

氧化铈纳米粒子锚定介孔生物活性玻璃复合粉体材料的制备与抗氧化性能表征

付一敏*, 付彪, 徐凯峰, 朱敏#

上海理工大学材料与化学学院, 上海

收稿日期: 2024年3月3日; 录用日期: 2024年6月13日; 发布日期: 2024年6月26日

摘要

氧化铈纳米颗粒(CNPs)因其 Ce^{3+}/Ce^{4+} 的可逆转换反应,能有效应对氧化应激,在生物医药领域展现出应用潜力。为抵御骨修复过程中氧化应激损害,本文通过水热法成功制备了平均粒径3~5 nm、单分散的CNPs,并利用酮缩硫醇(thioketals, TK)将其牢固地锚定在介孔生物活性玻璃(MBG)粉体材料表面,获得具有抗氧化应激性能的CNPs@MBG复合粉体材料。使用 H_2O_2 溶液来模拟活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)环境,对CNPs@MBG复合粉体的抗氧化特性进行了探讨。实验结果显示, CNPs@MBG复合粉体展现出优良的 H_2O_2 分解性能,有效降低了ROS水平,避免了氧化应激。随着CNPs锚定含量的增加,抗氧化效果更为显著。

关键词

氧化铈, 介孔生物活性玻璃, 氧化应激, 抗氧化, 骨组织工程

Preparation and Antioxidant Characterization of Mesoporous Bioactive Glass Composite Powders Anchored by Cerium Oxide Nanoparticles

Yimin Fu*, Biao Fu, Kaifeng Xu, Min Zhu#

School of Materials and Chemistry, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai

Received: Apr. 3rd, 2024; accepted: Jun. 13th, 2024; published: Jun. 26th, 2024

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 付一敏, 付彪, 徐凯峰, 朱敏. 氧化铈纳米粒子锚定介孔生物活性玻璃复合粉体材料的制备与抗氧化性能表征[J]. 有机化学研究, 2024, 12(2): 249-258. DOI: 10.12677/jocr.2024.122022

Abstract

Cerium oxide nanoparticles (CNPs) can effectively mitigate oxidative stress through the reversible $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ conversion reaction, showing their potential application in the field of biomedicine. In order to resist oxidative stress during bone repair, monodisperse CNPs with an average particle size of 3-5 nm were successfully synthesized using a hydrothermal method in this study. The CNPs were then anchored onto the surface of mesoporous bioactive glass (MBG) powder materials via a thioketal (TK) linker, which thereby formed CNPs@MBG composite powders with antioxidant properties. The antioxidant capabilities of the CNPs@MBG composite powders were evaluated by subjecting them to an H_2O_2 solution to simulate a reactive oxygen species (ROS) environment. The results demonstrated that the CNPs@MBG performed high capabilities in decomposing H_2O_2 , reducing ROS levels and preventing oxidative stress. Furthermore, as the anchoring content of CNPs increased, the antioxidant effect became more pronounced.

Keywords

Cerium Oxide, Mesoporous Bioactive Glass, Oxidative Stress, Antioxidant, Bone Tissue Engineering

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

氧化应激是细胞内活性氧物种(ROS)异常增加的关键原因之一,这种状态与多种病理过程相关,包括但不限于癌症、衰老、糖尿病和神经退行性疾病。活性氧物种,如过氧化氢、羟基自由基和超氧阴离子,对细胞具有破坏性,并能引发炎症反应进而影响成骨[1]。ROS的异常增加会对细胞产生三种主要影响:抑制细胞增殖、减少细胞生长或分化,以及通过激活多种信号传导途径导致细胞死亡。

近年来,氧化铈纳米粒子(CNPs)因其独特的抗氧化特性[2] [3],可以保护正常细胞免受辐射的损伤[4]、氧化应激的伤害和炎症的影响[5],在生物医药领域受到越来越多的关注。CNPs的生物相关活性可以被用于特定药物的辅助剂[6],可与药物递送相结合[7] [8] [9]以及应用于生物支架[10] [11]。CNPs属于镧系金属氧化物,具有萤石结构,其中四面体间隙被 O_2^- 占据,八面体间隙被 Ce^{4+} 占据。氧化铈的特性是 Ce^{3+} (抗氧化剂)和 Ce^{4+} (促氧化剂)之间的相互转化,该特性与氧空位的形成和迁移有关[12]。正是由于CNPs中 $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ 的相互转化,使它本身具有一些酶的特性,例如过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD),这些类酶特性已经应用于组织工程领域[13] [14] [15]。CNPs内部 $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ 的相互转化能够有效对抗细胞内的氧化应激,可以保护细胞使其正常生长,因此,在治疗衰老、炎症、对抗神经退行性疾病(帕金森、阿兹海默症、缺血性中风等)等医药领域显示出了巨大的应用前景[16]。Nicolini等人研究了一种基于CNPs催化活性的生物活性玻璃,并用于骨组织工程[13],Ce掺杂生物活性玻璃能够预防植入后的氧化应激,减少患者的恢复期和抗炎反应。Zheng等[17]人合成了多种CeNP样本,并将抗氧化效果最好的样本用于炎症相关角膜新生血管大鼠模型。该研究合成的氧化铈具有良好的生物相容性,能够通过抗氧化应激介导炎症因子表达水平的降低。Hirst等[5]研究表明,CNPs可以减轻J774A.1小鼠巨噬细胞的氧化应激和促炎因子i-NOS蛋白的表达。

生物陶瓷材料具有良好的骨诱导性、骨电导率、生物降解性和生物相容性,在骨组织工程领域被广

泛应用。生物活性玻璃作为其中的一份子，通常由含钙硅酸盐组成。其能够在材料表面形成骨状磷灰石层释放离子，如 Ca^{2+} 、 PO_4^{3-} 和 Si^{4+} ，从而促进成骨。此外，介孔生物活性玻璃已成为骨组织工程的优秀材料，其具有较大的比表面积，可以很容易地装载药物或生物分子[18]。

