



纳米生物材料 创新实验

卢婷利 张妍妮 编著



科学出版社

纳米生物材料创新实验

卢婷利 张妍妮 编著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书以纳米生物材料和纳米药物技术相关实验专题为主线,每个实验着重于基本概念、基本原理和基本方法的介绍,通过实验操作训练让学生掌握基本知识和基本实验技能。本书共四个单元,十六个实验。四个单元分别是无机纳米粒子制备、有机纳米生物材料实验、纳米生物涂层的制备和纳米药物载体技术。无机纳米粒子制备包括介孔二氧化硅、纳米羟基磷灰石的制备方法;有机纳米生物材料介绍了高分子水凝胶、三嵌段共聚物、两亲性聚合物的制备方法以及纳米高分子纤维的静电纺丝制备技术;纳米生物涂层的制备简要介绍了阳极氧化技术、电泳沉积技术制备材料表面涂层的方法;纳米药物载体技术则介绍了目前临床上使用的一些纳米药物制剂的制备技术,如脂质体、微球、胶束和脂肪乳剂等。附录介绍了部分纳米材料表征所用设备的工作原理。

本书可作为高等院校材料科学与工程、生物材料、生物医学工程、生物工程、生物技术等专业的实验指导教材,也可作为相关专业研究生的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

纳米生物材料创新实验 / 卢婷利, 张妍妮编著. —北京: 科学出版社, 2019.1

ISBN 978-7-03-058420-5

I. ①纳… II. ①卢… ②张… III. ①纳米材料-生物材料-材料试验 IV. ①R318.08

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 175706 号

责任编辑: 李 萍 / 责任校对: 郭瑞芝
责任印制: 张 伟 / 封面设计: 迷底书装

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京教图印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2019 年 1 月第 一 版 开本: 720×1200 B5

2019 年 1 月第一次印刷 印张: 10

字数: 200 000

定价: 85.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

纳米生物材料是纳米技术与生物材料的交叉，基本思路是将纳米微粒与生物材料复合或直接制备纳米级的生物材料。随着医学技术的快速发展和临床需求的提升，纳米生物材料在组织工程、药物技术和医学影像等方面显示出巨大的潜在应用价值，并且已经在一些领域获得初步的应用。

本书基于西北工业大学生物技术专业的创新实验课程以及生物材料与药物技术学科组的科研工作，经凝练和总结而成，介绍了纳米生物材料常用的制备方法，每个实验主要包括实验目的与要求、实验原理、实验方法、操作过程、结果分析、注意事项、思考题和参考文献。为了更好地说明每种纳米生物材料的制备原理，让读者掌握每种方法的具体操作步骤，每个单元均选用具有代表性的生物材料作为实验制备的案例。需要强调的是，除了书中提到的纳米生物材料外，对于其他纳米生物材料的制备，相关方法和理论也可以作为借鉴和参考。

本书编写分工如下：第一单元由陈强编写，第二单元由董凯编写，第三单元由张妍妮编写，第四单元由卢婷利编写，全书由卢婷利、张妍妮统稿。同时，生物材料与药物技术学科组的研究生景佳佳、王小宁、席朵、齐鸿飞、李梦、雷秋亚等参与了具体实验过程的编写工作，在此对他们表示感谢。在本书的编写过程中，得到了多位国内外同行学者专家指导和帮助，在这里一并表示衷心的感谢。

由于编者水平所限，书中难免存在不足之处，恳请广大读者批评指正。

卢婷利

2017年12月于西安

目 录

前言

第一单元 无机纳米粒子制备

实验一 溶胶-凝胶法制备介孔二氧化硅纳米颗粒	3
1.1 实验目的与要求	3
1.2 介孔二氧化硅纳米颗粒及其制备原理	3
1.3 实验过程及结果分析	5
1.4 实验注意事项	5
思考题	6
参考文献	6
实验二 纳米银掺杂的核壳结构二氧化硅纳米颗粒制备	7
2.1 实验目的与要求	7
2.2 纳米银掺杂的核壳结构二氧化硅纳米颗粒的制备原理	7
2.3 实验过程及结果分析	8
2.4 实验注意事项	8
思考题	9
参考文献	9
实验三 中空的介孔二氧化硅纳米颗粒制备	10
3.1 实验目的与要求	10
3.2 中空的介孔二氧化硅纳米颗粒的制备原理	10
3.3 实验过程及结果分析	10
3.4 实验注意事项	11
思考题	11
参考文献	11
实验四 纳米羟基磷灰石的制备	13
4.1 实验目的与要求	13
4.2 实验原理	13

