

多巴胺对磷酸钙骨水泥性能影响的研究

刘宗光 屈树新* 赵军胜 刘 宇 翁 杰

(西南交通大学材料科学与工程学院, 材料先进技术教育部重点实验室, 成都 610031)

摘要: 本研究探讨含儿茶酚的多巴胺对磷酸钙骨水泥(calcium phosphate cement, CPC)的理化性能和体外降解的影响。将多巴胺溶于 Tris-HCl 缓冲液于空气中氧化 2 d, 作为液相与固相粉末混合成型。选取多巴胺浓度、液固比、pH 值三因素, 通过正交试验选取最优组合。采用万能力学试验机、吉尔摩(Gilmore)针、X 射线衍射仪(XRD)、傅立叶红外光谱仪(FTIR)表征含多巴胺 CPC 的理化性能, 用扫描电镜(SEM)观察微观形貌、用紫外可见分光光度计研究含多巴胺 CPC 的体外降解。抗压强度结果表明最优组为多巴胺浓度 $40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、液固比 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 、pH 值 8.5, 最优组 CPC 抗压强度最高, 与空白 CPC 相比具有极显著性差异($p < 0.01$); 最优组 CPC 凝结时间与空白组比较无显著性差异且符合临床要求; XRD 和 FTIR 结果表明多巴胺的加入促进了二水磷酸氢钙(DCPD)的转化; SEM 观察发现多巴胺的加入使 CPC 内部形成了片状结构及较多紧密结合的块状晶体且与空白 CPC 相比孔隙明显减少; 最优组 CPC 体外降解过程中, 多巴胺的累积释放量为加入总量的 29.7%, 且浸泡过程中浸泡液的 pH 变化处于人体安全范围内。

关键词: 磷酸钙骨水泥; 多巴胺; 抗压强度; 正交试验; 降解

中图分类号: TB321; O611.4; O625.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2013)03-0507-09

DOI: 10.3969/j.issn.1001-4861.2013.00.088

Influence of Dopamine on Physicochemical Properties of Calcium Phosphate Cement

LIU Zong-Guang QU Shu-Xin* ZHAO Jun-Sheng LIU Yu WENG Jie

(Key Lab of Advanced Technologies of Materials, Ministry of Education, School of Materials Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China)

Abstract: The aim of this study is to investigate effects of dopamine (DA) on physicochemical properties of calcium phosphate cement (CPC) and *in vitro* degradation of DA from CPC. DA was dissolved in Tris (Hydroxymethyl) aminomethane-hydrochloric acid buffer solution and mixed the solution with CPC powders after oxidized for 2 d in air. Orthogonal test was used to optimize the preparation of CPC with respect to the DA concentration, ratio of liquid to solid and pH values. Compressive tests, Gilmore needle tests, X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) were used to characterize the physicochemical properties of CPC. Scanning electron microscope (SEM) and UV-Vis spectrophotometry were used to observe the micro-morphology of CPC and *in vitro* degradation of DA from CPC, respectively. Compressive test and orthogonal analysis indicated that the optimal combination CPC was DA concentration $40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ratio of liquid to solid $0.3 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ and pH value 8.5, which had the highest compressive strength with significant difference ($p < 0.01$) compared with that of CPC-Blank. Setting time of the optimal combination CPC decreased slight but no significant difference compared to that of CPC-Blank, which could satisfied with the clinical demands. XRD and FTIR demonstrated that the addition of DA promoted the conversion of dicalcium phosphate dehydrate (DCPD).

收稿日期: 2012-09-05。收修改稿日期: 2012-11-08。

973 项目(No.2012CB933602); 国家自然科学基金(No.50975239); 教育部科学技术研究重点项目(No.109137)和中央高校基本科研业务费专项基金(No.SWJTU11CX118, No.SWJTU11ZT05)资助项目。

*通讯联系人。E-mail: qushuxin@home.swjtu.edu.cn, Tel: 028-87601897

SEM found that there were more platy structure, lots of nubbly crystals and less porosity in optimal combination CPC compared with CPC-Blank. Cumulative release of DA from CPC was 29.7% and the pH values of immersion solution were safe for human body during *in vitro* degradation.

Key words: calcium phosphate cement; dopamine; compressive strength; orthogonal test; degradation

磷酸钙骨水泥(CPC)是由一种或多种磷酸钙固相粉末与液相均匀混合,在生理条件下可自固化、具有优良生物相容性和骨传导性的无机骨修复材料^[1-3]。然而由于其力学性能不足,不能作为负重部位的骨替代材料,限制了其在临床上的应用^[4-5]。目前已有大量关于提高其力学性能的研究。胡运生等^[6]研究发现将纤维蛋白胶与CPC构成复合支架可提高CPC的抗压强度。Chewa等^[7]将不同多壁碳纳米管和牛血清蛋白加入CPC中,观察到CPC抗压强度可从1 MPa提高到16 MPa。赵晓云等^[8]研究发现适量锆的加入及较短时间仿生浸泡均可显著改善CPC的抗压强度,并且浸泡过程对固化体抗压强度的影响主要体现在其微观结构的变化。Ginebra等^[9]将4-HMA(4-氨基水杨酸的衍生物)载入CPC中使得CPC的抗压强度提高了25%。Lin等^[10]将多肽接枝共聚物和胶束加入CPC中,抗压强度明显提高。张涛等^[11]在CPC固相配方中添加不同量的氯化钙,制备不同钙磷物质的量比的CPC,发现随着钙磷物质的量比的增加,水化后CPC抗压强度显著提高。

