

文章编号: 1000-324X(2006)05-1197-06

纳米羟基磷灰石 / 壳聚糖复合骨水泥的固化机理研究

张 利, 李玉宝, 周 钢, 吕国玉, 左 奕

(四川大学分析测试中心, 纳米生物材料研究中心, 成都 610064)

摘 要: 制备了以 ZnO 为促凝剂的 n-HA/CS 复合骨水泥, 并对其理化性能和固化机理进行了研究. 结果表明, 当 ZnO/ 复合材料比为 1/8, 固化液 / (复合材料 + ZnO) 之比 (L/P) 为 1.2mL/g 时, 骨水泥的抗压强度及其对应的固化时间均能够满足临床操作的需要; 骨水泥快速固化的机理是其中的 Zn^{2+} 和 Ca^{2+} 与壳聚糖的氨基之间发生了络合反应所致, 并形成了密实网络结构, 其较大的收缩力使其中的水分子迅速排出, 从而实现了骨水泥的快速固化, 并赋予其较高的固化强度.

关 键 词: 纳米羟基磷灰石; 壳聚糖; 氧化锌; 促凝剂; 骨水泥

中图分类号: TB321 **文献标识码:** A

1 引言

羟基磷灰石 (HA) 是组成骨矿物质的主要成分, 是骨修复与重建的良好载体, 植入体内后可与周围骨组织发生骨整合^[1~3]. 但因脆性大, 抗疲劳破坏的强度低和缺乏可塑性等, 在手术中无法按病人骨缺损部位形态任意塑形, 使其应用受到一定的局限^[4]. 壳聚糖 (CS) 具有良好的生物相容性, 植入体内很少引发异物反应, 能促进创伤愈合, 并具有一定的降解性能和抗菌性能^[5~9]. 但单纯的 CS 用于硬组织修复时力学强度不足, 且降解速度过快. 在我们的先期研究^[10,11]中, 通过共沉淀法合成了重量比为 70/30 的纳米羟基磷灰石 / 壳聚糖 (n-HA/CS) 复合材料, 其中 n-HA 是类骨磷灰石的弱结晶纳米晶体, 晶格中有少量 CO_3^{2-} 存在; 复合材料中两相间分散均匀, 结合牢固, 抗压强度较高 (120MPa), 可基本满足骨修复材料的要求.

在临床上, 大多数骨缺损部位的形状不规则, 预先成型的骨修复体很难实现对缺损部位的有效充填与修复. 因而, 提高骨修复材料的临床可操作性具有重要的实际应用意义. 本文旨在以 n-HA/CS(70wt%n-HA) 复合材料为原料, 引入适量的促凝剂, 并选用合适的固化液, 按照适当的固 / 液比例进行调和, 制备一种在空气、生理盐水、血液或体液中均可快速固化的 n-HA/CS 复合骨水泥. 并对骨水泥的理化性能和固化机理进行了研究和分析.

2 材料与方法

自制 n-HA/CS(70wt%n-HA) 复合材料粉末 (过 200 目筛) 和分析纯 ZnO 粉末; 将分析纯的冰醋酸、柠檬酸、磷酸二氢钾、氯化钙等按适当比例溶于去离子水中配制成固化液.

收稿日期: 2005-08-28, 收到修改稿日期: 2005-11-18

基金项目: 国家“863”国际合作重点项目 (2002AADF3201)

作者简介: 张 利 (1976-), 博士, 讲师. E-mail: zzli201@yahoo.com.cn

将 n-HA/CS 复合材料粉末与 ZnO 粉末均匀混合, 并加入一定量的固化液, 调和搅拌 20s 左右; 将所得糊状物置入模具中固化, 得到 $\phi 3\text{mm} \times 6\text{mm}$ 的圆柱体样品, 用于抗压强度的测试. 为考察 ZnO 含量及 L/P 对骨水泥固化时间和抗压强度的影响, 分别制备了 ZnO/复合材料重量比为 1/2、1/3、1/5、1/8 和 1/10 以及 L/P 比为 1.0mL/g 的骨水泥; 还制备了 ZnO/复合材料比为 1/5, 而 L/P 为 0.8、1、1.2、1.4 和 1.6mL/g 的骨水泥. 并通过红外光谱 (IR)、X 射线衍射仪 (XRD) 及 X 光电子能谱分析仪 (XPS) 研究固化前后 n-HA/CS 复合材料中各基团组成、结晶结构以及元素能量的变化, 分析讨论了 ZnO 粉末与复合材料中壳聚糖氨基之间的相互作用过程.

