

doi: 10.11933/j.issn.1007-9289.20170410001

PCEC 水凝胶缓释 BSA/CS 的润滑性能

李月, 郭俊德, 王伟, 董光能
(西安交通大学 机械工程学院, 西安 710049)

摘要: 通过开环聚合法制备了可在 37 ℃ 下实现溶胶-凝胶相变的 PCEC 温敏水溶胶; 采用原位交联聚合包埋技术将牛血清白蛋白 (BSA) 和壳聚糖 (CS) 包裹在凝胶中, 进行体外缓释试验, 并通过摩擦磨损试验测试了缓释液的润滑性能, 采用 SEM, AFM 对磨损表面进行了检测分析。结果表明: 载有 BSA/CS 的 PCEC 水凝胶在 37 ℃ 条件下缓释 35 d, BSA 的累积释放量仅为凝胶所载 BSA 含量的 15%; 提取不同天数缓释液中, 最大摩擦系数仅约为生理盐水的 37%, 为模拟体液的 64%, 为牛血清白蛋白溶液的 82%; 缓释液的摩擦系数随着载荷、往复频率的增加而降低, 表现出较好的润滑性能, 且缓释液在摩擦副表面形成的蛋白吸附, 有效降低了摩擦副材料的磨损。

关键词: PCEC 温敏水凝胶; 缓释液; 摩擦磨损; 蛋白吸附

中图分类号: TH117.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-9289(2017)05-0074-07

Lubricating Performance of PCEC Hydrogel Sustained Release BSA/CS

LI Yue, GUO Jun-de, WANG Wei, DONG Guang-neng
(School of Mechanical Engineering, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049)

Abstract: Thermosensitive PCEC hydrogel was synthesized by a ring-opening polymerization method, reacting in situ phase transition at 37 ℃. Bovine serum albumin (BSA) and chitosan (CS) were wrapped in gel by using crosslinking polymerization embedding technology to perform in vitro slow-release test. The tribological performance of slow-release lubricant carried by PCEC hydrogel was tested by friction and wear tests, and the wear surface is analyzed by SEM and AFM. The results reveal that the total releasing amount of BSA is only 15% of the amount of BSA in gel before the slow-release test by slow releasing for 35 days. Under the same friction condition, the friction coefficient of the slow release liquid is stable, and the maximum frictional coefficient of the slow-release liquid is only about 37% of the saline, 64% of the simulated body fluids, and 82% of the bovine serum albumin solution. The friction coefficient of the slow-release liquid decreases with increasing load and reciprocating frequency. The adsorption of protein on the surface of the sample can effectively reduce the friction and wear of the artificial joint material.

Keywords: thermosensitive PCEC hydrogel; slow-release liquid; friction and wear; adsorption of protein

0 引言

2015 年统计结果显示, 全世界骨关节炎患者为 3.55 亿, 我国的关节炎患者高达 1.2 亿人, 发病率约为 13% 左右^[1]。目前人工关节置换术是治疗关节炎的有效措施, 但术后假体无菌性松动将

导致人工关节失效^[2]。无菌性松动的产生主要是由于假体润滑不良导致磨损严重, 产生的磨屑会引发骨溶解, 最终造成无菌性松动^[3], 给骨关节炎患者带来二次病痛。因此, 减少人工关节运动过程中的摩擦磨损, 开发出合理的人工关节润滑体

收稿日期: 2017-04-10; 修回日期: 2017-07-07
网络出版日期: 2017-09-11 17:07; 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3905.TG.20170911.1707.024.html>
通讯作者: 董光能 (1965—), 男 (汉), 教授, 博士; 研究方向: 摩擦学; E-mail: donggn@mail.xjtu.edu.cn
基金项目: 国家自然科学基金 (51475358)
Fund: Supported by National Natural Science Foundation of China (51475358)
引文格式: 李月, 郭俊德, 王伟, 等. PCEC 水凝胶缓释 BSA/CS 的润滑性能[J]. 中国表面工程, 2017, 30(5): 74-80.
LI Y, GUO J D, WANG W, et al. Lubricating performance of PCEC hydrogel sustained release BSA/CS[J]. China Surface Engineering, 2017, 30(5): 74-80.

