

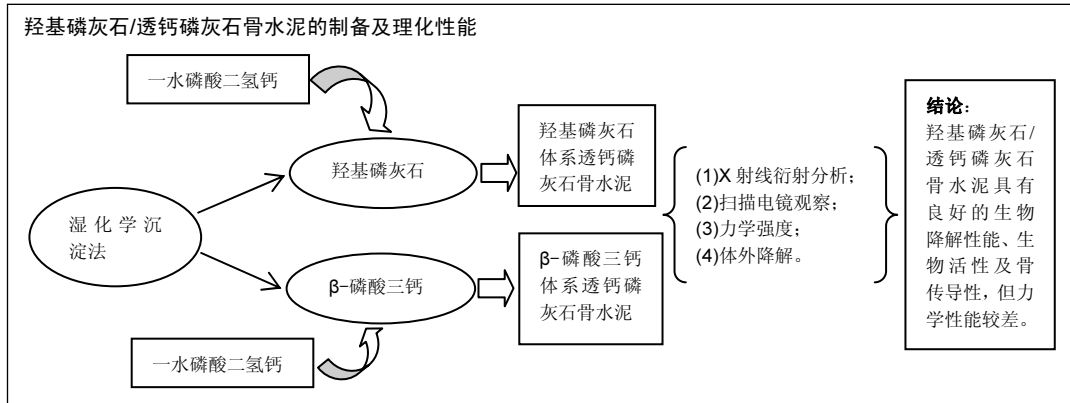
## 羟基磷灰石体系透钙磷灰石骨水泥的理化性能

彭磊, 丁秀明, 陈克伟, 刘建莉, 顾运涛, 卞阳阳, 孟珠龙, 姚江陵, 牟忠林(海南医学院第一附属医院创伤中心, 海南省海口市 570100)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0053

ORCID: 0000-0002-3864-5539(彭磊)

文章快速阅读:



彭磊, 男, 1975年生, 山东省威海市人, 博士, 教授, 主要从事骨材料的研究。

通讯作者: 彭磊, 海南医学院第一附属医院创伤中心, 海南省海口市 570100

中图分类号: R318

文献标识码: A

稿件接受: 2017-09-14



## 文题释义:

**磷酸钙骨水泥:** 根据水化产物将其可分为透钙磷灰石骨水泥和磷灰石类骨水泥, 透钙磷灰石骨水泥在生理环境下溶解度较高, 并能促进新骨的生成; 而磷灰石类骨水泥降解速度非常慢, 一般被视为不可降解, 故透钙磷灰石骨水泥受到更多的关注。

## 摘要

**背景:** 传统的透钙磷灰石骨水泥是将  $\beta$ -磷酸三钙与一水磷酸二氢钙作为反应物, 但将羟基磷灰石作为透钙磷灰石骨水泥反应前体的报道却很少。

**目的:** 验证羟基磷灰石/一水磷酸二氢钙体系是否能够生成透钙磷灰石骨水泥, 并分析其理化性能。

**方法:** 采用湿化学沉淀法分别制备羟基磷灰石和  $\beta$ -磷酸三钙, 再分别与一水磷酸二氢钙以适当比例均匀混合, 加入适量固化液水, 得到羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥和  $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥, 应用 X 射线衍射分析两种材料的结构和组分, 扫描电镜观察两种材料的表面形态, Instron 5567 型万能材料试验机测试两种材料的力学强度。将两种材料分别浸泡于模拟体液中, 检测失重率; 浸泡 14 d 后取出, 再行 X 射线衍射和扫描电镜检测。

**结果与结论:** ①X 射线衍射分析证实, 两种材料均为纯度较高的透钙磷灰石骨水泥; ②扫描电镜显示,  $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥晶体结构更加密集, 形成的孔隙相对较少; 羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥的晶粒较为细小, 结构较为松散, 孔隙数量也较多, 生成的板状晶体小于  $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥晶体; ③ $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥的抗压强度高于羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥 ( $P < 0.05$ ); ④浸泡于模拟体液中后,  $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥不同时间点的失重率均低于羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥 ( $P < 0.05$ ); 在模拟体液中浸泡 14 d 后, X 射线衍射及扫描电镜证实, 两种材料表面均有一层由球状颗粒堆簇而成的羟基磷灰石生成; ⑤结果表明, 羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥具有良好的生物降解性能、生物活性及骨传导性, 但力学性能较差。

## 关键词:

羟基磷灰石/透钙磷灰石;  $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石; 表面形态; 力学强度; 失重率; 生物材料; 国家自然科学基金

## 主题词:

磷酸钙类; 羟基磷灰石类; 磷灰石; 组织工程

## 基金资助:

国家自然科学基金资助项目(81460339); 海南省科技厅资助项目(SF201416); 海南省自然科学基金资助项目(514216); 海南省科技合作专项资助项目(KJHZ2015-05); 海南省卫生厅重点项目课题项目(2013-06)

## Physicochemical properties of hydroxyapatite/dicalcium phosphate dehydrate bone cement

Peng Lei, Ding Xiu-ming, Chen Ke-wei, Liu Jian-li, Gu Yun-tao, Bian Yang-yang, Meng Zhu-long, Yao Jiang-ling, Mu Zhong-lin (Trauma Center, First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570100, Hainan Province, China)

Peng Lei, M.D., Professor, Trauma Center, First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570100, Hainan Province, China

Corresponding author: Peng Lei, Trauma Center, First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570100, Hainan Province, China

## Abstract

**BACKGROUND:**  $\beta$ -tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP) and monocalciumphosphate monohydrate (MCPM) are traditionally considered as reactants for dicalcium phosphate dehydrate (DCPD) bone cement, but little is reported on the hydroxyapatite (HA) as a reactant.

