

文章编号:1004-7220(2013)03-0333-05

# nHA/ $\alpha$ -CSH 复合植骨材料的研制及其 固化时间和抗压强度测定

毛克政<sup>1</sup>, 毛克亚<sup>1</sup>, 程自申<sup>1</sup>, 李鹏<sup>1</sup>, 王义国<sup>1</sup>, 肖波<sup>1</sup>, 徐教<sup>1</sup>, 王秀梅<sup>2</sup>, 崔福斋<sup>2</sup>

(1. 解放军总医院 骨科, 北京 100853; 2. 清华大学 材料科学与工程系, 北京 100083)

**摘要:** **目的** 构建纳米羟基磷灰石(nHA)/ $\alpha$ 型半水硫酸钙( $\alpha$ -CSH)复合植骨材料并对其固化性能和机械强度进行观测。**方法** 测试不同液/固比、不同二水硫酸钙(CSD)促凝剂含量条件下复合植骨材料的固化时间和压缩强度,并进行X线衍射(XRD)和扫描电镜(ESM)观察。**结果** 复合骨水泥的固化时间随着nHA的增加而增加,随着CSD的增加而降低。含20% nHA、80%  $\alpha$ -CSH的骨修复材料固化时间为(169  $\pm$  36) min;而含5% nHA、20% CSD、75%  $\alpha$ -CSH的骨修复材料固化时间为(6  $\pm$  1.1) min。抗压强度随着nHA的增加而降低。纯 $\alpha$ -CSH的平均压缩强度为(12.3  $\pm$  2.4) MPa,而含20% nHA、80%  $\alpha$ -CSH的骨修复材料为(4.8  $\pm$  0.6) MPa。XRD检测显示固化后 $\alpha$ -CSH转化为CSD,没有其他物质生成。ESM显示固化后nHA镶嵌在了CSD的晶体结构上,呈两相结构。**结论** 通过调节nHA、 $\alpha$ -CSH和促凝剂CSD的含量可以控制复合骨水泥的固化时间和机械强度,为临床应用提供适宜条件。**关键词:** 半水硫酸钙; 纳米级羟基磷灰石; 复合植骨材料; 固化; 压缩强度

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

## Setting property and compressive strength of nHA/ $\alpha$ -CSH combined bone grafts

MAO Ke-zheng<sup>1</sup>, MAO Ke-ya<sup>1</sup>, CHENG Zi-shen<sup>1</sup>, LI Peng<sup>1</sup>, WANG Yi-guo<sup>1</sup>, XIAO Bo<sup>1</sup>, XU Jiao<sup>1</sup>, WANG Xiu-mei<sup>2</sup>, CUI Fu-zhai<sup>2</sup> (1. Department of Orthopedics, General Hospital of People's Liberation Army, Beijing 100853, China; 2. Department of Materials Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100083, China)

**Abstract: Objective** To develop a new type of combined bone grafts mainly including nanometer hydroxyapatite (n-HA) and  $\alpha$ -calcium sulphate hemihydrate ( $\alpha$ -CSH), and investigate its setting property and compressive strength. **Methods** The setting time and compressive strength of nHA/ $\alpha$ -CSH combined bone grafts with different liquid-to-solid (L/S) ratio or calcium sulphate dehydrate (CSD) amount were measured and observed by the X-ray diffraction (XRD) and the scanning electron microscope (SEM). **Results** The setting time of combined bone grafts was increased along with the increase of L/S ratio or nHA amount, and reduced with the increase of CSD amount. The setting time of the compound with 20% of nHA, 80% of  $\alpha$ -CSH was (169  $\pm$  36) min, while that of the compound with 5% of nHA, 20% of CSD, 75% of  $\alpha$ -CSH was (6  $\pm$  1.1) min. The compressive strength of combined bone grafts reduced along with the increase of nHA amount. The average compressive strength of pure  $\alpha$ -CSH was (12.3  $\pm$  2.4) MPa, while that of the compound with 20% of nHA, 80% of CSH was (4.8  $\pm$  0.6) MPa. The XRD results showed that no other materials were produced except that  $\alpha$ -CSH was transformed to CSD during the setting process. The SEM results indicated that nHA was filled in the crystal structure of the CSD, presenting two-phase structure. **Conclusions** The setting time and compressive strength of nHA/ $\alpha$ -CSH

收稿日期:2012-07-04; 修回日期:2012-08-31

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50830102), 军队“十二五”科技计划项目(CWS11J110)。

通信作者:毛克亚, 副教授, 硕士研究生导师, E-mail: maokeya@sina.com。

combined bone grafts can be adjusted by the different proportion of n-HA, CSD amount and L/S ratio, which provides an appropriate condition for clinical application.

