

文章编号: 1000-3851(2008)06-0082-06

类生理环境下可降解纤维/磷酸钙复合骨水泥的性能与结构变化

郭大刚*, 徐可为, 憨勇

(西安交通大学 金属材料强度国家重点实验室, 西安 710049)

摘 要: 采用生理盐水浸泡与肌肉埋植的方法分别研究了可降解纤维/磷酸钙复合骨水泥的体外力学性能、体内降解性能以及相组成、微结构随浸泡(或植入)时间的变化规律。浸泡结果表明: 浸泡初期, 纤维的加入一定程度上降低了复合骨水泥的抗压强度, 但大大改善了其断裂韧性, 而且抗弯强度略有增加; 浸泡后期, 复合骨水泥的抗压强度、抗弯强度、断裂功均明显下降。体内降解结果表明, 随着植入时间延长, 含纤维复合骨水泥的降解速率及其增加幅度均高于未掺纤维骨水泥。类生理环境下含纤维复合骨水泥力学性能、降解性能的变化与纤维的降解、材料微观结构的变化密切相关。

关键词: 磷酸钙骨水泥; 可降解纤维; 复合材料; 结构; 性能

中图分类号: TB332 **文献标志码:** A

Properties and structure variations of degradable fiber/calcium phosphate cement composite under similar physiological conditions

GUO Dagang*, XU Kewei, HAN Yong

(State Key Laboratory for Mechanical Behavior of Materials, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Abstract: The in vitro mechanical properties, the in vivo degradation rate, the phase composition, and microstructure of degradable polylactic-co-glycolic acid (PLGA) fibre/calcium phosphate cement (F-CPC) composite at various immersion (or implantation) stages were investigated by using in vitro physiological saline immersion and in vivo rabbit muscle implantation, respectively. The in vitro immersion results show that at the initial immersion stages, the addition of degradation fibres decreases the compressive strength of the composite but slightly improves its flexural strength and significantly increases its fracture toughness by two orders of magnitude. After being subjected to a long-time immersion, the compressive strength, flexural strength and fracture toughness of the composite decrease uniformly. The in vivo implant results show that the addition of the degradable fibres promotes the degradation of the composite and also the increase amplitude at the degradation rate is gradually enlarged by further extending the implant time. The variations in these properties of the composite have a strong relationship with the fibre degradation behaviour and composite microstructure.

Keywords: calcium phosphate cement; degradable fibre; composite; structure; properties

磷酸钙骨水泥(Calcium phosphate cement, CPC)具有良好的生物相容性、骨传导性、可塑性等, 但常规 CPC 力学性能普遍较低^[1-2]、降解缓慢^[1, 3]及脆性大等, 大大限制了其在临床上的广泛应用。为解决此类问题, 近年来国内外在改善磷酸钙骨水泥综合性能方面做了大量研究。例如, 添加

碳纤维、玻璃纤维以及 SiC 晶须、Si₃N₄ 晶须等后可较大幅度地改善水泥的抗压强度^[4-5], 但这些纤维和晶须随水泥植入体内后不能降解, 难以实现永久性修复。最近, 我们利用剩余水化产物磷酸四钙(r-TTCP)颗粒原位增强的方法制备了一种高初期强度羟基磷灰石骨水泥^[6], 在固化 3 天时的平均抗

收稿日期: 2008-03-06; 收修改稿日期: 2008-06-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(50702043); 高等学校博士学科点专项科研基金(20070698092); 西安市科技计划项目(YF07054)

通讯作者: 郭大刚, 博士, 副教授, 研究方向为生物医用材料 E-mail: guodagang@mail.xjtu.edu.cn

压强度达 103.9 MPa, 最高值为 115 MPa, 弹性模量为 2 GPa~10 GPa, 该材料在抗压强度和弹性模量上已接近了人体长骨的相应水平, 有可能开发成为一种新型的承力骨缺损修复材料, 但其脆性大、降解缓慢等尚需进一步改进。基于此, 本文在前期 r-TTCP 原位增强 CPC 的研究基础上, 将可降解聚羟基乙酸-乳酸 PLGA 纤维与之复合, 以期进一步制备出陶瓷原位增强、纤维增韧的复合骨水泥 (F-CPC) 材料。分别采用仿生浸泡实验与肌肉埋植 2 种 (简称类生理环境) 方法, 系统考察含纤维复合骨水泥的抗压强度、抗弯强度、断裂功, 及降解速率等性能随生理盐水浸泡 (或肌肉种植) 时间的变化, 并深入探讨浸泡过程中复合骨水泥材料相组成、显微结构的演变与这些性能变化的相关性, 为该复合材料今后付诸硬组织临床应用奠定基础。

