

羟基磷灰石/氧化石墨烯/氢氧化镁复合涂层镁-钙合金的耐蚀性及骨折修复效果研究

陈何维¹, 袁波¹, 王林楠², 杨曦², 朱向东¹, 宋跃明², 张兴栋¹

(1. 四川大学 生物材料工程研究中心, 四川 成都 610064)

(2. 四川大学 华西医院骨科, 四川 成都 610041)

摘要: 镁金属在生理环境中的降解速率和生物活性改善有助于其在生物医用领域的应用推广, 合金化处理和表面改性是 2 种有效的途径。本研究针对镁-钙合金 (ZQ) 提出一种新的改性方法, 利用水热处理、电泳沉积和电化学沉积相结合, 在其表面上构建羟基磷灰石/氧化石墨烯/氢氧化镁 (HA/GO/Mg(OH)₂) 复合涂层。扫描电镜 (SEM) 和 X 射线衍射 (XRD) 分析证实, 该复合涂层样品 (ZQ-HEP) 表面逐层形成了外层纳米薄片 HA、中层絮片状 GO、及内层 Mg(OH)₂ 纳米片的复合涂层。体外电化学耐腐蚀性测试分析表明, 涂层化的 ZQ-HEP 比未处理 ZQ 样品在磷酸缓冲盐溶液 (PBS) 中有更优的耐蚀性。通过构建的体内兔股骨骨折模型, 评价表面改性前后 ZQ 样品的骨折修复效果。术后大体观察、影像学和组织学分析证实, 体内生理环境下 ZQ-HEP 螺钉的析氢速率比 ZQ 螺钉低, 皮下气肿现象减少。同时, ZQ-HEP 螺钉因其更优的耐蚀性, 在术后 4 周内可较好地保持其材料的完整性, 同时介导更多的新骨长入, 进而实现骨折的快速愈合。本研究提出的 GO/HA/Mg(OH)₂ 复合涂层构建策略, 可在调控镁金属降解速率的同时, 显著提升其成骨修复效果, 具有良好的临床应用前景。

关键词: 镁合金; 氧化石墨烯; 羟基磷灰石; 耐蚀性; 骨折修复

中图分类号: TG146.22; TG174.44

文献标识码: A

文章编号: 1002-185X(2021)10-3698-09

长期以来, 传统的医用金属如钛及钛合金、不锈钢等因其良好的机械性能而被广泛应用于骨科植入物领域。尽管如此, 这些材料仍存在一些难以解决的问题, 如它们与人体骨组织的弹性模量相差较大, 植入后易产生应力屏蔽效应, 进而降低植入体周围的骨质吸收, 影响骨折愈合甚至引发二次骨折^[1]。此外, 它们在人体内服役过程中会因腐蚀、磨损等产生碎屑并释放有害金属离子, 导致炎症、骨质溶解的潜在风险, 常需二次手术取出, 增加了病人风险和经济负担^[2]。近年来, 具有较低弹性模量和良好生物相容性的可降解金属, 如镁、锌和铁等, 开始得到人们的广泛关注。其中, 针对镁金属的研究较为普遍且取得良好进展, 作为内固定器械的镁螺钉在临床骨科领域已实现商业化应用。但是, 镁金属在生理环境中降解速度过快, 常引发一系列的副反应, 如过量释放的氢气、局部强碱性、植入物机械完整性的快速丢失等, 严重影响其临床应用的效果和范围。因此, 如何调控镁金属在生理环境中的腐蚀降解行为已是当前生物材料领域研究的热点和重点。

近年来, 各国研究者已开发和利用多种不同的技术手段及方法, 以期提升镁金属的耐蚀性, 进而调控其在生理环境中的降解特性。合金化处理是最为常用的方法, 通过在镁基质中添加适量合金元素, 如锌 (Zn)、钙 (Ca)、锰 (Mn) 和锶 (Sr) 等, 可有效改善镁金属的耐蚀性和机械强度。其中, Mg-Ca 合金的研究甚多。Wan 等人^[3]研究发现 Mg-0.6Ca (质量分数, %, 下同) 在模拟体液中表现出较好的耐蚀性, 并发现加入过量的 Ca 会因 Mg₂Ca 相的大量存在而导致其耐蚀性降低。Harandi 等人^[4]也发现少量 Ca (2%) 的加入提高了纯镁的耐蚀性, 但进一步增加 Ca 含量会导致腐蚀速率的增加。

虽然合金化处理可在一定程度上提高镁金属的机械强度和耐蚀性, 但仍难以满足临床实际要求, 特别是用于承力部位骨修复的要求^[5-7]。为此, 研究者们尝试应用表面改性或涂层构建技术来进一步改善镁金属的耐蚀性。其中, 水热处理作为一种简单、高效、绿色环保的方法常被用于镁金属的表面处理^[8]。Zhu 等人^[9]以去离子水作为介质, 通过水热处理在 AZ31 镁合金表面构筑了

收稿日期: 2020-10-20

基金项目: 四川省青年科技创新研究团队项目 (2019JDTD0008)

作者简介: 陈何维, 男, 1995 年生, 硕士生, 四川大学生物材料工程研究中心, 四川 成都 610064, 电话: 028-85470770, E-mail: 1941508509@qq.com

成分以 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 为主的薄膜保护层, 有效提升了基底的耐蚀性, 同时改善了材料表面的亲水性。Jeong 等人^[8]以 10%NaOH 作为介质, 利用碱热处理在 AZ31 合金表面也构建了类似的 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 薄膜涂层, 其电化学分析结果显示该钝化薄膜层较好地提升了基体的耐蚀性。除此之外, 微弧氧化、电化学和溶胶-凝胶法等也被用于镁金属表面耐蚀性涂层的构建。Tang 等人^[10]的研究结果显示, 通过微弧氧化技术所构建的钛酸钙涂层可显著提升 AZ31 镁合金基体的耐蚀性。Shang 等人^[11]研究了电化学镀镍层在不同时间下(3、5、10、30、60、90 min)对 AZ91 镁合金耐蚀性的提升效果, 其结果显示化学镀镍 60 min 时, 耐蚀性提升效果最好。Harada 等人^[12]采用溶胶-凝胶法在 AZ80 镁合金表面成功制备了单层(CeO_2 或 MgO)和双层(CeO_2/MgO)陶瓷薄膜, 发现单双层陶瓷涂层都提高了 AZ80 镁合金基体的耐蚀性, 且双层陶瓷涂层的耐蚀性提升效果要优于单层涂层。