**Key words:** Calcium sulfate hemihydrate; Nanometer hydroxyapatite; Combined bone grafts; Setting; Compressive strength

近年来,拥有自固化性能的可注射性植骨材料已被广泛应用于人类骨组织缺损的填充,其良好的可操作性受到越来越多的重视。硫酸钙骨水泥因其在缺损部位的原位自固化性能、无炎性反应、以及可注射性等优良性能得到了国际材料界和医学界的关注,成为当今骨骼修复材料的研究热点之一<sup>[1]</sup>。然而, $\alpha$ -CSH 骨水泥较低的生物活性和过快的降解速度限制了其在临床上的应用<sup>[2]</sup>。纳米羟基磷灰石(nano-hydroxyapatite, nHA)具有良好的生物相容性,体内降解缓慢,但不具有自固化性能<sup>[3-4]</sup>。本文拟将纳米级羟基磷灰石和 $\alpha$ 型半水硫酸钙复合在一起,优势互补,以制备新型可注射复合植骨材料,检测其固化和力学性能。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

(1) CSD 粉末:二水硫酸钙( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , CSD, Merck, 德国)

(2)  $\alpha$ -CSH 粉末:采用高温高压法,将 20 mL 蒸馏水与 200 g 二水硫酸钙充分混和,搅拌均匀后置于蒸汽压力为 0.13 MPa 的密闭 GSHA-2 型高压反应釜中,升温速度 5  $^\circ\text{C}/\text{min}$ ,加热至 123  $^\circ\text{C}$ ,保持压力恒温加热 7 h,然后取出所制备材料放置在 120  $^\circ\text{C}$  的电热通风干燥箱中干燥 4 h,然后自然冷却至室温(20  $^\circ\text{C}$ ),放入玻璃研钵中充分研磨后过 180 目(83  $\mu\text{m}$ )筛备用。

(3) nHAc 粉末:按照 PinS 的方法提取可溶于酸的 I 型胶原。参照文献[5]方法,将胶原溶液的浓度调整为 0.679 胶原/L 盐酸(0.01 mol/L)。再将  $\text{CaCl}_2$  溶液(1.4 mL, 0.1 mol/L)添加到 10 mL 的胶原溶液中,混匀后静置 10 min。加入  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (0.84 mL, 0.1 mol/L),并用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液将 pH 值调到 7.0。当溶液的 PH 值超过 6.0 时,溶液呈现过饱和状态,磷酸钙开始与胶原形成沉淀。将溶液的 pH 值维持在 7.0, 1 h 后,经 5 000 r/min

的速度离心后得到混合物,用去离子水进行清洗脱盐。将离心和清洗的过程重复 3 次以后将样品冷冻干燥。

(4) 复合植骨材料的混合:nHA 按照不同比率(重量比)与  $\alpha$ -CSH 进行混合,并加入一定量的促凝剂二水硫酸钙(CSD)。将得到的混合物按照不同的液固比与去离子水混合。在烧杯中将混合物搅拌 60 s,搅成质地均匀的糊状。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 XRD 成分测定** 在 37  $^\circ\text{C}$  放置 24 h 后,用 X-射线衍射仪(XRD, D/max—2500X)测定所得到混合物的晶体结构,在以 8 $^\circ/\text{min}$  的扫描速度进行连续扫描( $\lambda = 1.5405 \text{ \AA}$ , 120 nA, 40 kV),扫描范围为 10 $^\circ \sim 60^\circ$ 。

**1.2.2 固化时间测定** 含 nHAc 0%、10%、15% 和 20% 的混合水泥的凝固时间是由 Vicat 仪依据 1509597—1989E 标准在室温中测得。初凝时间是从混合的开始到当轻针(280 g,  $\phi 1.13 \text{ mm}$ )插入糊剂中,并且距管底部有(5 $\pm 1$ ) mm 的距离。终凝时间是当重针(350 g,  $\phi 2.0 \text{ mm}$ )插入时在水泥的表面不再留下可看见痕迹。每个样品重复 5 次。