4.3 实验过程及结果分析	14
4.4 实验注意事项	15
思考题	15
参考文献	15

第二单元 有机纳米生物材料实验

实验五 海藻酸钠水凝胶的制备及药物释放	19
5.1 实验目的与要求	19
5.2 水凝胶的介绍	19
5.3 实验原理	21
5.4 实验器材和试剂	22
5.5 实验内容	22
5.6 实验注意事项	23
思考题	24
参考文献	24
实验六 PEOz-PLA-PEOz 三嵌段聚合物材料的合成	25
6.1 实验目的与要求	25
6.2 三嵌段聚合物的概念、类型及应用	25
6.3 实验原理	27
6.4 实验器材和试剂	28
6.5 实验内容	28
6.6 实验注意事项	29
思考题	30
参考文献	30
实验七 两亲性聚酸酐的合成	31
7.1 实验目的与要求	31
7.2 实验原理	31
7.3 实验过程及结果分析	32
7.4 实验注意事项	35
思考题	35
参考文献	36

实验八 静电纺丝制备 PLLA/PCL/HAP 纳米纤维	37
8.1 实验目的与要求	37
8.2 静电纺丝技术在生物医学上的应用	37
8.3 静电纺丝技术的原理	37
8.4 纳米纤维的制备过程	38
8.5 实验注意事项	39
思考题	39
参考文献	40

第三单元 纳米生物涂层的制备

实验九 阳极氧化法制备二氧化钛纳米管膜层	43
9.1 实验目的与要求	43
9.2 钛表面生物活化改性的方法	43
9.3 阳极氧化原理	44
9.4 实验方法	46
9.5 实验注意事项	47
思考题	47
参考文献	48
实验十 电泳沉积技术制备生物活性涂层	49
10.1 实验目的与要求	49
10.2 电泳沉积	49
10.3 实验原理	54
10.4 实验方法	54
10.5 实验注意事项	56
思考题	57
参考文献	57
实验十一 明胶/壳聚糖复合涂层制备技术	58
11.1 实验目的与要求	58
11.2 明胶纳米微球的制备原理	58
11.3 实验器材和试剂	59
11.4 二次凝聚法制备明胶纳米微球	59

11.5 明胶纳米微球载药	61
11.6 电泳沉积法制备复合载药涂层	61
11.7 实验注意事项	61
思考题	61
参考文献	62

第四单元 纳米药物载体技术

实验十二 薄膜分散法制备纳米脂质体	65
12.1 实验目的与要求	65
12.2 脂质体及其制备原理	65
12.3 实验器材和试剂	68
12.4 操作步骤	68
12.5 脂质体质量评价	69
12.6 实验现象及结果记录	69
12.7 实验注意事项	69
思考题	69
参考文献	70
实验十三 阳离子脂质体的制备	71
13.1 实验目的与要求	71
13.2 阳离子脂质体	71
13.3 实验器材和试剂	72
13.4 操作步骤	72
13.5 脂质体质量评价	73
13.6 实验现象及结果记录	73
13.7 实验注意事项	73
思考题	74
参考文献	74
实验十四 PLGA 微球制备技术	76
14.1 实验目的与要求	76
14.2 实验原理	76
14.3 实验过程及结果分析	77

14.4 实验注意事项	78
思考题	78
参考文献	79
实验十五 PEG-PLA 胶束制备技术	80
15.1 实验目的与要求	80
15.2 聚合物胶束及其制备原理	80
15.3 实验过程及结果分析	82
15.4 实验注意事项	82
思考题	83
参考文献	83
实验十六 静脉脂肪乳剂的制备	84
16.1 实验目的与要求	84
16.2 实验原理	84
16.3 实验过程及结果分析	86
16.4 实验注意事项	88
思考题	88
参考文献	88
附录 1 主要仪器原理简介	89
附录 2 实验报告样板	100
实验一报告	100
实验二报告	103
实验三报告	106
实验四报告	109
实验五报告	112
实验六报告	115
实验七报告	118
实验八报告	121
实验九报告	124
实验十报告	127
实验十一报告	130
实验十二报告	133