系, 是减少人工关节置换术后的无菌性松动, 提高人工关节使用寿命的关键措施。

传统改善人工关节润滑的方式主要是直接注射仿生润滑液。李久青等^[4]将透明质酸 HA 作为润滑液在人工关节软骨材料配副上进行了摩擦学测试, 发现 HA 具有良好的润滑性能。Zhou 等^[5]用牛血清白蛋白作为人工关节材料润滑剂, 研究发现牛血清白蛋白能降低磨损。Ghosh 等^[6]利用销盘实验测试了白蛋白和球蛋白在陶瓷—聚乙烯材料上的润滑性能, 结果显示白蛋白与球蛋白能够产生较低的摩擦因数。直接注射润滑液易被人体吸收, 引起润滑失效。近年来, 凝胶材料作为人工关节润滑材料受到了广泛的关注。Li 等人研究了天然关节软骨和 PVA 水凝胶之间的摩擦^[7], 测试了不同载荷, 频率, 以及润滑剂对摩擦性能的影响, 发现水凝胶具有良好的摩擦性能, 但其摩擦学性能依然无法和天然软骨相比拟。Osaheni 等研究人员将两性离子聚合物嵌入水凝胶基体内来增强 PVA-H 的摩擦学性能^[8], 研究发现凝胶中渗入两性聚合物, 材料的机械性能不改变, 且能够获得较低的摩擦因数。水凝胶材料具有的多孔性, 良好的弹性, 润湿性, 环境响应等特性, 广泛用于医用载药方面^[9-10], 可望作为人工关节润滑液的载体, 实现滑液的贮存和释放。这方面的研究工作却鲜见报道。

采用牛血清白蛋白 (BSA) 和壳聚糖 (CS) 结合作为仿生润滑液, 利用三嵌段共聚物聚己内酯-聚乙二醇-聚己内酯 (PCEC) 水凝胶的温敏性 (室温下呈液态, 37 ℃ 呈凝胶态)、可注射性以及载药性, 贮存并缓慢释放 BSA/CS 润滑液以达到长效润滑的目的。

1 试验

1.1 材料制备

1.1.1 原料

己内酯单体 (ϵ -caprolactone)($C_6H_{10}O_2$), 纯度>99%, Aldrich 公司生产; 聚乙二醇 (PEG)($HO(CH_2CH_2O)_nH$), 美国 Aldrich 公司生产; 异辛酸亚锡 ($Sn(Oct)_2$), 纯度>95%, 美国 Sigma 公司生产; 二氯甲烷, 石油醚均为分析纯, 北京化学试剂公司生产; 壳聚糖 (Chitosan), 上海蓝季生物公司生产; 牛血清白蛋白 (BSA), 北京奥博星生物

技术有限公司生产。

1.1.2 PCEC 共聚物的制备

将质量比为 2:1 的干燥聚己内酯、聚乙二醇置于烧瓶中, 在无氧环境下滴入适量异辛酸亚锡, 于 130 ℃ 油浴加热。反应 6 h 后, 停止加热, 冷却至室温。共聚物在二氯甲烷中完全溶解, 经足量石油醚沉淀过滤; 反复 3 次以上过程。沉淀物于室温下放置一定时间, 过滤得到产物, 用蒸馏水洗涤, 最后在 55 ℃ 条件下于真空干燥机干燥至恒重。

1.2 体外缓释

1.2.1 载有 BSA/CS 的 PCEC 凝胶的制备

PCEC 聚合物制备成质量分数 30% 的溶液, 该溶液在室温下呈液态, 在 37 ℃ 下可形成凝胶。在 5 mL 的 PCEC 溶液中加入 75 mg 的干燥 BSA、35 mg 的壳聚糖 (增大仿生润滑液黏度, 减缓释放速率), 混匀后于 37 ℃ 条件下加热 15 min, 得到载有 BSA/CS 润滑液的 PCEC 凝胶样品。

1.2.2 体外缓释试验

载有 BSA/CS 的凝胶样品中加入 6 mL 的生理盐水 (与人体体液渗透压相同), 在恒温水浴振荡器中进行凝胶的体外缓释试验, 如图 1 所示。恒温水浴振荡器的转速设定为 60 r/min, 温度设定为 37 ℃。每隔 1 天取样: 每天取出全部的缓释液, 然后补充相同体积的生理盐水。