**1.2.3 抗压强度测定** 抗压强度测试参考 ISO13779-1。固化后的植骨材料样品(直径 10 mm 和高度 20 mm)在 37  $^\circ\text{C}$  放置 7 d。样品的抗压强度在室温下用 ZWICK2005 力学试验机,以 0.5 mm/min 的加载率进行加载,直到圆柱体被压缩到超过初始的长度 30%。压缩模量从应力应变曲线的最初的线性部分出现倾斜开始计算。抗压强度在 15% 应变时计算得出。每个小组的样品测试重复 5 次。

**1.2.4 扫描电镜观察** 部分压碎的试件采用真空干燥后喷金,用扫描电镜观察材料的断裂面。

**1.2.5 统计学分析** 实验数据采用 SPSS 12.0 软件进行处理,所有数据采用均数 $\pm$ 标准差表示,采用方差分析, $P < 0.05$  为有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 XRD 分析

XRD 用来测试含不同比率 nHA 和  $\alpha$ -CSH 的复合植骨材料的晶体构成。凝固后的 nHA/ $\alpha$ -CSH 复合植骨材料的主要成分为 nHA 和 CSD。以 20% nHA/ $\alpha$ -CSH 复合水泥为例, XRD 构象中能检测到 CSD 和 nHA(见图 1(a))。CSD 的出现是由于  $\alpha$ -CSH 发生了水合作用。本实验中 nHAC 和  $\alpha$ -CSH 粉末的衍射和文献中的报导相似(见图 1(b)、(c))<sup>[6]</sup>。

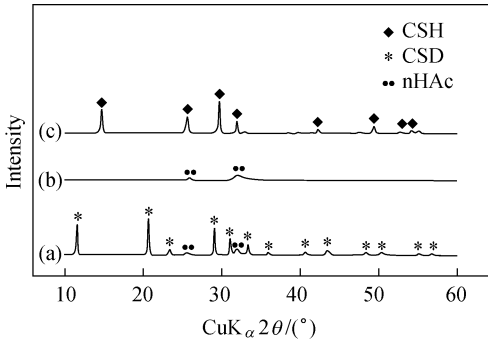


图1 XRD 分析 (a)20% nHA/ $\alpha$ -CSH 复合水泥, (b) nHA 粉末, (c)  $\alpha$ -CSH 粉末

Fig.1 XRD analysis (a)20% nHA/ $\alpha$ -CSH composite cements, (b) nHA powders, (c)  $\alpha$ -CSH powders

### 2.2 固化时间

图 2 显示了不同 nHA 含量、不同液/固比的 nHA/ $\alpha$ -CSH 复合植骨材料的终凝时间。随着 nHAC 含量的增加, 固化时间逐渐延长。纯  $\alpha$ -CSH 的固化时间小于 30 min, 而加入 nHAC 的各组均在 30 min 以上, 显然这一固化时间不能满足临床应用的需。为了解决这一问题, 在复合骨水泥中加入了促凝剂 CSD。图 3 显示了不同促凝剂含量、不同 nHA 含量、不同液固比条件下的骨水泥的终凝时间。可见 CSD 起到了明显的促凝作用, 各组骨水泥的固化时间均较未添加 CSD 有明显降低 ( $P < 0.05$ )。

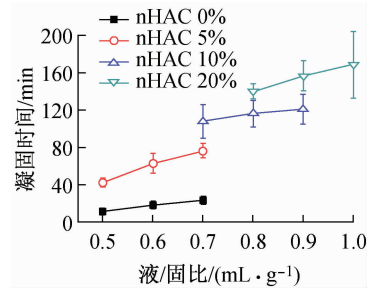


图2 不同液/固比、nHAC 含量的骨水泥的凝固时间

Fig.2 Setting time of the composite cements with different content of nHAC and liquid/solid ratio

