复 合 材 料 学 报　　第24 卷　第6 期　12 月　2007 年
Acta Materiae Compositae Sinica　　Vol. 24　No. 6　December　2007

文章编号: 1000-3851(2007)06-0100-05

β-偏磷酸钙晶须增强左旋聚乳酸材料的体外降解

陈　琳[1,2]，廖　立[1]，康云清[1]，尹光福[*1]

(1. 四川大学 材料科学与工程学院，成都 610064；2. 四川理工学院 材料与化学工程系，自贡 643000)

摘　要: 对用于骨折内固定的β-偏磷酸钙晶须/左旋聚乳酸(β-CMP_w/PLLA)复合材料在体外降解过程中强度的变化、分子量和微观形貌进行了初步研究。结果表明: 在人体模拟体液(SBF)中浸泡，前8 周材料的强度变化较小，25 wt%β-CMP_w/75 wt%PLLA 降解20 周后的抗压强度值仍高达103 MPa；45 wt%β-CMP_w/55 wt%PLLA 降解12 周后抗压强度约为初始值的88%。扫描电镜图表明，随降解时间的延长，因聚乳酸溶解而在样品中形成孔洞。在降解周期内，SBF 溶液的pH 值随β-CMP_w/PLLA 降解时间的延长基本保持稳定。凝胶渗透色谱检测结果表明，PLLA 的数均相对分子质量和重均相对分子质量随降解时间的延长而降低，降解20 周后数均相对分子质量约为20 万，重均相对分子质量下降了32%。

关键词: 偏磷酸钙；晶须；聚乳酸；复合材料；体外降解

中图分类号: TB332　　**文献标志码**: A

In vitro degradation behavior of β-calcium metaphosphate whiskers/poly L-lactide composite

CHEN Lin[1,2], LIAO Li[1], KANG Yunqing[1], YIN Guangfu[*1]

(1. College of Materials Science and Engineering, Sichuan University, Chengdu 610064, China; 2. Department of Materials and Chemical Engineering, Sichuan University of Science and Engineering, Zigong 643000, China)

Abstract: The strength, molecular weight and morphology of β-calcium metaphosphate whiskers/poly L-lactide composites (β-CMP_w/PLLA) for internal fixation of bone fractures were measured after degradation in the simulated body fluid. The results indicate that the compress strength of the composites can maintain in 8 weeks. The strength of 25 wt%β-CMP_w/75 wt%PLLA maintains at 103 MPa in 20 weeks, and the strength of 45 wt%β-CMP_w/55 wt%PLLA drops to approximately 88% of the initial value in 12 weeks. The scanning electron microscope (SEM) images show that PLLA disappears increasingly and a few pores are formed on the rods surface of the samples. The pH value of the simulated body fluid can keep stabilization during degradation. Gel permeation chromatography (GPC) patterns show that the molecular weight of PLLA significantly decreases with the immersion time. The number-average molecular weight is about 200000 and the weight-average drops 32% after degradation for 20 weeks.

Keywords: calcium metaphosphate; whiskers; poly L-lactide; composites; degradation in vitro

由高分子聚合物制备的人体可吸收骨折内固定材料已被广泛应用，其优越性在于: 能在体内降解，无需二次手术取出；使用生物可降解材料可以避免应力遮挡所产生的骨萎缩[1-2]。其中，聚乳酸应用较频繁，因为人们认为它对人体无毒无害，具有比较适宜的降解速度，从而与组织之间的相互作用减缓[3]。但是，自增强的聚乳酸材料降解后力学强度不够。如已报道的聚醇酸/聚乳酸(PGA/PLA)在37 ℃蒸馏水中降解4 周后，抗弯强度降为初始值的10% 以下[4]；甲壳素纤维增强聚乳酸在37 ℃乳酸钠林格组织液中浸泡16 周后，弯曲强度下降至31.42 MPa[5]。常选用具有生物活性的玻璃陶瓷与聚乳酸复合制备骨折内固定材料。Taizo Furukawa 等研究了种植在皮下组织中的羟基磷灰石/左旋聚乳酸(HA/PLLA)棒的强度变化，降解8 周时强度为初始值的85%[6]。