1 实验方法

1.1 原材料

CPC 固相粉末由自制磷酸四钙 (TTCP) 与磷酸氢钙 (DCPA) 按等摩尔比在混料机上均匀混合而成^[6]。混和前 TTCP 与 DCPA 的平均粒度分别为 13 μm 和 1.2 μm 。固化液选用生理盐水。固/液质量比为 3.0~3.8。用于与水泥混合的可降解纤维购自美国强生公司, 型号为 W9043 VICRYL™ (Ployglactin910), 是由羟基乙酸与乳酸形成的无规共聚物 (PLGA)。PLGA 纤维 (F-PLGA) 主要物理性能: 直径 14 μm ±5 μm , 拉伸强度 1.1 GPa±0.1 GPa, 模量 11 GPa, 密度 2.52 g/cm³^[5]。

1.2 复合骨水泥制备

首先将 CPC 粉末与纤维按一定体积比充分混合, 然后按一定固/液比与生理盐水调和, 填入不锈钢模具 ($\Phi 6\text{ mm} \times 12\text{ mm}$), 用 2 kg 的砝码压实以尽可能排除气泡, 然后将成型的柱状试样塞入石英管 ($\Phi 6.5\text{ mm} \times 12.5\text{ mm}$), 两端用胶带密封, 置于温度 37℃、湿度 100% 的空气环境中预固化 4 h。为考察该水泥在类似生理环境下的力学性能, 将上述固化后的部分试样浸入 37℃ 的生理盐水, 并分别在不同时间取出, 测试抗压强度。用作测试抗弯强度的试样制作方法同上, 但模具改用工作尺寸为 25 mm×4 mm×3 mm 的不锈钢模具, 成形后的试样放入一面开口的盒式塑料管 (30 mm×10 mm×5 mm)。作为对照组, 未含纤维复合水泥试样的制备过程除未添加纤维以外, 其他与上述步骤相同。

1.3 力学性能测试

采用 WDW-1000 型电子万能实验机测试抗压强度 (CS), 加载速度 0.5 mm/min。每组至少 5 个平行实验, 取平均值。采用 Instron-5500R 电子拉伸试验机测试弯曲强度 (FS)。采取三点弯曲法, 跨度 20 mm, 加载速率为 0.5 mm/min。每组至少 6 个平行实验, 取平均值。采用与文献[5]类似的方法, 用断裂功评价复合骨水泥材料的断裂韧性, 其值等于弯曲载荷-位移曲线下的积分面积除以试样横向面积。

1.4 肌肉埋植手术与失重率计算方法

材料植入前经超声波清洗, 在真空干燥箱 (真空度 10^{-4} Pa , 温度 80℃) 干燥 48 h, 电子天平精确称量每个试样的质量 (m_0), 记录原始数据。植入前进行高压蒸汽消毒。

选健康新西兰家兔 16 只, 8~10 月, 雌雄不限, 体重均约 2.5 kg。随机分成 4 组, 分别 4、8、12、24 周植入, 每组 4 只。

肌肉埋植手术: 试验前, 采用 3% 戊巴比妥钠麻醉, 按外科手术要求, 背部脱毛备皮, 消毒术野。在第一腰椎棘突左侧旁开 1.5 cm, 取纵行切口, 长约 10 cm。分层到达背部筋膜, 止血钳终向分开骶棘肌, 将各试样按序埋植肌内, 逐层缝合切口, 青霉素肌肉注射 (80 万单位)。记录试验家兔编号与材料顺序标号。术后第 4、8、12、24 周分批无痛处死动物, 每批 4 只, 分别进行称量 (m_i , i 为周数)。第 i 周后某材料的失重率 (m_i) 按下式计算:

$$m_i = (m_i - m_0) / m_0 \times 100\% \quad (1)$$

根据式 (1) 计算的失重率, 对各材料降解性进行定量评价。

1.5 相组成、微观结构表征

用日本理学 D/max-3C 自动 X 射线衍射仪 (XRD, CuK_α , 35 kV, 30 kA) 对粉末进行晶体结构测试。用扫描电镜 S-2700 (SEM) 观测试样微观形貌。采用 Procanova Procedure SAS 系统软件对所得数据进行了方差分析, 置信系数 c 为 0.95。