受海洋生物贻贝的超强黏附能力的启发,它们通过足腺细胞分泌出一种超强度黏液黏附在礁石或轮船底部^[12],研究发现其主要成分是贻贝黏附蛋白(mussel adhesive proteins, MAPs),可在海水中凝固成足丝,与基体材料表面形成较强的相互作用。足丝与黏附基体的MAPs界面层中含有大量蛋白质组分Mfp-5(mytilus foot protein 5),其氨基酸序列中含有近30%的L-多巴和15%的赖氨酸残基^[13],L-多巴是赋予MAPs特殊黏附性能的关键成分^[14],其残基儿茶酚的高亲和力和化学多功能性使得贻贝粘液可实现从金属到有机物等不同材料表面的黏附。含儿茶酚官能团的多巴胺(dopamine, DA)结合了L-多巴的儿茶酚官能团和赖氨酸的氨基官能团,被证明也能够实现潮湿环境中对基体表面的黏附^[15-16]。

DA能在水溶液中溶解氧的作用下发生氧化-交联反应,并与材料表面形成具有超强的粘附力的聚多巴胺薄层,研究者利用聚多巴胺超强的粘附力对材料进行表面改性^[17-19],以增强涂层或薄膜与基体

间的结合力,实现基体表面的稳定载药^[20]。

本研究在CPC中加入生物小分子DA,利用其在水溶液中氧化交联后的产物具有潮湿环境下的粘结作用的性质,提高CPC的抗压强度。研究DA对CPC性能如凝结时间、水化产物的影响及含DA的CPC体外降解。

1 材料与试验方法

1.1 试剂及仪器

羟基磷灰石($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HA)和 α -磷酸三钙(α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, α -TCP)购自四川大学生物材料工程研究中心;四水硝酸钙($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)、磷酸氢二铵($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$)和碳酸钙(CaCO_3)均为分析纯,购自成都市科龙化工试剂厂;盐酸多巴胺购自阿法埃莎;三羟甲基氨基甲烷(Tris)和盐酸(HCl)购自成都市裴钰化玻有限公司;二水磷酸氢钙($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, DCPD)为本实验室自制。

万能材料力学试验机(5567, Instron, USA);X射线衍射仪(XRD, x' Pert Pro, Philips, Netherlands);傅立叶红外光谱分析仪(FTIR, 5700, Nicolet, USA);场发射扫描电子显微镜(JSM-7001F, Jeol, Japan);pH计(PHS-3C, 上海精密科学仪器有限公司雷磁仪器厂, 中国);空气浴振荡器(HZQ-C, 东联电子技术开发有限公司, 中国);紫外可见分光光度计(UV-2550, Shimadzu, Japan)。

1.2 材料制备

(1) DA溶液的配制:精密称量盐酸多巴胺,溶于Tris-HCl缓冲液(pH 7.4、pH 8.0和pH 8.5),配置成浓度为20、40和60 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,空气中室温氧化2 d。

(2) CPC的制备:合成DCPD^[21]。采用D型磷酸钙骨水泥配方^[22]:固相为 α -TCP(58wt%)、DCPD(25wt%)、HA(8.5wt%)和 CaCO_3 (8.5wt%),液相为含DA的Tris-HCl缓冲液。

碱性条件下,DA中的邻苯二酚基团很容易被氧化^[13],Herlinger等^[23]研究发现DA反应可以通过pH值来调节。沈卫等^[24]研究发现液固比过大或过小

都会影响 CPC 抗压强度。因此,本研究通过正交试验,以抗压强度为考察指标,考查 DA 的加入浓度、pH 值和液固比(L/P)对 CPC 抗压强度的影响(表 1),选出最优组。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Orthogonal test table with various factor levels

Factors	Levels		
	1	2	3
Dopamine concentration / ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	20	40	60
Ratio of liquid to solid / ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	0.25	0.3	0.35
pH value	7.4	8	8.5

将 CPC 固相粉末充分混合后与液相调和均匀,膏体填入自制不锈钢模具中,底端压平,样品脱模,置于温度为 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度为 100%的电子恒温水浴锅内水化 24 h,制备含不同浓度 DA 的 CPC。

1.3 性能表征

(1) 抗压强度:将正交试验中含不同浓度 DA 的 CPC 固化 24 h 后烘干,将试样上下面磨平,采用万能力学试验机测定抗压强度,加载速度为 $0.5\text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ 。不含 DA 的 CPC 作为空白对照。每组 3 个平行样。

(2) CPC 凝结时间测试:采用 Gilmore 双针法测量含 DA 的最优组 CPC 的初凝时间 (Initial Time, IT)和终凝时间(Final Time, FT),每隔 15 s 测量 1 次,每组 3 个平行样。

(3) XRD 分析:分别将 CPC 粉末及水化 24 h 的 CPC 置于鼓风干燥箱 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘至恒重,研磨,制样。采用 X 射线衍射仪分析 DA 对 CPC 相成分的影响。测定参数:铜靶,电压 40 kV,电流 40 mA,扫描范围: $2\theta=4^{\circ}\sim 60^{\circ}$ 。

(4) FTIR 分析:分别取氧化 2 d 后的含 DA 溶液烘干得到的产物、氧化 2 d 后沉淀清洗后烘干的粉末和最优组 CPC 粉末按照一定的比例与溴化钾均匀混合,研磨,KBr 压片,进行红外光谱分析。

(5) 微观形貌:取抗压强度测试后的样品,采用 SEM 观察最优组 CPC 样品断面的微观形貌。用导电胶将样品固定在铜托盘上,喷金。观察 DA 对 CPC 形貌的影响,不含 DA 的 CPC 作为空白对照。

(6) 将含 DA 的最优组 CPC 试样浸泡在磷酸盐缓冲液 (PBS,pH 7.4) 中,置于温度 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 100%的空气浴振荡器内,振荡速率为 $100\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ [21],模拟含 DA 的 CPC 在体内的降解过程。定

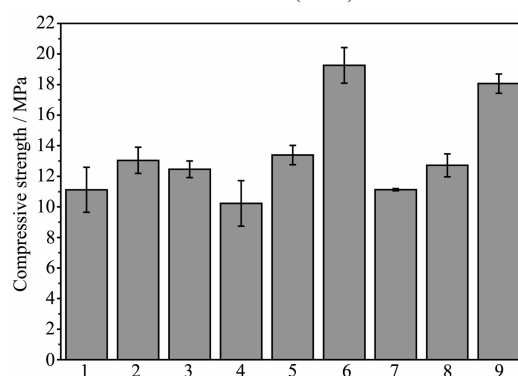
时取出所有液体,并将骨水泥样品洗净,换上同体积的新鲜 PBS [25],用紫外可见分光光度计测定取出 PBS 溶液中的 DA 浓度,测定波长 280 nm [26]。同时测量浸泡过程中溶液 pH 值的变化。