偏磷酸钙(CMP)具有良好的生物相容性和生物安全性，因此它作为生物玻璃陶瓷引起了广泛的

收稿日期: 2007-01-24；收修改稿日期: 2007-06-18
基金项目: 国家"863"高技术项目(2002AA326080)；教育部优秀青年教师教学科研奖励基金资助课题(2002123)
通讯作者: 尹光福，教授，主要从事生物医学材料的研究　E-mail: nic0700@scu.edu.cn

研究[7-10]。同时，偏磷酸钙具有较高的力学强度，但同其它磷酸钙系生物玻璃一样具有高脆性的缺点，难以单独作为一种生物材料应用于人体，所以，常同高聚物复合用于骨组织工程材料[11]。

本文中采用自制的β-偏磷酸钙晶须增强左旋聚乳酸(βCMPw/PLLA)，研究了该复合材料在人体模拟体液中的降解行为。

1　实验过程

1.1　βCMPw晶须和βCMPw/PLLA材料的制备

将分析纯级的$CaCO_3$、$Ca(H_2PO_4)_2$、H_3PO_4按一定的钙磷比在刚玉坩埚中混合均匀后放入箱式电炉中，在1200 ℃下保温1 h，然后把熔融物迅速投入到去离子水中淬冷得到玻璃体。将收集到的玻璃置于电阻炉中于731 ℃下热处理48 h后研磨成粉末。用40 ℃0.1 mol/L的NaOH溶液浸泡粒径为50～76 μm的粉末36 h，取出后用去离子水冲洗、干燥后制得β-偏磷酸钙晶须。

将βCMPw以质量百分比25%和45%与PLLA(成都迪康药业公司提供，M_w=61.17万)混合均匀后装入模具，加热到50 ℃时取出模具，在5 MPa下预压以排除材料中的部分气泡；继续加热至180 ℃保温5 min，然后在15 MPa下制成Φ8.10 mm×10.00 mm的25 wt%β-CMPw/75 wt%PLLA试样(以下简称25CP)和45 wt%β-CMPw/55 wt%PLLA试样(以下简称45CP)。

1.2　βCMPw/PLLA的体外降解实验

采用人体模拟体液(SBF)作降解实验溶液。所有原料均为分析纯，配制方法是：将7.995 g NaCl、0.353 g $NaHCO_3$、0.224 g KCl、0.228 g $K_2HPO_4\cdot 3H_2O$、0.305 g $MgCl_2\cdot 6H_2O$和0.071 g Na_2SO_4溶于350 mL高纯水中，用20 mL 1 mol/L的HCl溶液溶解6.118 g $(CH_2OH)_3CNH_2$后倒入上述溶液中，再在搅拌状态下倒入400 mL溶有0.277 g $CaCl_2$的溶液，最后用1 mol/L的HCl溶液调节溶液pH为7.4并定容至1000 mL。

将25CP和45CP试样浸泡在37 ℃的SBF溶液中2、4、8、12、16、20周，浸泡液每3天更换一次，恒温振荡器的振荡频率保持在22 r/min。提取25CP试样降解0、2、4、8、16周时的SBF溶液，测量其pH值。

1.3　检测方法

所得晶须和复合材料由JSM-5900LV型扫描电镜(日本电子公司)检测形貌。测试试样的抗压强度，试样尺寸为Φ8.10 mm×10.00 mm，测试方法按GB/T4740-1999进行。测试条件：温度25 ℃，湿度75%，跨度30 mm，加载速度2 mm/min。采用pHS-25型数显pH计测量SBF溶液的pH值。样品降解不同时间后PLLA的分子量(相对分子质量)可由配置有反射指示方向仪(Perkin-Elmer，LG-2)的凝胶渗透色谱仪(Perkin-Elmer，Series 10，Newton Centre，MA)测试。称取试样置入离心管内，完全溶解于四氢呋喃后高速离心，使β-CMPw沉于管底，取上层溶液以流速为1 mL/min穿过一个Phnogel保护柱(型号：22480，50 mm×7.8 mm，5 μm的粒径，Phenomeng，Torrance，CA)，用聚苯乙烯获得校对曲线的基准。PLLA的Mark-Houwink常数$K=5.45\times10^{-3}$ mL/g和$\alpha=0.73$被用来测定试样的相对分子质量。