**OBJECTIVE:** To verify whether HA and MCPM can be used to prepare DCPD bone cement and to explore the physicochemical properties.

**METHODS:** The HA and  $\beta$ -TCP were prepared by wet chemical precipitation method, and mixed with appropriate proportion of MCPM. Then, the HA-DCPD and  $\beta$ -TCP-DCPD were obtained by adding a proper amount of curing water. The composition and structure of the two materials were analyzed by X-ray diffraction, the morphology was observed by scanning electron microscope, and the mechanical strength was tested by Instron5567 universal material test machine. These two kinds of materials were placed in simulated body fluid for detecting the weight loss ratio, soaked for 14 days and taken out for X-ray diffraction and scanning electron microscope detection.

**RESULTS AND CONCLUSION:** X-ray diffraction findings indicated that these two kinds of materials both belonged to high-purity DCPD bone cement. Under the scanning electron microscope,  $\beta$ -TCP-DCPD bone cement had dense crystal structure, with less pore number; however, the HA-DCPD bone cement presented with finer grains, loose structure, and higher pore number. With the increase of curing time, the mechanical strength of two kinds of bone cements was correspondingly increased, but the compressive strength of  $\beta$ -TCP-DCPD bone cement was significantly higher than that of HA-DCPD bone cement ( $P < 0.05$ ). In the simulated body fluid, the weight loss ratio of  $\beta$ -TCP-DCPD bone cement was significantly lower than that of HA-DCPD bone cement ( $P < 0.05$ ). At 14 days after soaking in the simulated body fluid, a layer of spherical particles that was formed on the surface of both materials was identified as hydroxyapatite by scanning electron microscope observation and X-ray diffraction analysis. In summary, HA-DCPD bone cement has good biodegradability, excellent bioactivity and bone conductivity, but poor mechanical properties.

**Subject headings:** Calcium Phosphates; Hydroxyapatites; Apatite; Tissue Engineering

**Funding:** the National Natural Science Foundation of China, No. 81460339; the Funding Project of Hainan Provincial Science and Technology Department, No. SF201416; the Natural Science Foundation of Hainan Province, No. 514216; the Science and Technology Cooperation Special Project of Hainan Province, No. KJHZ2015-05; the Key Project of Hainan Provincial Health Department, No. 2013-06

## 0 引言 Introduction

随着人口逐渐增长及老龄化, 因创伤、肿瘤、先天畸形等疾病对植入骨材料的需求不断增多, 驱动了人工骨修复材料的持续、高速发展<sup>[1]</sup>。据美国最新统计, 其每年涉及骨缺损修复的外科手术超过100万人次。而中国现肢体伤残者约为755万人, 因交通、工伤和体育运动等导致的意外损伤正在以每年7.3%的速度递增, 骨移植已成为仅次于输血的重要组织移植, 自体骨和异体骨移植是目前治疗骨缺损的金标准, 但存在二次创伤、出血量大、神经损伤、易感染等并发症<sup>[2]</sup>, 或出现病毒感染、免疫反应等风险<sup>[3]</sup>。因此人工骨材料具有巨大的研究价值和市场前景, 良好的人工骨应具有优良的骨传导性、骨诱导性、生物相容性、足够的机械强度、适宜的降解速率及易获取等特性<sup>[4]</sup>。

磷酸钙骨水泥, 由于具有很好的生物相容性和生物活性被广泛用于矫形外科和牙科<sup>[5]</sup>, 根据水化产物将其可分为透钙磷灰石骨水泥和磷灰石类骨水泥<sup>[6]</sup>。透钙磷灰石骨水泥在生理环境下溶解度较高, 并能促进新骨的生成, 而磷灰石类骨水泥降解速度非常慢, 一般被视为不可降解, 故透钙磷灰石骨水泥受到更多的关注。传统的透钙磷灰石骨水泥是将 $\beta$ -磷酸三钙与一水磷酸二氢钙作为反应物, 从而制备透钙磷灰石骨水泥<sup>[7]</sup>。但将羟基磷灰石作为透钙磷灰石骨水泥反应前体的报道却很少, 实验的目的是验证羟基磷灰石/一水磷酸二氢钙体系能够生成透钙磷灰石骨水泥, 并分别对两种体系骨水泥的制备方案、基本理化性能等进行对比研究。

## 1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 对比观察实验。

1.2 时间及地点 实验于2015年9月至2017年1月在海南医学院第一附属医院完成。

1.3 材料 四水硝酸钙  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4(\text{H}_2\text{O})$ 、磷酸氢铵  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{NH}_4\text{OH}$ 、模拟体液(国药集团化学试剂有限