由此，本文利用生物活性玻璃(MBG)的有序介孔孔道和高比表面积，将其表面接枝上酮缩硫醇(TK)并覆盖以制备了氧化铈纳米颗粒(CNPs)的复合物。通过这种方式，实现了对 ROS 的响应从而使得 CNPs 的释放，从而有效地对抗氧化应激并降低 ROS 水平。这是一种具有抗氧化性能并且能够促进成骨的骨修复材料。这种材料在骨组织工程领域的研究中具有重要意义。可以看出，本文所提出的方法为开发新型骨修复材料提供了有价值的见解已经潜在的应用价值。

2. 实验部分

2.1. 原料

正硅酸四乙酯(TEOS, 98.0%)，磷酸三乙酯(TEP, 99.8%)，四水硝酸钙($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, >98%)，盐酸(HCl, 36~38%)，无水乙醇($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, ≥99.7%)，(3-氨丙基)三乙氧基硅烷(APTES, ≥98.0%)，1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(98%)，六水合硝酸亚铈($\text{Ce}(\text{NO})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 99%)，氨水(NH_4OH , 25~28%)，柠檬酸，无水(99.5%)和过氧化氢(H_2O_2 , ≥30%)均购自于国药集团化学试剂有限公司。聚环氧乙烷-聚环氧丙烷-聚环氧乙烷三嵌段共聚物 P123 (≥99%)来自于华东理工大学。3-(丙烷-2,2-二基双(硫烷二基)二丙酸)(TK)购买于为华生物科技有限责任公司。2-(N-吗啡)乙磺酸(MES, ≥99%)购买于 Sigma-Aldrich。N-甲基丁二酰亚胺(>98.0%)购买于 aladdin。

2.2. 制备方法

2.2.1. CNPs 和 CNPs-NH₂ 制备

(1) CNPs 的制备:

采用水热法制备 CNPs [19]的方法如下:首先,将柠檬酸和六水合硝酸亚铈按照相同摩尔比溶解在去离子水中。然后,把过量的氨水溶液通过注射泵加入上述溶液中。接下来,在温度为 50℃的条件下,对混合后的溶液进行 24 h 的搅拌。上述反应结束后,继续将溶液在 80℃的条件下进行 24 小时的水热处理。反应完成后,向溶液中加入甲醇,以萃取出淡黄色沉淀,并进行离心,用甲醇洗涤沉淀三次。随后,在 37℃的条件下进行干燥。最终得到淡黄色的 CNPs 粉末。

(2) CNPs 表面氨基化过程:

将 CNPs 超声使其均匀分散在乙醇溶液中,接着滴加一定量的(3-氨丙基)三乙氧基硅烷溶液并搅拌反应 24 小时(常温下)。反应完成后,对溶液进行离心收集,并用乙醇洗涤两次。随后,将得到的产物进行干燥最终获得修饰氨基后的 CNPs-NH₂。

2.2.2. MBG、MBG-NH₂、MBG-TK 及 CNPs@MBG 粉体制备

(1) 介孔生物玻璃(MBG)的制备:

应用溶剂诱导挥发自组装(EISA)的方法来制备 MBG 粉体。首先,称取 60 克乙醇溶液,在该溶液中加入 4 克三嵌段共聚物(P123)使其完全溶解,然后依次加入 0.73 克磷酸三乙酯、6.7 克正硅酸四乙酯、1.4 克四水硝酸钙和 1.0 克 0.5M 盐酸,并在常温下搅拌 24 小时。待反应结束后,将该混合溶液静置一周以挥发诱导进行自组装从而使其形成干凝胶。接下来,取一定量干凝胶并将其用研钵进行研磨,随后把研磨后的样品置于马弗炉中并 1℃/min 的速率升温至 650℃进行煅烧以除去结构导向剂。经煅烧处理后,将样品置入球磨机进行球磨最终得到 MBG 粉体。

(2) MBG 的表面化学修饰:

把装有 150 mL 乙醇的三口烧瓶置于油浴锅中并取一定量的 MBG 粉末使其均匀分散。随后将油浴锅升温至 80°C 时, 逐滴加入一定量的 APTES 并且回流 24 h, 将回流后的混合溶液进行离心从而获取白色沉淀并用乙醇洗涤三次, 随后在 37°C 下干燥。即得到修饰氨基后的 MBG-NH₂。

利用碳二亚胺法[20] [21]进行 TK 的接枝。在进行该反应之前先制备(MES)缓冲溶液(c = 0.1 M, pH = 5.5)以备用。将 4.875 g MES (0.022 mol)溶解于 200 mL 的 DIW 中, 逐滴加入 1 M 的 NaOH 溶液调节 pH 至 5.5, 用 DIW 定容至 250 mL, 4°C 下保存。为了避免 TK 两端的羧基环状接枝在 MBG 表面, 决定加入与上述 APTES 等摩尔量的反应物 TK。将 TK 溶解在 20 mL MES 缓冲液中, 加入一定比例的 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDC)和 N-羟基丁二酰亚胺(NHS), 缓慢避光缓慢搅拌 15 min (室温), 随后将氨基化后的 MBG 分散在其中, 避光反应 12 h, 反应完毕后离心并用 DIW 洗涤三次置于 37°C 下干燥, 得到表面接枝 TK 的生物玻璃。

(3) CNPs@MBG 的制备:

将 2 g 的 MBG-TK 粉体通过超声的手段均匀的分散在一定量的 MES 缓冲液中, 之后加入一定的比例的 EDC/NHS 活化剂, 随后在避光的条件下缓慢搅拌 15 min。同时, 分别向一定体积 MES 缓冲液中加入不同质量的 CNPs-NH₂ 粉末并且超声分散。然后将超声后不同浓度的 CNPs-NH₂ 溶液分别加入活化后的 MBG-TK 溶液中(具体混合比例见表 1), 在常温下反应 12 h, 反应过程中需要全程避光处理。最后离心并用去离子水洗涤。通过干燥的手段得到表面锚定不同质量的 CNPs 的 MBG 粉体。

Table 1. Mixing ratios of anchored CNPs with different quality and MBG-TK

表 1. 锚定不同质量的 CNPs 与 MBG-TK 的混合比例

MBG-TK 质量(g)	CNPs-NH ₂ 质量(g)	产物名称
2	0.5	1CNPs@MBG
2	1	2CNPs@MBG
2	1.5	3CNPs@MBG

2.3. 材料的表征

利用 X-射线衍射仪(XRD, Bruker D8 ADVANCE)对纳米颗粒以及相关粉体进行物相分析; 利用傅里叶红外光谱仪(FTIR, SPECTRUM 100)对纳米颗粒以及相关粉体进行化学键和基团的分析; 利用 Micromeritics Tristar 3020 型比表面积仪测试纳米颗粒以及 MBG 粉体在修饰及锚定前后的 N₂ 吸附-脱附曲线; 利用 Zetasizer 仪器(Malvern)测定纳米颗粒的表面电位和动态光散射粒径; 利用场发射透射电子显微镜(HRTEM, FEI TF20/2100F)观察纳米颗粒以及相关粉体微观形貌。

Table 2. Proportion of matrix solution and nanoparticles to be tested

表 2. 基体溶液与待测试纳米粒子的比例

100 mM H ₂ O ₂ ^① (ml)	CNPs 纳米粒子 ^② (mg)
5	0
5	8.5
5	25.5
5	42.5

CNPs 类 CAT 酶活性表征:

由于氧化铈颗粒分散在过氧化氢溶液中呈现出黄褐色, 影响到过氧化氢在 240 nm 处的紫外吸收。另外过氧化氢酶具有分解 H₂O₂ 产生氧气的的能力, 所以采用测试溶液中溶解氧的含量变化来分析 CNPs 的类

CAT 的活性。首先将 10 mL DIW 加入 0.102 mL 浓度为 30% 过氧化氢中配置成 100 mM 的 H_2O_2 作为基体溶液并按照表 2 中比例以及顺序将不同溶液加入溶氧仪中进行 CNPs 的 CAT 酶活性测试。此后, 每 10 min 利用溶解氧测试仪测定溶液中氧浓度, 以此来分析 CNPs 的类 CAT 活性。

3. 结果与讨论

3.1. CNPs 理化性能的分析

图 1(a) 为 CNPs 的 TEM 图。从图 1(a) 中可以看出, CNPs 的颗粒形状呈现出尺寸均匀的球形且分散性良好。这得益于选择的制备方法为水热法并且选用了柠檬酸作为颗粒生长抑制剂。从图 1(b) 的高分辨率图片可以看出 CNPs 的晶格条纹清晰, 颗粒尺寸大小在 4 nm 左右, 晶面间距为 0.201 nm, 对比其晶格常数判断为 (2 2 0) 晶面。与此同时, 对修饰前后的 CNPs 进行动态光散射粒径(DLS)分析(图 1(c)~(d))。其中 PDI 值代表了粒子粒径的均匀程度。如图 1(c), 修饰前的 CNPs 平均粒径在 3.74 nm 左右, 进一步证实了 TEM 的结果, PDI = 0.213, 这与 TEM 结果相似。氨基修饰后 CNPs 平均粒径为 5.92 nm, 尺寸分布窄, 但部分颗粒发生轻微团聚现象, PDI = 0.545 有所上升(如图 1(d))。

在 XRD 图谱(图 2(a))中, 通过与 CeO_2 的标准 PDF 卡片(JCPDS card 43-1002)进行比较, 结果发现样品的 XRD 图谱的特征峰呈现出衍射峰宽化的模式, 通过谢乐公式 $D = K\lambda/B\cos\theta$ (D-晶粒尺寸, B-半峰宽) 模拟计算得晶粒尺寸为 4.10 nm, 与 TEM 的统计结果呈现出一致性, 且表面修饰后的 CNPs- NH_2 颗粒物相没有发生变化。对制备出的 CNPs 随后又进行 XPS 分析, 结果显示(图 2(b))初始 CNPs 中 Ce^{3+} 价态与 Ce^{4+} 价态共存, 其中 Ce^{4+} 占比较高为 52.20%, 另外 CeO_x 中 $x = 1.76$ 说明 CNPs 晶格中存在氧空位。