2　结果与讨论

2.1　体外降解对βCMPw/PLLA抗压强度的影响

图1是25CP和45CP在体外降解不同时间的抗压强度曲线。从材料在人体模拟体液中降解的抗压强度变化可以看出，样品25CP和45CP的抗压强度值在降解的前8周内均下降不多。特别是25CP在实验周期内力学强度变化不大，20周时的抗压强度仍高达103 MPa，表明它在骨折愈合期间能够保持足够的强度，不至于因为材料坍塌而难以实现对骨折的有效固定。45CP的初始强度为

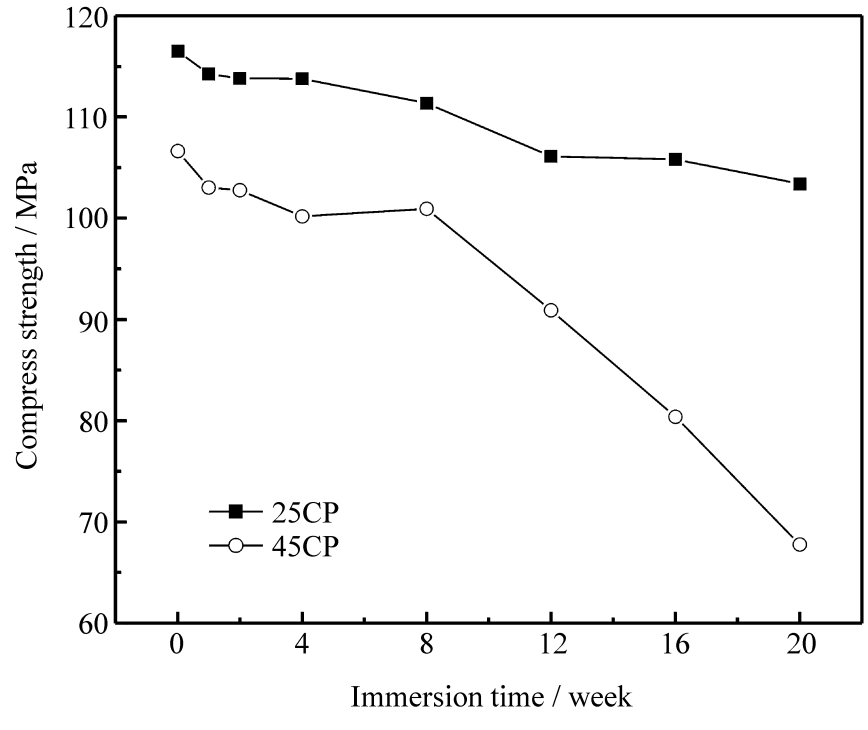


图1　体外降解对βCMPw/PLLA抗压强度的影响

Fig.1　Effects of degradation time on the compress strength of βCMPw/PLLA

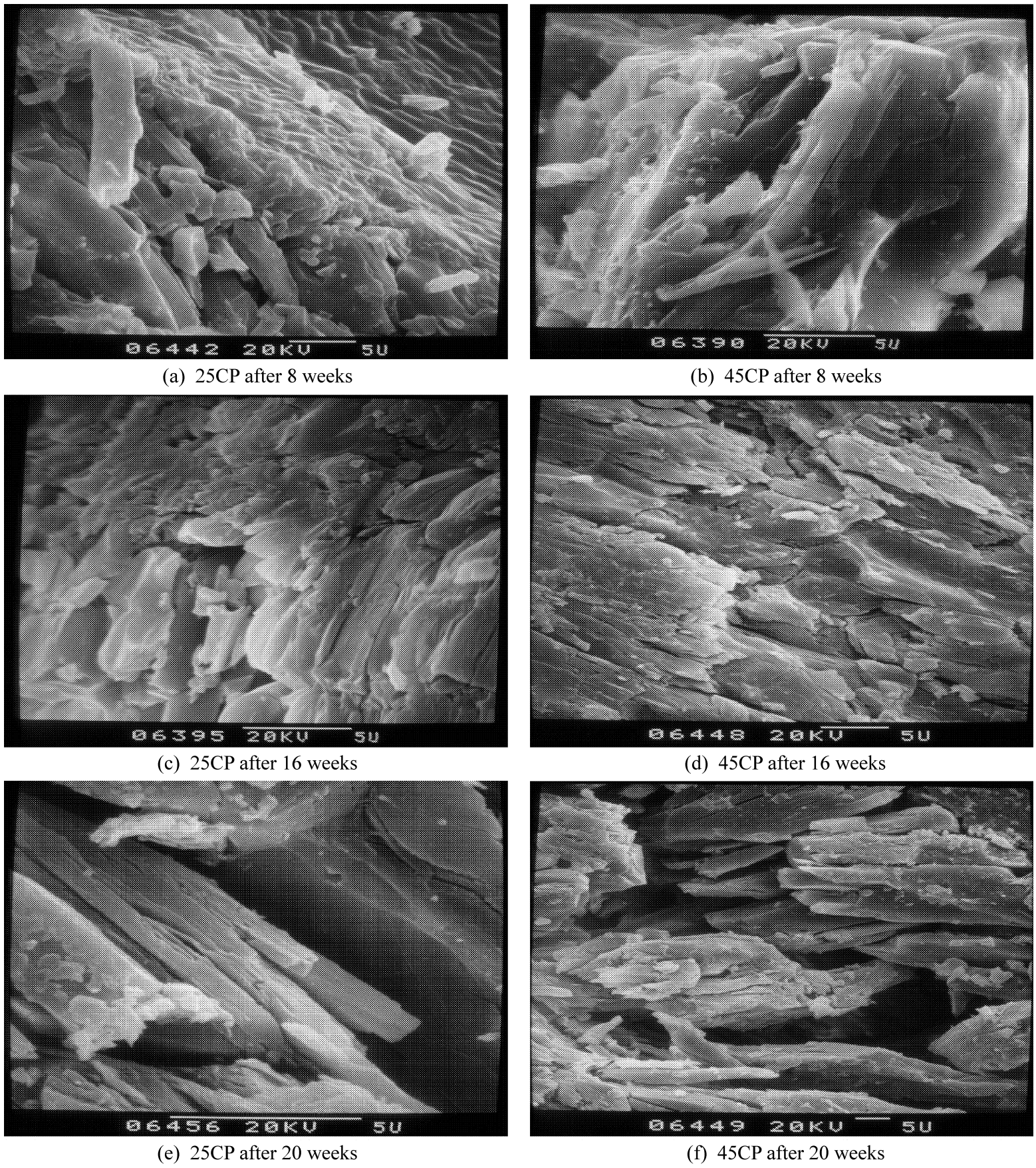
106 MPa, SBF 溶液浸泡12 周时抗压强度约为初始值的88 %, 但此后强度衰减加快, SBF 溶液浸泡16 周时45CP 样品的抗压强度已经下降到80 MPa。

2.2　体外降解对 β-CMP$_w$/PLLA 形貌的影响

图2(a)、2(b) 的扫描电镜照片表明经SBF 溶液浸泡8 周后, 材料边沿部分显示 β-CMP$_w$逐渐和聚乳酸分离。仔细观察降解16 周后25CP 和45CP 复合材料的SEM 照片(图2(c)、2(d)), 可以看到连续的PLLA 基体已经脱落, 剩下了条状的增强体骨架。随着浸泡时间增加, 降解20 周后2 种材料中均出现了孔洞。研究发现对于PGA/PLA 共聚物大尺寸的材料, 存在不均匀降解[12], 聚合物内部出现孔洞, 对此有人解释为加工过程中的皮层效应(Skin-effect) 所致[13]。β-CMP$_w$/PLLA 复合材料在人体模拟体液中降解后期, 由于大量聚乳酸溶解, 样品中形成了孔洞。对比浸泡20 周后25CP 和45CP 的SEM 照片(图2(e)、2(f)), 后者降解后形成了比前者更大的不均匀的孔洞, 与此对应的是在SBF 中浸泡20 周后45CP 的力学强度比25CP 小得多。