公司)。

### 1.4 实验方法

1.4.1 羟基磷灰石和 $\beta$ -磷酸三钙体系透钙磷灰石骨水泥的制备

**羟基磷灰石和 $\beta$ -磷酸三钙的制备:** ①采用湿化学沉淀法制备纯羟基磷灰石: 反应物为四水硝酸钙  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4(\text{H}_2\text{O})$ 、磷酸氢铵  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  和  $\text{NH}_4\text{OH}$ 。首先, 将0.152 mol的  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  与0.090 mol的  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  完全溶解在1 450 mL去离子水中。然后, 将340 mL的 25% 的  $\text{NH}_4\text{OH}$  溶液立即加入到上述溶解的透明溶液中, 并放入合适的转子, 放于磁力搅拌器上。将烧杯液体加热到65 °C, 在剧烈搅拌下反应90 min。然后将烧杯用保鲜膜密封, 加热上述溶液至沸腾(Tas, 1995)。沸腾反应2 h后, 将溶液冷却至室温, 并沉淀静置陈化过夜。使用减压过滤方式将真空泵与布氏漏斗结合使用, 将羟基磷灰石前体从母液中过滤回收。将羟基磷灰石前体转移到另一个空的烧杯中, 用去离子水清洗沉淀数次, 直至pH为7.0为止, 随后在用乙醇清洗几次。90 °C电热鼓风干燥箱干燥24 h, 得到羟基磷灰石粉体; ②采用湿化学制备纯 $\beta$ -磷酸三钙: 首先, 0.075 mol的  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  溶解于190 mL去离子水中并加热到40 °C。随后将0.054 mol的  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  溶解于另一个盛有350 mL去离子水的烧杯中。将一半的  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  溶液加入到配置好的  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  溶液中。将所得到的不透明溶液搅拌5 min, 将剩余的一半  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  溶液立即倒入混合的不透明溶液中。同时加入9 mL体积分数为26%的  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 调节混合液的pH值, 使其稳定在5。然后在40 °C下搅拌5 min。此后, 溶液在60 °C下搅拌65 min。最后, 将溶液在搅拌的条件下冷却至室温, 将白色的沉淀在室温下, 陈化静置18 h。将所得到的 $\beta$ -磷酸三钙前体, 使用布氏漏斗从母液中真空抽滤, 滤饼再放入90 °C的电热鼓风干燥箱干燥中干燥24 h, 并将其置于行星式球磨机中, 以200 r/min的转速球磨4 h, 得到 $\beta$ -磷酸三钙粉末。

**透钙磷灰石骨水泥的制备:** 将一水磷酸二氢钙磨碎后,与干燥的羟基磷灰石粉末、 $\beta$ -磷酸三钙粉末分别均匀混合,羟基磷灰石与一水磷酸二氢钙摩尔质量比为1:4, $\beta$ -磷酸三钙与一水磷酸二氢钙的摩尔质量比为1:1,将混合均匀的粉体与固化液水进行调和,其中粉液质量比(P/L)为1.0 g/g。实验中所选取的 $\beta$ -磷酸三钙/一水磷酸二氢钙体系的摩尔质量比是为了和具有等价摩尔质量比的羟基磷灰石/一水磷酸二氢钙体系形成对比,二者选取的摩尔质量比,所生成的骨水泥均为纯的透钙磷灰石骨水泥。

#### 1.4.2 复合材料组分及结构测定

**X射线衍射:** 使用配有铜管和石墨单色仪的德国布鲁克X射线衍射仪对羟基磷灰石、 $\beta$ -磷酸三钙及透钙磷灰石骨水泥的物相进行分析。采用CuK $\alpha$ 2辐射,扫描速度为1 ( $^{\circ}$ )/min,用超能探测器记录 $2\theta=10^{\circ}$ - $60^{\circ}$ 的材料的X射线衍射强度曲线。

**扫描电镜:** 将制备好的透钙磷灰石粉末通过导电胶粘到样品台上,用洗耳球吹掉没有粘贴牢固的粉末,将样品台置于扫描电镜(s2250MK II型, Cambridge Co.)观察晶体结构并拍照。

**1.4.3 复合材料的抗压性能测定** 将调和好的羟基磷灰石/透钙磷灰石和 $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥浆体,迅速填入自制的聚乙烯模具(6 mm $\times$ 12 mm)中,将模具放入37  $^{\circ}$ C、100%湿度的恒温水浴箱24 h,待其自固化完成后,将样品脱模,然后将样品置于37  $^{\circ}$ C、100%湿度的恒温水浴箱中静置1, 5, 7, 14, 21 d,室温干燥,用砂纸轻轻将样品两端打磨平滑,用Instron 5567型万能材料试验机(美国 Instron5567)进行强度测试,每组重复6次。

**1.4.4 模拟体液降解性能检测** 将羟基磷灰石/透钙磷灰石和 $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥制成高3 mm、直径6 mm的圆柱状,将试样置于真空干燥箱中干燥2 d取出,称量试样初始质量 $m_0$ ,按照表面积/体积比为0.1,将试样与模拟体液同时置于玻璃瓶中,浸泡1, 3, 5, 7, 9, 12, 14 d,期间不更换模拟体液。于各时间点取出样品,去离子水轻轻冲洗,自然晾干后置于真空干燥箱中放置2 d,称量浸泡后样品的质量 $m_1$ ,失重率按如下公式计算:

$$W=(m_0-m_1)/m_0$$

式中, $W$ 为失重率, $m_0$ 为样品初始质量, $m_1$ 为样品降解后质量。

在模拟体液中浸泡14 d后,将样品取出,烘干处理后用扫描电镜进行扫描,观察样品表面微观形态。同时使用X射线衍射进行相关分析测定,与浸泡前的样品X射线衍射进行对比,观察是否有物相的改变。