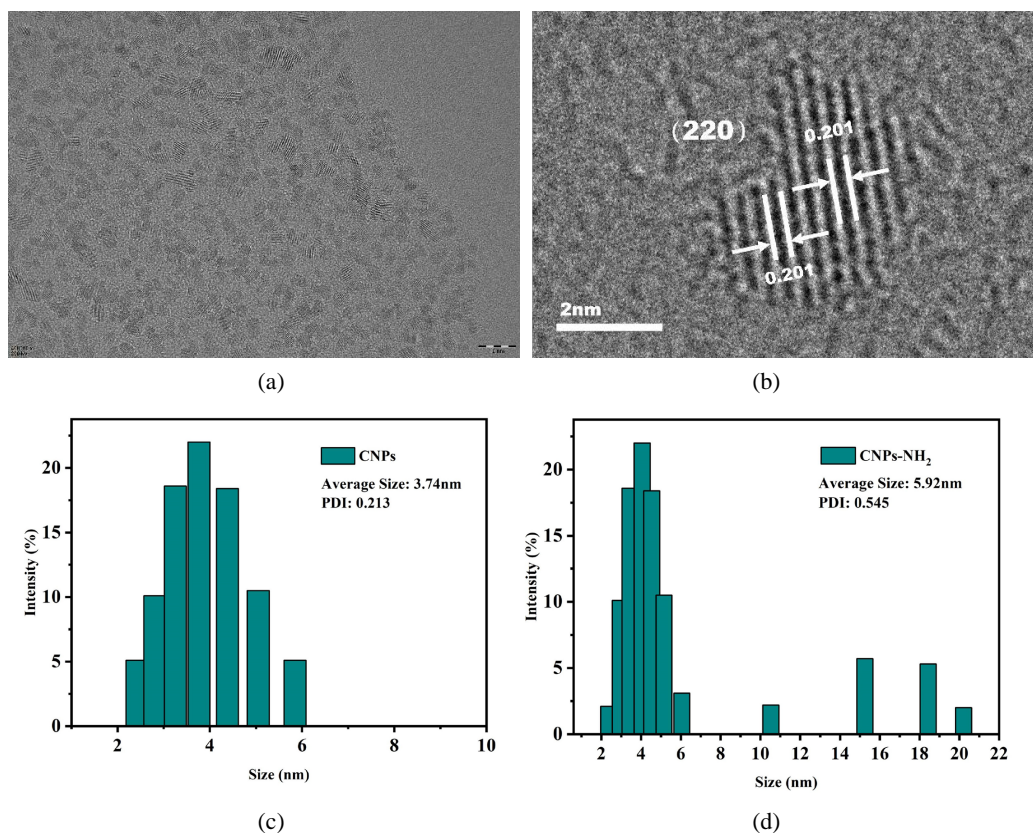


Figure 1. (a) (b) TEM images of CNPs and (c) (d) particle size profiles before and after modification
图 1. CNPs 的(a) (b)TEM 图和(c) (d)修饰前后粒径分布图

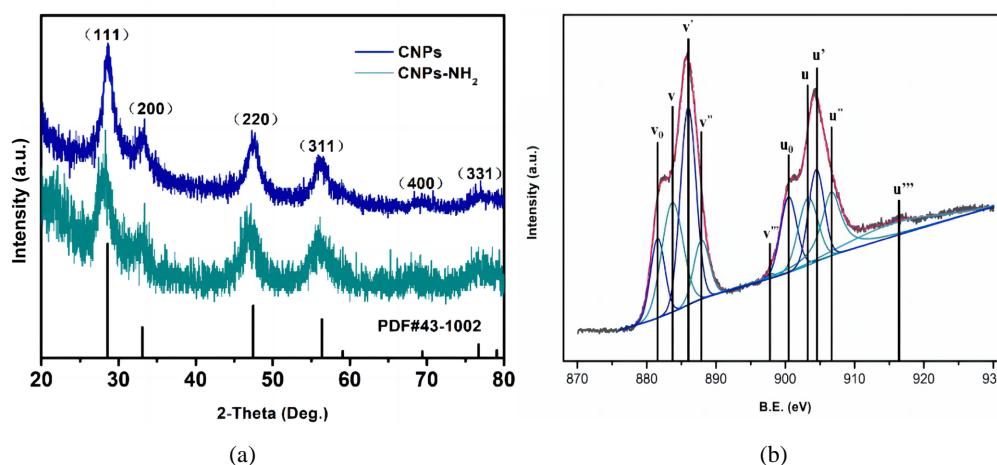


Figure 2. (a) XRD spectra of CNPs before and after modification; (b) XPS graph (Ce3d) of unmodified CNPs
图 2. CNPs (a) 修饰前后的 XRD 谱图; (b) 未经修饰 CNPs 的 XPS 图(Ce3d)

3.2. CNPs 的类 CAT 酶活性研究

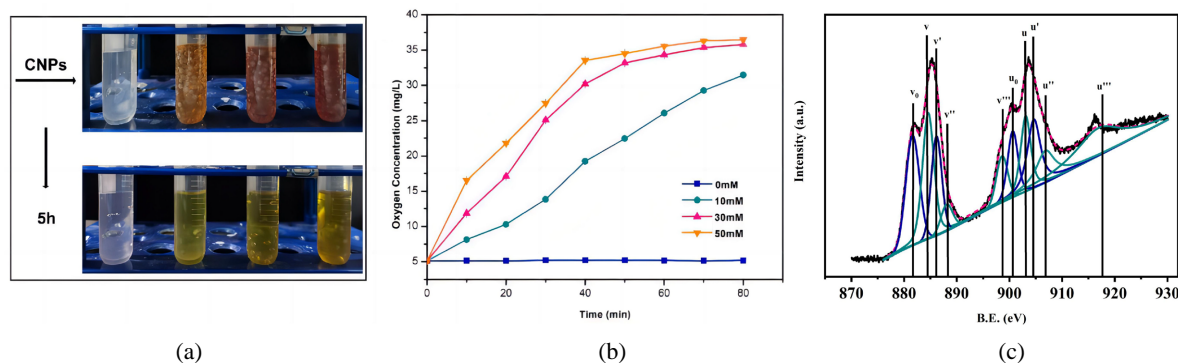


Figure 3. Characterization of CNPs as CAT-like Activity: (a) optical images of particles immersed in H_2O_2 solution; (b) curve of oxygen release from degradation of H_2O_2 ; (c) XPS graph (Ce3d) of unmodified CNPs after reaction with H_2O_2
图 3. CNPs 类 CAT 活性表征: (a)颗粒浸入 H_2O_2 溶液的光学照片; (b)降解 H_2O_2 释放氧气曲线; (c)未经修饰的 CNPs 与 H_2O_2 反应后的 XPS 图(Ce3d)