2.3　体外降解对 SBF 溶液 pH 值的影响

表1 是25CP 浸泡不同时间条件下SBF 溶液的pH 值。在降解过程中, SBF 溶液的pH 值随



(a) 25CP after 8 weeks　(b) 45CP after 8 weeks

(c) 25CP after 16 weeks　(d) 45CP after 16 weeks

(e) 25CP after 20 weeks　(f) 45CP after 20 weeks

图2　体外降解对 β-CMP$_w$/PLLA 形貌的影响

Fig.2　SEM micrographs of β-CMP$_w$/PLLA during degradation

β-CMP$_w$/PLLA 降解时间的延长基本保持稳定, 这对于材料的生物相容性是有利的。因为材料周围 pH 值在骨愈合期内稳定可以避免发生局部或全身副作用。pH 值在浸泡开始时下降是因为: 一方面 $Ca(PO_3)_2$ 在发生物理溶胀作用的同时, 与溶液中的离子产生化学反应形成磷酸, 引起SBF 的pH 值下降; 另一方面, PLLA 降解的自催化效应可以加速溶液酸化。吴岳恒等[14] 发现晶态偏磷酸钙有利于稳定浸泡液的酸度, 其pH 值明显高于非玻璃态样品, 致使降解速度降低。本研究中 β-CMP$_w$ 也起到了相似的作用, 即能在浸泡周期内有效地控制 SBF 溶液的pH 值, 这对于实现骨内固定材料的可调控降解性能提供了一种方法。

表1　降解时间对SBF 溶液pH 值的影响

Table 1　Effects of degradation time on pH value of SBF

Degradation time/ week	0	2	4	8	16
pH value	7.40	6.84	6.91	6.87	6.79

2.4　体外降解对PLLA 分子量的影响

实验所用左旋聚乳酸原料分子量约为61.17 万, 由于在180 ℃条件下模压成型, PLLA 发生热降解使样品的 M_w 下降至59 万。表2 给出PLLA 在SBF 溶液中降解不同时间后的分子量。

表2　降解时间对PLLA 分子量的影响

Table 2　Change of PLLA molecular weight during degradation

Sample	M_n/ $\times10^4$	M_w/ $\times10^4$
PLLA before degradation	50.080	58.925
25CP after 4 weeks	36.640	46.159
45CP after 8 weeks	24.362	43.842
PLLA after 16 weeks	25.868	43.212
25CP after 20 weeks	20.264	40.037
45CP after 20 weeks	19.322	38.570

降解4 周时PLLA 的分子量急剧下降, 而由图1 可知25CP 降解4 周时的强度接近于降解之前的值, 表明在 β-CMP$_w$/PLLA 的体外降解初期, PLLA 分子量的衰减并不直接影响材料的强度性能, 起支撑作用的仍然是β-CMP$_w$。

16 周时100 %PLLA 的 M_w 大约比未降解的PLLA 减少15.7 万, 相应的 M_n 也降低了近一半。说明在PLLA 的降解过程中高聚合度的网状分子链在人体模拟体液由于水解而断裂, 致使 M_n 和 M_w 大幅度降低。吴之中等[15] 的研究表明聚乳酸材料主要以3 种方式降解: (1) 主链降解生成低聚体和单体; (2) 侧链水解生成可溶性主链高分子; (3) 交联点裂解生成可溶性线性高分子。实验研究中, 测试了不同降解周期的试样质量, 发现材料的质量损失都很小, 这说明在降解过程中聚乳酸基本上是发生后2 种形式的降解, 几乎没有单体和低聚物形成, 这也是SBF 溶液的pH 值在降解周期内保持稳定的一个重要原因。随着45CP 的抗压强度在浸泡8 周后下降到初始值的95 %, 其 M_n 也相应下降了约50 %, M_w 为降解前的74 %。虽然25CP 降解20 周时数均分子量约为降解之前的40 %, 其 M_w 也下降了接近19 万, 但此时材料的抗压强度仍然保持在100 MPa 以上。认为当PLLA 的 M_n 和 M_w 分别保持在20 万和40 万以上时, β-CMP$_w$/PLLA 复合材料的强度基本可以达到骨折内固定材料的使用要求。

降解8 周的45CP 和降解16 周的PLLA 的分子量接近, 估计这是晶须作为增强体加入后, 使基体网状结构的连续性变差, 聚乳酸分子与SBF 溶液接触的界面面积增加, 降解速度增加所致。随着 β-CMP$_w$ 含量的提高, 降解20 周后45CP 的分子量比降解相同时间的25CP 材料的相应值下降得更多。说明偏磷酸钙晶须能在一定程度上促进聚乳酸的降解, 并且增大 β-CMP$_w$/PLLA 材料中的晶须含量加快了PLLA 的降解速度。