2 结果与讨论

2.1 纤维长度与体积含量的确定

首先考察了纤维长度与体积含量对抗压强度的影响, 如表 1 所示。未掺纤维骨水泥试样平均抗压强度为 82.4 MPa±2.5 MPa, 大大高于现有 CPC 的普遍水平^[1-2, 7]。与未掺纤维骨水泥相比, 纤维

掺入骨水泥后试样抗压强度均明显降低，且受纤维长度与体积分数影响较明显。掺入纤维越长，则抗压强度越低，纤维在体积含量为 20% 时，抗压强度相对最高。这表明了纤维掺入骨水泥基体后，其抗压强度显著下降。通过优化纤维长度与体积分数两参数，可使复合体系抗压强度达到 $69.5\text{ MPa} \pm 2.3\text{ MPa}$ ，这一水平仍高于一般 CPC 的相应水平 ($30\text{ MPa} \sim 50\text{ MPa}$)。因此，以下实验中涉及含纤维复合水泥的纤维长度与体积分数均分别采取 1.5 mm 、 20% 。

表 1 纤维长度及体积含量对浸泡 3 天后试样抗压强度的影响

Table 1 Effect of PLGA fiber length and volume fraction on the compressive strength values of various hardened bodies after 3 days immersion			
Fiber volume fraction/%	Compressive strength/MPa		
	1.5 mm	6.0 mm	12.0 mm
10	65.3 ± 2.8	60.8 ± 1.9	55.1 ± 2.1
20	69.5 ± 2.3	61.7 ± 2.2	53.6 ± 1.6
40	58.1 ± 3.1	55.3 ± 2.4	45.3 ± 2.3
0	—	82.4 ± 2.5	—

本文中骨水泥最高抗压强度为 $82.4\text{ MPa} \pm 2.5\text{ MPa}$ ，比报道的相应结果 $103.9\text{ MPa} \pm 10.1\text{ MPa}$ ^[6] 偏低，其差异可能是由于采取不同的浸泡溶液，前者采用生理盐水浸泡 3 天，而后者采用模拟体液浸泡。

2.2 类生理环境下复合骨水泥力学性能与降解性能的变化

图 1(a) 为复合骨水泥与对照组经生理盐水浸泡不同时间后抗压强度的变化。结果表明，在相同浸泡时间下，复合骨水泥抗压强度均低于对照组。随浸泡时间延长，对照组先增大后降低，7 天后抗压强度变化基本保持稳定 ($c=0.95$)，而复合骨水泥在浸泡初期虽出现类似变化趋势，但 7 天后抗压强度略有下降，且一直降至 90 天后才保持稳定。这表明，纤维与骨水泥复合后不仅导致抗压强度下降，而且在浸泡中期 (7~90 天之间) 复合水泥抗压强度有进一步下降趋势。浸泡 180 天后，复合骨水泥与对照组抗压强度分别为 36.5 MPa 和 58.5 MPa 。