晶粒尺寸对于 CNPs 的催化活性也有所影响,正是由于晶粒尺寸降低从而致使晶格结构内出现氧空位,因而让 Ce^{3+} 与 Ce^{4+} 得以共存赋予了其类 CAT 活性。其催化原理如下反应式所示: $2Ce^{4+} + H_2O_2 \rightleftharpoons 2Ce^{3+} + 2H^+ + O_2$ [12], 如图 3(a)所示, 首先向 100 mM H_2O_2 溶液中加入不同浓度 CNPs, 结果发现反应溶液的颜色由浅逐步变深, 这是由于 Ce^{3+} 溶液为无色而 Ce^{4+} 溶液呈橙黄色, 由此证明该反应可以逆向进行。并且溶液在 5 h 后颜色变浅, 这进一步的说明了随着反应进行, Ce^{4+} 逐渐转变为 Ce^{3+} 。结果表明, 该反应属于可逆反应并且酶的催化活性具有重复性。在实验过程中, 发现各组溶液中均出现大量气泡, 对其进行了溶解氧测试, 结果如图 3(b)所示, 空白组溶液(未添加 CNPs)中溶解氧含量维持在 5 mg/mL 左右, 而其他含有不同浓度 CNPs 的组(CNPs = 10, 20, 30 mM)溶解氧浓度分别达到了 31.47 ± 0.15 , 25.8 ± 0.26 , 36.47 ± 0.15 mg/L。结果证明 CNPs 具有良好的抗 H_2O_2 活性。

随后为了验证其催化反应过程中的价态变化,对 CNPs 样品又进行了催化 H_2O_2 反应后的 XPS 分析如图 3(c)所示。计算后的结果如表 3 所示。

可以看出, 在催化 H_2O_2 分解后发现, Ce^{4+} 价态占比从 52.2%降低至 28.15%, x 下降至 1.64, 这说明

催化 H_2O_2 分解过程中引起了氧空位的增加并且导致了 Ce^{4+} 向 Ce^{3+} 的转化, 进一步证实了催化反应过程。综上分析, 可见 CNPs 具有可以通过可逆的结合氧, 使得 Ce^{4+} 与 Ce^{3+} 之间可以相互转化, 具有氧化还原循环态, 可以有效 H_2O_2 分解, 与此同时产生氧气。

Table 3. Changes of valence state and oxygen vacancy before and after CNPs catalytic decomposition of H_2O_2
表 3. CNPs 催化分解 H_2O_2 前后的价态及氧空位变化

	[Ce ³⁺] (%)	[Ce ⁴⁺] (%)	CeO _x , x
催化反应前	47.80	52.20	1.76
催化反应后	71.85	28.15	1.64

3.3. MBG 表面修饰及 CNPs 锚定后的结果分析

从图 4(a) XRD 图谱中, 可以观察到 MBG 粉体在 $2\theta = 22^\circ$ 处仅呈现馒头状衍射宽峰, 表明其为非结晶玻璃态[22]。孔道表面化学接枝反应并未影响其玻璃物相构成。而在锚定 CNPs 后, 图谱以 CeO_2 的特征峰(JCPDS card 43-1002)显现出来。由于 CNPs@MBG 并非简单的单晶结构而是一种无定形和众多小晶粒组成的复合体系, 因此 CeO_2 晶体衍射峰的强度[23] [24]基本可以看作是纳米粒子含量的定量分析的指标。由此正如图 4(a) 中 CeO_2 特征峰中 $2\theta = 28^\circ$ 处, 随着 CNPs 的含量增加, 其衍射峰强度增强。

通过对 MBG 修饰及 CNPs 锚定前后进行 FT-IR 光谱分析(如图 4(b)所示), 发现整个过程中都存在一些特定的吸收峰, 这些峰来自 MBG 并且在修饰过程中并没有发生改变。这些峰包括波长 613 cm^{-1} 处的 P-O 键的伸缩振动吸收峰, 波长 1112 和 797 cm^{-1} 处的 Si-O-Si 基团的伸缩振动吸收峰, 以及波长 3490 、 1625 和 1376 cm^{-1} 处的 -OH 基团的弯曲振动吸收峰。此外, 在 MBG 表面修饰氨基后, 在波长 1503 cm^{-1} 处出现了 -NH₂ 基团的弯曲振动吸收峰, 证明了 MBG 被成功的氨基化。在化学接枝 TK 以及被 CNPs 覆盖后, -CH₃ 基团的不对称伸缩振动吸收峰出现在了波长 2875 cm^{-1} 处, 而在波长 1680 cm^{-1} 处有酰胺键中 C = O 键的面外弯曲振动吸收峰。此外, 波长 1560 和 1402 cm^{-1} 处的振动峰则来自 MBG 表面 CNPs 的 -COOH 基团伸缩振动吸收峰。

Zeta 电位测试结果进一步证实了表面化学基团的变化。结果如图 4(c), 整个枝接的过程可与电负性的变化一一对应。众所周知, 纯 MBG 的表面存在丰富的 Si-OH, 其表面电位值为 $-4.63 \pm 0.39\text{ mV}$ 。由于 -NH₂ 具有正电性, 所以在氨基功能化后使得表面电位升至 $+27.33 \pm 2.05\text{ mV}$ 。对于 TK 而言, 其两端带有 -COOH 基团, 一端与 -NH₂ 结合, 另一端暴露在粉体表面从而进一步使得电位值显著下降至 $-17.67 \pm 2.05\text{ mV}$ 。最后随着 CNPs 在 MBG 表面的覆盖, 电位有所上升, 但由于 CNPs 表面存在羟基基团, 因此电位依然为负值。

