制备的 HAP 支架材料具有良好的生物相容性,并且间充质干细胞与支架材料共培养 24 h 后可以较好地黏附在 HAP 支架上,因此该材料在组织工程中具有良好的应用前景^[40]。同样利用静电纺丝技术可以将 ACP 与聚乳酸 PDLLA 复合形成 ACP/PDLLA 纳米纤维,并利用 ACP/PDLLA 纳米纤维编织成织物和三维管状结构;该方法合成的 ACP/PDLLA 纳米纤维在模拟体液中表现出快速的矿化过程以及良好的生物相容性,并且能促进成骨细胞 MG63 黏附在 ACP/PDLLA 纳米纤维上,因此该材料在组织工程中具有良好的应用前景^[41]。

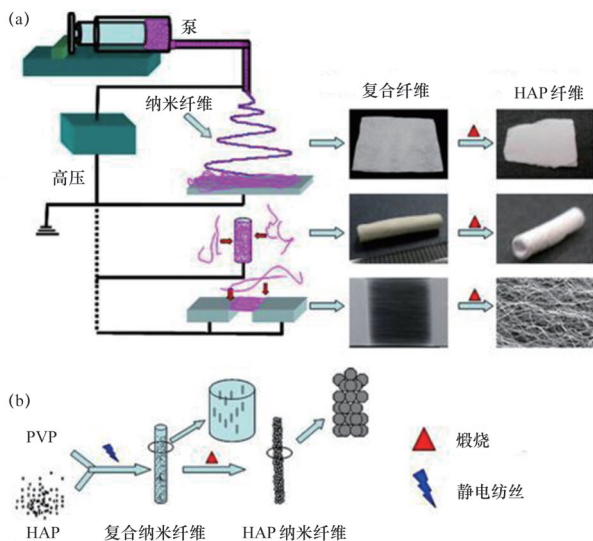


图 8 采用静电纺丝制备 HAP/PVP 复合纳米纤维(a)及煅烧形成 HAP 纳米纤维(b)示意

Fig. 8 Scheme for the fabrication of HAP/PVP composite nanofibers and fabrics (a) and formation process of HAP nanofibers (b) by electrospinning

5 采用含磷生物分子作为有机磷源合成磷酸钙纳米材料、性能及其应用

在前面介绍的各种合成磷酸钙的方法中,所使用的原料均为无机磷源例如无机磷酸盐。而无机磷酸根离子和钙离子在前驱体溶液中容易发生快速成核和无序生长,从而导致磷酸钙产物的形貌和尺寸难以控制。相比于无机磷源,采用含磷生物分子作为有机磷源具有诸多优势:1) 磷酸根以磷酸基团的形式存在于生物分子中,而在前驱体溶液中不含有自由的磷酸根离子,而且含磷生物分子的水解是一个渐进的过程,因此可以避免磷酸钙的快速成核和无序生长;2) 生物分子一般需要一些特定的条件例如在水溶液中加热才能发生水解形成磷酸根离子,这些水解条件可以被用来调控生物分子的水解速率从而控制产物的形貌、尺寸和结构;3) 含磷生物分子可以调控磷酸钙的物相,例如稳定在水溶液中最初形成的无定形磷酸钙相并防止其向羟基磷灰石转变;4) 许多含磷生物分子存在于动物体内,因此,含磷生物分子本质上无毒性,并具有很好的生物相容性。在此介绍采用不同含磷生物分子辅助合成磷酸钙纳米材料及其在生物医学中的应用。三磷酸腺苷(ATP)是由腺嘌呤、核糖和 3 个磷酸基团连接而成的一种高能磷酸化合物,它能与二磷酸腺苷 ADP 相互转化,并释放出能量,是细胞各项生命活动最直接的能源,在细胞的各种生命活动中起着重要作用。ATP 分子中含有 3 个磷酸基团,是一种理想的有机磷源。利用在微波加热条件下 ATP 水解形成的磷酸根离子作为磷源,当微波加热温度较低时(如 120°C 反应 10 min),ATP 水解产生磷酸根离子,这些磷酸根离子与钙离子反应形成 ACP,而未水解的 ATP 分子可以作为一种稳定剂从而合成出具有较高稳定性的 ACP 多孔纳米球(图 9^[42]),该 ACP 纳米球对抗癌药物多西紫杉醇的装