2 结果与讨论

2.1 抗压强度试验结果及极差分析

正交试验组抗压强度试验结果如图 1 所示。其中 DA 浓度 $40\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,液固比 $0.3\text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$,pH 值 8.5 的 CPC 抗压强度最高,为最优组。

对抗压强度做极差分析(表 2)。极差越大则表明



1: $20\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ DA pH 7.4 L/P=0.25, 2: $20\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ DA pH 8.0 L/P=0.3, 3: $20\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ DA pH 8.5 L/P=0.35, 4: $40\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ DA pH 7.4 L/P=0.35, 5: $40\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ DA pH 8.0 L/P=0.25, 6: $40\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ DA pH 8.5 L/P=0.3, 7: $60\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ DA pH 7.4 L/P=0.3, 8: $60\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ DA pH 8.0 L/P=0.35, 9: $60\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ DA pH 8.5 L/P=0.25

图1 正交试验 CPC 抗压强度(n=3)

Fig.1 Compressive strength of CPC by orthogonal test (n=3)

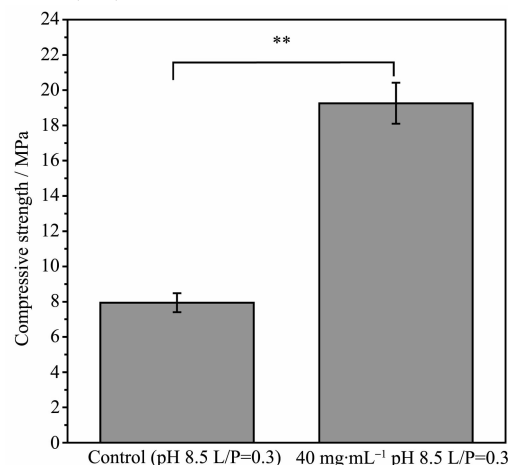


图2 最优组 CPC 与未加 DA 的 CPC 抗压强度 (n=3) (** $p < 0.01$)

Fig.2 Compressive strength of optimal combination CPC and CPC without DA (n=3) (** $p < 0.01$)

表 2 正交试验极差分析表
Table 2 Range analysis of orthogonal test

Code	Factor			Compressivestrength / MPa
	A / (mg·mL ⁻¹)	B / (mL·g ⁻¹)	C	
1	20	0.25	7.4	11.12
2	20	0.3	8	13.04
3	20	0.35	8.5	12.46
4	40	0.25	8	13.39
5	40	0.3	8.5	19.26
6	40	0.35	7.4	10.23
7	60	0.25	8.5	18.07
8	60	0.3	7.4	11.13
9	60	0.35	8	12.72
K ₁	36.62	42.58	32.48	
K ₂	42.88	43.43	39.15	
K ₃	41.92	35.41	49.79	
k ₁	12.21	14.19	10.83	
k ₂	14.29	14.48	13.05	
k ₃	13.97	11.8	16.6	
Range	2.08	2.68	5.77	
Optimal level	40	0.3	8.5	
Optimal combination	Dopamine concentration 40 mg·mL ⁻¹ , ratio of liquid to solid 0.30 mL·g ⁻¹ , pH value 8.5			

*A, B and C indicate dopamine concentration, ratio of liquid to solid and pH value, respectively. K₁, K₂ and K₃ represent the sum of compressive strength when one of dopamine concentration, ratio of liquid to solid and pH value as single factor variable and other two factors as constant. k₁, k₂ and k₃ represent the mean value of K₁, K₂ and K₃, respectively. Range is difference between the maximum value and the minimum value of k₁, k₂ and k₃.

该因素影响越大^[27],因此,由表 2 可知 pH 值对 CPC 力学性能影响最大,液固比次之,DA 浓度影响最小。

由图 2 可知,最优组 CPC 抗压强度与未加 DA 的 CPC 抗压强度相比,具有极显著性差异($p < 0.01$)。

2.2 凝结时间测定

图 3 为最优组 CPC 及空白 CPC 凝结时间结果。

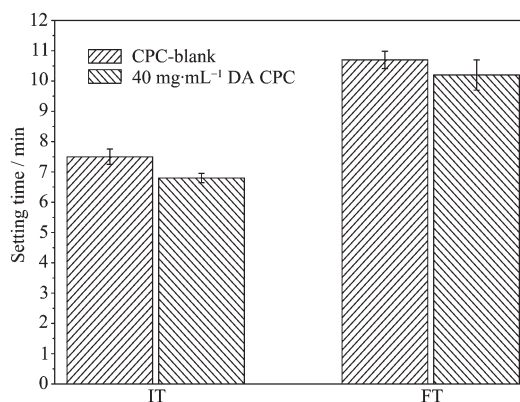


图 3 最优组 CPC 及空白 CPC 凝结时间测定($n=3$)

Fig.3 Setting time of optimal combination CPC and CPC-Blank ($n=3$)

从图 3 可以看出最优组 CPC 的初凝、终凝时间略有下降,但与空白 CPC 的凝结时间无显著性差异。可能是由于聚多巴胺的粘接作用,使固相粉末在成型时更易结合在一起,提高了 CPC 的凝结速率。两组 CPC 的初凝时间和终凝时间均满足临床应用需要,即 $4 \text{ min} \leq \text{IT} \leq 8 \text{ min}$ 和 $10 \text{ min} \leq \text{FT} \leq 15 \text{ min}$ ^[28]。