从图 4(d1)中可以看出, MBG 粉体的 N₂ 吸脱附曲线和孔径分布曲线显示出典型的 IV 型等温线, 这表明粉体具有多孔结构。由于介孔孔道相关的毛细管缩聚作用产生了 H1 型滞后环, 曲线在 $P/P_0 = 0.4\sim 0.8$ 之间有明显突跳, 这表明粉体具有介孔孔道, 即介孔结构。利用 BET 中的模型对 MBG 粉体比表面积进行计算, 结果显示, 比表面积从 $199.23\text{ m}^2/\text{g}$ 逐渐下降为 $82.45\text{ m}^2/\text{g}$ 。孔容也随修饰在 $0.32\sim 0.15\text{ cm}^3/\text{g}$ 范围内呈下降趋势, 平均孔径也从 4.23 nm 减小到 3.62 nm 左右。产生这种现象的原因是由于接枝分子占据中孔内部空间从而导致了一系列的变化。

从图 4(d2)中可以看出, CNPs 锚定后的粉体 N₂ 吸脱附曲线和孔径分布曲线发生了变化。IV 型等温线并没有出现明显的饱和和吸附平台, 回滞环转变为 H4 型回滞环, 这表明孔结构变得不规整。这种不规整的孔结构可能是由于 CNPs 在 MBG 表面的覆盖形成了狭缝孔和原有的介孔混合存在导致的。另外, 随着 CNPs 锚定量增加, 粉体的比表面积和孔容逐渐下降, 这表明锚定过程对粉体的孔结构产生了影响。

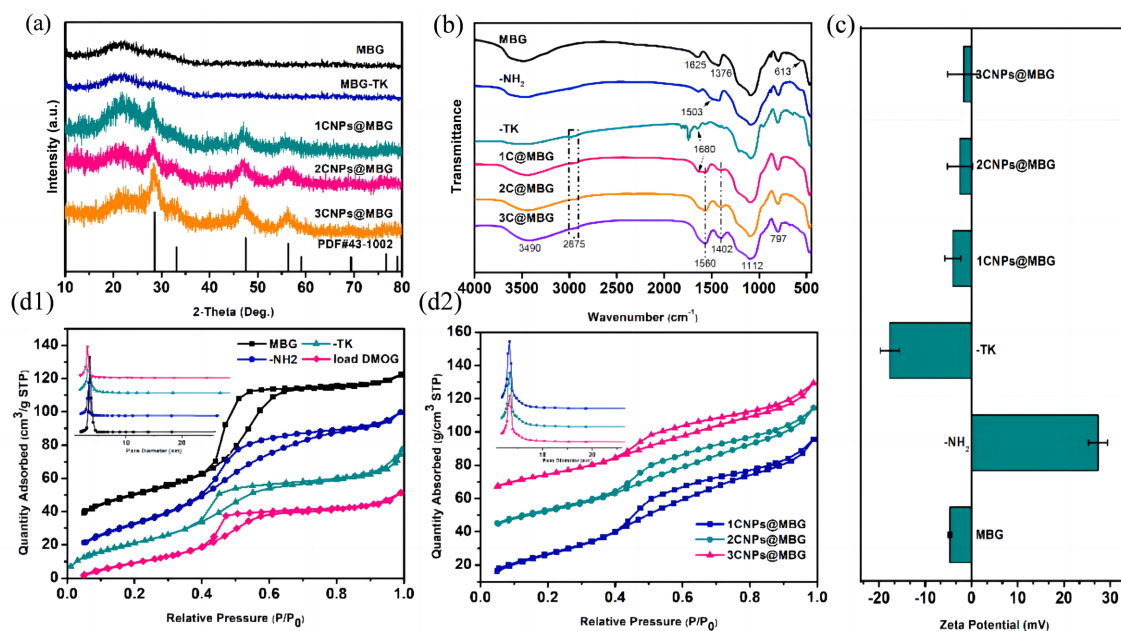
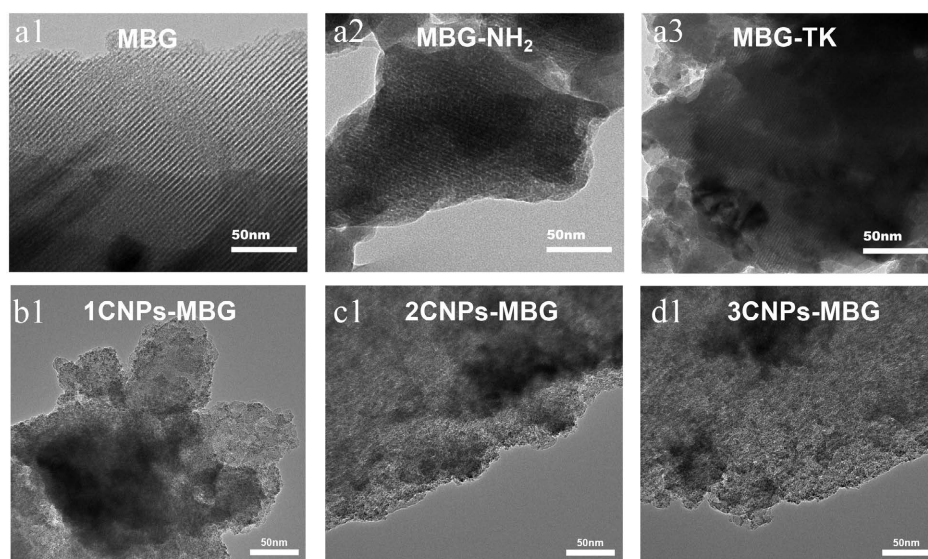


Figure 4. MBG modification and anchoring reaction: (a) XRD patterns; (b) FT-IR spectra; (c) Zeta potential changes; (d1) N_2 adsorption-desorption isotherms and particle size distribution before and after modification; (d2) N_2 adsorption-desorption isotherms and particle size distribution before and after anchoring reaction

图 4. MBG 修饰及锚定反应前后的(a) XRD 图谱; (b) FT-IR 图谱; (c) Zeta 变化; (d1) 修饰前后的 N_2 吸脱附等温线和粒径分布; (d2) 锚定反应前后 N_2 吸脱附等温线和粒径分布