3 实验结果

3.1 ZnO 含量对骨水泥固化时间及抗压强度的影响

表 1 是液 / 固比为 1.0mL/g、不同 ZnO 含量对骨水泥固化时间和抗压强度的影响. 抗压强度分别在空气中和去离子水中初始固化及固化 24h 后进行测定. 从表中数据可以看出, ZnO/复合材料比值在 1/10~1/3 范围内, 随着 ZnO 含量的升高, 骨水泥在空气中和去离子水中的固化时间均较短. ZnO/复合材料比值在 1/10~1/3 范围内, 不同含量比的骨水泥在去离子水中的固化时间相对于空气中略短. 当 ZnO/复合材料比例为 1/2 时, 骨水泥的固化时间变化不明显, 还出现固化时间有略微延长的趋向. 从表中还可以看出, 骨水泥在空气中和去离子水中的初始抗压强度差距不大, 但固化 24h 后的抗压强度相差较大, 而在空气中的明显大于在水中的. 当 ZnO/复合材料比例为 1/5 时, 骨水泥的初始抗压强度及固化 24h 后的抗压强度值在去离子水和空气中均最大. ZnO/复合材料比为 1/8 和 1/5 时, 其对应的抗压强度较高, 且其固化时间在 8.0~10.5min 之间, 可满足临床操作要求^[12].

表 1 不同 ZnO/复合材料比例对 n-HA/CS 骨水泥固化时间和抗压强度的影响
Table 1 Effect of the ZnO/composite ratio on the setting time and the compressive strength of the n-HA/CS cement

ZnO/composite	Setting time/min		Compressive strength/MPa			
			In air		In water	
	In air	In water	Initial setting	Setting for 24h	Initial setting	Setting for 24h
1/10	12.5±1.5	11.0±1.5	18.9±3.8	68.7±3.0	17.5±3.5	28.4±3.4
1/8	10.5±1.2	9.2±0.5	21.4±5.6	76.5±2.5	19.2±5.0	32.6±2.5
1/5	8.4±1.0	8.0±0.3	23.5±3.0	85.8±3.0	22.1±3.5	36.6±3.5
1/3	4.5±1.2	4.7±0.8	22.6±5.0	78.4±2.8	20.8±3.0	33.4±5.0
1/2	4.6±1.0	4.8±1.2	19.4±2.6	74.6±5.0	18.7±2.0	32.0±5.0

3.2 液 / 固比 (L/P) 对骨水泥固化时间和抗压强度的影响

当 ZnO/复合材料比例为 1/8 时, 不同 L/P 对骨水泥固化时间和抗压强度的影响如表 2 所示. 骨水泥的抗压强度是在空气或去离子水中初始固化及固化 24h 之后进行测定的. 从表中可以看出, 骨水泥在空气中和去离子水中的固化时间均随 L/P 的增大而延长. 当 L/P 为 1.6mL/g 时, 骨水泥在两种介质中的固化时间均超过 30min, 这尚不能满足临床操作要求. 骨水泥在两种介质中的初始抗压强度接近, 但固化 24h 后的抗压强度相差较大, 在空气中

明显高于在水中的. 当 L/P 为 1.2mL/g 时, 其抗压强度达最高值. 因此, 当 ZnO/ 复合材料比为 1/8 和 L/P 为 1.2mL/g 时, 骨水泥的抗压强度最高, 可以满足骨缺损修复材料的实际使用要求, 而对应的固化时间约在 12min 左右, 也能够满足临床操作的需要.