实验十三报告.....	136
实验十四报告.....	139
实验十五报告.....	142
实验十六报告.....	145

第一单元 无机纳米粒子制备

本单元主要介绍无机纳米粒子的实验制备技术。

纳米材料和纳米技术是 20 世纪 80 年代以来兴起的一个崭新领域。纳米材料具有其他传统材料不具备的独特的物理、化学和力学性质，显示出巨大的潜在应用价值。随着研究的深入和技术的发展，纳米材料与许多学科相互交叉和渗透，并已在一些领域获得了初步的应用。纳米技术在生物材料方面的研究应用发展势头良好，研究最早的纳米生物材料是无机纳米粒子。无机纳米粒子可作为药物分子或基因的载体，将药物分子或基因包裹在颗粒之中或者吸附在颗粒表面，实现靶向输送和缓释给药的目的。作为无机纳米粒子的代表，介孔二氧化硅纳米颗粒用作药物载体，已在生物医学领域表现出巨大的应用潜力；纳米羟基磷灰石除了作为硬组织修复材料外，还具有良好的药物吸附-脱附性能，作为药物载体，可有效控制药物的释放速率。

本单元主要介绍介孔二氧化硅和纳米羟基磷灰石作为无机纳米载体材料的制备方法，希望通过相关概念、原理、方法及具体实验技术的操作和结果分析，让学生可以较好地掌握此类药用载体材料的制备技术，能在实际操作中注意实验细节，并能对实验中出现的现象进行思考。

实验一 溶胶-凝胶法制备介孔二氧化硅纳米颗粒

1.1 实验目的与要求

- (1)掌握介孔二氧化硅纳米颗粒的制备原理。
- (2)理解介孔二氧化硅纳米颗粒的制备方法。
- (3)了解介孔二氧化硅纳米颗粒在生物医药领域的应用。

1.2 介孔二氧化硅纳米颗粒及其制备原理

1.2.1 介孔二氧化硅纳米颗粒

根据国际纯粹与应用化学联合会的规定,介孔材料是指孔径在 2~50nm 的一类多孔材料。介孔二氧化硅具有有序的孔道结构、较大的比表面积与孔容、均一的孔径等特点。介孔二氧化硅表面富含羟基,可以对其进行进一步进行官能团修饰,以增强载体表面与药物的相互作用,从而达到提高药物负载量和延缓药物释放的目的^[1-3]。这些特殊的结构与性质使介孔二氧化硅逐渐发展成为一种良好的载体材料,在很多领域有巨大的应用潜力。而具有球状形貌、粒径在 100nm 左右的介孔二氧化硅纳米颗粒(mesoporous silica nanoparticles, MSN)由于易被细胞吞噬,且细胞毒性小,在生物医药方面的应用前景尤为引人关注^[4-7]。

1.2.2 溶胶-凝胶法

介孔二氧化硅纳米颗粒合成的主要方法有水热合成法、微波合成法^[8]、溶胶-凝胶法和微乳液法^[9]等,其中溶胶-凝胶法是最常用的方法。

溶胶-凝胶法是用含高化学活性组分的化合物(无机盐或金属醇盐)作为前驱体,在液相条件下将这些原料均匀混合,并进行水解和缩合化学反应,在溶液中形成稳定的透明溶胶体系,溶胶经陈化,胶粒间缓慢聚合,形成三维网络结构的

凝胶，凝胶网络间充满了失去流动性的溶剂，形成凝胶^[10]。凝胶经过干燥和烧结固化制备出分子乃至纳米亚结构的材料。

1.2.3 实验原理

在水溶液中，以表面活性剂十六烷基三甲基溴化铵(cetyl trimethyl ammonium bromide, CTAB)作为介观结构的模板剂，正硅酸乙酯(tetraethyl orthosilicate, TEOS)作为硅源，氢氧化钠作为催化剂，采用溶胶-凝胶法制备介孔二氧化硅纳米颗粒(图 1.1)。