从图 5(a1)~(a3)可以观察到, MBG 的介孔孔道呈现出有序平行的结构(P6 mm), 经过修饰和化学接枝后, 成功保留了介孔结构。然而, 化学修饰后孔道内部出现阴影, 衬度差异明显, 孔道尺寸显著减小, 这与之前通过解吸数据和 BJH 模型计算得到的结果一致。从图 5(b1)~(d1)可以清楚地看出, MBG 表面被明显的覆盖层所包裹, 导致介孔孔道变得模糊, 形成了狭缝孔, 这与图 5(d2)中 N_2 吸脱附曲线的结果相吻合。通过高分辨率观察(图 5(b2)~(d3)), 可以看到各组 MBG 表面均匀分布着 CNPs, 颗粒尺寸与锚定反应前相比没有明显变化, 并且晶格条纹清晰可见。



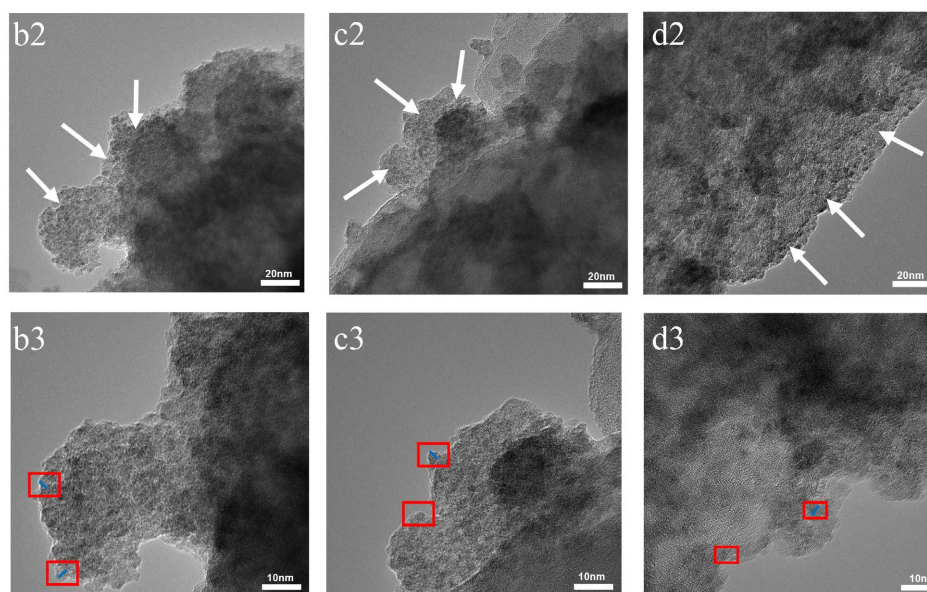


Figure 5. TEM images of MBG modification and anchoring reactions with different concentrations of CNPs: (a1~a3) MBG, MBG-NH₂, MBG-TK; (b1~b3) 1CNPs@MBG; (c1~c3) 2CNPs@MBG; (d1~d3) 3CNPs@MBG

图 5. MBG 修饰及在不同浓度 CNPs 锚定反应前后的 TEM 图: (a1~a3) MBG, MBG-NH₂, MBG-TK; (b1~b3) 1CNPs@MBG; (c1~c3) 2CNPs@MBG; (d1~d3) 3CNPs@MBG

4. 结论

经过水热法处理, 使用 $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 作为铈源, 柠檬酸作为晶粒生长抑制剂, 成功制备了粒径在 4 nm 左右的纳米氧化铈颗粒, 该纳米颗粒具有优良的分散性和类抗氧化酶的活性, 并对其进行了氨基功能化处理。此外, 利用 EISA 法成功制备了 MBG。其具有高比表面积、有序的孔道内部结构。通过碳二亚胺法将 TK 成功接枝在其表面, 并将不同含量的 CNPs 成功锚定在了 MBG 表面。通过将 CNPs 锚定在 MBG 表面, 使得这些复合粉末材料具有了一定的抗氧化性能, 这在骨组织工程研究中具有重要意义。这一成果为开发具有优异抗氧化性能的生物材料提供了新的思路。

参考文献

- [1] Lee, D.H., Lim, B.S., Lee, Y.K., *et al.* (2006) Effects of Hydrogen Peroxide (H_2O_2) on Alkaline Phosphatase Activity and Matrix Mineralization of Odontoblast and Osteoblast Cell Lines. *Cell Biology and Toxicology*, **22**, 39-46. <https://doi.org/10.1007/s10565-006-0018-z>
- [2] Dulany, K., Hepburn, K., Goins, A., *et al.* (2020) *In Vitro* and *in Vivo* Biocompatibility Assessment of Free Radical Scavenging Nanocomposite Scaffolds for Bone Tissue Regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **108**, 301-315. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36816>
- [3] Lv, G., Yan, C., Sun, L., *et al.* (2013) The Application of Nanoceria in the Bio-Antioxidation. *Scientia Sinica Chimica*, **43**, 1309-1321. <https://doi.org/10.1360/032012-536>
- [4] Roy, W., Tarnuzzer, J.C., Swanand, P. and Sudipta, S. (2005) Vacancy Engineered Ceria Nanostructures for Protection from Radiation-Induced Cellular Damage. *Nano Letters*, **5**, 2573-2577. <https://doi.org/10.1021/nl052024f>
- [5] Hirst, S.M., Karakoti, A.S., Tyler, R.D., *et al.* (2009) Anti-Inflammatory Properties of Cerium Oxide Nanoparticles. *Small*, **5**, 2848-2856. <https://doi.org/10.1002/smll.200901048>
- [6] Celardo, I., Pedersen, J.Z., Traversa, E., *et al.* (2011) Pharmacological Potential of Cerium Oxide Nanoparticles. *Nanoscale*, **3**, 1411-1420. <https://doi.org/10.1039/c0nr00875c>
- [7] Li, M., Shi, P., Xu, C., *et al.* (2013) Cerium Oxide Caged Metal Chelator: Anti-Aggregation and Anti-Oxidation Integrated H_2O_2 -Responsive Controlled Drug Release for Potential Alzheimer's Disease Treatment. *Chemical Science*, **4**,