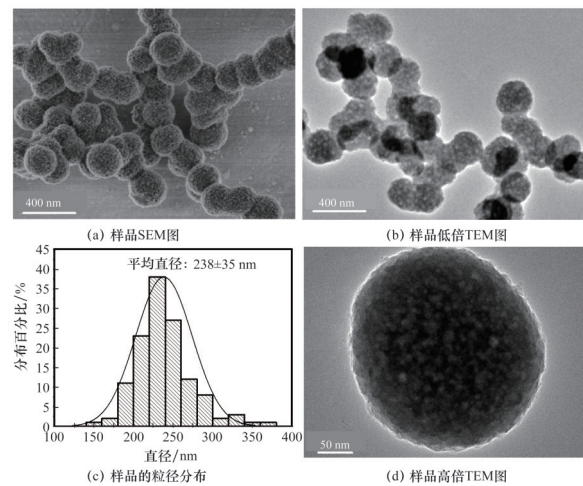


图 9 利用 CaCl₂·2H₂O 作为钙源、ATP 作为磷源和稳定剂在 120°C 微波加热反应 10 min 获得的 ACP 多孔纳米球的表征

Fig 9 Characterization of ACP porous nanospheres synthesized by using CaCl₂·2H₂O as the calcium source and ATP as both the phosphorus source and stabilizer by microwave-assisted hydrothermal method at 120°C for 10 min

载量为 60 mg/g, 装载多西紫杉醇后的 ACP 纳米球对人体胃癌细胞具有明显的杀伤效果, 因此该材料可用作抗癌药物的运输载体^[42]。当微波加热温度升高到 150°C 以上时, 由于 ATP 水解充分, 获得的产物为 HAP 纳米线^[43]。

采用含磷生物分子三磷酸腺苷 ATP 作为有机磷源, 结合微波水热法成功制备了多功能 Eu³⁺ 掺杂无定形磷酸钙介孔微球。该制备方法中 ATP 具有十分重要的作用, 一方面 ATP 作为一种生物磷源提供制备磷酸钙所必须的磷酸根离子, 另一方面 ATP 作为一种结构和组成的调控剂, 控制产物的结构、形貌和尺寸。采用该方法合成的 Eu³⁺ 掺杂无定形磷酸钙介孔微球具有非常高的比表面积 (约 315 m²/g), 因此具有较高的药物装载量 (抗癌药物多西紫杉醇的装载量为 172 mg/g)。装载多西紫杉醇后的 Eu³⁺ 掺杂无定形磷酸钙介孔微球具有 pH 值响应药物释放性能以及良好的抗癌效果。另外, 该方法合成的 Eu³⁺ 掺杂无定形磷酸钙介孔微球还具有良好的生物相容性以及体内/体外荧光成像等优点, 因此该介孔微球在药物运输、组织工程以及生物成像等领域具有良好的应用前景^[44]。

具有磁靶向和 pH 值响应药物控释能力的药物输运体系在生物医学领域具有良好的应用前景。磁性氧化铁具有磁性, 但是其用于药物载体时往往受到载药量低、控释能力差等限制。制备了具有磁性、pH 值响应能力的核/壳空心结构的磁性氧化铁@非晶磷酸钙复合微球, 并研究了其作为 pH 值响应药物载体的性能。通过盐酸/乙醇溶液腐蚀磁性氧化铁实心微球得到了磁性氧化铁空心微球 (HMIO), 然后在 HMIO 中装载药物, 并在生物分子 5'-三磷酸腺苷二钠盐 (Na₂ATP) 的辅助下在 HMIO 外层包覆一层非晶磷酸钙 (ACP) 保护层, 从而得到 HMIO/药物/ACP 复合微球药物输运体系。该药物输运体系具有超顺磁性, 并呈较高的饱和磁化强度。该药物输运体系具有敏感的 pH 值响应药物控释行为: 在 pH=7.4 的释放介质中, 药物缓慢释放; 但在 pH=4.5 的释放介质中, 由于 ACP 包覆层被溶解, 药物释放速度显著加快, 该药物输运体系具有敏感的 pH 值响应药物释放行为。实验显示装载多西紫杉醇的药物输运体系具有明显的抗癌效果^[45]。