对于镁金属而言, 除提高其耐腐蚀性外, 赋予其优异的成骨活性也是保证其实现骨缺损修复长期效果的关键。因此, 在提升镁金属耐蚀性的同时, 引入更多的成骨活性因素, 有可能实现镁金属体内降解和新骨生成速率的良好适配。氧化石墨烯(GO)是一种由单层碳原子组成的二维纳米材料, 其表面装饰有大量的羟基、环氧氧化物、羰基和羧基等官能团, 具有良好的生物相容性、成骨和抗菌活性^[13]。前期研究表明, GO 及 GO 涂层的构建能够促进成纤维细胞、成肌细胞、成骨细胞和神经细胞的黏附、增殖以及干细胞的成骨分化^[14]。Khiabani 等人^[15]在等离子体电解氧化(PEO)处理后的 AZ91 镁合金表面上通过电泳沉积制备了 GO 涂层, 发现 PEO/GO 复合涂层的耐蚀性相对于 PEO 涂层和未改性基体都得到了显著提升。Gao 等人^[13]的研究进一步证实, 镁合金表面引入 GO 或构建 GO 复合涂层可显著提高其耐蚀性, 并在一定程度上改善其生物相容性。羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)是人体骨组织中的主要无机成分, 具有良好的生物相容性、骨传导及骨诱导性, 已作为填充物或活性涂层被广泛用于临床骨修复相关领域^[16]。Jamesh 等人^[17]和 Song 等人^[18]分别在纯镁和 AZ91D 镁合金表面通过电化学沉积制备出了 HA 涂层, 并证实 HA 涂层可明显提高基体的耐蚀性和生物活性。

本研究以 Mg-0.8Ca 合金(ZQ)为研究对象, 通过水热处理、电泳沉积和电化学沉积 3 种表面改性技术的结合, 在 ZQ 表面逐层构建出 HA/GO/ $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 复合涂层(ZQ-HEP), 以进一步提高其耐蚀性和成骨活性。体外的电化学耐蚀性测试, 以及体内的兔股骨髁骨折模型构建和评价, 证实了 ZQ-HEP 耐蚀性和成骨活性的有效提升。

1 实验

1.1 样品制备

本研究所用 ZQ 镁合金样品由合作单位罗马尼亚布加勒斯特大学 Antoniac 课题组提供^[19], 经机械加工制成平板样品(10 mm×10 mm×1 mm)和螺钉样品(M 3.0 mm×8.0 mm)分别用于材料表征、体外研究和体内动物实验研究。所有样品均经过 SiC 砂纸(200#~1200#)逐级打磨和抛光, 再依次用无水乙醇, 丙酮和去离子水各超声清洗 15 min, 室温干燥后用于后续表面处理。具体制备过程如下: (1) 在反应釜中加入配置好的 NaOH 溶液(pH=12), 将预处理好的 ZQ 样品置入釜中, 然后在 120 °C 烘箱中恒温处理 12 h。试样取出后用去离子水冲洗样品并干燥, 得到水热处理(HT)样品, 命名为 ZQ-HT; (2) 以 $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$ 作分散剂, $\text{Al}_2(\text{OH})_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 作电介质, 加入配置好的 GO 沉积液。采用恒流直压法对 ZQ-HT 样品进行电泳沉积(EPD), 其中镁合金样品作阴极, 石墨电极圈作阳极, 工作电压 120 V, 电流 0.1 A, 时间 20 min。电泳沉积后用去离子水冲洗样品并干燥, 得到电泳沉积样品, 命名为 ZQ-HE; (3) 用 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液作电解质, 分别加入配置好的 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2.5 mol/L) 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (1.5 mol/L) 溶液各 2 mL, 钙磷比为 1.67。利用电化学工作站(PARSTAT2773, 普林斯顿应用研究公司, 美国), 以 ZQ-EPD 样品为工作电极, 石墨电极环作辅助电极, 饱和甘汞电极(SCE)为参比电极。在标准三电极电解槽中进行脉冲电化学沉积(PED), 实验参数分别为 0 V (时间为 10 s) 和 24 V (时间为 1 s), 循环次数为 100。电化学沉积后用去离子水冲洗样品并干燥, 得到电化学沉积样品, 命名为 ZQ-HEP。

1.2 材料表征

利用场发射扫描电子显微镜(FE-SEM, S4800, Hitach, 日本)观察不同 ZQ 样品的表面及断面形貌特征, 同时利用能谱仪(EDS)对样品表面元素进行分析。通过 X 射线衍射仪(XRD, DX-1000, 丹东方圆仪器有限公司, 中国)分析材料表面物相组成。

1.3 电化学耐蚀性测试

以磷酸缓冲盐溶液(PBS)为介质, 利用电化学工作站(PARSTAT2773, 普林斯顿应用研究公司, 美国)在室温下进行电化学腐蚀试验, 包括开路电位(OCP)、电化学阻抗谱(EIS)和动电位极化(PDP)测试。以饱和甘汞电极(SCE)为参比电极, 空心石墨圆柱体为对电极, ZQ 样品为工作电极, 在三电极电化学池上进行。通过施加频率范围为 10 kHz 至 10 MHz 的 10 mV 交流信号, 在开路电位下进行 EIS 测试。在 -2.2~-0.6 V 的电位

范围内,以 1.67 mV s^{-1} 的扫描速率获得 PDP 曲线。所有电位数据在饱和甘汞电极 (SCE) 上记录,所有的测试都独立进行 3 次,以获得平均值。