表 2 液 / 固比对骨水泥固化时间和抗压强度的影响

Table 2 Effect of L/P ratio on the setting time and the compressive strength of the cement

L/P(mL·g ⁻¹)	Setting time/min		Compressive strength/MPa			
			In air		In water	
	In air	In water	Initial setting	Setting for 24h	Initial setting	Setting for 24h
0.8	3.7±0.8	3.5±1.5	15.8±2.5	47.8±3.0	13.6±3.5	18.7±3.0
1.0	8.4±1.0	8.0±0.3	17.5±3.0	65.4±3.5	15.5±3.0	25.8±3.0
1.2	12.0±2.5	11.5±1.5	23.4±5.0	76.5±2.5	17.8±3.5	32.6±2.5
1.4	20.5±1.5	21.0±0.6	21.6±5.0	71.5±2.5	17.0±5.0	26.4±3.0
1.6	>30	>30	-	61.0±3.0	-	20.7±3.0

3.3 IR 图谱

图 1 是 n-HA/CS 复合材料在固化前后的 IR 图谱. 图 1a 中, 3415cm⁻¹ 左右的宽峰是

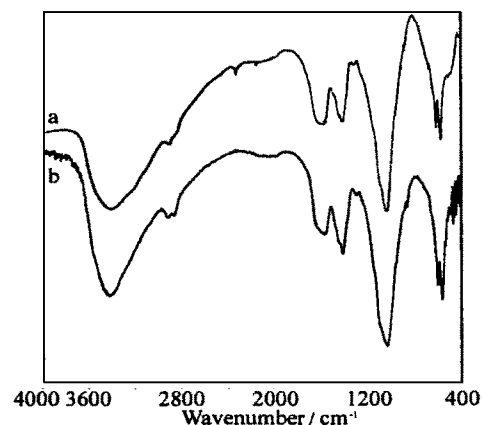


图 1 n-HA/CS 复合材料在固化前 (a) 后 (b) 的 IR 图谱

Fig. 1 IR spectra of n-HA/CS composite: (a) before and (b) after setting

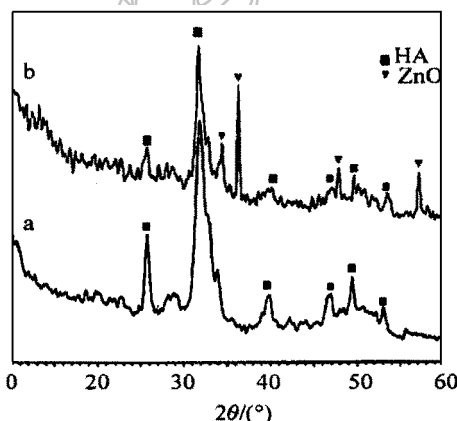


图 2 n-HA/CS 复合材料固化前 (a) 后 (b) 的 XRD 图谱

Fig. 2 XRD patterns of n-HA/CS composite: (a) before and (b) after setting

O-H 的伸缩振动峰和 N-H 的伸缩振动峰重叠而成的多重吸收峰^[13]. 图 1b 中, 该吸收峰相对宽化, 表明固化后的复合材料中羟基或氨基的氢键作用有所增强^[14]. 图中 2920 和 2880cm⁻¹ 左右的吸收峰分别是糖残基上甲基和次甲基的 C-H 伸缩振动吸收峰^[15]; CS 位于 1658~1656cm⁻¹ 处的酰胺 I 谱峰反映的是乙酰氨基, 其强度与脱乙酰度有直接的关系, 因此该吸收峰常用来测定 CS 的脱乙酰度^[16]. 1570cm⁻¹ 的吸收峰为 CS 的酰胺 II 谱峰, 1310cm⁻¹ 的吸收峰则为 CS 的酰胺 III 谱峰^[17]. 而 1599cm⁻¹ 的吸收峰为氨基的伸缩振动峰^[18], 固化后的复合材料中该峰向低波数方向发生了偏移, 暗示 CS 中的氨基与其他基团或离子发生了相互作用. 此外, n-HA 中 PO₄³⁻ 及 CO₃²⁻ 的特征吸收峰在图中也都出现.

3.4 XRD 图谱

图 2 是 n-HA/CS 复合材料固化前后的 XRD 图谱. 固化后, 复合材料中 HA 的衍射峰明显减弱, 表明 HA 的结晶度下降. 复合材料中 CS 位于 $2\theta=10^\circ$ 和 20° 两个较弱的衍射峰在固化后变得更为微弱, 说明复合材料中加入 ZnO 后进一步削弱了 CS 的结晶度, 这可能与 CS 中的氨基与 ZnO 中的 Zn^{2+} 发生的络合作用有关^[19]. 此外, 固化后复合材料中明显有 ZnO 的特征衍射峰出现, 表明 ZnO 加入复合材料中并调和固化后, 一部分与固化液中的氢离子发生反应, 提高了固化后骨水泥的 pH 值, 另一部分仍以氧化物的形式弥散分布在基体材料中.