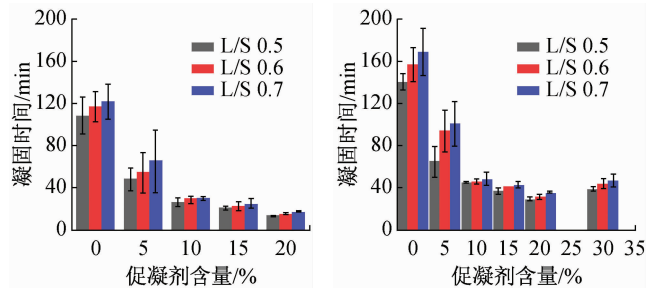
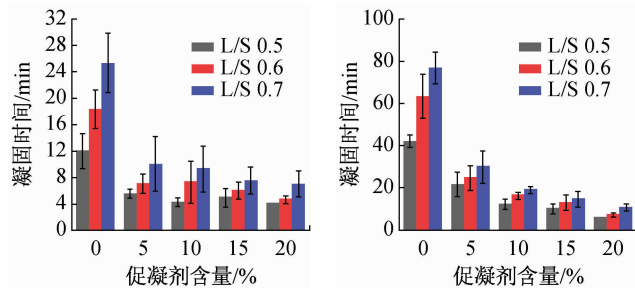


图3 不同 nHAC 含量、液/固比、促凝剂含量下的凝固时间

Fig.3 Setting time of the composite cements with different content of nHAC, CSD and liquid/solid ratio (a)0% nHAC, (b)5% nHAC, (c)10% nHAC, (d)20% nHAC

### 2.3 力学强度测试

不同 nHA 含量、不同促凝剂 CSD 含量下的复合植骨材料的平均压缩强度和平均压缩模量如图 4 所示。随着 nHA 含量增加, 骨水泥的平均压缩强度

和平均压缩模量均逐渐降低, 与纯  $\alpha$ -CSH 之间有显著差异 ( $P < 0.05$ )。而相同 nHA 含量、不同 CSD 含量的骨水泥的平均压缩强度和平均压缩模量之间没有显著差异 ( $P > 0.05$ )。

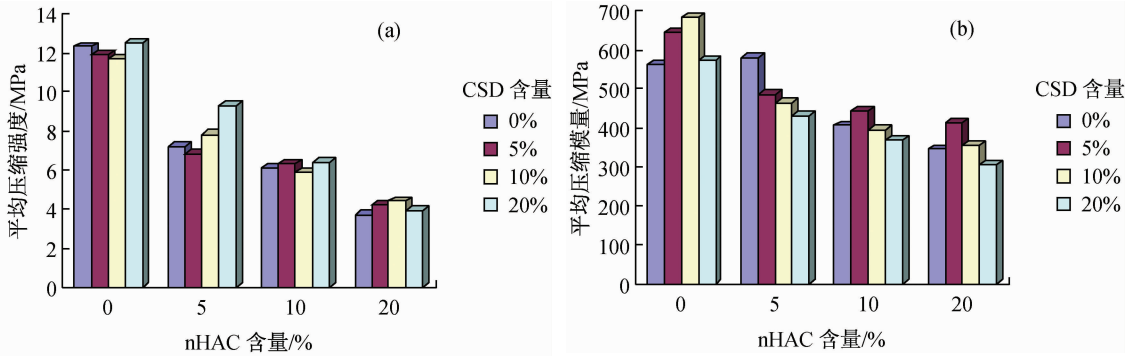


图4 不同 nHAC 含量、不同促凝剂 CSD 含量下的骨水泥的平均压缩强度 (a) 和平均压缩模量 (b)

Fig. 4 Average compressive strength (a) and elastic modulus (b) of the composite cements with different content of nHAC and CSD

## 2.4 电镜扫描结果

不同 nHAC 含量的骨水泥固化后的扫描电镜如图 5 所示。图 5(a) 为不含 nHA 的电镜图片, 实为

CSD, 为板状或片状的晶体结构; 图 5(b) ~ (d) 为不同含量 nHA 的复合骨水泥的电镜图片, 可见 nHA 镶嵌在了 CSD 的晶界处, 呈两相结构。