采用 ATP 作为磷源, 在微波辅助合成 ACP 的同时加入 ZnCl₂, 则可以形成 Zn 掺杂的 ACP (Zn/ACP) 介孔微球, 该 Zn/ACP 介孔微球对金黄色葡萄球菌以及大肠杆菌具有良好的抗菌效果^[46]。另外, ATP 对无定形磷酸钙 (ACC) 也具有很好的稳定作用, 将室温条件下制备的 ATP 稳定的 ACC 纳米球作为前驱体在微波加热条件下进行处理。当微波加热温度较低时 (如 110°C 反应 10 min), 可以获得 ACC/ACP 复合纳米球, 该 ACC/ACP 复合纳米球对牛血红蛋白具有较高的吸附能力, 吸附量为 913 mg/g, 可应用于蛋白类药物的运输。当微波加热温度升高到 180°C 时, 可获得由含有碳酸根的羟基磷灰石 (CHA) 纳米颗粒组装而成的直径约为 50 nm 的 CHA 多孔纳米球, 该 CHA 纳米球可应用于药物运输及基因转染等领域^[47]。

1,6-二磷酸果糖 (FBP) 是人体葡萄糖代谢过程中必需的一种活性物质, 既是高能基质又是代谢调节剂。FBP 分子中

含有 2 个磷酸基团, 也是一种理想的有机磷源。利用 FBP 生物分子在不同微波加热条件下水解可合成出不同结构、尺寸和形貌的磷酸钙纳米材料, 例如在微波 120°C 反应 10 min 可获得 ACP 多孔微球; 在微波 180°C 反应 10 min 获得 HAP 纳米棒; 在微波 120°C 反应 60 min 或微波 140°C 反应 10 min 获得 ACP/HAP 复合多孔微球。利用 FBP 作为有机磷源, 可通过调节微波反应温度和时间有效调控产物的物相、结构和形貌。所制备的 ACP 多孔微球可作为布洛芬药物的载体, 并具有较高的药物装载量 (385 mg/g) 和持续的药物释放性能^[48]。另外, 1,6-二磷酸果糖 (FBP) 是人体葡萄糖代谢过程中所必需的一种活性物质, 它能调节葡萄糖代谢中多种酶的活性, 在细胞的各种生命活动中起着重要的作用。研究了 FBP 在室温条件下对碳酸钙结晶矿化过程的影响。当不加入 FBP 时, 获得的产物由微米级的球霏石及少量方解石结晶相组成。当溶液中加入 FBP 时, 产物为球霏石与 FBP (CC/FBP) 组成的纳米复合材料, 这表明 FBP 的加入能延缓碳酸钙由球霏石相向方解石相的转变, 并对碳酸钙的结构和尺寸起到调控作用。另外, 利用 FBP 分子中含有的磷酸基团, 将 CC/FBP 复合纳米材料在微波加热条件下成功地转变为含有碳酸根的羟基磷灰石 (CHA) 多孔纳米球。装载抗癌药物多西紫杉醇的 CC/FBP 及 CHA 纳米载体对人体胃癌细胞具有明显的杀伤效果, 它们对牛血红蛋白具有较高的吸附量, 分别为 841 和 265 mg/g。利用 CHA 多孔纳米球输运含有绿色荧光蛋白的基因, 可以清晰观察到绿色荧光蛋白的表达, 因此所合成的 CC/FBP 及 CHA 纳米载体可应用于药物运输、蛋白吸附及基因转染等生物医学领域^[49]。