2.3 XRD 结果

图 4 为 CPC 粉末与含 DA 的 CPC 水化 24 h 后 CPC 的 XRD 图。 $2\theta=11.68^\circ$ 、 29.40° 、 30.70° 和 31.77° 分别为 DCPD、CaCO₃、 α -TCP 和 HA 主极大晶面对应的衍射角。当多相混合物衍射时,一般各相的衍射线的强度,与该相的含量呈正相关性,通过衍射强度的变化,可反映各相含量的变化。

从图 4 中可以看出,与磷酸钙固相粉末相比,所有试样水化 24 h 后,DCPD 衍射峰强度下降最为明显, α -TCP 的衍射峰强度微弱下降,CaCO₃ 衍射峰下降介于两者中间,这是因为 DCPD、CaCO₃ 溶度积($K_{sp}=1 \times 10^{-7}$ 、 2.8×10^{-9})较大易溶解而沉积形成低结晶的 HA;而 α -TCP 溶度积($K_{sp}=2.0 \times 10^{-29}$)较小相对不易

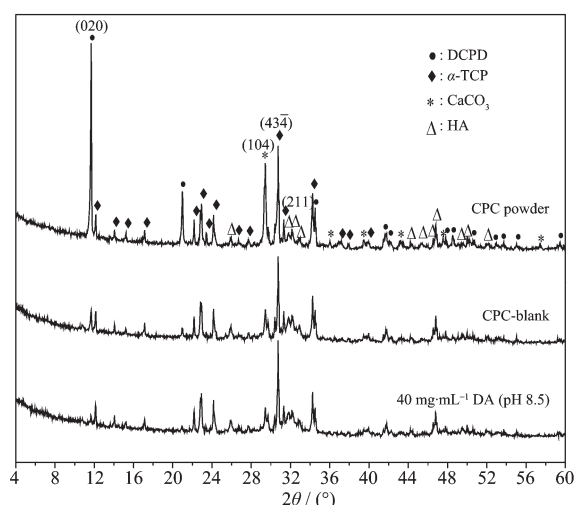


图4 CPC粉末、空白CPC和最优组CPC水化24 h后XRD图

Fig.4 XRD patterns of CPC powder, optimal combination CPC and CPC-Blank after hydration for 24 h

溶解,且含量最多(58wt.%),所以转化较少而衍射峰强度下降有限^[29]。

与空白CPC的衍射峰相比,加入DA后的CPC试样的衍射峰位置和形状没有明显差异,表明DA的加入并没有改变CPC的相成分,但DCPD的主

大(020)晶面的衍射峰强度降低,说明DA的加入促进了DCPD的转化。Kim等^[30]研究发现DA在 CaCO_3 的球霏石相表面沉积能固定球霏石,同时使钙离子在球霏石微球表面富集,达到过饱和状态,诱导HA的形成。Lee等^[31]研究也发现DA的加入促进了HA的结晶。

本研究中,DA的加入促进DCPD转化示意图如图5所示。(a)为CPC成型初期DCPD未水化时的分布,(b)为水化一段时间后,DCPD溶解出钙离子和磷酸根离子,并被DA固定在其周围。钙离子富集并与磷酸根离子形成新的磷酸钙(CaP),如图(c)所示。由于钙离子浓度降低,又继续促进DCPD溶解(d),最终转化成HA。

但是从XRD图中可见HA含量无明显增加,主要是因为在一个较高的饱和浓度体系中,钙离子和磷酸根离子首先反应,自发生成一种非晶态白色磷酸钙的沉淀。这种生成速度较快的HA的前驱体,是一种亚稳态的磷酸盐,将经过一些中间相,进一步在水溶液中转化为热力学稳定相羟基磷灰石^[32]。