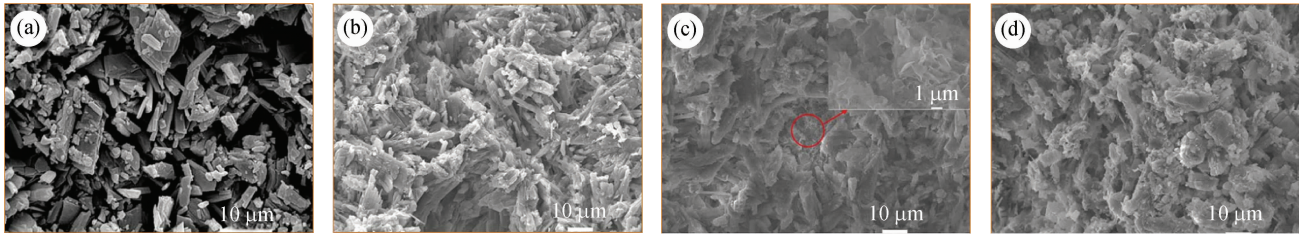


图5 不同 nHAC 含量骨水泥固化后的扫描电镜 (a) nHAC 含量为 0%, (b) nHAC 含量为 5%, (c) nHAC 含量为 10%, (d) nHAC 含量为 20%  
Fig. 5 Microstructure of the composite cements with different content of nHAC observed under ESM (a) 0% nHAC, (b) 5% nHAC, (c) 10% nHAC, (d) 20% nHAC

## 3 讨论

可注射骨修复材料因其微创、高效的特点, 目前正日益受到临床医学和生物材料界的重视。羟基磷灰石 (HA) 是一种经典的骨缺损修复材料, 由于不能原位固化、体内降解慢, 明显限制了其可注射植骨材料领域的应用; 半水硫酸钙 (CSH) 也是一种常用的骨缺损修复材料, 其塑型性能好, 具有原位固化性和可注射性, 目前国外已开发出 CSH 的注射剂型并在创伤、脊柱外科等领域获得了广泛的应用和良好的效果<sup>[7]</sup>。1987 年, Frame 等<sup>[9]</sup> 尝试将 CSH 和 HA 复合, 用复合骨水泥修复犬下颌骨缺损, 不仅塑型和充填性良好, 且成骨性能与 HA + 自体骨相当。国内外学者在早期研究中使用的均为微米级 HA。而近年来已经证实, 纳米级羟基磷灰石 (n-HA) 由于晶体尺度与天然骨接近, 钙磷摩尔比是 1.67, 与天然骨接近, 是更良好的骨修复材料<sup>[10]</sup>。但 nHA 同

样不具有自固化特性, 机械强度较差, 限制了其在临床上的应用。 $\alpha$ -CSH 又称高强石膏, 其固化后压缩强度可达到 20 MPa 以上, 明显高于松质骨的强度, 同时具有自固化特性, 但在体内降解速度过快, 同样限制其临床应用。本研究将 nHA 与  $\alpha$ -CSH 复合, 赋予复合材料自固化的特点, 并改善其力学强度, 从而使其能够修复任意形状的骨缺损, 提高其临床应用的可行性和修复效果。

本实验显示, 复合植骨材料随着液固比的增大, 固化时间在不断延长, 其原因与  $\alpha$ -CSH 固化过程有关。半水硫酸钙是轻度溶水 (9 g/L), 在与水混合后, 过量的水使其达到一定的溶解度后, 很快出现饱和状态并转为二水硫酸钙, 二水硫酸钙的溶解度又仅是半水硫酸钙的 1/4 (2 g/L), 很快形成过饱和溶液。物质溶解度越小, 溶解很少物质, 就能达到饱和状态。结晶在过饱和溶液中析出, 在凝固的过程中原有的晶体, 即为结晶作用的核心, 以结晶核为中心

析出二水硫酸钙的整体结晶,针状的二水硫酸钙晶体彼此交织成网,成为致密坚硬的固体。在整个反应过程中,二水硫酸钙不断析出晶体,半水硫酸钙不断进行水化,生成二水硫酸钙;随着二水硫酸钙的沉淀与结晶生成,新的半水硫酸钙不断通过溶液进行水化作用,反应向生成物方向移动,直到半水硫酸钙全部生成二水硫酸钙为止。

促凝剂是可注射植骨材料中的重要组分。本实验通过加入 CSD 来作为促凝剂以改善 nHA/ $\alpha$ -CSH 复合植骨材料的固化时间。含 10% nHA 的 nHA/ $\alpha$ -CSH 复合植骨材料的终凝时间大于 100 min,已经不能适应临床应用的需。通过加入 20% CSD 可以使终凝时间降低至 13 min,这样就完全能适应临床应用的需。结果表明随着 CSD 含量的增加,nHA/ $\alpha$ -CSH 骨水泥的凝固时间逐渐缩短。其原因是 CSD 加入量越大,凝结过程中其表面吸附的水分就越多,浆体水分愈加减少,不仅黏稠度增大迅速,颗粒之间的摩擦力和黏结力也增强加快,故浆体可塑性迅速减小,材料凝结当然加快。同理,复合材料的凝固也随着 CSD 的加入而增快。