磷酸肌酸是肌肉或其他可兴奋性组织 (如脑和神经) 中的一种高能磷酸化合物, 是高能磷酸基的暂时贮存形式。磷酸肌酸水解时, 可以释放磷酸基团, 为磷酸钙的形成提供磷源。利用磷酸肌酸在微波加热条件下水解, 本课题组成功制备出 HAP 纳米片/棒组装而成的多孔空心微球, 该 HAP 空心微球可应用于药物运输与蛋白吸附等领域^[50]。利用磷酸肌酸在 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 和水混合溶剂条件下水解制备出 HAP 纳米片/纳米棒有序阵列^[51]。利用具有良好生物相容性的含磷生物分子胞苷 5'-三磷酸二钠盐作为有机磷源, 结合微波辅助水热法成功制备出无定形磷酸钙纳米颗粒以及羟基磷灰石微米球。实验结果表明溶液的 pH 值对产物形貌和结晶度具有重要的影响, 因此通过调节溶液的 pH 值可以调控产物的形貌和组成^[52]。利用生物相容性良好的含磷生物分子 5'-磷酸吡哆醛作为一种有机磷源, 结合水热反应成功制备出羟基磷灰石纳米棒; 实验结果表明实验条件如水热反应温度和时间对产物形貌和物相具有很大的影响^[53]。利用磷酸吡哆醛在微波加热条件下的水解则可制备出 HAP 三维多级结构, 包括 HAP 纳米棒组装而成的多级空心微球、HAP 纳米棒组装而成的多级微球以及 HAP 纳米片组装而成的多级微球^[54]。利用核黄素磷酸钠在水热条件下水解产生的磷酸根离子与溶液中钙离子反应形成磷酸钙纳米材料, 成功制备出

HAP纳米棒及纳米线^[55]。

6 结论

磷酸钙类材料具有良好的生物相容性和生物可降解性,在生物医学领域如骨组织与牙齿修复和替换、药物输运和控制释放、基因转染及诊断成像等方面具有良好的应用前景。评述了中国科学院上海硅酸盐研究所生物纳米技术研究课题组近年来在制备磷酸钙纳米结构材料中发展的不同制备方法,成功制备出多种不同结构、尺寸、形貌和功能的磷酸钙纳米材料,并探索所制备磷酸钙纳米材料在药物输运、蛋白吸附、基因转染与生物成像等方面的应用。预期该研究领域未来的发展方向如下。

1) 发展新的制备方法:探索各种磷酸钙纳米材料的合成新方法,制备出具有特定结构、尺寸、形貌和功能的磷酸钙纳米材料以满足各种生物医学应用中不同的需求,其中多孔、空心及多级纳米结构具有很大的优势。在众多的制备方法中,微波辅助快速合成将成为未来磷酸钙纳米材料制备的一个很有发展前途的方向。此外,含磷生物分子作为具有良好生物相容性的有机磷源在制备磷酸钙纳米材料中显示出明显优势,也是今后一个很有发展前途的方向。

2) 发展集多功能于一体的磷酸钙纳米体系,包括药物可控释放、多种药物同时可控释放、磁靶向、生物成像等多功能。

3) 探索磷酸钙纳米材料在体内的生物学行为及其机理,发展具有高生物安全性的多功能磷酸钙纳米体系以满足生物医学应用中的需求。可以预期,随着生物医学技术的不断发展,临床医学对生物材料的要求不断提高,具有更好的生物相容性、生物可降解性和生物活性的多功能磷酸钙纳米材料将不断被研发出来。

参考文献 (References)