**1.5 主要观察指标** 两种透钙磷灰石骨水泥的理化性能。

**1.6 统计学分析** 所有的数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,应用 SPSS 16.0 软件进行单向方差分析法、 $t$  检验, $P < 0.05$ 为显著性差异有显著性意义。

## 2 结果 Results

**2.1 透钙磷灰石骨水泥的X射线衍射分析** 通过X衍射仪对骨水泥制备过程中的中间产物和最终产品的晶体结构进

行了测试。首先成功制备出了中间产物羟基磷灰石和 $\beta$ -磷酸三钙,最终产物的X射线衍射结果表明生成了新的物相brushite相且为惟一相,该物质为透钙磷灰石(图1)。此结果表明本研究的制备工艺能够成功制备纯度较高的透钙磷灰石材料。

**2.2 透钙磷灰石骨水泥的扫描电镜观察** 两种骨水泥均由细小的透磷酸钙晶粒相互交错而形成水泥结构,晶体形状为多孔的,板状不规则的晶体,沉积成片层状晶体,是典型的透钙磷灰石晶体结构;相较而言, $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥晶体结构更加密集,形成的孔隙相对较少;羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥晶粒较为细小,结构较为松散,孔隙数量也较多,生成的板状晶体小于 $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥晶体(图2),从而对骨水泥的强度和韧性也有一定的影响。

**2.3 透钙磷灰石骨水泥的力学性能** 图3为两种骨水泥养护后的抗压强度,羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥终凝后的抗压强度为0.42 MPa, $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥终凝后的抗压强度为3.92 MPa,组间比较差异有显著性意义( $P < 0.05$ )。随着养护时间增加,两种骨水泥的抗压强度均相应增加,21 d后羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥的抗压强度为6.94 MPa, $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥的抗压强度为9.38 MPa, $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥的抗压强度始终高于羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥( $P < 0.05$ )。

**2.4 透钙磷灰石骨水泥的降解性能** 两组骨水泥在模拟体液中浸泡的质量损失见图4所示,羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥浸泡前3 d的质量损失变化剧烈,而后趋于平缓;降解9 d时,两组材料的质量反而有所增加,这与材料生物活性较好有关,可能有羟基磷灰石层在材料表面沉淀生成而使质量增加,之后材料质量继续减少,表明材料降解持续进行。降解全过程中, $\beta$ -磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥的质量损失变化显著低于羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥( $P < 0.05$ )。

扫描电镜对两种骨水泥降解14 d后的表面进行观察,见图5所示,均有一层由球状颗粒堆簇而成的羟基磷灰石生成,这表明两种骨水泥均具有良好的生物活性,且这层羟基磷灰石的生成也会影响材料的降解。

进一步对上述材料表面进行X射线衍射检测,以明确羟基磷灰石的生成,见图6所示,表面材料表面的确有新物质生成,通过标准图谱比对,该物质为结晶度较低的羟基磷灰石。

## 3 讨论 Discussion

磷酸钙人工骨修复材料受到越来越多科研或临床工作者的关注<sup>[6]</sup>。磷酸钙骨水泥与人体骨有类似的化学成分,同时具有良好的生物相容性、骨引导性、生物活性及易塑性和可注射性等特性<sup>[9]</sup>。1985年,Brown和Chow报道了一种磷酸钙浆体<sup>[10]</sup>,至今对磷酸钙的研究已经持续了近20年。Brown和Chow<sup>[11]</sup>指出,无水磷酸钙二氢钙混合四水磷酸钙后,再与水混合可发生溶解-沉淀反应,通过固化反应产生羟基磷灰石。这种磷酸钙的主要成分是磷灰石,它能在生

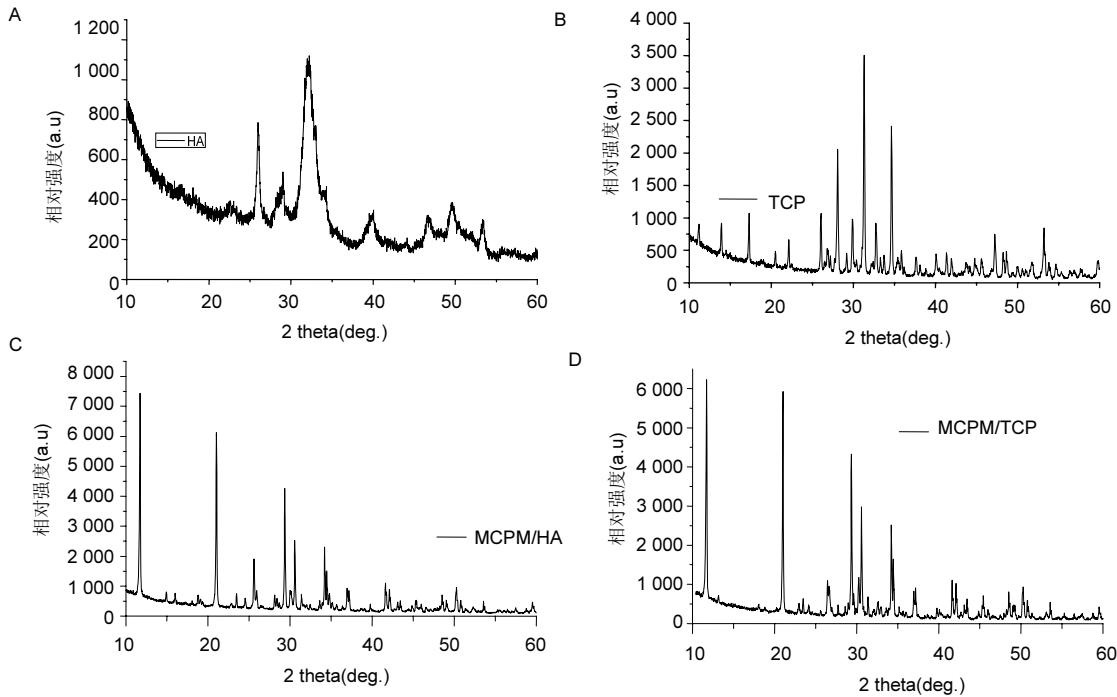
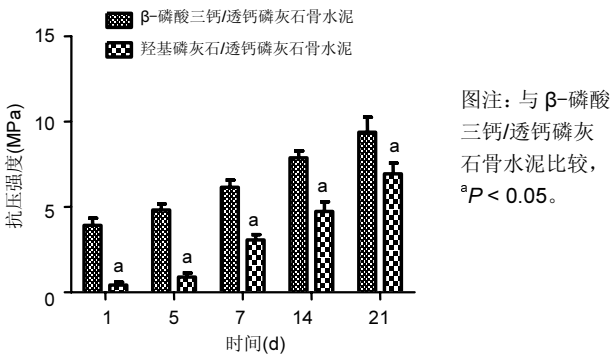