2.4 红外试验结果

在碱性条件下,DA被氧化成醌式结构,形成多巴醌,再与DA发生反歧化反应,形成两个半醌自由

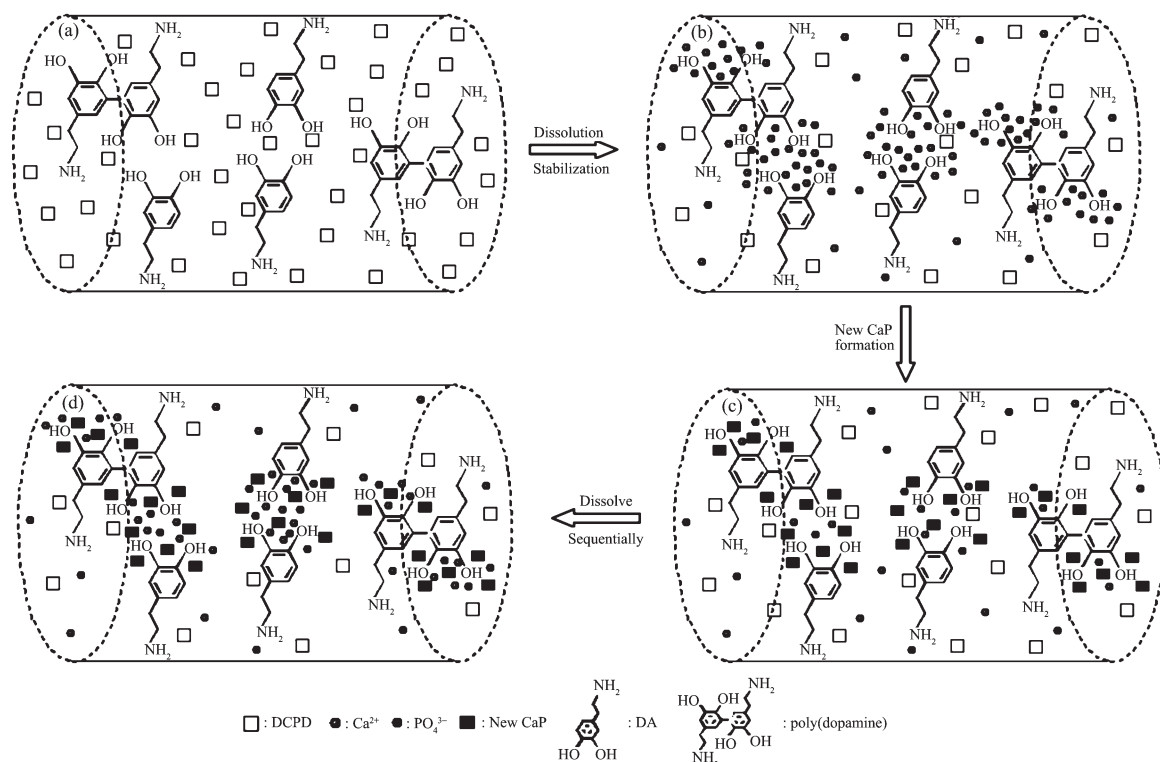


图5 DA促进DCPD转化示意图

Fig.5 Schematic diagram of DA promoted the conversion of DCPD

基,最后形成交联结构。DA 在碱性溶液中的可能发生的反应如图 6 所示^[13]。

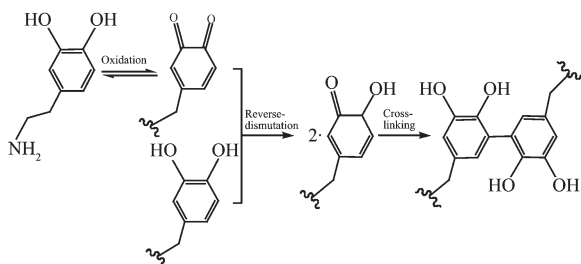


图 6 DA 在碱性溶液中的交联^[13]

Fig.6 Cross-linking of dopamine in alkaline solution^[13]

由反应过程可见 DA 在溶液中最终的存在方式是聚多巴胺(Pdop)。图 7 为 DA、含 DA 溶液氧化后得到的产物 (Drying Product) 和用蒸馏水清洗后沉淀 (Pdop) 的红外图谱。图中 $3\ 373\text{ cm}^{-1}$ 为氨基的吸收峰, $3\ 250\text{ cm}^{-1}$ 为羟基的吸收峰, $1\ 471\text{ cm}^{-1}$ 为亚甲基的剪式弯曲振动, $1\ 611\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\ 497\text{ cm}^{-1}$ 为苯环 C=C 伸缩振动, $1\ 280\text{ cm}^{-1}$ 为苯环与羟基 C-O 的吸收峰。

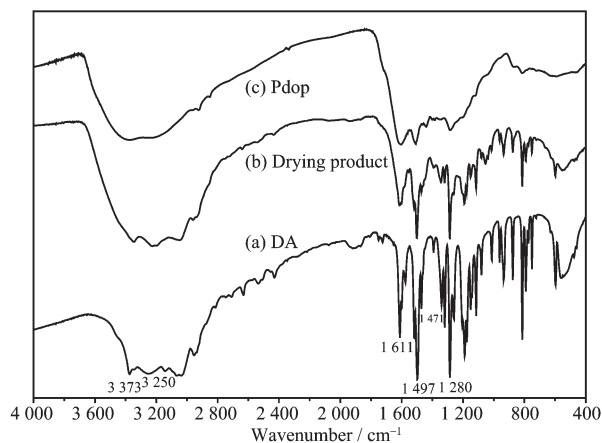


图 7 DA、DA 溶液氧化 2 d 烘干的粉末(Drying Product)、聚多巴胺(Pdop)红外图谱

Fig.7 FTIR spectra of DA, Drying Product and Pdop after oxidized for 2 d

含 DA 的溶液烘干后产物(Drying Product)的红外图谱与 DA 的红外图谱基本一致,主要是因为 DA 在碱性的 Tris-HCl 缓冲液中交联后会在溶液表面形成一层 Pdop 膜,阻止氧气的进入,致使溶液中存在未被氧化的 DA。将氧化 2 d 的含 DA 的溶液加入 CPC 中,同样会有部分 DA 没有被氧化聚合成 Pdop。将氧化 2 d 后的溶液用蒸馏水反复清洗,洗去溶液中的易溶于水的 DA,得到了黑色的沉淀 (Pdop),烘干后红外图谱发现其与 DA 红外图谱相比

较更简单,但仍有羟基、氨基、苯环骨架振动的吸收峰,主要是因为 Pdop 的结构呈现对称性,而单体聚合后,由于形成对称结构,造成 2 种或 2 种以上振动方式的频率相同,发生简并现象,而且样品受红外光照射时,必须伴随着偶极矩变化的振动才能产生吸收,由于对称结构使部分官能团偶极矩变化为零,即不产生红外吸收峰^[33]。

所以,氧化 2 d 的含 DA 溶液可以分为 3 层,溶液顶层的 Pdop 膜,中间 DA 溶液层和底部黑色不溶于水的 Pdop 颗粒层。因此加入 CPC 的 DA 包括 DA 和 Pdop。

图 8 为最优组 CPC 样品 $400\sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$ 红外图,从图中可以看出,加入 DA 的 CPC 红外图谱与空白 CPC 红外图谱一致,主要为羟基、磷酸根和碳酸根的红外吸收峰,没有发现 DA 的官能团(如苯环的骨架振动),可能是由于 DA 的含量较少,未被检测出。同时,加入 DA 的 CPC 的特征吸收峰相对空白 CPC 特征吸收峰位没有出现红移或蓝移,说明 DA 的加入没有与 CPC 形成键合或对 CPC 产生明显的影响。