3.5 XPS 分析

图 3 是 ZnO 粉末及固化后复合材料的表面 XPS 图谱. ZnO 粉末的表面 XPS 图谱中除了有 Zn 和 O 的谱峰之外, 还出现了 C 峰, 这可能是 ZnO 表面吸附的 CO_2 污染所致 (如图 3a). 图 3b 中同时出现了 Zn、O、Ca、P、C 及 N 的谱峰, 但 N 峰强度非常弱, 这可能是由于材料表面吸附了较多 H_2O 及 CO_2 , 从而使 N 的谱峰相对弱化^[20].

ZnO 中两个 $\text{Zn}2p$ 峰所对应的能量分别为 1021.2 和 1044.5eV, 而固化后的复合骨水泥中对应的 $\text{Zn}2p$ 能量则为 1021.5 和 1044.7eV, 也即复合骨水泥中的 Zn 对应的 XPS 谱峰向高结合能方向发生了偏移, 表明其所处的化学状态发生了变化, 这可能是 ZnO 中的 Zn^{2+} 与 CS 中的氨基之间发生了络合反应; 此外, 固化液中的柠檬酸根也能够与二价金属阳离子发生较强的络合反应, $\text{Zn}2p$ 向高结合能方向的偏移还可能与柠檬酸根和 Zn^{2+} 的相互作用有关.

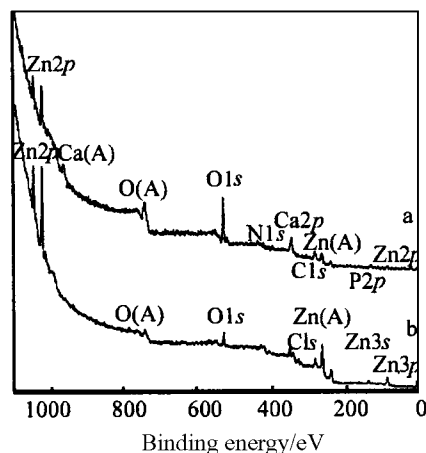


图 3 ZnO(a) 及固化后复合材料(b)的 XPS 能谱分析

Fig. 3 XPS surveys of ZnO (a) and the composite after setting (b)

4 讨论

CS 溶液具有一定的粘度, 是 HA/CS 复合材料成型时的赋形剂, 赋予材料可塑性. CS 在 $\text{pH}<6$ 的水溶液中可发生溶解, 这是因为 CS 分子链上有众多的游离氨基, 这些氨基的氮原子上具有一对未共用的电子, 致使氨基呈现弱碱性, 能从 $\text{pH}<6$ 的溶液中结合一个氢离子, 从而使 CS 成为带正电荷的聚电解质, 破坏了 CS 分子间和分子内的氢键, 使之溶于水^[14]. 基于此, 本研究中配制的固化液是一种含有柠檬酸、醋酸及一定量 Ca^{2+} 和 H_2PO_4^- 离子等的弱酸性溶液. 当该酸性固化液与 n-HA/CS 复合材料粉末以一定比例调和时, 能够将复合材料中的 CS 溶解, 形成具有一定粘性的 n-HA/CS 复合材料胶体, 从而达到可塑性的目的.

研究发现, n-HA/CS 复合材料粉末与酸性固化液调和后的胶体尽管可以任意成形, 但成型后材料在空气中形成弹性体 (如 15min 左右), 只是在放置过程中伴随材料中水分的缓慢蒸发而逐渐硬化, 硬化 12h 后其抗压强度也只有十几个兆帕. 而且硬化后的块体材料由于有酸性物质的存在, 使其植入体内后有大量氢离子释放到体液及周围组织中, 会引起严重的炎症反应.