1.4 体内动物实验

1.4.1 手术方法

本动物实验研究获得了四川大学动物管理和使用委员会同意,符合相关管理规定和操作规范,实验动物为新西兰雄性成熟大白兔(均重: $2.5 \pm 0.5 \text{ kg}$) 4 只,均由四川大学动物中心提供。为确认和保证动物处于健康状态,并使其适应生存环境,所有动物购置后均在温度 $25 \text{ }^\circ\text{C}$,湿度小于 80% 的恒温环境中饲养观察一周后再进行手术。用 3% 戊巴比妥钠按照 30 mg/kg 剂量经兔耳源静脉缓慢推入,对实验动物进行全身麻醉。大腿部位褪毛后,用碘伏对手术部位及周边表皮进行常规消毒。膝关节外侧表皮皮肤开口 5 cm ,分离肌肉后暴露出股骨髁。利用电钻配合锯片从关节靠内斜侧低速切割,直至两侧骨组织裂开不相连。暂时复位后,利用小孔径钻头 (2 mm) 钻孔,外径 3 mm 丝锥攻丝 7 mm 后植入螺钉,皮肤和皮下组织用丝线层层缝合。在截骨及钻孔过程中,需持续用生理盐水冲洗缺损部位,防止温度过高造成缺损部位周边骨组织损伤。将实验动物分成 2 组: ZQ 螺钉 2 只, ZQ-HEP 螺钉 2 只。术后 3 d 青霉素 8 万 U、链霉素 0.5 g/d 肌注。每日监测有无明显跛行、感染、螺丝外露和食欲不振等症状。

1.4.2 大体观察及 X 线扫描

术后观察并记录兔子手术部位出血、红肿、化脓、感染、螺钉外漏等反应,以及外观体征、一般行为活动、精神状态、呼吸状态、死亡等情况。术后 1、2、3 周时,利用 Smart Plus 型 X 光机(天杰,中国) (70 kV , 2 mA , 0.05 s) 拍摄植入部位正位 X 片,观察螺钉降解情况、骨折部位骨质改变情况。

1.4.3 组织学观察

术后 4 周时,对实验动物进行过量戊巴比妥钠注射处死,取出骨组织样本,去除植入体周边软组织后进行初步观察并记录修复情况。观察完后,样本浸没 4% 多聚甲醛固定 7 d。利用 70%, 80%, 90%, 95%, 100% 的乙醇溶液进行梯度脱水,每次脱水周期为 3 d,最后再将样本用聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA) 进行包埋处理。利用金刚石组织切片 (SAT-001, 傲立劲, 中国) 在已包埋好的样本上纵向切取厚度为 $100 \text{ }\mu\text{m}$ 左右的组织切片。将其打磨抛光至 $50 \text{ }\mu\text{m}$ 后转移至载玻片上,利用亚甲基蓝和碱性品红对其进行染色处理。染色完成后,以树脂封片,晾干后将切片置于倒置显微镜 (Bx60, 奥林巴斯, 日本) 下观察并拍片。

2 结果与讨论

2.1 材料表面特性

利用 SEM 和 EDS 对不同表面改性处理 ZQ 样品的表面形貌和元素组成进行了表征。如图 1a 所示,二元 ZQ 合金主要由 $\alpha\text{-Mg}$ 基体相(灰色区域)和第二相成分(白色区域)组成,其中第二相沿着晶界连续分布^[19]。经过水热处理后, ZQ-HT 表面出现了大量纳米片状物质,EDS 证实其主要元素成分为 O 和 Mg (图 1b)。进一步经电泳沉积后的 ZQ-HE 样品,表面原来的纳米片状层被大量涟漪状的絮状物质所覆盖,其主要元素成分为 C、O 和 Mg (图 1c)。而最后经电化学沉积处理后的 ZQ-HEP 样品,表面再次形成了纳米薄片状涂层,其主要元素成分 Ca、P 和 O (图 1d)。经断面 SEM 观察发现,3 种涂层的厚度依次约为 1.5 、 0.3 、 $4.0 \text{ }\mu\text{m}$ (图 2)。进一步的 XRD 图谱(图 3)显示, ZQ 组存在 $\alpha\text{-Mg}$ 、 Mg_2Ca 特征峰,而 ZQ-HEP 组则同时出现了 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 、GO 和 HA 相关特征峰^[20,21]。由此分析, ZQ 镁合金中的第二相

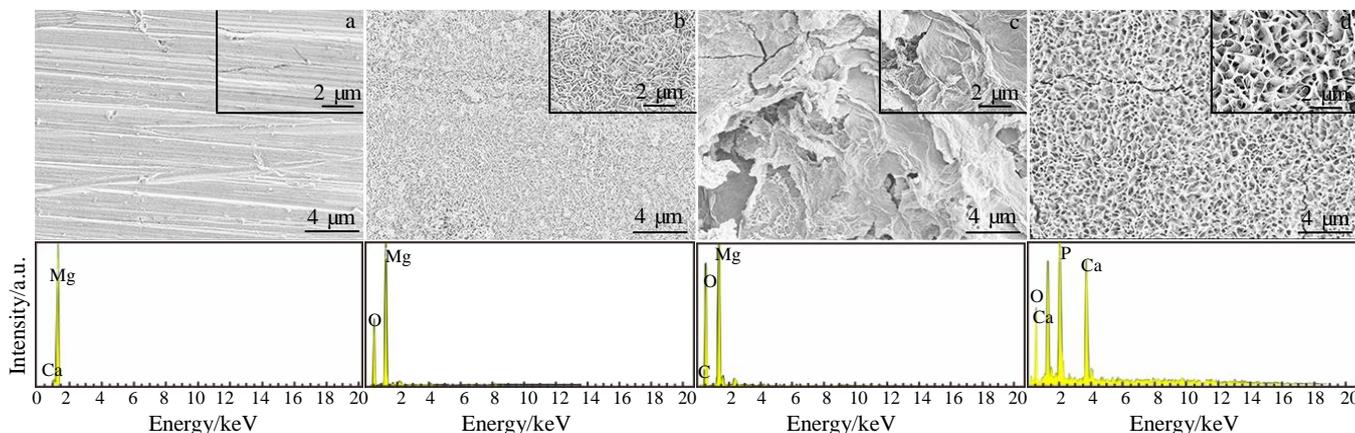


图 1 不同镁合金试样表面的 SEM 照片和 EDS 分析结果

Fig.1 SEM images and EDS analysis results of different magnesium alloy samples: (a) ZQ, (b) ZQ-HT, (c) ZQ-HE, and (d) ZQ-HEP