图 1(b) 为 2 种水泥固化体抗弯强度随浸泡时

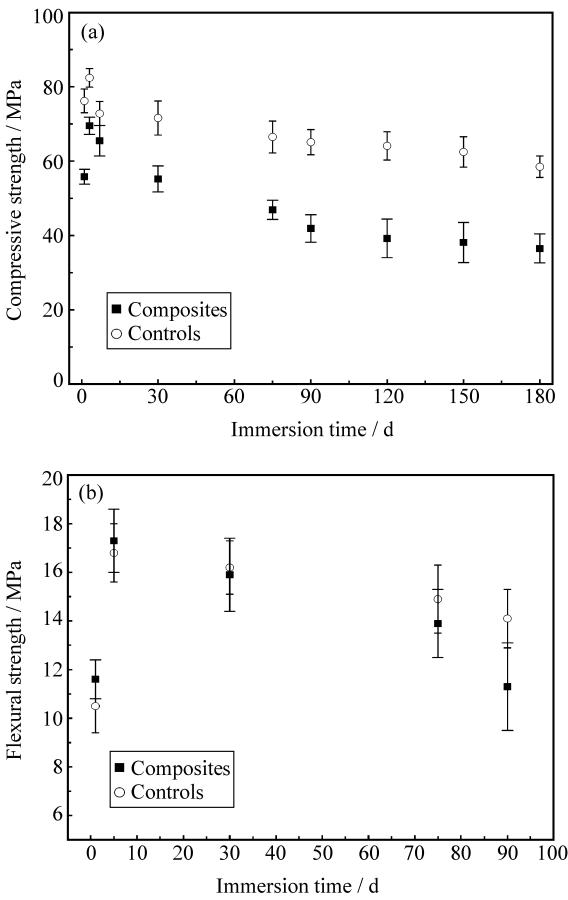


图 1 不同浸泡时间后复合骨水泥与对照组的抗压强度和弯曲强度

Fig. 1 Compressive strength and flexural strength values of F-CPC composites and the controls at various immersion stages

间的变化。从方差分析角度来看，两者变化趋势极其相似：浸泡时间从 1 天增加到 5 天时，两者的抗弯强度明显增大，均在 5 天达最大值；随着浸泡时间的进一步延长，两者变化不明显。另外，整个浸泡阶段，复合骨水泥与未掺纤维骨水泥的抗弯强度分别为 $11.3 \sim 17.3\text{ MPa}$ 、 $10.5 \sim 16.8\text{ MPa}$ ，结果与文献[8]中纯 CPC 的抗弯强度值 15.0 MPa 非常接近。

图 2 为复合骨水泥与对照组不同浸泡时间下的断裂功。可以看出，浸泡初期 (5 天时) 复合骨水泥的断裂功相当于对照组的 86 倍，增幅接近 2 个数量级。此后，随浸泡时间延长，复合骨水泥的断裂功逐渐下降，而整个浸泡过程对照组的断裂功则变化不显著。当浸泡时间延至 90 天时，复合骨水泥的断裂功甚至低于对照组的相应值。这表明了纤维对水泥基体的增韧作用仅出现在浸泡初期。

图 3 为各试样在兔肌肉植入不同时间后的失重

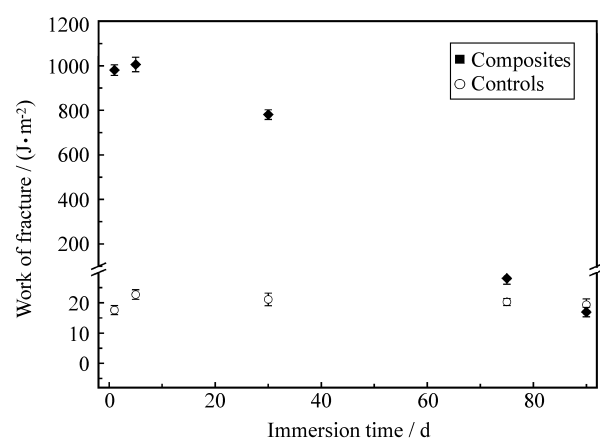


图2 复合骨水泥与对照组不同浸泡时间断裂功
Fig. 2 Work of fracture of F-CPC composites and the controls at various immersion stages

率。比较2组骨水泥,发现不同植入时间下复合骨水泥的失重率均高于对照组,且其差值随着植入时间的延长,逐渐扩大。24周时,复合骨水泥与对照组的失重率分别为 $56.90\% \pm 4.20\%$ 、 $36.80\% \pm 5.89\%$,复合骨水泥失重率提高了 54.62% 。