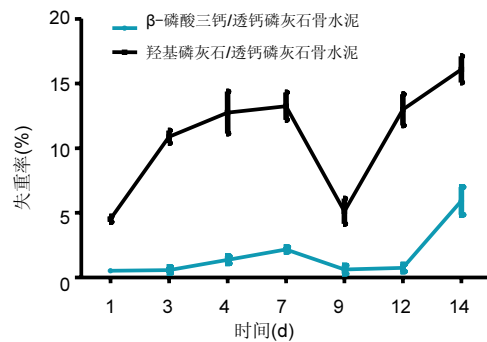
图1 不同材料的X射线衍射分析  
Figure 1 X-ray diffraction spectra of different materials  
图注: 图中A为羟基磷灰石(HA)X射线衍射分析; B为β-磷酸三钙(TCP)X射线衍射分析; C为羟基磷灰石/透钙磷灰石(MCPM)骨水泥X射线衍射分析; D为β-磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥X射线衍射分析。



图注: 与β-磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥比较,  $a P < 0.05$ 。

图3 羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥与β-磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥的抗压强度

Figure 3 Compressive strength of β-tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dehydrate and hydroxyapatite/dicalcium phosphate dehydrate bone cements



图注: β-磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥的质量损失变化显著低于羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥 ( $P < 0.05$ )。

图4 羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥与β-磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥降解过程中的质量损失变化曲线

Figure 4 Time-dependent curve of mass loss during the degradation of β-tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dehydrate and hydroxyapatite/dicalcium phosphate dehydrate bone cements

物体内缓慢降解<sup>[12]</sup>。1989年Mirtchi和Lemaitre报道了另一种磷酸钙系统, 这种磷酸钙的晶体为二水磷酸氢钙<sup>[13]</sup>。目前, 许多不同的磷酸钙骨水泥配方已被开发出来, 但根据磷酸钙的水化终产物可将其分为两类: 透钙磷灰石骨水泥和磷灰石骨水泥。磷灰石骨水泥生物力学性能较好, 对缺损处有很好的力学支撑作用, 但降解性能较差, 其降解速率慢于新骨生成时间, 不适用于骨缺损的修复。而透钙磷灰石骨水泥比磷灰石骨水泥降解性好, 因此在体内更容易被吸收<sup>[14]</sup>, 透钙磷灰石骨水泥的溶解度高于磷灰石骨水泥近15倍<sup>[15]</sup>。传统的透钙磷灰石骨水泥是将β-磷酸三钙与一水磷酸二氢钙作为反应物, 从而制备透钙磷灰石骨水泥。之后的研究中, 一水磷酸二氢钙可被磷酸替换<sup>[16]</sup>。但将羟基磷灰石透钙磷灰石骨水泥反应前体的报道却很少, 理论上, 使用羟基磷灰石替换β-磷酸三钙具有许多潜在优势, 例如可减少骨水泥酸性; 通过离子替换将其他离子( $Mg^{2+}$ )掺入到羟基磷灰石中, 对骨水泥进行改性等<sup>[17]</sup>。

此次研究已证实使用低结晶羟基磷灰石与一水磷酸二氢钙体系可生成透钙磷灰石骨水泥。硬化的两种体系透钙磷灰石骨水泥的扫描电镜可以观察到, 板状、层叠状和片状的晶体存在于透钙磷灰石骨水泥中。透钙磷灰石的大块板状结构使其具备了相对的强度和韧性<sup>[18]</sup>。从扫描电镜图片观察到, 在晶体的板层之间存在着很多孔状结构, 这就为新生骨的长入提供了空间。两种体系骨水泥晶体形态相比较而言, β-磷酸三钙体系透钙磷灰石骨水泥的晶体更加密集, 孔隙相对较少; 羟基磷灰石体系透钙磷灰石骨水泥结构相对松散, 具有较多的孔隙, 且生成的板状晶体较小与β-磷酸三钙制备的透钙磷灰石晶体<sup>[19]</sup>。在骨移植手术中, 骨移植材料需要有足够的强度才能对骨缺损处提供稳定的生物力学支撑, 而晶体的结构势必会影响材料的机械强度等特性。此次研究结果证实, 随着养护时间的延长, 羟基磷灰石体系透钙磷灰石骨水泥的抗压强度始终小于β-磷酸三钙体系透钙磷灰石骨水泥, 羟基磷灰石体系透钙磷灰石