本实验选择 ZnO 粉末作为 n-HA/CS 复合材料的促凝物质. ZnO 是白色六角晶体粉

末, 是两性氧化物, 微溶于水, 其在水中的溶解度仅为 $5.2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, 在高聚物中具有较好的分散性^[21]. 在酸性介质中, ZnO 与氢离子发生较缓慢的中和反应. 在 n-HA/CS 与 ZnO 的混合粉末中加入一定量固化液并进行调和时, 弱碱性的 ZnO 会与酸性固化液发生中和反应, 但由于其反应速度较慢, 不会在短时间内抢夺大量的氢离子, 从而可保证复合材料中 CS 的氨基能够与较多的氢离子结合而形成 CS 聚电解质, 并溶于水形成粘稠的 CS 溶液, 使材料在一定时间内具有可任意成形的特性. 随着时间的延长, 混合体中的 ZnO 会继续与固化液中的氢离子反应, 甚至开始夺取 CS 聚电解质中的氢离子, 调和物的 pH 值不断上升, 溶解的 CS 又逐渐沉淀出来, 材料由塑性体转变为弹性体, 且不易再成形. 另一方面, CS 具有较强的螯合二价金属阳离子, 尤其是过渡金属阳离子的作用^[14]. HA 中含有 Ca^{2+} . ZnO 与氢离子发生中和反应后也释放出 Zn^{2+} , 这两种二价金属阳离子都能够与 CS 的氨基发生化学反应, 形成 CS-Ca^{2+} 或 CS-Zn^{2+} 的络合物. 由于 Zn^{2+} 的外层 d 轨道只有 10 个电子, 往往以四配位体形式存在, 因而 CS 与 Zn^{2+} 之间所形成的络合物可能有三种结合方式^[22], 如图 4 所示.

图 4(a) 所形成的络合物呈线型结构, Zn^{2+} 周围结合了较多的水分子, 也许对材料的快速固化作用不大. 如果 CS-Zn^{2+} 络合物以图 4(b) 和 (c) 的结构出现, 则调和物中将有大量的桥接高聚物网络结构. 该网络结构中可包裹有一定量的 n-HA 和 ZnO 粒子以及水分子, 随着 ZnO 中和反应的继续, 释放出的 Zn^{2+} 浓度也较高, 所形成的网络结构也趋于密实, 产生的收缩力有可能将存在于其中的水分子挤出. 同时 CS 与 Ca^{2+} 之间也能形成类似的网络结构, 二者的协同作用使调和物中的水分子排出, 从而实现了复合骨水泥的快速固化, 并赋予固化体较高的初始固化强度 (见表 1 和 2). 随着时间的延长, 固化体中水分排出充分, 其机械强度也相应较高. 本实验中 IR 、 XRD 及 XPS 等测试结果也证实 CS 的氨基与 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 之间发生了相互作用.

5 结论

文中所制备的 n-HA/CS 复合骨水泥在空气、生理盐水、血液或体液中均可快速固化. 通过理化性能研究, 优化了该骨水泥的组成配方, 当 ZnO/复合材料 比为 $1/8$, L/P 为 1.2 mL/g 时, 骨水泥的抗压强度可以满足骨缺损修复材料的要求, 而其对应的固化时间也能够满足临床操作的需要. 骨水泥在介质中快速固化的机理是二价金属阳离子 (Zn^{2+} 、 Ca^{2+}) 与壳聚糖的氨基之间发生络合反应, 形成了密实的网状结构, 其较大的收缩力将存在网络结构中的水分子迅速排出, 实现骨水泥的快速固化, 并赋予固化体较高的固化强度.