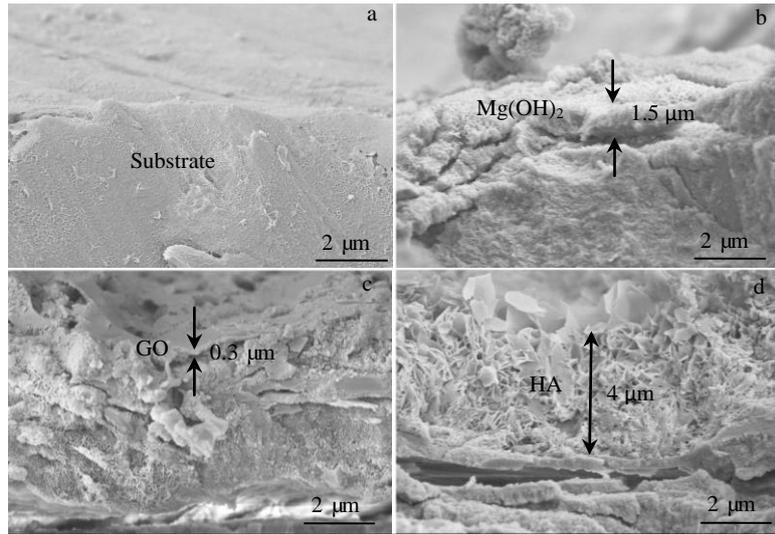


图 2 不同镁合金试样的断面形貌

Fig.2 Cross-sectional morphologies of different magnesium alloy samples: (a) ZQ, (b) ZQ-HT, (c) ZQ-HE, and (d) ZQ-HEP

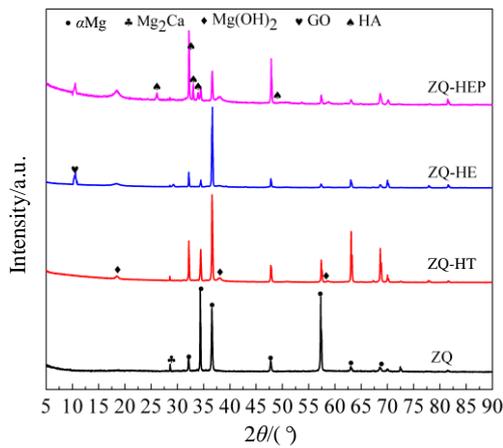


图 3 不同镁合金试样的 XRD 图谱

Fig.3 XRD patterns of different magnesium alloy samples

成分为 Mg_2Ca , 而经过水热处理后在其表面形成了大量 $Mg(OH)_2$ 纳米片涂层。后续电泳沉积则在 $Mg(OH)_2$ 纳米片涂层上形成了 GO 涂层, 最终经电化学处理后在 ZQ 合金形成 HA 涂层, 进而在 ZQ-HEP 表面成功构建出 HA/GO/ $Mg(OH)_2$ 复合涂层。

2.2 体外电化学耐腐蚀性测试

图 4a 显示了 2 种样品 (ZQ 和 ZQ-HEP) 暴露在 PBS 溶液中的开路电位图。2 种样品在浸泡 PBS 溶液 900 s 后, OCP 均达到相对稳定状态, 但 ZQ-HEP 的 OCP 值明显高于 ZQ 合金, 表明改性处理后的 ZQ-HEP 合金具有较高的电化学稳定性和更低的腐蚀倾向。图 4b 显示了 2 种样品在 PBS 溶液中的典型动电位极化曲线。可以看出, 2 种样品的极化曲线都呈现出类似的变化趋势。表明其在电化学测试期间具有相似的腐蚀行为。为进一步

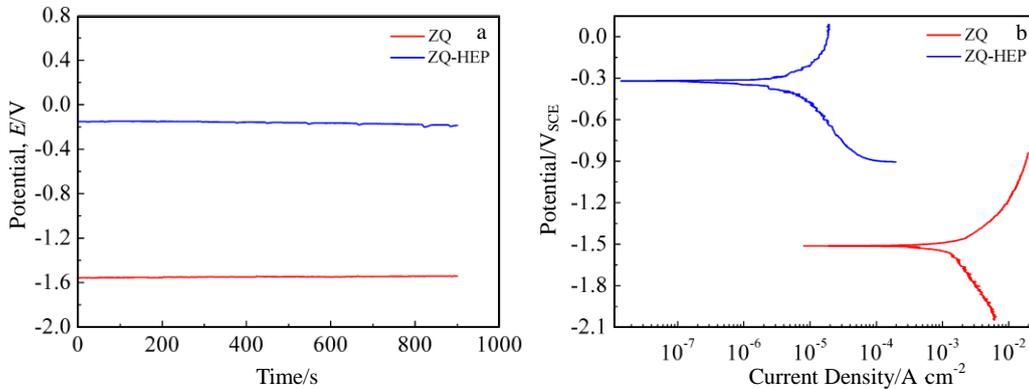


图 4 ZQ 和 ZQ-HEP 样品的开路电位和极化曲线

Fig.4 Open circuit potential (a) and polarization curves (b) of ZQ and ZQ-HEP samples

定量分析其差异，本研究利用阴极极化曲线的塔菲尔外推法计算了包括腐蚀电位 (E_{corr}) 和腐蚀电流密度 (i_{corr}) 在内的极化参数。如表 1 所示，ZQ 和 ZQ-HEP 样品的 E_{corr} 分别为 -1.54 ± 0.02 和 -0.31 ± 0.01 V_{SCE}，而二者的 i_{corr} 则分别为 1.29×10^{-4} 和 3.75×10^{-7} A cm⁻²。结果说明，相较于 ZQ 样品，ZQ-HEP 的 i_{corr} 降低了约 3 个数量级。值得注意的是，二者的 i_{corr} 均低于纯镁 (2.9×10^{-4} A cm⁻²) [22]。证明 Ca 的引入，以及 HA/GO/Mg(OH)₂ 复合涂层的构建均有效提升了镁金属的耐蚀性。