由表2 还可以看出, 复合材料样品在SBF 中降解8 周后, 其PLLA 分子量下降明显快于前8 周。这个趋势与复合材料降解后抗压强度变化规律是一致的, 有利于复合材料在骨折愈合期间能够保持足够的强度, 在骨折愈合后强度逐渐消失, 以避免应力遮挡效应的产生。

图3 是聚乳酸降解前和降解16 周时样品的分子量分布图。在样品降解的过程中, 可以看到PLLA 的GPC 图谱逐渐变宽并向低分子区移动。由此推断: 降解首先发生在无定形区, 后期才开始出现结晶区中大分子链的断裂。

Vert 等[16] 认为PLLA 的降解有2 种不同的机制, 即酶解与非酶解, 酶解主要发生在降解后期已经部分水解的材料。本研究还需进一步深入实验以探讨 β-CMP$_w$/PLLA 复合材料长期的体外降解和

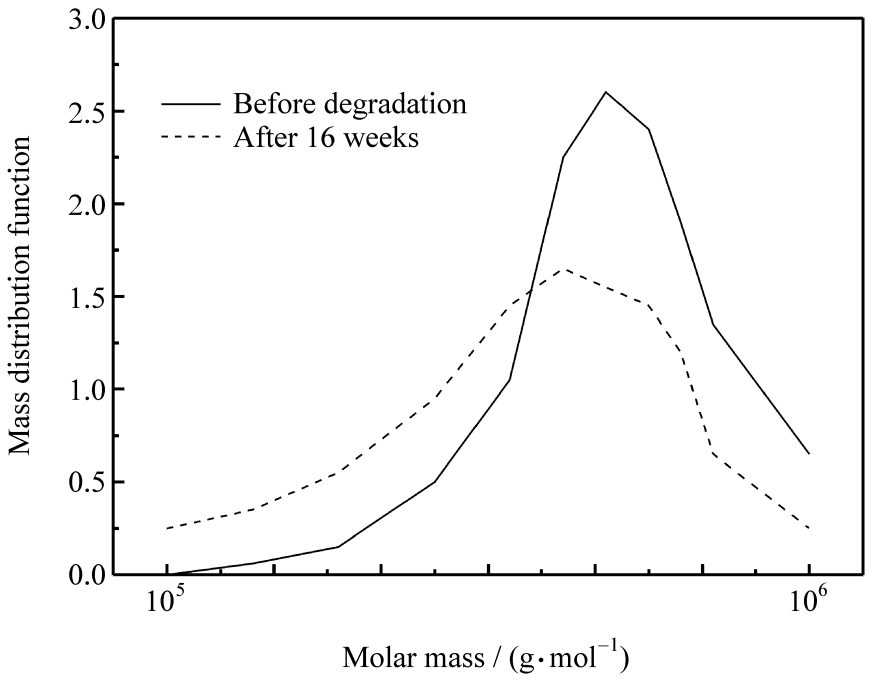


图3　PLLA 的凝胶渗透色谱图

Fig .3　Gel per meation chro matographic pattern of PLLA

体内降解行为。

3　结　论

(1) βCMPw/ PLLA 经人体模拟体液浸泡后强度在前8 周内几乎没有衰减, 20 周时25 wt % βCMPw/ 75 wt % PLLA 的抗压强度仍保持在100 MPa 以上。

(2) 随降解时间增加, 聚乳酸逐渐脱落, 在材料中形成孔洞。

(3) 在降解周期内, SBF 溶液的pH 值随βCMPw/ PLLA降解时间的延长基本保持稳定。

(4) GPC 测试结果表明βCMPw/ PLLA 复合材料降解20 周后PLLA 的数均分子量约为20 万, 重均分子量下降了32 %。

参考文献:

[1] Hasegawa S, Ishii S, Tamura J, et al. A 5-7 year in vivo study of high-strength hydroxyapatite/poly(L-lactide) composite rods for internal fixation of bone fractures [J]. Biomaterials, 2006, 27: 1327-1332.

[2] Hanafusa S, Matsuse Y, Yasunaga T, et al. Biodegradable plate fixation of rabbit femoral shaft osteotomies: A comparative study [J]. Clin Orthop, 1995, 315: 262-271.