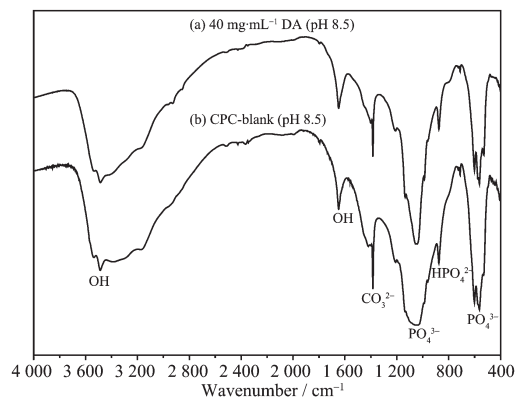
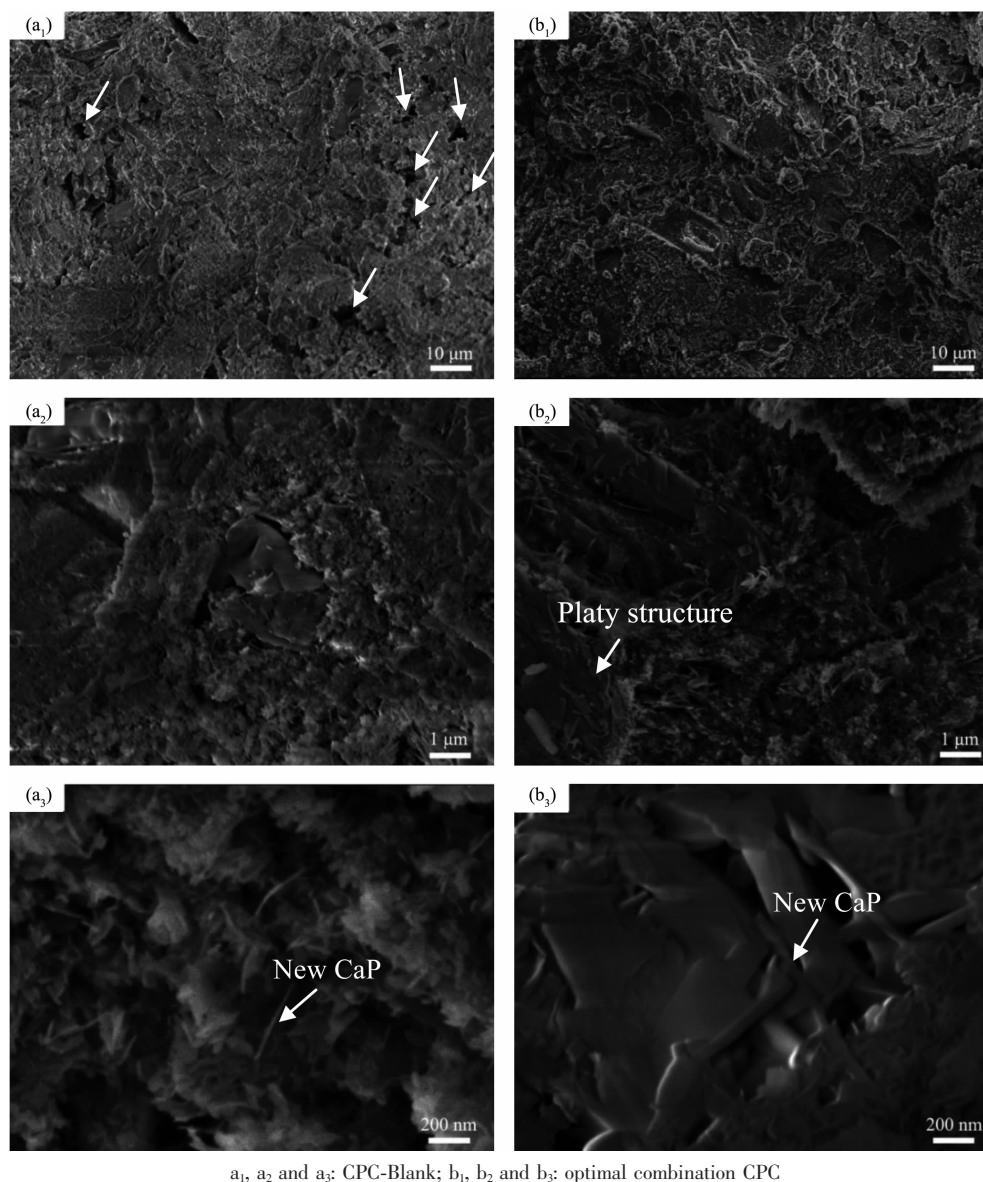


图 8 最优组 CPC 与空白 CPC 红外图谱

Fig.8 FTIR spectra of optimal combination CPC and CPC-Blank

2.5 扫描电镜

图 9 为最优组 CPC 和空白 CPC 断面的扫描电镜图片。从图 9a₁ 可以看出,水化 24 h 后空白 CPC 存在较多的孔洞(箭头所示),图 9a₂ 的高倍图片中可见颗粒间结合较疏松,而最优组 CPC 在低倍下观察(图 9b₁)到相对较少的孔隙,高倍下(图 9b₂)可见颗粒间结合较空白 CPC 致密,且水化 24 h 后出现较多片状结构,且片与片之间结合紧密。万鹏等^[34]研究发现含丙烯酸有机固化液在水化反应初期,固相粉末被有机固化液所包裹,随后,在有机/无机接触的界



a₁, a₂ and a₃: CPC-Blank; b₁, b₂ and b₃: optimal combination CPC

图9 水化24 h后空白CPC和最优组CPC断面的微观形貌

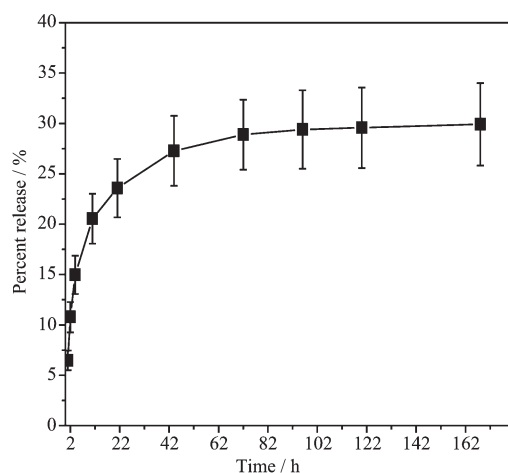
Fig.9 SEM images of CPC-Blank and optimal combination CPC after hydration for 24 h