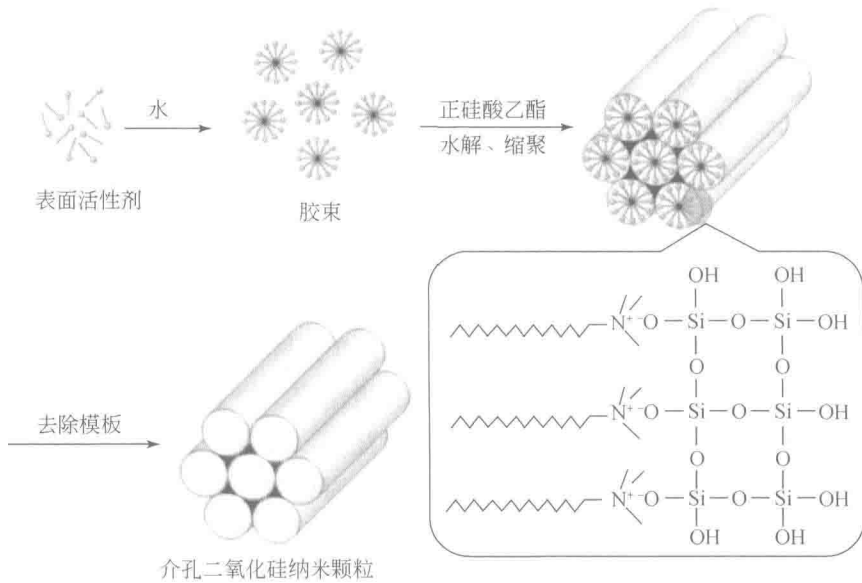


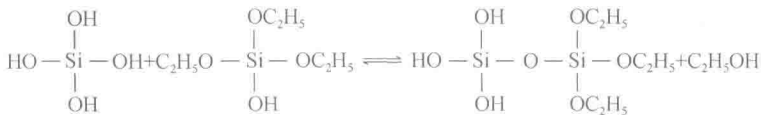
图 1.1 制备介孔二氧化硅纳米颗粒原理图^[4]

该反应分两步：

(1)正硅酸乙酯水解形成羟基化产物和相应的醇。



(2)硅醇之间或硅醇与部分水解的正硅酸乙酯之间发生缩聚反应，水解产物以一定量的核为中心进行多维方向缩合，形成球形粒子^[5]，反应过程如图 1.2 所示。



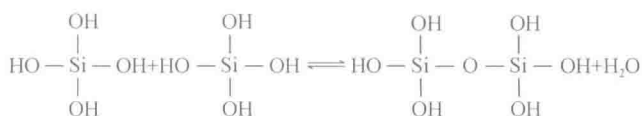


图 1.2 缩合反应过程图

1.3 实验过程及结果分析

1.3.1 试剂与器材

(1)试剂：十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)、正硅酸乙酯(TEOS)、2mol/L 氢氧化钠溶液、去离子水、无水乙醇等。

(2)器材：磁力搅拌器、激光粒度仪、Zeta 电位仪、电子分析天平、离心机、移液器、烧杯、量筒、封口膜、水浴锅、离心管等。

1.3.2 操作步骤

(1)先用电子分析天平称取 0.5g CTAB，量筒量取 240mL 去离子水倒入 250mL 烧杯中，然后向烧杯中依次加入 1.75mL 2mol/L 的氢氧化钠溶液和 0.5g CTAB，用封口膜将烧杯密封。

(2)将烧杯置于水浴锅中，在 80℃ 条件下搅拌 30min 后，缓慢加入 2.5mL TEOS，剧烈搅拌 2h。样品静置冷却至室温，以 10000r/min 的转速离心 5min 后，依次用去离子水和无水乙醇各清洗两次。