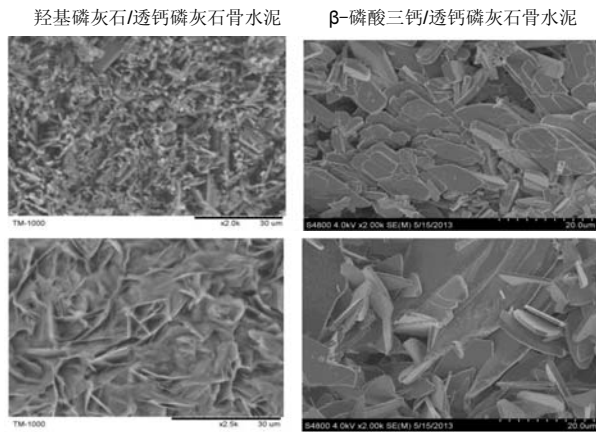


图2 羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥与β-磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥的扫描电镜图片

Figure 2 Scanning electron microscope images of β-tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dehydrate and hydroxyapatite/dicalcium phosphate dehydrate bone cements

图注：两种骨水泥的晶体形状为多孔的，板状不规则的晶体，沉积成片层状晶体，是典型的透钙磷灰石晶体结构；相较而言，β-磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥晶体结构更加密集，形成的孔隙相对较少；羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥晶粒较为细小，结构较为松散，孔隙数量也较多，生成的板状晶体小于β-磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥晶体。

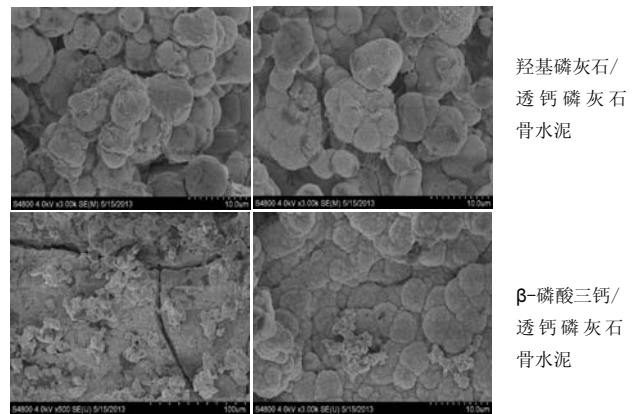


图5 羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥与β-磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥降解14 d后材料表面的扫描电镜图片

Figure 5 Scanning electron microscope images of the surface of β-tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dehydrate and hydroxyapatite/dicalcium phosphate dehydrate bone cements after 14 days of degradation

图注：两种骨水泥均有一层由球状颗粒堆簇而成的羟基磷灰石生成。

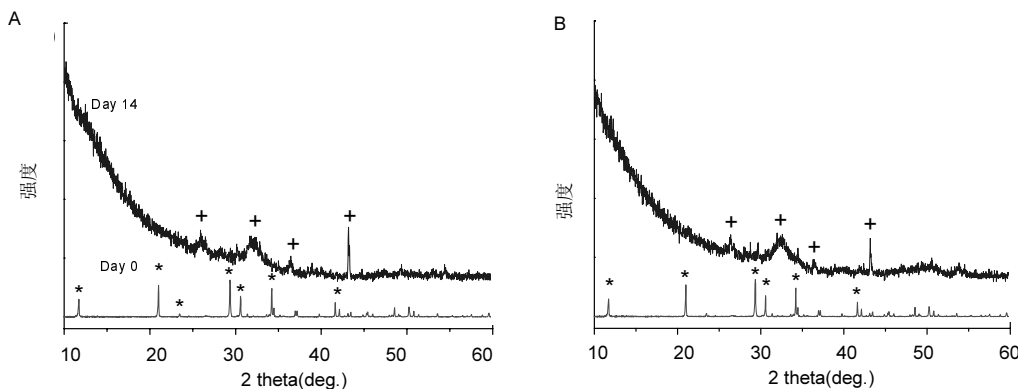


图6 羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥与β-磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥降解14 d后材料表面的X射线衍射图谱

Figure 6 X-ray diffraction spectrum of the surface of β-tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dehydrate and hydroxyapatite/dicalcium phosphate dehydrate bone cements after 14 days of degradation

图注：图中 A 为羟基磷灰石/透钙磷灰石骨水泥的X射线衍射图谱，B 为β-磷酸三钙/透钙磷灰石骨水泥的X射线衍射图谱，两图中下面的曲线为降解之前材料的X射线衍射图谱。两种表面材料表面确有结晶度较低的羟基磷灰石生成。

骨水泥不足以支撑大段骨缺损或较大承重部位的骨缺损，但可将其用于低负荷且形状不规则处的骨缺损，其松散的晶体结构及孔隙为新生骨和血管的长入提供足够的空间。可通过改性以提高透钙磷灰石骨水泥的抗压强度，例如掺入金属离子、添加物或者改变反应物晶体大小等方法进行改性，有待进一步研究。