- [1] Dorozhkin S V. Calcium orthophosphates[J]. *Journal of Materials Science*, 2007, 42(4): 1061-1095.
- [2] Dorozhkin S V. Calcium orthophosphates in nature, *Biology and Medicine* [J]. *Materials*, 2009, 2(2): 399-498.
- [3] Palmer L C, Newcomb C J, Kaltz S R, et al. Biomimetic systems for hydroxyapatite mineralization inspired by bone and enamel[J]. *Chemical Reviews*, 2008, 108(11): 4754-4783.
- [4] Cai Y R, Tang R K. Calcium phosphate nanoparticles in biomineralization and biomaterials[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2008, 18: 3775-3787.
- [5] Dorozhkin S V, Epple M. Biological and medical significance of calcium phosphates[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2002, 41: 3130-3146.
- [6] Chen F, Zhu Y J, Wu J, et al. Nanostructured calcium phosphates: Preparation and their application in biomedicine[J]. *Nano Biomedicine and Engineering*, 2012, 4(1): 41-49.
- [7] Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials[J]. *Biomaterials*, 2000, 21: 667-681.
- [8] Valletregi M. Calcium phosphates as substitution of bone tissues[J]. *Progress in Solid State Chemistry*, 2004, 32(1/2): 1-31.
- [9] Wang K W, Zhou L Z, Sun Y, et al. Calcium phosphate/PLGA-mPEG hybrid porous nanospheres: A promising vector with ultrahigh gene loading and transfection efficiency[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2010, 20(6): 1161-1166.
- [10] Wu G J, Zhou L Z, Wang K W, et al. Hydroxylapatite nanorods: An efficient and promising carrier for gene transfection[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2010, 345(2): 427-432.
- [11] Tang Q L, Zhu Y J, Wu J, et al. Calcium phosphate drug nanocarriers with ultrahigh and adjustable drug-loading capacity: One-step synthesis, in situ drug loading and prolonged drug release[J]. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 2011, 7(4): 428-434.
- [12] Qi C, Zhu Y J, Zhao X Y, et al. High surface area carbonate apatite nanorod bundles: Surfactant-free sonochemical synthesis and drug loading and release properties[J]. *Materials Research Bulletin*, 2013, 48(4): 1536-1540.
- [13] Lin K L, Wu C T, Chang J. Advances in synthesis of calcium phosphate crystals with controlled size and shape[J]. *Acta Biomaterialia*, 2014, 10(10): 4071-4102.
- [14] Chen F, Zhu Y J. Multifunctional Calcium Phosphate Nanostructured Materials and Biomedical Applications[J]. *Current Nanoscience*, 2014, 10: 465-485.
- [15] Chen X, Tang Q L, Zhu Y J, et al. Synthesis and antibacterial property of zinc loaded hydroxyapatite nanorods[J]. *Materials Letters*, 2012, 89: 233-235.
- [16] Zhao X Y, Zhu Y J, Chen F, et al. Calcium phosphate nanocarriers dual-loaded with bovine serum albumin and ibuprofen: facile synthesis, sequential drug loading and sustained drug release[J]. *Chemistry-An Asian Journal*, 2012, 7(7): 1610-1615.
- [17] Cao S W, Zhu Y J, Wu J, et al. Preparation and sustained-release property of triblock copolymer/calcium phosphate nanocomposite as nanocarrier for hydrophobic drug[J]. *Nanoscale Research Letters*, 2010, 5(4): 781-785.
- [18] Tang Q L, Zhu Y J, Duan Y R, et al. Porous nanocomposites of PEG-PLA/calcium phosphate: room-temperature synthesis and its application in drug delivery[J]. *Dalton Transactions*, 2010, 39(18): 4435-4439.
- [19] Chen F, Zhu Y J, Zhang K H, et al. Europium-doped amorphous calcium phosphate porous nanospheres: preparation and application as luminescent drug carriers[J]. *Nanoscale Research Letters*, 2011, 6(1): 67-75.
- [20] Wang K W, Zhu Y J, Chen F, et al. Calcium phosphate/block copolymer hybrid porous nanospheres: Preparation and application in drug delivery[J]. *Materials Letters*, 2010, 64(21): 2299-2301.
- [21] Shang H B, Chen F, Wu J, et al. Multifunctional biodegradable terbium-doped calcium phosphate nanoparticles: facile preparation, pH-sensitive drug release and in vitro bioimaging[J]. *RSC Advances*, 2014, 4: 53122-53129.
- [22] Zhou R, Xu W, Chen F, et al. Amorphous calcium phosphate nanospheres/poly lactide composite coated tantalum scaffold: Facile preparation, fast biomineralization and subchondral bone defect repair application [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2014, 123: 236-245.
- [23] Zhao X Y, Zhu Y J, Chen F, et al. Calcium phosphate hybrid nanoparticles: Self-assembly formation, characterization, and application as an anticancer drug nanocarrier[J]. *Chemistry-An Asian Journal*, 2013, 8(6): 1306-1312.
- [24] Chen F, Huang P, Zhu Y J, et al. Multifunctional Eu³⁺/Gd³⁺ dual-doped calcium phosphate vesicle-like nanospheres for sustained drug release and imaging[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(27): 6447-6455.
- [25] Ma M Y, Zhu Y J, Li L, et al. Nanostructured porous hollow ellipsoidal capsules of hydroxyapatite and calcium silicate: preparation and