进一步在开路电位下进行了 EIS 测量，以跟踪探究 2 种样品在 PBS 溶液中的腐蚀行为，结果如图 5a~5d 所示。图 5a 中的 Nyquist 图表明，ZQ 样品在高频范围内表现为电容回路，在低频范围内表现为电感回路。而 ZQ-HEP 样品在高频、中频和低频各有 1 个电容环。一

般而言，电容回路可能归因于电荷转移过程及腐蚀产物层的形成，也可能与涂层的存在有关，而感应回路可能与 Mg 的溶解有关。本研究中，ZQ-HEP 样品的电容环直径远大于 ZQ 样品，表明其具有更高的耐蚀性。此外，低频阻抗模量 $|Z|$ 越大，表明耐蚀性越好 [23]。从图 5b 中的 Bode 模量图可以看出，ZQ-HEP 样品的 $|Z|$ 值约为 $9.82 \times 10^3 \Omega \cdot \text{cm}^2$ ，远大于 ZQ 样品的 $61.39 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 。图 5c 显示了相位角与频率的 Bode 相图，2 种样品在低频都出现了相位角峰。ZQ 样品的相位角峰值明显小于 ZQ-HEP 样品，表明复合涂层对基体有着很好的表面保护性。

为进一步定量表征 2 种样品的腐蚀特性，本研究通过电化学等效电路模型来模拟试样上发生的电化学反应。图 5d 是 2 种样品的等效电路图。对于 ZQ 样品， R_s 表示溶液的电阻， Q_h 表示溶液与氧化膜之间的电容， R_h 表示

表 1 2 种样品在 37 °C 下的 PBS 溶液中的动态电位极化腐蚀参数

Table 1 Dynamic potential polarization corrosion parameters of two samples in PBS solution at 37 °C

Sample	$E_{\text{corr}}/\text{V}_{\text{SCE}}$	$i_{\text{corr}}/\text{A cm}^{-2}$	$\beta_a/\text{mV dec}^{-1}$	$\beta_c/\text{mV dec}^{-1}$
ZQ	-1.54 ± 0.02	1.29×10^{-4}	35.21 ± 0.04	-93.52 ± 0.04
ZQ-HEP	-0.31 ± 0.01	3.75×10^{-7}	250.72 ± 17.59	463.22 ± 25.36

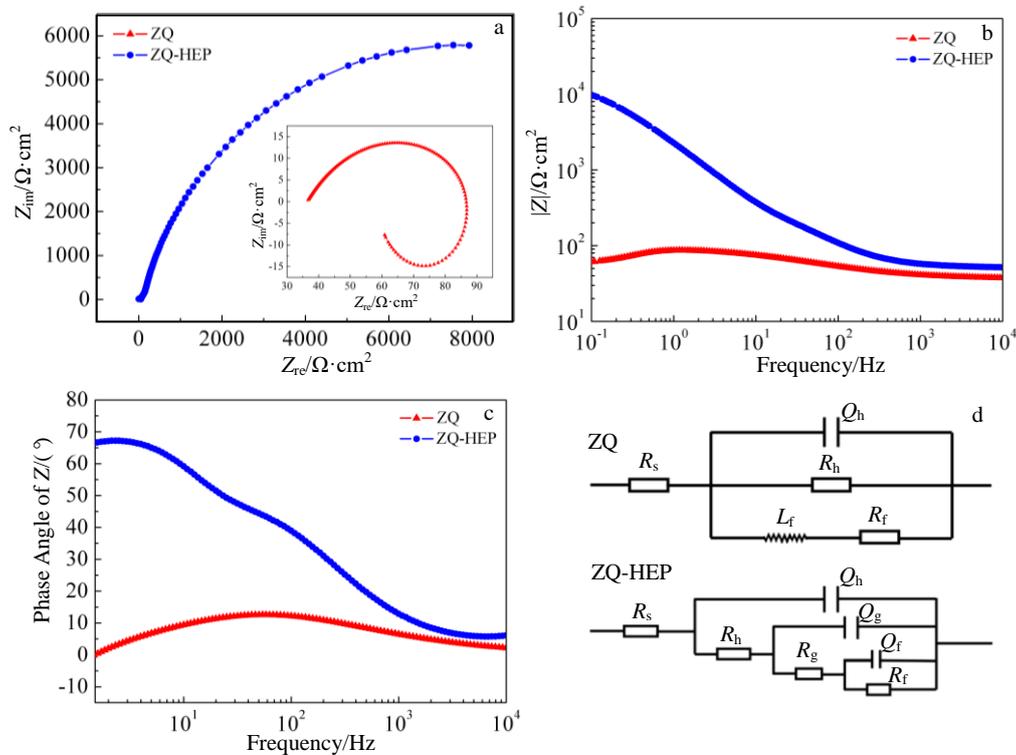


图 5 ZQ 和 ZQ-HEP 样品的电化学阻抗谱

Fig.5 Electrochemical impedance spectroscopies of ZQ and ZQ-HEP samples: (a) Nyquist plots, (b) Bode plots of $|Z|$ vs frequency, (c) Bode plots of phase angle vs frequency of the Mg alloys in PBS solution at 37 °C, and (d) electrochemical equivalent circuit model

氧化膜的电阻, L_f 是由于样品表面对产物的吸附形成的电感, R_f 表示电荷转移电阻。ZQ-HEP 样品中, R_s 表示溶液电阻和基底材料电阻之和, R_h 和 Q_h 表示最外涂层的电阻和电容, R_g 和 Q_g 表示中间涂层的电阻和双层电容, R_f 和 Q_f 表示内膜的电荷转移电阻和电容。图 5d 中用 Q 表示的恒定相位元件 (CPE) 来代替传统的电容元件。CPE 反映非理想电容的表面弥散, 其阻抗定义为^[24]:

$$Z_{CPE} = 1/Q (j\omega)^n \quad (1)$$

其中, ω ($\omega = 2\pi f$) 是角频率, n 是在 0 到 1 的范围内变化的经验指数, 当 $n=0$ 时表示纯电阻器, 而 $n=1$ 时表示纯电容器。 Q 是与频率无关的常数, 表示 CPE 的总电容, 单位为 Fs^n 。利用商业软件 ZsimpWin3.1 将 EIS 数据拟合到图 5d 所示的等效电路, 其拟合值如表 2 所示。ZQ-HEP 样品有着更高的 R_h 值和更低的 Q_h 值, 且 R_f 值远高于 ZQ 合金。表明 HA/GO/Mg(OH)₂ 复合涂层的构建很好地保护了基体材料免受腐蚀。