评估透钙磷灰石骨水泥的降解特性，对于评价其作为人工骨修复材料的有效性必不可少。由于透钙磷灰石骨水泥在生理条件下能够降解吸收，因此透钙磷灰石骨水泥的降解特性一直是研究者的关注焦点。Bohner和Grover等<sup>[20-21]</sup>都通过体外模拟体液浸泡的方法研究β-磷酸三钙体系透钙磷灰石骨水泥的体外降解特性，Gisep等<sup>[22]</sup>也对β-磷酸三钙体系透钙磷灰石骨水泥的体内降解性能进行了相关研究，证实透钙磷灰石骨水泥确实有成分的变化。这些研究主要是探究透钙磷灰石降解是由于自身的溶解还是通过细

胞介导吸收，或是转化为羟基磷灰石。透钙磷灰石骨水泥转化为羟基磷灰石，是因为透钙磷灰石溶解后，溶液相对于羟基磷灰石是过饱和的，同时在pH> 4.2的生理环境下，羟基磷灰石比透钙磷灰石更稳定不易溶解，导致羟基磷灰石的沉淀发生<sup>[23]</sup>。虽然这个转化反应发生缓慢，主要是因为羟基磷灰石晶体生长的动力学所致，但对于骨修复材料具有重要的意义<sup>[24]</sup>。羟基磷灰石在生理环境下溶解度很低，很难被吸收<sup>[25]</sup>，透钙磷灰石骨水泥转化为羟基磷灰石会抑制材料的降解吸收<sup>[26]</sup>。透钙磷灰石骨水泥体外降解的3种促进机制：溶解，崩解和转化<sup>[27]</sup>。溶解机制发生在初期，溶液中钙和磷离子未达到饱和时，其直接导致骨水泥质量的损失。随着溶解程度不断加深，透钙磷灰石骨水泥微观结构发生改变，从而导致透钙磷灰石骨水泥发生崩解，加剧质量损失。一旦溶液达到饱和，必须将溶液中过量的钙与磷离子从溶液中移除，透钙磷灰石骨水泥才能继续溶液，

对于体外封闭的系统, 移除过程只能通过沉淀反应发生。扫描电镜结果显示,  $\beta$ -磷酸三钙体系和羟基磷灰石体系透钙磷灰石骨水泥降解过程中均出现向羟基磷灰石转化的过程, 通过X射线衍射可相互支持印证这一结论。但降解过程中两种体系骨水泥的差异是显著的,  $\beta$ -磷酸三钙体系透钙磷灰石骨水泥质量损失相对较低, 并没有产生急剧的变化, 降解机制中溶解机制是关键, 其向羟基磷灰石转化的过程是一个缓慢的晶体生长过程。而羟基磷灰石体系透钙磷灰石骨水泥则相反, 降解过程中质量损失严重, 同时伴有大量羟基磷灰石生成。最初的羟基磷灰石体系骨水泥中透钙磷灰石晶体是唯一的物相, 与 $\beta$ -磷酸三钙体系骨水泥相比, 在经过14 d降解后, 有很大一部分的羟基磷灰石生成并存在羟基磷灰石体系骨水泥表面, 并因此促进了持续降解的发生。两种体系骨水泥起始物质相同, 而转化成羟基磷灰石的量则明显不同, 很可能的原因就是X射线衍射没有检测到只存在于羟基磷灰石体系中的微量羟基磷灰石晶体发挥了重要作用, 为羟基磷灰石的生成提供了成核位点, 而 $\beta$ -磷酸三钙体系缺乏这种成核位点, 故生成羟基磷灰石的量少且缓慢。

使用羟基磷灰石为基础成分替代 $\beta$ -磷酸三钙制备透钙磷灰石骨水泥, 可延长骨水泥的凝固时间, 由于羟基磷灰石比 $\beta$ -磷酸三钙更难溶, 所以自固化时间会相对延长。另外, 制备羟基磷灰石可使用沉淀方法, 相对于 $\beta$ -磷酸三钙的制备简单, 耗能较少。同时, 羟基磷灰石体系透钙磷灰石骨水泥具有良好的骨传导性及降解性能, 且在模拟体液模型中生成羟基磷灰石, 加速了骨水泥的降解吸收, 同时生成的羟基磷灰石也能对新骨的生成起到引导作用; 板状的晶体形状, 结合紧密且具有一定的孔隙结构, 为植入部位提供一定的力学支撑, 还能为新生骨的长入提供空间。该材料拥有良好的生物降解性能, 优异的生物活性及骨传导性, 是该类材料具有很大临床应用的潜能。但羟基磷灰石体系透钙磷灰石骨水泥仍存在结构相对松散、力学性能较差等问题, 需要通过进一步改性来解决。

**作者贡献:** 彭磊与丁秀明进行实验设计, 顾运涛与陈克伟进行稿件撰写, 姚江陵、卞阳阳与孟珠龙进行实验及资料的收集, 刘建莉与牟忠林进行初稿的审核。

**经费支持:** 该文章接受了“国家自然科学基金资助项目(81460339)”、“海南省科技厅资助项目(SF201416)”、“海南省自然科学基金资助项目(514216)”、“海南省科技合作专项资助项目(KJHZ2015-05)”、“海南省卫生厅重点项目课题项目(2013-06)”的资助。所有作者声明, 经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