- application in drug delivery[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2008, 18(23): 2722-2727.
- [26] Zhao X Y, Zhu Y J, Zhao J, et al. Hydroxyapatite nanosheet-assembled microspheres: Hemoglobin-templated synthesis and adsorption for heavy metal ions[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2014, 416: 11-18.
- [27] Qi C, Zhu Y J, Lu B Q, et al. Hydroxyapatite nanosheet-assembled porous hollow microspheres: DNA-templated hydrothermal synthesis, drug delivery and protein adsorption[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2012, 22(42): 22642-22650.
- [28] Lu B Q, Zhu Y J, Chen F. Highly flexible and nonflammable inorganic hydroxyapatite paper[J]. *Chemistry-A European Journal*, 2014, 20(5): 1242-1246.
- [29] Lu B Q, Zhu Y J, Chen F, et al. Solvothermal transformation of a calcium oleate precursor into large-sized highly ordered arrays of ultralong hydroxyapatite microtubes[J]. *Chemistry-A European Journal*, 2014, 20(23): 7116-7121.
- [30] Ma M G, Zhu Y J, Chang J. Solvothermal preparation of hydroxyapatite microtubes in water/N, N-dimethylformamide mixed solvents[J]. *Materials Letters*, 2008, 62(10/11): 1642-1645.
- [31] Chen F, Zhu Y J, Wang K W, et al. Surfactant-free solvothermal synthesis of hydroxyapatite nanowire/nanotube ordered arrays with biomimetic structures[J]. *CrystEngComm*, 2011, 13(6): 1858-1863.
- [32] Zhu Y J, Chen F. Microwave-assisted preparation of inorganic nanostructures in liquid phase[J]. *Chemical Reviews*, 2014, 114: 6462-6555.
- [33] Tang Q L, Wang K W, Zhu Y J, et al. Single-step rapid microwave-assisted synthesis of polyacrylamide-calcium phosphate nanocomposites in aqueous solution[J]. *Materials Letters*, 2009, 63(15): 1332-1334.
- [34] Ma M G, Zhu Y J, Chang J. Monetite formed in mixed solvents of water and ethylene glycol and its transformation to hydroxyapatite[J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2006, 116: 14226-14230.
- [35] Wang K W, Zhu Y J, Chen F, et al. Microwave-assisted synthesis of hydroxyapatite hollow microspheres in aqueous solution[J]. *Materials Letters*, 2011, 65(15/16): 2361-2363.
- [36] 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[J]. *CrystEngComm*, 2013, 15(1): 206-212.
- [37] Chen F, Li C, Zhu Y J, et al. Magnetic nanocomposite of hydroxyapatite ultrathin nanosheets/Fe₃O₄ nanoparticles: Microwave-assisted rapid synthesis and application in pH-responsive drug release[J]. *Biomaterials Science*, 2013, 1(10): 1074-1081.
- [38] Wang K W, Zhu Y J, Chen X Y, et al. Flower-like hierarchically nanostructured hydroxyapatite hollow spheres: Facile preparation and application in anticancer drug cellular delivery[J]. *Chemistry-An Asian Journal*, 2010, 5(12): 2477-2482.
- [39] Chen F, Huang P, Zhu Y J, et al. The photoluminescence, drug delivery and imaging properties of multifunctional Eu³⁺/Gd³⁺ dual-doped hydroxyapatite nanorods[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(34): 9031-9039.
- [40] Chen F, Tang Q L, Zhu Y J, et al. Hydroxyapatite nanorods/poly(vinyl pyrrolidone) composite nanofibers, arrays and three-dimensional fabrics: Electrospun preparation and transformation to hydroxyapatite nanostructures[J]. *Acta Biomaterialia*, 2010, 6(8): 3013-3020.
- [41] Ma Z, Chen F, Zhu Y J, et al. Amorphous calcium phosphate/poly(D, L-lactic acid) composite nanofibers: electrospinning preparation and biomineralization[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2011, 359(2): 371-379.