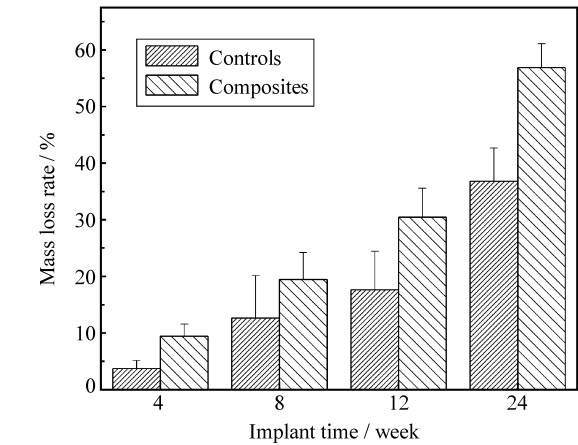


图3 复合骨水泥与对照组肌肉内植入不同时间失重率
Fig. 3 Mass loss rates of F-CPC composites and the controls at various intramuscular implantation times

2.3 类生理环境下复合骨水泥相组成与微观结构的变化

图4是不同浸泡时期复合骨水泥及对照组的XRD图谱。可以看出,在各个浸泡时期,2种水泥的相组成主要是HA,以及少量残余磷酸四钙(r-TTCP)。浸泡5天后,两者在衍射角约为 29.2° 、 29.7° 处的r-TTCP峰均比较明显,而且衍射峰相对强度无明显差异。当浸泡时间延至30天时,对照组中r-TTCP峰相对强度变化不显著,而复合骨

水泥中的r-TTCP峰略有下降。浸泡75天后,复合骨水泥中基本上探测不到r-TTCP的衍射峰,而对照组中r-TTCP峰还比较明显,而且直到180天后仍能分辨出微弱的r-TTCP峰。r-TTCP颗粒作为高温陶瓷,其强度高于低温骨水泥固化体强度。因此,这也是这种骨水泥强度明显高于现有骨水泥一般强度水平的主要原因。本文作者将这种骨水泥称为残余磷酸四钙原位增强磷灰石复合骨水泥(r-TTCP/HA),其增强效果也在以前的报道中^[6]得到了证实。从图4(b)可以看出,生理盐水浸泡30天内,复合骨水泥中仍含有明显的r-TTCP峰,因此,事实上,这种复合骨水泥属于r-TTCP/F-PLGA/HA复合骨水泥。

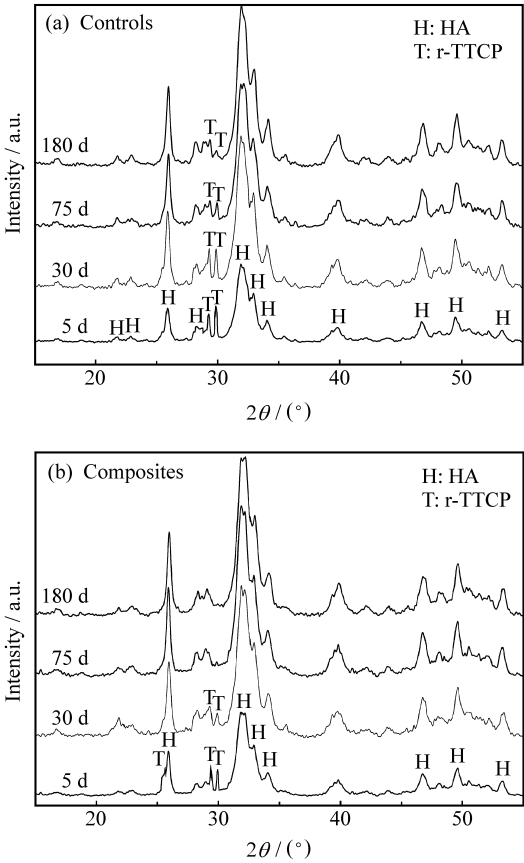


图4 各浸泡时期复合骨水泥及对照组的XRD谱
Fig. 4 XRD patterns of F-CPC composites and the controls at various immersion stages

图5是不同浸泡时期复合骨水泥压缩断裂面SEM照片。可见随复合骨水泥中纤维的逐渐降解,骨水泥基体的结构趋于多孔化,浸泡初期(如5天),纤维仍能保持良好形态,复合水泥基体未见宏观孔洞;30天时,纤维开始部分降解,体积明显