[3] 廖　立, 董　刚, 陈　琳, 等. 成型温度及压力对降解型PLLA/βTCP 骨折内固定材料强度的影响[J]. 四川大学学报: 工程科学版, 2006, 38(4): 92-95.
Liao Li, Dong Gang, Chen Lin, et al. Preparation of biodegradable poly L-lactide/β-tricalcium phosphate fracture inner-fixation composites [J]. Journal of Sichuan University: Engineering Science Edition, 2006, 38(4): 92-95.

[4] Vainionpa S, Kilpikari J, Laiho J, et al. Strength and strength retention in vitro of absorbable self-reinforced polyglycolide (PGA) rods for fracture fixation [J]. Biomaterials, 1987, 8: 46.

[5] 陈长春, 程海涛, 孙　康, 等. 生物可吸收性甲壳素纤维增强聚乳酸复合材料体内体外降解研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2000, 17(2): 117-121.
Chen Changchun, Cheng Haitao, Sun Kang, et al. The degradation performance of bioabsorbable acylchitin fiber reinforced PLA composite materials in vitro and in vivo [J]. Journal of Biomedical Engineering, 2000, 17(2): 117-121.

[6] Taizo Furukawa, Yoshitaka Matsusue, Tsunoru Yasunaga, et al. Biodegradation behavior of ultra-high-strength hydroxyapatite/poly(L-lactide) composite rods for internal fixation of bone fractures [J]. Biomaterials, 2000, 21: 889-898.

[7] Park Eui-Kyun, Lee Young-Eun, Choi Je-Yong, et al. Cellular biocompatibility and stimulatory effects of calcium metaphosphate on osteoblastic differentiation of human bone marrow-derived stromal cells [J]. Biomaterials, 2004, 25: 3403-3411.

[8] Chun Sung-su, Jeong Jae-Ho, Kim Kyo-Han, et al. Biodegradation study of amorphous and crystalline calcium metaphosphate in the SBF and tris-buffer solution [J]. Key Engineering Materials, 2001, 192-195: 131-134.

[9] 邱　凯, 万昌秀, 陈　馨, 等. 骨组织工程支架材料聚磷酸钙体外降解规律的研究[J]. 四川大学学报: 工程科学版, 2005, 37(1): 61-64.
Qiu Kai, Wan Changxiu, Chen Xin, et al. Study on the degradation in vitro of calcium polyphosphate for bone tissue engineering [J]. Journal of Sichuan University: Engineering Science Edition, 2005, 37(1): 61-64.

[10] ee Y M, Seol Y J, Lim Y T, et al. Tissue-engineered growth of bone by marrow cell transplantation using porous calcium metaphosphate matrices [J]. Biomaterials Research, 2001, 54(2): 216-223.

[11] iao Li, Chen Lin, Chen Aizhen, et al. Preparation of β calcium metaphosphate(β-CMP) whiskers [J]. Key Engineering Materials, 2007, 330/332: 15-18.

[12] i S M, Hendren R W, Jensen K, et al. Synthesis, properties and biodegradation of poly(1, 3-trimethylene carbonate) [J]. Macromolecules, 1991, 24(8): 1736-1740.

[13] ogolewski S, Jovanovic M, Perren S M, et al. Tissue response and in vivo degradation of selected polyhydroxyacids: Polylactides(PLA), poly(3-hydroxybutyrate)(PHB), and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)(PHB/VA) [J]. Journal of Biomedical Materials Research, 1993, 27(9): 1135-1148.

[14] 吴岳恒, 邱垂源, 毛　萱, 等. 多孔钙磷玻璃陶瓷的制备及性能评价[J]. 暨南大学学报: 自然科学版, 2005, 26(3): 364-368.
Wu Yueheng, Qiu Chuiyuan, Mao Xuan, et al. Preparation and properties of porous calcium phosphate glass ceramics [J]. Journal of Jinan University: Natural Science, 2005, 26(3): 364-368.

[15] 吴之中, 张政朴, 鲁　格, 等. 聚乳酸的合成降解及在骨折内固定材料的应用[J]. 高分子通报, 2000, 3(1): 73-79.
Wu Zhizhong, Zhang Zhengpu, Lu Ge, et al. Synthesis, degradation and application in internal fixation materials of polylactic acid [J]. Chinese Polymer Bulletin, 2000, 3(1): 73-79.

[16] ert M, Li S M, Spenlehauer G, et al. Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters [J]. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 1992, 3(6): 432-446.