上述的电化学耐腐蚀性测试结果表明, ZQ 镁合金中的 Ca 合金化处理, 以及 HA/GO/Mg(OH)₂ 复合涂层的构建, 均显著提升了镁基体的耐蚀性。Ca 合金化处理对

镁基体耐蚀性的改善, 主要归因于中间相 Mg₂Ca 的调节作用^[25]。而 Mg(OH)₂ 纳米片对镁基体耐蚀性的提升也早已得到证实。Wang 等人^[26]通过水热处理在镁基体上生成 Mg(OH)₂ 纳米薄片层后发现, 该纳米涂层能够隔绝材料与周边体液内的氧和水分的接触, 进而减缓基体降解速率并减小 pH 变化。Zhang 等人^[27]将 GO 加入到 PEO 处理后的 AZ31 镁合金表面发现, GO 的引入能够通过降低材料表面的孔隙率和粗糙度有效提升其表面阻抗及极化电阻值。Gao 等人^[21]将 AZ91 镁合金浸涂石墨烯后在模拟体液中仿生沉积 HA 涂层, 通过 HA 涂层的缓冲效应和石墨烯薄膜对水的隔绝作用显著提升了 Mg 合金的抗腐蚀性。

2.3 体内动物试验

本研究所制备的螺钉形态和构建的兔股骨髁骨折模型如图 6 所示, 黑色箭头为截骨大小示意和螺钉固定方向。图 7 显示的是术后 1、2、3 周实验动物手术部位的大体观察图像。如图所示, 术后 1 周可见, ZQ 组有明显的皮下气肿现象, 且随着术后时间的延长, 气肿现象并未消失, 气肿区域大小也未见明显减小。而对于 ZQ-HEP

表 2 2 种样品的电化学阻抗谱等效电路拟合参数

Table 2 Dynamic polarization corrosion parameters of two kinds of samples in PBS solution at 37 °C

Sample	$R_s/\Omega \cdot \text{cm}^2$	$Q_h/F \text{ cm}^{-2}$	n_h	$R_h/\Omega \cdot \text{cm}^2$	$Q_g/F \text{ cm}^{-2}$	n_g	$R_g/\Omega \cdot \text{cm}^2$	$L/H \text{ cm}^{-2}$	$CPE/\Omega^{-1} \text{ s}^n \text{ cm}^{-2}$	$R_f/m\Omega \cdot \text{cm}^2$
ZQ	36.30±1.03	1.05×10 ⁻³	0.56±0.04	58.05±3.71	-	-	-	37.21±0.62	-	3.68×10 ⁴
ZQ-HEP	75.24±2.96	5.68×10 ⁻⁸	0.91±0.01	128±7.96	7.79×10 ⁻⁹	0.78±0.29	5.81×10 ²	-	1.63×10 ⁻⁵	1.49×10 ¹⁰

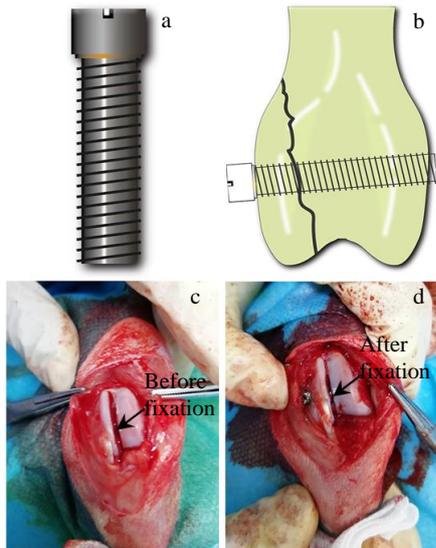


图 6 镁合金螺钉形貌及兔股骨髁骨折模型

Fig.6 Pictures of screw morphology (a), femoral condyle fracture model (b), fracture space (c), and rigid fixation (d)

组, 在术后第 2 周时可观察到气肿现象, 但随着时间的延长, 气肿区域未见扩大, 说明 ZQ-HEP 的降解析氢速率与植入物周围组织对氢气的吸收速率可能达到了平衡状态^[28]。大体观察的同时, 本研究还通过 X 线扫描观察 2 种样品在体内植入后的影像学变化, 其结果如图 8 所示。整个植入期间, 2 种样品均未发生松动和脱出现象, 表现出了较好的固定效果。术后 1 周时, 仍可清晰观察到 ZQ-HEP 螺钉的外形轮廓, 而 ZQ 螺钉轮廓则变得有些模糊, 且植入体周边出现小范围低密度影像, 说明 ZQ 螺钉可能产生了较明显的降解。随着术后时间的延长, ZQ 组的降解越发明显, 而改性后的 ZQ-HEP 仍能够保持较好的完整性。且术后 3 周时, ZQ-HEP 螺钉周边有较多类骨密度影像生成, 说明植入体周边的新生骨组织逐渐增多, 出现了较为显著的骨长入现象^[29]。

进一步的组织学分析也证实了上述影像学观察结果。术后 4 周收取骨组织样本时的大体观察, 发现 ZQ 组的截骨处仍有明显缝隙 (图 9a), 而 ZQ-HEP 组的截骨



图 7 术后 1、2、3 周 2 组螺钉实验动物手术部位大体观察图像
 Fig.7 Gross observation images of surgical sites of experimental animals at 1 (a, d), 2 (b, e) and 3 (c, f) weeks after operation: (a~c) ZQ group screw; (d~f) ZQ-HEP group screw