(3)取少量样品分散于无水乙醇，用激光粒度仪和 Zeta 电位仪测其粒径和电位。

1.3.3 实验现象及结果记录

- (1)记录实验过程中溶液颜色变化。
- (2)表征样品的粒径和电位。
- (3)计算样品产率。

1.4 实验注意事项

- (1)用水浴锅加热搅拌时，避免气泡产生。

- (2) TEOS 约在 2min 内滴加完。
- (3) 样品清洗过程中要将样品充分分散。

思 考 题

- (1) 激光粒度仪测粒径的原理是什么？
- (2) 列出两种去除 CTAB 的方法。
- (3) 当 MSN 作为药物载体使用时，控制药物释放的途径有哪些？

参 考 文 献

- [1] Song S W, Hidajat K, Kawi S. Functionalized SBA-15 materials as carriers for controlled drug delivery: influence of surface properties on matrix-drug interactions[J]. *Langmuir*, 2005, 21(21): 9568-9575.
- [2] Tam D, Ashley C E, Xue M, et al. Mesoporous silica nanoparticle nanocarriers: biofunctionality and biocompatibility[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2013, 46(3): 792-801.
- [3] Huh S, Chen H T, Wiench J W, et al. Cooperative catalysis by general acid and base bifunctionalized mesoporous silica nanospheres[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2005, 44(12): 1826-1830.
- [4] Feng X, Fryxell G E, Kim A Y, et al. Functionalized monolayers on ordered mesoporous supports[J]. *Science*, 1997, 276(5314): 923-926.
- [5] Vivero-Escoto J L, Slowing I I, Trewyn B G, et al. Mesoporous silica nanoparticles for intracellular controlled drug delivery[J]. *Small*, 2010, 6(18): 1952-1967.
- [6] Bathfield M, Reboul J, Cacciaguerra T, et al. Thermosensitive and drug-loaded ordered mesoporous silica: a direct and effective synthesis using PEO-b-PNIPAM block copolymers[J]. *Chemistry of Materials*, 2016, 28(10): 3374-3384.
- [7] Möller K, Bein T. Talented mesoporous silica nanoparticles[J]. *Chemistry of Materials*, 2017, 29: 371-388.
- [8] Wu C G, Bein T. Microwave synthesis of molecular sieve MCM-41[J]. *Chemical Communications*, 1996, 8: 925-926.
- [9] Lee Y G, Oh C, Yoo S K, et al. New approach for the control of size and surface characteristics of mesoporous silica particles by using mixed surfactants in W/O emulsion[J]. *Microporous & Mesoporous Materials*, 2005, 86(1): 134-144.
- [10] Bin L I, Jianhua W, Guo Y, et al. Mesoporous materials synthesized by surfactant template[J]. *Materials Review*, 2006: S2.

实验二 纳米银掺杂的核壳结构二氧化硅

纳米颗粒制备

2.1 实验目的与要求

- (1)掌握纳米银掺杂的核壳结构二氧化硅纳米颗粒的制备原理。
- (2)理解纳米银掺杂的核壳结构二氧化硅纳米颗粒的制备方法。
- (3)了解纳米银掺杂的核壳结构二氧化硅纳米颗粒在生物医药领域的应用。

2.2 纳米银掺杂的核壳结构二氧化硅纳米颗粒的制备原理

纳米银的吸附性强，表面能和化学活性高，是一种研究较多的无机抗菌剂^[1]。它对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和厌氧菌均有较强的杀菌能力，作为广谱的抗菌剂已使用多年^[2-5]。但是，纳米银颗粒在实际应用中存在分散性差、释药过快、不易保存和不稳定等问题。将纳米银颗粒包裹在结构稳定的介孔二氧化硅中，不仅能减缓银离子的释放，而且能发挥其良好的抗菌效应^[6]。

研究者应用不同的方法合成纳米银颗粒，但因存在不同的缺点，极大限制了其应用范围^[7-10]。本实验基于溶胶-凝胶法，合成纳米银掺杂的介孔二氧化硅纳米颗粒的机理为：在80℃条件下CTAB碱性水溶液的体系中，用甲醛还原硝酸银，得到银纳米晶；将CTAB作为分散剂，可使银纳米晶很好地分散在水溶液中；加入硅源TEOS后，TEOS发生水解缩聚反应，水解产生的硅物种与银纳米晶之间产生强烈的静电作用，诱导银纳米晶在硅物种附近团聚和一定程度的长大^[7]。此外，在介观复合结构中，氧化硅骨架的缩聚程度相对较低，具有一定的“柔软度”，银纳米晶可以在氧化硅骨架中移动、团聚和长大，最终形成一个银纳米粒子核。与此同时，溶液中游离的硅物种自组装成有序介孔二氧化硅壳。

本实验重点掌握纳米银掺杂的核壳结构二氧化硅纳米颗粒(Ag@MSN)的合成方