- [42] Qi C, Zhu Y J, Zhao X Y, et al. Highly stable amorphous calcium phosphate porous nanospheres: Microwave-assisted rapid synthesis using ATP as phosphorus source and stabilizer, and their application in anticancer drug delivery[J]. *Chemistry-A European Journal*, 2013, 19(3): 981-987.
- [43] Qi C, Tang Q L, Zhu Y J, et al. Microwave-assisted hydrothermal rapid synthesis of hydroxyapatite nanowires using adenosine 5'-triphosphate disodium salt as phosphorus source[J]. *Materials Letters*, 2012, 85: 71-73.
- [44] Chen F, Huang P, Qi C, et al. Multifunctional biodegradable mesoporous microspheres of Eu³⁺-doped amorphous calcium phosphate: microwave-assisted preparation, pH-sensitive drug release, and bioimaging application[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2014, 2: 7132-7140.
- [45] Lu B Q, Zhu Y J, Chen F, et al. Core-shell hollow microspheres of magnetic iron oxide@amorphous calcium phosphate synthesis using adenosine 5'-triphosphate and application in pH-responsive drug delivery[J]. *Chemistry - An Asian Journal*, 2014, 9: 2908-2914.
- [46] Zhao J, Zhu Y J, Zheng J Q, et al. Microwave-assisted hydrothermal preparation using adenosine 5'-triphosphate disodium salt as a phosphate source and characterization of zinc-doped amorphous calcium phosphate mesoporous microspheres[J]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2013, 180: 79-85.
- [47] Qi C, Zhu Y J, Chen F. Microwave hydrothermal transformation of amorphous calcium carbonate nanospheres and application in protein adsorption[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2014, 6(6): 4310-4320.
- [48] Qi C, Zhu Y J, Chen F. Fructose 1,6-bisphosphate trisodium salt as a new phosphorus source for the rapid microwave synthesis of porous calcium-phosphate microspheres and their application in drug delivery [J]. *Chemistry-An Asian Journal*, 2013, 8(1): 88-94.
- [49] Qi C, Huang J J, Chen F, et al. Synthesis, characterization and applications of calcium carbonate/fructose 1, 6-bisphosphate composite nanospheres and carbonated hydroxyapatite porous nanospheres[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2014, 2: 8378-8389.
- [50] Qi C, Zhu Y J, Lu B Q, et al. Hydroxyapatite hierarchically nanostructured porous hollow microspheres: rapid, sustainable microwave-hydrothermal synthesis by using creatine phosphate as an organic phosphorus source and application in drug delivery and protein adsorption[J]. *Chemistry-A European Journal*, 2013, 19(17): 5332-5341.
- [51] Chen F, Zhu Y J, Zhao X Y, et al. Solvothermal synthesis of oriented hydroxyapatite nanorod/nanosheet arrays using creatine phosphate as phosphorus source[J]. *CrystEngComm*, 2013, 15(22): 4527-4531.
- [52] Zhao J, Zhu Y J, Cheng G F, et al. Microwave-assisted hydrothermal rapid synthesis of amorphous calcium phosphate nanoparticles and hydroxyapatite microspheres using cytidine 5'-triphosphate disodium salt as a phosphate source[J]. *Materials Letters*, 2014, 124: 208-211.
- [53] Zhao X Y, Zhu Y J, Lu B Q, et al. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanorods using pyridoxal-5'-phosphate as a phosphorus source[J]. *Materials Research Bulletin*, 2014, 55: 67-70.
- [54] Zhao X Y, Zhu Y J, Qi C, et al. Hierarchical hollow hydroxyapatite microspheres: microwave-assisted rapid synthesis by using pyridoxal-5'-phosphate as a phosphorus source and application in drug delivery [J]. *Chemistry - An Asian Journal*, 2013, 8(6): 1313-1320.
- [55] Zhao X Y, Zhu Y J, Chen F, et al. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanorods and nanowires using riboflavin-5'-phosphate monosodium salt as a new phosphorus source and their application in protein adsorption[J]. *CrystEngComm*, 2013, 15(39): 7926-7935.

(责任编辑 刘志远)