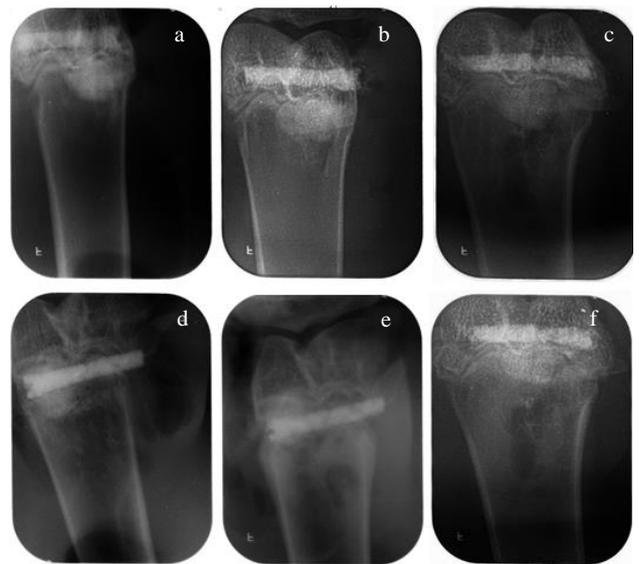


图 8 术后 1、2、3 周 2 组螺钉实验动物手术部位 X 射线扫描
 Fig.8 X-ray scan of the operation site of two groups of screw experimental animals at 1 (a, d), 2 (b, e) and 3(c, f) weeks after operation: (a~c) ZQ group screw; (d~f) ZQ-HEP group screw

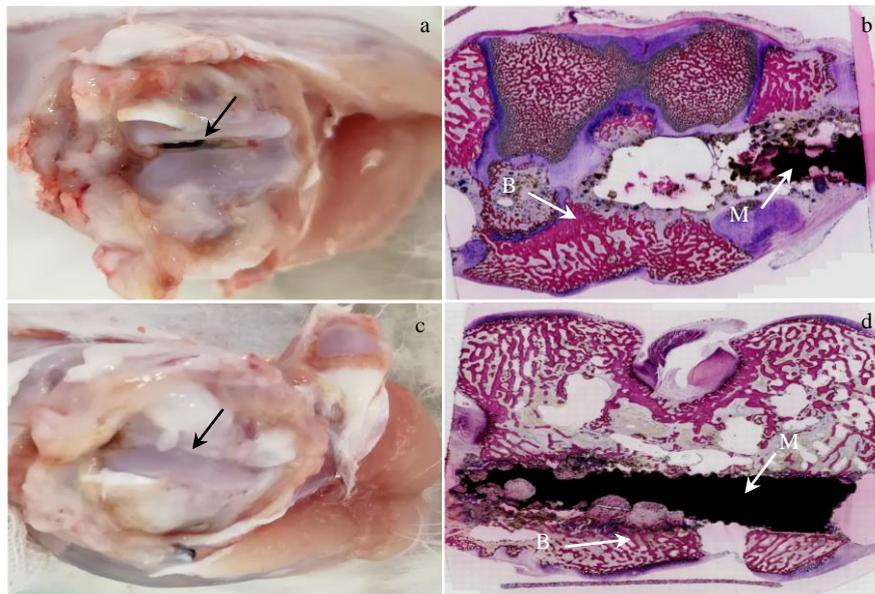


图 9 术后 4 周骨组织图像及组织学切片观察

Fig. 9 Observation of bone tissue images (a, c) and histological sections (b, d) of ZQ (a, b) and ZQ-HEP (c, d) screws at 4 weeks after operation (B: new bone; M: material)

处基本无可见缝隙，骨组织表面连续光滑（图 9c），表明骨折已趋于完全愈合。组织学切片染色观察发现，ZQ 组螺钉在体内降解迅速，术后 4 周仅残余少量材料，且随着螺钉降解，植体周边并未有明显的骨组织长入（图 9b）。而改性后的 ZQ-HEP 组螺钉，术后 4 周仍保持了

较好的材料完整性，且随着螺钉降解，植入体周边出现了大量的新生骨组织，有明显的骨长入迹象（图 9d）。表明复合涂层的构建能够显著提升 ZQ 合金的体内成骨活性。这主要依赖于 GO 和 HA 2 种活性涂层的共同作用。近期的一些研究也报道了类似的结果，如 Peng

等人^[30]就曾通过湿化学技术结合旋涂法在 AZ31 镁合金表面构建 HA/GO 复合涂层促进成骨细胞在合金表面的贴附、铺展及增殖。而 Suo 等人^[31]则利用电泳沉积在钛表面成功构建了 GO/壳聚糖 (CS) /HA 复合涂层, 并深入探究了其对钛植入体骨整合性能的影响。他们的研究发现, 相较单一 HA 涂层, GO/HA 复合涂层能够更好地促进骨髓间充质干细胞在钛表面的贴附、增殖及成骨相关基因表达, 并增强钛植入体周边的新骨形成和骨结合强度, 进而显著改善钛植入体的骨整合性能。

本研究结果表明, ZQ 镁合金尽管在体外表现出一定的耐蚀性, 但是体内的降解速度仍然较快, 释放的氢气蓄积不利于新骨组织的长入, 进而妨碍骨折愈合。而基于水处理、电泳沉积和电化学沉积 3 种方法的结合, 在 ZQ 表面成功构建的 HA/GO/Mg(OH)₂ 复合涂层, 则可显著改善 ZQ 镁合金的体内降解性能并提升其成骨活性, 因而具有良好的临床应用潜力。

3 结 论

1) 通过水处理、电泳沉积和电化学沉积的结合, 在 ZQ 镁合金表面可以构建出具有良好耐蚀性和成骨活性的 HA/GO/Mg(OH)₂ 复合涂层。

2) 相较未改性的 ZQ 螺钉, 涂层化的 ZQ-HEP 螺钉用于兔股骨髁骨折修复时, 可保持较好的材料完整性, 引导更多的新生骨长入, 进而实现较快的骨折愈合。