面水化反应开始进行,在原位有片层状生长,随着反应的进一步进行,新生长出的晶体轮廓逐渐清晰,并相互连接成片,构成层状晶片搭建的结构,同时在固化液中加入有机物,在局部出现了短棒状晶体,相对定向有序排列的微观结构,结合有机相的网络状结构,形成有机/无机镶嵌复合进而达到原位增强。本研究中加入的DA溶液和Pdop可能起到类似的作用,从而提高了CPC的力学性能。更高倍(图9a₃)观察,发现空白CPC中形成了少量的针状物(箭头所示),推测是形成了新的磷酸钙盐,最优组CPC(图9b₃)可以观察到形成了较多块状的晶体(箭头所示),且紧密结合,是由于钙磷离子定向沉积长大形成的,

说明DA的加入可以促进磷酸钙盐的水化及钙、磷离子的沉积,这一点与XRD结果一致。

2.6 体外降解

图10为最优组(40 mg·mL⁻¹ DA、L/P=0.3 mL·g⁻¹、pH 8.5)CPC体外降解DA累积释放与时间的关系。可以看出,浸泡过程中DA的累积释放在20 h之内存在一个突释,主要由于本研究是将DA加入液相中与粉末调和,可认为DA均匀的分布在CPC中,其中DA易溶于水,在PBS中浸泡时,由于存在较大的浓度梯度,CPC表面的DA快速溶解,形成突释。浸泡72 h后,DA的累积释放趋于稳定,可能是由于CPC表面DA释放基本结束,而CPC内层的

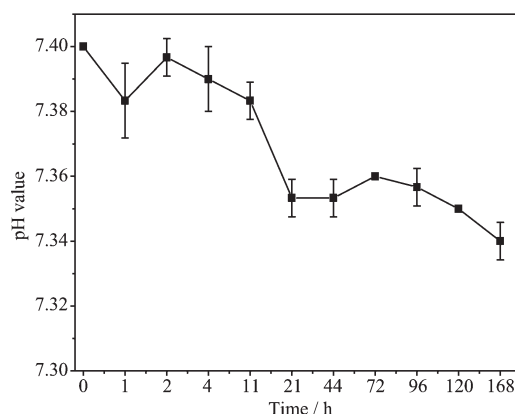
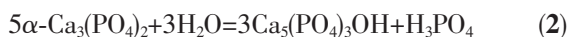
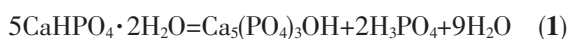
图 10 最优组 CPC 中 DA 累积释放与时间关系($n=3$)Fig.10 Cumulative release of dopamine from optimal combination CPC with time ($n=3$)

DA 需要较长时间和适当的途径才能扩散至溶液中,因此,释放速率减慢,并趋于稳定^[21]。DA 累计释放量为加入总量的 29.7%,主要是由于含 DA 的溶液是氧化聚合 2 d 后加入的,大部分 DA 都被氧化聚合成不溶于水的 Pdop,包括顶层的 Pdop 膜和底部的 Pdop 颗粒,在浸泡过程中不释放,只有中间层的 DA 溶液中含有的 DA 才能溶于水释放,与红外结果一致。

另外,参照国药准字 H44022388,盐酸多巴胺在体内很快通过单胺氧化酶及儿茶酚-氧位-甲基转移酶(COMT)的作用,在肝、肾及血浆中降解成无活性的化合物。约 80% 在 24 h 内排出,尿液内以代谢物为主,极小部分为原形。因此,可推断由于 DA 加入量较少,在大量体液的冲洗及器官代谢下,基本不会对人体造成危害。Ku 等^[17]将 Pdop 改性后的基体与成骨细胞培养,发现 Pdop 对成骨细胞无毒性,并且有利于成骨细胞的粘附。因此,在骨水泥中加入 DA 可能具有一定的生物相容性。

图 11 为最优组 CPC 在浸泡过程中 pH 值的变化,pH 值变化在 CPC 临床应用中具有重要意义,一般要求保持 7.2~7.4 之间。每次换液后 pH 都降低,根据文献和 XRD 结果的分析^[35-36],CPC 在 PBS 溶液中可以发生如式(1)~(4)的化学反应,其中伴随着磷酸钙盐转化会产生磷酸。

CPC 各相转化方程式为:

图 11 最优组 CPC 在浸泡过程中 PBS 的 pH 值的变化($n=3$)Fig.11 Change of pH value of PBS during immersion of optimal combination CPC ($n=3$)

从变化曲线可以看出,pH 变化处于人体安全范围内,对人体细胞、组织刺激小。

3 结 论

(1) 正交设计结果显示,抗压强度最优组为 DA 浓度 $40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、液固比 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 pH 8.5 的 CPC;最优组 CPC 的抗压强度极显著性高于空白 CPC 的抗压强度;由于 DA 的粘接性能,缩短了最优组 CPC 的凝固时间,但与空白 CPC 的没有显著性差异;

(2) 红外结果显示,加入的包括 DA 和 Pdop,不影响 CPC 转化过程中的相成分。XRD 结果表明 DA 的加入促进了 DCPD 的转化,加快了水化进程,并结合扫描电镜观察到其内形成了片层状结构及紧密结合的新磷酸钙,减少了孔隙,提高了 CPC 的抗压强度;

(3) 体外降解试验表明,由于的 Pdop 的作用,使得 DA 在浸泡过程中释放了加入总量的 29.7%,并且 pH 变化处于人体安全范围内。

本研究为提高 CPC 力学性能提供一条新路径,具有潜在的应用前景。

参考文献:

- [1] Espanol M, Perez R A, Montufar E B, et al. *Acta. Biomater.*, **2009**,**5**:2752-2762
- [2] Nezafati N, Moztarzadeh F, Hesaraki S, et al. *Ceram. Int.*, **2011**,**37**:927-934