**利益冲突:** 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

**伦理问题:** 研究用材料学的实验方案符合相关伦理学要求, 文章的撰写与编辑修改后文章遵守了国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

**文章查重:** 文章出版前已经过CNKI反剽窃文献检测系统进行3次查重。

**文章外审:** 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

**作者声明:** 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

## 4 参考文献 References

- [1] Stafford PR, Norris BL. Reamer-irrigator-aspirator bone graft and bi Masquelet technique for segmental bone defect nonunions: a review of 25 cases. *Injury*. 2010;41 Suppl 2:S72-77.
- [2] Le Nail LR, Stanovici J, Fournier J, et al. Percutaneous grafting with bone marrow autologous concentrate for open tibia fractures: analysis of forty three cases and literature review. *Int Orthop*. 2014;38(9):1845-1853.
- [3] Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury*. 2005;36(3):20-27.
- [4] Lerner T, Griefingholt H, Liljenqvist U. Bone substitutes in scoliosis surgery. *Der Orthopde*. 2009;38(2):181-188.
- [5] 张浩. 无定形磷酸钙对渗透树脂渗透性、颜色稳定性及显微硬度的影响[D]. 南京大学, 2015.
- [6] 周秋娟, 梁永强, 李淑静, 等. 掺锶透钙磷石骨水泥修复家兔牙槽骨缺损的研究[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(4):589-592.
- [7] Mirtchi AA, Lemaître J, Munting E. Calcium phosphate cements: study of the beta-tricalcium phosphate-dicalcium phosphate-calcite cements. *Biomaterials*. 1990;11(2):83-88.
- [8] Grover LM, Knowles JC, Fleming GJP, et al. In vitro ageing of brushite calcium phosphate cement. *Biomaterials*. 2003;24(23):4133-4141.
- [9] 孙明林, 胡蕴玉. 磷酸钙骨水泥的研究和应用进展[J]. 中华骨科杂志, 2002, 22(1):49-52.
- [10] Tung MS, Chow LC, Brown WE. Hydrolysis of dicalcium phosphate dihydrate in the presence or absence of calcium fluoride. *J Dent Res*. 1985;64(1):2-5.
- [11] Chow LC. Calcium phosphate materials: reactor response. *Adv Dent Res*. 1988;2(1):185-186.
- [12] Nilsson M, Fernández E, Sarda S, et al. Characterization of a novel calcium phosphate/sulphate bone cement. *J Biomed Mater Res A*. 2002;61(4):600-607.
- [13] Mirtchi AA, Lemaître J, Munting E. Calcium phosphate cements: study of the beta-tricalcium phosphate--dicalcium phosphate--calcite cements. *Biomaterials*. 1990;11(2):83-88.
- [14] Vereecke G, Lemaître J. Calculation of the solubility diagrams in the system Ca(OH)2-H3PO4-KOH-HNO3-CO2-H2O. *J Cryst Growth*. 1990;104(4):820-832.
- [15] Gisepp A, Wieling R, Bohner M, et al. Resorption patterns of calcium-phosphate cements in bone. *J Biomed Mater Res A*. 2003;66(3):532-540.
- [16] Mariño FT, Torres J, Hamdan M, et al. Advantages of using glycolic acid as a retardant in a brushite forming cement. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007;83(2):571-579.
- [17] Barralet JE, Tremayne M, Lilley KJ, et al. Modification of Calcium Phosphate Cement with  $\alpha$ -Hydroxy Acids and Their Salts. *Chem Mater*. 2005;17(6):1313-1319.
- [18] 杨迪诚, 钟建, 刘涛, 等. 透钙磷石骨水泥制备及其载药性能[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(3):427-433.
- [19] 漆小鹏, 李文, 罗远方, 等. 新型钇-羟基磷灰石骨水泥的制备及性能研究[J]. 材料导报, 2017, 31(13):151-155.
- [20] Bohner M, Merkle HP. In vitro aging of a calcium phosphate cement. *J Mater Sci Mater Med*. 2000;11(3):155-162.
- [21] Xia Z, Grover LM, Huang Y, et al. In vitro biodegradation of three brushite calcium phosphate cements by a macrophage cell-line. *Biomaterials*. 2006;27(26):4557-4565.
- [22] Gisepp A, Wieling R, Bohner M, et al. Resorption patterns of calcium-phosphate cements in bone. *J Biomed Mater Res A*. 2003;66(3):532.
- [23] Fernández E, Gil FJ, Ginebra MP, et al. Calcium phosphate bone cements for clinical applications. Part I: solution chemistry. *J Mater Sci Mater Med*. 1999;10(3):169-176.
- [24] Kokubo T. Bioactive glass ceramics: properties and applications. *Biomaterials*. 1991;12(2):155-163.
- [25] Apelt D, Theiss F, Elwarrak AO, et al. In vivo behavior of three different injectable hydraulic calcium phosphate cements. *Biomaterials*. 2004;25(7-8):1439-1451.
- [26] Theiss F, Apelt D, Brand B, et al. Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement. *Biomaterials*. 2005;26(21):4383-4394.
- [27] 杨晨光. 当归多糖/羟基磷灰石骨组织工程支架的制备及特性研究[D]. 兰州理工大学, 2016.