- 2536-2542. <https://doi.org/10.1039/c3sc50697e>
- [8] Vassie, J.A., Whitelock, J.M. and Lord, M.S. (2018) Targeted Delivery and Redox Activity of Folic Acid-Functionalized Nanoceria in Tumor Cells. *Molecular Pharmaceutics*, **15**, 994-1004. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00920>
- [9] Xu, C., Lin, Y., Wang, J., *et al.* (2013) Nanoceria-Triggered Synergetic Drug Release Based on CeO₂-Capped Mesoporous Silica Host-Guest Interactions and Switchable Enzymatic Activity and Cellular Effects of CeO₂. *Advanced Healthcare Materials*, **2**, 1591-1599. <https://doi.org/10.1002/adhm.201200464>
- [10] Karakoti, A.S., Tsigkou, O., Yue, S., *et al.* (2010) Rare Earth Oxides as Nanoadditives in 3-D Nanocomposite Scaffolds for Bone Regeneration. *Journal of Materials Chemistry*, **20**, 8912-8919. <https://doi.org/10.1039/c0jm01072c>
- [11] Mandoli, C., Pagliari, F., Pagliari, S., *et al.* (2010) Stem Cell Aligned Growth Induced by CeO₂ Nanoparticles in PLGA Scaffolds with Improved Bioactivity for Regenerative Medicine. *Advanced Functional Materials*, **20**, 1617-1624. <https://doi.org/10.1002/adfm.200902363>
- [12] Zhang, M., Zhang, C., Zhai, X., *et al.* (2019) Antibacterial Mechanism and Activity of Cerium Oxide Nanoparticles. *Science China Materials*, **62**, 1727-1739. <https://doi.org/10.1007/s40843-019-9471-7>
- [13] Nicolini, V., Malavasi, G., Lusvardi, G., *et al.* (2019) Mesoporous Bioactive Glasses Doped with Cerium: Investigation over Enzymatic-Like Mimetic Activities and Bioactivity. *Ceramics International*, **45**, 20910-20920. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.07.080>
- [14] Perez, J.M., Asati, A., Nath, S., *et al.* (2008) Synthesis of Biocompatible Dextran-Coated Nanoceria with PH-Dependent Antioxidant Properties. *Small*, **4**, 552-556. <https://doi.org/10.1002/smll.200700824>
- [15] Wang, Z., Shen, X., Gao, X., *et al.* (2019) Simultaneous Enzyme Mimicking and Chemical Reduction Mechanisms for Nanoceria as a Bio-Antioxidant: A Catalytic Model Bridging Computations and Experiments for Nanozymes. *Nanoscale*, **11**, 13289-13299. <https://doi.org/10.1039/C9NR03473K>
- [16] Charbgoon, F., Ahmad, M. and Darroudi, M. (2017) Cerium Oxide Nanoparticles: Green Synthesis and Biological Applications. *International Journal of Nanomedicine*, **12**, 1401-1413. <https://doi.org/10.2147/IJN.S124855>
- [17] Zheng, Q., Fang, Y., Zeng, L., *et al.* (2019) Cytocompatible Cerium Oxide-Mediated Antioxidative Stress in Inhibiting Ocular Inflammation-Associated Corneal Neovascularization. *Journal of Materials Chemistry B*, **7**, 6759-6769. <https://doi.org/10.1039/C9TB01066A>
- [18] Koons, G.L., Diba, M. and Mikos, A.G. (2020) Materials Design for Bone-Tissue Engineering. *Nature Reviews Materials*, **5**, 584-603. <https://doi.org/10.1038/s41578-020-0204-2>
- [19] Masui, T., Hirai, H., Imanaka, N., *et al.* (2002) Synthesis of Cerium Oxide Nanoparticles by Hydrothermal Crystallization with Citric Acid. *Journal of Materials Science Letters*, **21**, 489-491. <https://doi.org/10.1023/A:1015342925372>
- [20] Guo, J., Gao, X., Su, L., *et al.* (2011) Aptamer-Functionalized PEG-PLGA Nanoparticles for Enhanced Anti-Glioma Drug Delivery. *Biomaterials*, **32**, 8010-8020. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.07.004>
- [21] Yang, Y., Yang, S., Wang, Y., *et al.* (2016) Anti-Infective Efficacy, Cytocompatibility and Biocompatibility of a 3D-Printed Osteoconductive Composite Scaffold Functionalized with Quaternized Chitosan. *Acta Biomaterialia*, **46**, 112-128. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.09.035>
- [22] Shuai, C., Xu, Y., Feng, P., *et al.* (2019) Antibacterial Polymer Scaffold Based on Mesoporous Bioactive Glass Loaded with *in Situ* Grown Silver. *Chemical Engineering Journal*, **374**, 304-315. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.03.273>
- [23] Hill, R.J. and Howard, C.J. (1987) Quantitative Phase Analysis from Neutron Powder Diffraction Data Using the Rietveld Method. *Journal of Applied Crystallography*, **20**, 467-474. <https://doi.org/10.1107/S0021889887086199>
- [24] Bish, D.L. and Howard, S.A. (1988) Quantitative Phase Analysis Using the Rietveld Method. *Journal of Applied Crystallography*, **21**, 86-91. <https://doi.org/10.1107/S0021889887009415>