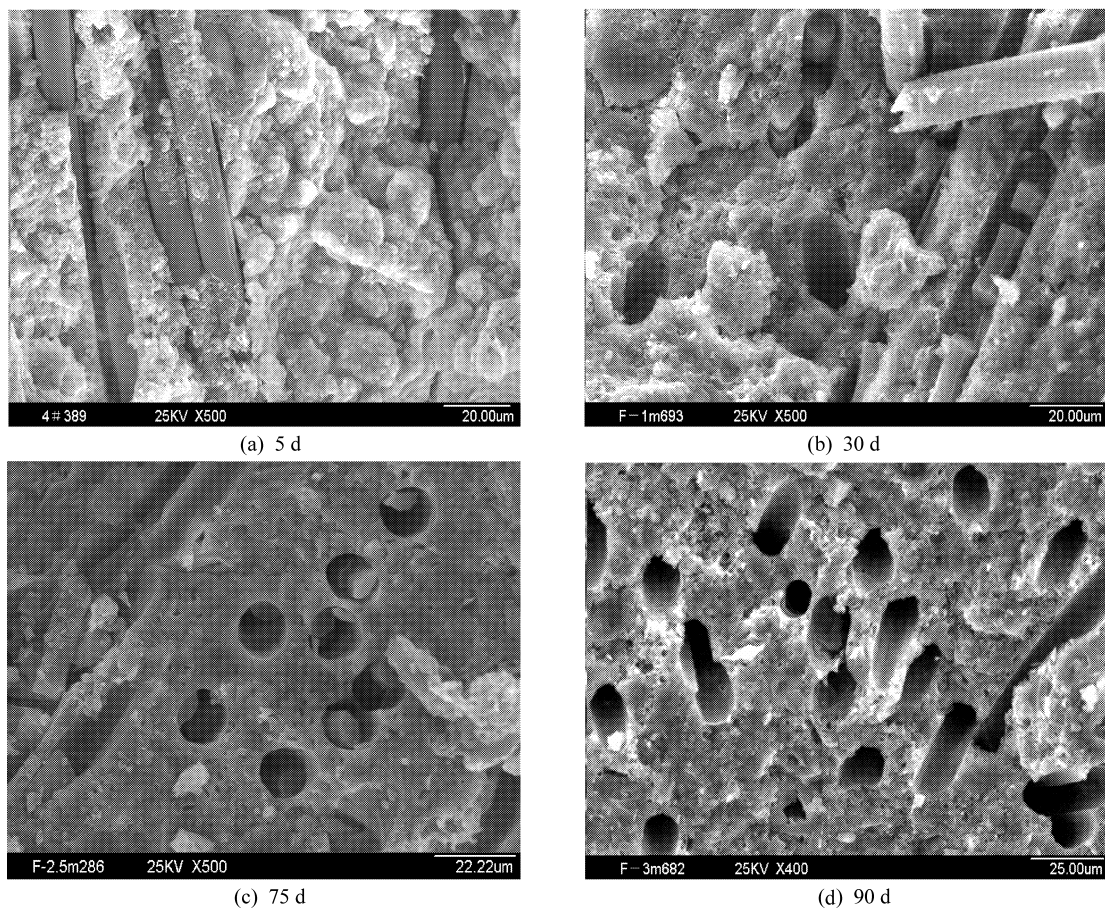


图5 不同浸泡时期复合骨水泥压缩断裂面 SEM 照片

Fig. 5 SEM morphologies on compressive fractured surfaces of F-CPC composites immersed for different times

缩小, 在外界应力作用下, 极容易断裂, 此时基体开始出现部分纤维降解孔; 75 天后纤维大部分降解, 基体中很难找到长段或完整的纤维, 基体中的孔洞体积与数量增加; 90 天后纤维完全降解, 这个时间与 PLGA 的降解时间指标一致, 纤维完全降解后给基体留下大量尺寸均匀的宏观孔洞。结合上述 XRD 分析, 90 天后 r-TTCP/F-PLGA/HA 复合骨水泥实际上转化为多孔 HA 材料。其孔洞尺寸与孔隙率取决于纤维的直径、长度与体积分数。