- [3] WEI Jie(魏杰), LIU Chang-Sheng(刘昌胜), HONG Hua(洪华), et al. *Chinese J. Inorg. Chem. (Wuji Huaxue Xuebao)*, **2006**, **22**(4):765-770
- [4] ZHAO Ping(赵萍), SUN Kang-Ning(孙康宁), ZHU Guang-Nan(朱广楠). *J. Chin. Ceram. Soc. (Guisuanyan Xuebao)*, **2005**, **33**(1):32-35, 46
- [5] MA Li-Xin(马立新), YANG Nan-Ru(杨南如), CHEN Jian-Hua(陈建华). *J. Ceram. (Taoci Xuebao)*, **2003**, **24**(2):98-102
- [6] HU Yun-Sheng(胡运生), FAN Qing-Yu(范清宇), MA Bao-An(马保安), et al. *J. Funct. Mater. (Gongneng Cailiao)*, **2006**, **4**(37):607-610
- [7] Chewa K K, Lowa K L, Zeina S H S, et al. *J. Mech. Behav. Biomed.*, **2011**, **4**(3):331-339
- [8] ZHAO Xiao-Yun(赵晓云), GUO Da-Gang(郭大刚), HAN Yong(憨勇), et al. *Chinese J. Inorg. Chem. (Wuji Huaxue Xuebao)*, **2005**, **20**(5):1167-1173
- [9] Ginebra M P, Rilliard A, Fernández E, et al. *J. Biomed. Mater. Res.*, **2001**, **57**(1):113-118
- [10] Lin J, Zhang S, Chen T, et al. *J. Biomed. Mater. Res.*, **2006**, **76**(2):432-439
- [11] ZHANG Tao(张涛), GAO Jie-Wei(高杰维), QU Shu-Xin(屈树新), et al. *Chinese J. Inorg. Chem. (Wuji Huaxue Xuebao)*, **2010**, **26**(6):957-962
- [12] SUN Pei-Yu(孙培育), TIAN Li-Ying(田立颖), ZHEN Zhen(郑震), et al. *Acta Polym. Sin. (Gaofenzi Xuebao)*, **2009**, **8**:803-808
- [13] XU You-Yi(徐又一), JIANG Jin-Hong(蒋金泓), ZHU Li-Ping(朱利平), et al. *Membr. Sci. Technol. (Mo Kexue Yu Jishu)*, **2011**, **31**(3):32-38
- [14] Yin M, Yuan Y, Liu C S, et al. *Biomaterials*, **2009**, **30**:2764-2773
- [15] Waite J H. *Nat. Mater.*, **2008**, **7**:8-9
- [16] Lee H, Dellatore S M, Miller W M, et al. *Science*, **2007**, **318**:426-430
- [17] Ku S H, Ryu J, Hong S K, et al. *Biomaterials*, **2010**, **31**:2535-2541
- [18] Fei B, Qian B, Yang Z, et al. *Carbon*, **2008**, **46**:1795-1797
- [19] Kang S M, You I, Cho W K, et al. *Angew. Chem. Int. Edit.*, **2010**, **49**:9401-9404
- [20] XIE Bin(谢宾), LI Gui-Cai(李贵才), DAI Lu(代璐), et al. *Chem. J. Chinese Universities (Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao)*, **2012**, **33**(1):90-95
- [21] JIANG Xiao-Xin(姜晓鑫), QU Shu-Xin(屈树新), LIN Sun-Zhong(林孙忠), et al. *J. Inorg. Mater. (Wuji Cailiao Xuebao)*, **2011**, **26**(1):29-37
- [22] Oreffo R O C, Driessens F C M, Planell J A, et al. *Biomaterials*, **1998**, **19**(20):1845-1854
- [23] Herlinger E, Jameson R F, Linert W. *J. Chem. Soc. Pakistan.*, **1995**, **2**:259-263
- [24] SHEN Wei(沈卫), GU Yan-Fang(顾燕芳), LIU Chang-Sheng(刘昌胜). *J. East. Chin. Univ. Sci. Technol. (Huadong Ligong Daxue Xuebao)*, **1997**, **23**(5):580-584
- [25] GAO Cheng-Ying(郜成莹), YE Jian-Dong(叶建东). *Mater. Rev. (Cailiao Daobao)*, **2008**, **22**(3):151-154
- [26] 国家药典委员会. *Chinese Pharmacopoeia: Vol.2* (中华人民共和国药典:第2部). Beijing: Medicine Science and Technology Press of China, **2010**.
- [27] ZHANG Rong-Fa(张荣发), LIAO Ai-Di(廖爱娣), ZHANG Shu-Fang(张淑芳), et al. *Chin. J. Nonferrous. Metal (Zhongguo Youse Jinshu Xuebao)*, **2011**, **21**(4):927-931
- [28] Ginebra M P, Fernández E, Boltong M G, et al. *Clin. Mater.*, **1994**, **17**(2):99-104
- [29] LI Mao-Hong(李茂红), QU Shu-Xin(屈树新), YAO Ning(姚宁), et al. *J. Inorg. Mater. (Wuji Cailiao Xuebao)*, **2010**, **25**(5):507-511
- [30] Kim S, Park C B. *Biomaterials*, **2010**, **31**:6628-6634
- [31] Lee M, Ku S H, Ryu J, et al. *J. Mater. Chem.*, **2010**, **20**:8848-8853
- [32] QU Shu-Xin(屈树新). *Thesis for the Doctorate of Sichuan University* (四川大学博士学位论文). **2002**.
- [33] CHEN Hou(陈厚). *Analysis Test and Research Methods of Polymer Materials. 1st Ed* (高分子材料分析测试与研究方法.1版). Beijing: Chemical Industry Press, **2011**.
- [34] WAN Peng(万鹏), TONG Hua(童华), ZHU Ming-Yan(朱明彦), et al. *Proceedings of Second Chinese Biological Compound Material Conference* (第二届中国生物复台材料研讨会论文集). Tianjin:[s.n.], **2005**:202-207
- [35] Bohner M. *Injury*, **2000**, **31**:37-47
- [36] GUO Yue-Hua(郭悦华). *Thesis for the Master of Southwest Jiaotong University* (西南交通大学硕士学位论文). **2008**.