骨水泥的平均压缩强度和平均压缩模量也是随着 nHA 含量的增加而不断降低的,nHA 含量 10% 的复合骨水泥的平均压缩强度约为 6 MPa,明显低于纯  $\alpha$ -CSH 的强度,但仍显著高于松质骨的压缩强度。结果显示 CSD 含量对 nHA/ $\alpha$ -CSH 骨水泥的机械性能没有显著影响,其原因是 CSD 是  $\alpha$ -CSH 的终凝产物,这一点在 XRD 结果中也得到了证实。

复合植骨材料的降解性能是根据两种材料降解速度和比例来决定的。Yang 等<sup>[11]</sup> 在实验中使用 HA 与无水硫酸钙(CSA)混合并在 1 000 °C 煅烧形成复合陶瓷材料,利用 CSA 在水中逐渐形成 CSD 并逐渐降解的过程,形成多孔材料,既增加多孔材料的力学强度又加快其降解速度。本研究同样利用 nHA 和  $\alpha$ -CSH 两种材料降解速度的差异来调节其降解速度,但是其固化性能和降解速度是否能够符合临床需要尚需进一步研究。

## 4 结论

可注射骨水泥的凝固时间和力学性能均可通过调整材料中 nHA 与  $\alpha$ -CSH 及 CSD 的比率来控制。筛选出  $\alpha$ -CSH 含量为 70%、nHA 含量为 10%、CSD

的含量为 20% 的复合骨水泥,其液/固比为 0.7、终凝时间为 13 min、机械强度为 6 MPa,适宜临床应用的需,有良好的临床应用潜力。

## 参考文献:

- [1] Yu X, Xie XH, Yu ZF, *et al.* Augmentation of screw fixation with injectable calcium sulfate bone cement in ovariectomized rats [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2009, 89(1-6): 36-44.
- [2] Orsini G, Ricci J, Searano A, *et al.* Bone-defect healing with calcium-sulfate particles cement: An experimental Study in rabbit [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2004, 68(2): 199-208.
- [3] Cui FZ, Li Y, Ge J, *et al.* Self-assembly of mineralized collagen composites [J]. *Mater Sci Eng R*, 2007, 57(1): 1-27.
- [4] 毛克亚, 李江涛, 杨云, 等.  $\beta$ -TCP/ $\alpha$ -CSH 复合植骨材料固化性能与力学强度[J]. *医用生物力学*, 2010, 25(6): 456-459.  
Mao KY, Li JT, Yang Y, *et al.* Study on the setting property and compressive strength of  $\beta$ -TCP/ $\alpha$ -CSH combined bone graft [J]. *J Med Biomech*, 2010, 25(6): 456-459.
- [5] Zhang W, Liao SS, Cui FZ, *et al.* Hierarchical self-assembly of nano-fibrils in mineralized collagen [J]. *Chem Mater*, 2003, 15(16): 3221-3226.
- [6] Liao, SS, Cui FZ, Zhang W, *et al.* Hierarchically biomimetic bone scaffold materials: Nano-HA/collagen/PLA composite [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2004, 69(2): 158-165.
- [7] Turner H, Urban R, Tomlinson M, *et al.* Early restoration of bone following vertebroplasty using a high strength injectable calcium sulfate bone graft substitute compared to polymethylmethacrylate [J]. *Spine*, 2004, 4(5): 106-107.
- [8] Frame JW, Rout PG, Browne RM, *et al.* Ridge augmentation using solid and porous hydroxyapatite particles with and without autogenous bone or plaster [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 1987, 45(9): 771-778.
- [9] 陈斌, 张智凌, 尹大刚, 等. 胫骨生物复合材料多级微纳米结构的韧性机理[J]. *医用生物力学*, 2011, 26(5): 420-425.  
Chen B, Zhang ZL, Yi DG, *et al.* Toughness mechanism of hierarchical micro-nanostructures from shank bone biocomposite [J]. *J Med Biomech*, 2011, 26(5): 420-425.
- [10] 唐文胜, 蒋电明. 羟基磷灰石及其复合材料在骨修复中的作用及研究进展[J]. *中华创伤骨科杂志*, 2003, 5(4): 370-373.
- [11] Yang DA, Yang Z, Xu L, *et al.* A study of hydroxyapatite calcium sulphate bioceramics [J]. *Ceram Int*, 2005, 31(7): 1021-1023.