3 讨论

PLGA 纤维是一类“抗拉不耐压”的柔性高分子纤维。若将水泥视为基体, 在承受压力载荷时, 这种柔性纤维材料在水泥基体中充当双重角色: 一方面, 不耐压的柔性纤维在水泥基体中充当“宏孔”角色, 这事实上减少了承载试样的实际作用面积, 从而降低了基体的抗压强度; 另一方面, 承受压力载荷时纤维的微屈服与抗剪切破坏对基体强度也有一定贡献^[9], 但这种贡献远不及“宏孔”效应。因此,

浸泡初期, 纤维的“宏孔”效应占主要, 使得复合骨水泥的抗压强度下降。随着浸泡时间的延长, 纤维逐渐降解(见图 5(b)、5(c)、5(d)), 纤维原来占据的空间逐渐成为基体中真正的孔洞。水泥基体结构的逐渐多孔化, 不仅降低或丧失了复合骨水泥中纤维对基体抗压强度的贡献, 同时加剧了磷灰石的降解^[10], 使得浸泡中期复合骨水泥抗压强度随浸泡时间延长逐渐下降。浸泡 90 天后, 纤维完全降解, 其对骨水泥基体的双重作用完全消失, 此后, 即使进一步延长浸泡时间, 复合骨水泥的抗压强度也不会发生太大变化。而对于对照组而言, 由于没有纤维的双重作用, 整个浸泡过程其抗压强度变化不明显($c=0.95$)。

虽然浸泡初期纤维与骨水泥的复合一定程度上降低了复合体系的抗压强度, 但却显著改善了其断裂韧性。这可能与含纤维复合骨水泥承受弯曲载荷时纤维的 3 个主要作用机制有关^[5]: 纤维桥接、摩擦性拔出与多重断裂。尤其在裂纹扩展过程中, 纤维使裂纹发生偏转或者分散, 从而使水泥基体发生

多重断裂, 产生了许多新生断裂面(如图 6(a)), 并吸收了很多能量, 表现出纤维对基体的增韧作用。相比之下, 对照组的断裂面较为平整(如图 6(b))。正因为纤维这 3 个方面的作用机制, 使浸泡初期复合骨水泥的断裂功较之对照组提高近 2 个数量级。然而, 随着纤维的逐渐降解, 其增韧作用也随之削弱, 直到纤维完全降解后, 水泥基体的弯曲强度和断裂功出现负增长。

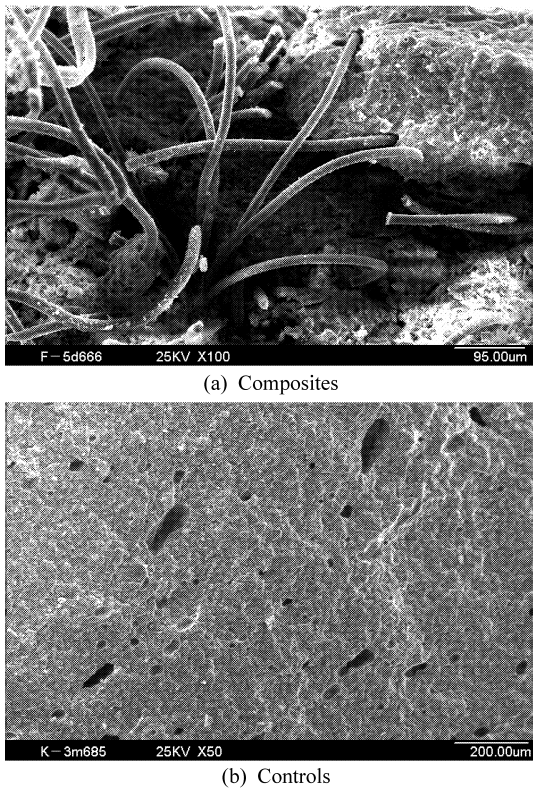


图 6 复合水泥和对照组浸泡 5 天后弯曲断面 SEM 照片
Fig. 6 SEM morphologies on flexural fractured surfaces of F-CPC composites and the controls after 5 days immersion