3) 该研究对困扰当前镁合金在生理环境下的快速降解难题, 提供了一种可供选择的表面改性方法, 在临床骨科领域有着较好的应用潜力。

参考文献 References

- [1] Liu L, Yang Q Y, Huang L et al. *Applied Surface Science*[J], 2019, 484(1): 511
- [2] Khazeni D, Saremi M, Soltani R. *Ceramics International*[J], 2019, 45(9): 11 174
- [3] Wan Y Z, Xiong G Y, Luo H L et al. *Materials & Design*[J], 2008, 29(10): 2034
- [4] Harandi S E, Mirshahi M, Koleini S et al. *Materials Research*[J], 2013, 16(1): 11
- [5] Salahshoor M, Guo Y B. *Materials*[J], 2012, 5(1): 135
- [6] Hornberger H, Virtanen S, Boccaccini A R. *Acta Biomaterialia*[J], 2012, 8(7): 2442
- [7] Agarwal S, Curtin J, Duffy B et al. *Materials Science and Engineering C*[J], 2016, 68(1): 948
- [8] Jeong H, Yoo Y. *Surface and Coatings Technology*[J], 2015, 284: 26
- [9] Zhu Y Y, Zhao Q, Zhang Y H et al. *Surface and Coatings Technology*[J], 2012, 206(11-12): 2961
- [10] Tang H, Wang F P. *Materials Letters*[J], 2013, 93(15): 427
- [11] Shang W, Zhan X Q, Wen Y Q et al. *Chemical Engineering Science*[J], 2019, 207: 1299
- [12] Harada Y, Kumai S. *Surface and Coatings Technology*[J], 2013, 228: 59
- [13] Gao F, Hu Y D, Gong Z H et al. *Materials Science and Engineering C*[J], 2019, 104: 109 947
- [14] Tasnim N, Kumar A, Joddar B. *Materials Science and Engineering C*[J], 2017, 73: 788
- [15] Khiabani A B, Rahimi S, Yarmand B et al. *Materials Today: Proceedings*[J], 2018, 5(7): 15 603
- [16] Rau J V, Antoniac I, Filipescu M et al. *Ceramics International*[J], 2018, 44:16 678
- [17] Jamesh M, Kumar S, Narayanan T S N S. *Journal of Coatings Technology and Research*[J], 2012, 9(4): 495
- [18] Song Y W, Shan D Y, Han E H. *Materials Letters*[J], 2008, 62(17-18): 3276
- [19] Bitu A I, Semenescu A, Antoniac A et al. *Key Engineering Materials*[J], 2016, 695: 152
- [20] Cheng Shi, Wang Wanshun, Wang Donghui et al. *Biomaterials Science*[J], 2020, 8(12): 3320
- [21] Gao F, Xu C Y, Hu H T et al. *Materials Letters*[J], 2015, 138(1): 25
- [22] Qureshi W, Kannan S, Vincent S et al. *Iop Conference Series Materials Science and Engineering*[J], 2018, 346:12 012
- [23] Zou Y H, Jian W, Cui L Y et al. *Acta Biomaterialia*[J], 2019, 98: 196
- [24] Zhou X Y, Fu X, Chen H J et al. *Journal of Materials Chemistry B*[J], 2019, 7(21): 3455
- [25] Bakhsheshi-Rad H R, Hamzah E, Tok H Y et al. *Journal of Materials Engineering and Performance*[J], 2017, 26(2): 653
- [26] Wang G M, Jiang W J, Mo S et al. *Advanced Science*[J], 2020, 7(1): 1 902 089
- [27] Zhang Y L, Chen F, Zhang Y et al. *Tribology International*[J], 2020, 146: 106 135
- [28] Chaya A, Yoshizawa S, Verdelis K et al. *Acta Biomaterialia*[J], 2015, 18: 262
- [29] Han P, Cheng P F, Zhang Z X et al. *Biomaterials*[J], 2015, 64: 57
- [30] Peng F, Zhang D D, Wang D H et al. *Materials Letters*[J], 2020, 264: 127 322
- [31] Suo L, Jiang N, Wang Y et al. *Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials*[J], 2018, 103(3): 635

Corrosion Resistance and Fracture Repair Ability of Magnesium-Calcium Alloy with Hydroxyapatite/Graphene Oxide/Magnesium Hydroxide Composite Coating

Chen Hewei¹, Yuan Bo¹, Wang Linnan², Yang Xi², Zhu Xiangdong¹, Song Yueming², Zhang Xingdong¹

(1. National Engineering Research Center for Biomaterials, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

(2. Department of Orthopaedics, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: Improving the degradation rate and bioactivity of magnesium in physiological environment is helpful to its application in biomedical field. Alloying treatment and surface modification are two effective ways. In the present study, a novel surface modification strategy, i.e. hydroxyapatite/graphene oxide/magnesium hydroxide (HA/GO/Mg(OH)₂) composite coating constructed on the surface of magnesium-calcium alloy by the combination of hydrothermal treatment, electrophoretic deposition and electrochemical deposition, were proposed for magnesium-calcium alloy (ZQ). Scanning electron microscope (SEM) and X-ray diffraction (XRD) analysis confirm that the surface of the coating sample (ZQ-HEP) is composed of outer nano-sheet HA, middle flocculent-lamellae GO and inner Mg(OH)₂ nano-sheet. The electrochemical corrosion resistance test *in vitro* shows that compared with the untreated ZQ, ZQ-HEP has higher corrosion resistance in phosphate buffer solution (PBS). A rabbit femoral condyle fracture model was constructed to evaluate the fracture repair effect of ZQ samples before and after surface modification. Postoperative gross observation, radiograph and histological analysis confirm that compared with the untreated ZQ, ZQ-HEP screws could decrease the hydrogen release obviously and thus the subcutaneous emphysema after implantation into the body. Meanwhile, due to its higher corrosion resistance and bioactivity, ZQ-HEP screw could maintain its integrity better than the ZQ one at 4 weeks postoperatively, and induce more new bone growth. Therefore, more rapid fracture healing is observed on ZQ-HEP than ZQ. In conclusion, the multi-functional coating construction strategy proposed in current study could have good prospect of clinical application. It can not only regulate the degradation rate of medical magnesium metals, but also significantly improve their osteogenic ability.

Key words: magnesium alloy; graphene oxide; hydroxyapatite; corrosion resistance; fracture healing

Corresponding author: Zhu Xiangdong, Ph. D., Professor, National Engineering Research Center for Biomaterials, Sichuan University, Chengdu 610064, P. R. China, Tel: 0086-28-85470770, E-mail: zhu_xd1973@scu.edu.cn