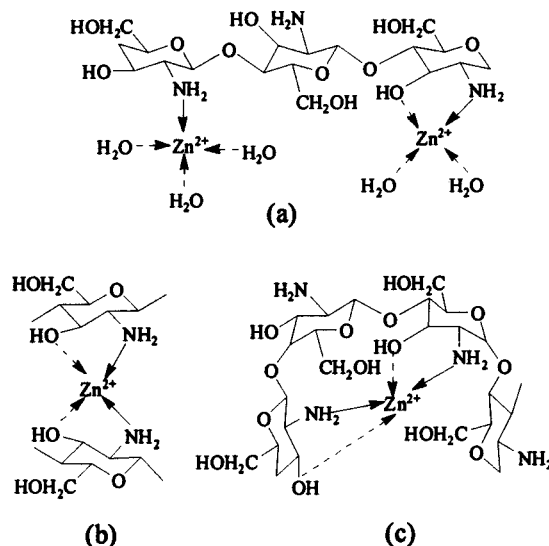


图 4 CS 与 Zn^{2+} 之间形成络合物的可能结合方式示意图

Fig. 4 Reasonable structures of chitosan- Zn^{2+} complexes

参考文献

- [1] Li Y B, Wijn J D, Groot K D, *et al.* *J Mater Sci: Mater Med*, 1994, **5**: 252–255.
- [2] Li Y B, Klein C P A T, Groot K D, *et al.* *J Mater Sci: Mater Med*, 1994, **5**: 263–268.
- [3] Yang Z, Yuan H, Zou P, *et al.* *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 1997, **8** (11): 697–701.
- [4] Chu C L, Lin P H, Dong Y S, *et al.* *Journal of Materials Science Letters*, 2002, **21**: 1793–1798.
- [5] Zhang Y, Zhang M Q. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2002, **62**: 378–386.
- [6] Kumar G, Bristow J F, Smith P J, *et al.* *Polymer*, 2000, **41**: 2157–2163.
- [7] Wang J H, Wei C W, Liu H C, *et al.* *Journal of Biomedical Materials Research*, 2003, **64A**: 606–615.
- [8] Muzzarelli R A A, Biagini G, Debeneditis A, *et al.* *Carbohydrate Polymer*, 2001, **45**: 35–41.
- [9] Sivakumar M, Manjubala I, Panduranga Rao K. *Carbohydrate Polymer*, 2002, **49**: 281–288.
- [10] Zhang Li, Li Yubao, Yang Aiping, *et al.* *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2005, **16** (3): 213–219.
- [11] 张利, 李玉宝, 杨爱萍, 等. 功能材料, 2005, **36** (2): 314–317.
- [12] 陈歌, 蒋电明. 创伤外科杂志, 2002, **4**: 55–58.
- [13] Kweon D K, Lim S T. *Journal of Applied Polymer Science*, 2003, **87** (11): 1784–1789.
- [14] 蒋挺大主编. 壳聚糖. 北京: 化学工业出版社, 2001. 51–89.
- [15] Brugnerotto J, Lizardi J, Goycoolea F M, *et al.* *Polymer*, 2001, **42**: 3569–3580.
- [16] Garnpimol C, Ritthidej, Thawatchai Phaechemud, Tamotsu Koizumi. *International Journal of Pharmaceutics*, 2002, **232**: 11–22.
- [17] Corrado Muzzarelli, Giorgio Tosi, Oriano Francescangeli, *et al.* *Carbohydrate Research*, 2003, **338**: 2247–2255.
- [18] Jia Zhishen, Shen Dongfeng, Xu Weiliang. *Carbohydrate Research*, 2001, **333**: 1–6.
- [19] Juang R S, Wu F C, Tsang R L. *Water Research*, 1999, **33** (10): 2403–2409.
- [20] Wang X H, Li D P, Wang W J, *et al.* *Biomaterials*, 2003, **24**: 3213–3220.
- [21] Sawai J. *Journal of Microbiological Methods*. 2003, **54**: 177–182.
- [22] Wang X, Du Y, Liu H. *Carbohydrate Polymers*, 2004, **56**: 21–26.

Setting Mechanism of Nano-hydroxyapatite/Chitosan Bone Cement

ZHANG Li, LI Yu-Bao, ZHOU Gang, LÜ Guo-Yu, ZUO Yi

(Research Center for Nano-Biomaterials, Analytical & Testing Center, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: A n-HA/chitosan composite cement containing ZnO as the coagulant was prepared, and its physic-chemical properties and the setting mechanism were also investigated. The results showed that both the compressive strength and the corresponding setting time of the cement could meet with the demand in clinic. A chelate having the tight network structure was formed due to the reaction of Zn^{2+} and Ca^{2+} ions with amino group of chitosan, which produced a contractive force. The force extruded H_2O molecules out of the cement body and made the cement set fast, and with higher compressive strength.

Key words nano-hydroxyapatite; chitosan; zinc oxide; coagulant; bone cement