综合本文实验结果, 复合骨水泥的力学性能、降解性能及其变化与浸泡过程中材料微观结构与纤维的变化密切相关。类生理环境下, 可降解 PLGA 纤维对 CPC 的作用效果大致可分为 3 个阶段: 浸泡初期(0~7 天), 纤维具有增韧与降低抗压强度的双重作用; 浸泡中期(7 天~90 天), 由于纤维逐渐降解, 复合骨水泥抗压强度与弯曲强度均逐渐下降; 浸泡后期(90 天后), 纤维完全降解, 使材料变成多孔磷灰石, 纤维降解形成的孔洞又进一步加速了材料降解。

事实上, 对于承力骨缺损修复临床而言, 材料在植入初期的力学性能往往显得更为重要。由于植

入初期材料需要抵抗植入部位的生理应力, 而植入后期, 随着纤维与材料的降解, 新生骨组织逐渐长入材料孔内。而在这种情况下, 复合骨水泥实际上转变成新生骨组织/磷灰石复合材料。因此, 复合骨水泥, 植入后期其实际力学性能应该考虑到新生骨组织的复合。本文中获得的复合骨水泥重要应用价值在于: 高初期韧性、较高的初期弯曲强度, 以及后期纤维降解造孔作用。后期纤维降解造孔不仅利于新生骨组织长入, 而且加速材料降解。

4 结 论

(1) 将具有生物学安全的可降解纤维与磷酸钙骨水泥浆体复合, 制备出“初期增韧、后期造孔”的纤维/磷酸钙复合水泥。

(2) 纤维加入磷酸钙骨水泥后, 虽在浸泡初期降低了体系的抗压强度, 但明显改善了材料断裂韧性, 在浸泡后期随着纤维逐渐、甚至完全降解, 使得水泥结构趋向多孔化, 这不仅提高了材料的骨传导性, 而且加速磷灰石降解。

(3) 类生理环境下含纤维复合骨水泥力学性能、降解性能的变化, 与其纤维的降解、材料微观结构的变化密切相关。

参考文献:

- [1] Constantino P D, Friedman C D, Jones R. Experimental hydroxyapatite cement cranioplasty [J]. *Plast Reconstr Surg*, 1992, 90: 174-178.
- [2] Hamanishi C, Kitamoto K, Ohura K, Tanakasm M, Doi Y. Self-setting, bioactive, and biodegradable TTCP-DCPD apatite cement [J]. *J Biomed Mater Res*, 1996, 32(3): 383-341.
- [3] Friedman C D, Constantino P D, Jones K, Chow L C, Pelzer H J, Sisson G A. Hydroxyapatite cement II: Obliteration and reconstruction of the catfrontal sinus [J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1991, 117(3): 385-389.
- [4] Xu H H K, Eichmiller F C, Giuseppetti A A. Reinforcement of a self-setting calcium phosphate cement with different fibers [J]. *J Biomed Mater Res*, 2000, 52: 107-114.
- [5] Xu H H K, Quinn J B. Whisker-reinforced bioactive composites containing calcium phosphate cement fillers: Effects of filler ratio and surface treatments on mechanical properties [J]. *J Biomed Mater Res*, 2001, 57: 165-174.
- [6] Guo D G, Xu K W, Sun H L, Han Y. Physicochemical properties of TTCP/DCPA system cement formed in physiological saline solution and its cytotoxicity [J]. *J Biomed Mater Res*, 2006, 77A: 313-323.
- [7] Matsuya Y, Matsuya S, Antonucci J M, Takagi S, Chow L C, Akamine A. Effect of powder grinding on hydroxyapatite formation in a polymeric calcium phosphate cement prepared from tetracalcium phosphate and poly(methyl vinyl ether-maleic acid) [J]. *Biomaterials*, 1999, 20: 691-697.
- [8] Xu H H K, Quinn J B. Calcium phosphate cement containing resorbable fibers for short-term reinforcement and macroporosity [J]. *Biomaterials*, 2002, 23: 193-202.
- [9] Kim R Y. Strength of fiber reinforcing composite [M]//Chou Tsuwei. *Structure and properties of composite*. Weinheim: VCH, 1993: 426-428.
- [10] Takagi S, Chow L C. Formation of macropores in calcium phosphate cement implants [J]. *J Mater Sci: Mater Med*, 2001, 12: 135-139.