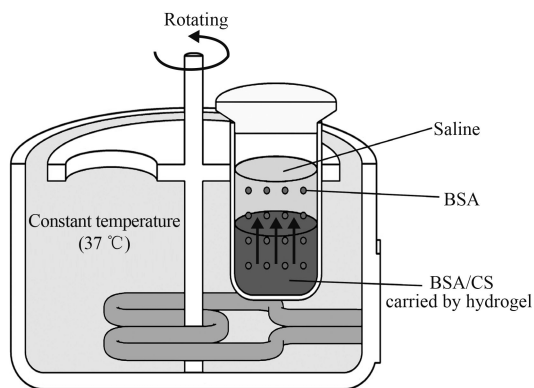


图 1 体外缓释试验的工作示意图

Fig.1 Schematic diagram of slow-release test in vitro

1.3 摩擦磨损试验

利用 UMT-II 摩擦磨损试验机在一定载荷和频率下进行球盘往复摩擦试验。对摩配副为: Φ 10 mm 的 Al_2O_3 陶瓷球, 其泊松比为 0.22, 弹性模量为 350 GPa; Φ 30 mm $\times$ 5 mm 的 Co-Cr-Mo 合

金盘,其泊松比为0.3,弹性模量为210 GPa,硬度为350 HV。试验行程为6 mm,时间为60 min。

2 结果与讨论

2.1 缓释结果与讨论

通过原位交联聚合包埋技术^[11]将BSA/CS与PCEC溶胶相混合,加热条件下,将润滑液包埋于凝胶中,并缓慢释放包埋在凝胶中的润滑液。根据Bradford法^[12]测定了35天缓释液中BSA的累积浓度,试验结果如图2所示。由图2计算可得35天内缓释的BSA总量为13.22 mg,缓释试验前凝胶中的BSA总量为75 mg。缓释35天,BSA的释放量仅为缓释试验前凝胶中BSA含量的15%,说明了水凝胶有贮存和长效释放BSA的作用。前5天BSA释放速率较快,主要原因是PCEC三嵌段共聚物是典型的两亲性物质,在水溶液中会形成亲水段(PEG)在外、疏水段(PCL)在内的核-壳结构胶束^[13],亲水性药物BSA会在PEG积聚,并与C=O基团结合形成氢键。当结合位点出现饱和时,水凝胶中游离BSA量增加,所以会出现突释现象^[14]。游离的BSA释放完毕,包埋在凝胶中的BSA会逐渐释放出来。释放初期,主要是由于扩散作用,由于渗透压差大,传质阻力小,BSA容易扩散,扩散速率较快;当表层的BSA释放完全后,包埋在凝胶载体内的BSA释放量将随着渗透压差的减小而减少;35天BSA的累积释放量呈稳定上升趋势,说明35天中BSA的释放速率较平稳,且每天都在持续缓释。

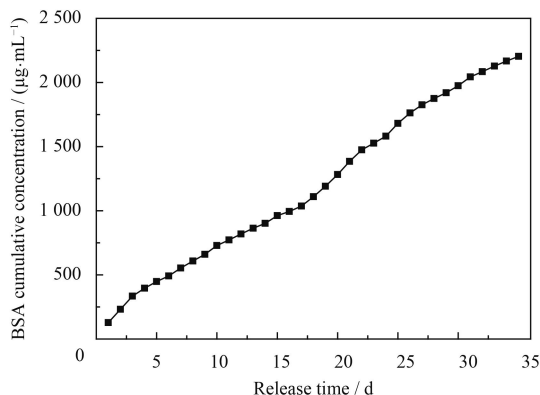


图2 BAS的积累浓度随时间的变化

Fig.2 Accumulated concentration of BAS varied with time

2.2 不同天数缓释液摩擦试验

利用UMT-II摩擦磨损试验机测得了缓释液

(不同天数)、生理盐水(缓释试验缓冲液)、模拟体液(常用作人工关节材料润滑性能评定)、BSA纯溶液的摩擦因数。其中BSA的配制浓度与缓释1、5、20天的缓释液中BSA浓度相同,分别为127、92、53 μg/mL。试验载荷为5 N,频率为2 Hz,摩擦试验结果如图3、图4和图5所示。由图3可得,35天中缓释液的摩擦因数处于0.13~0.20,且相对稳定。不同时间缓释液与模拟体液(SBF)、生理盐水(NS)的摩擦因数对比如图4所示。生理盐水的平均摩擦因数为0.54,其值为缓释液中最大摩擦因数值的2.5倍;模拟体液的平均摩擦因数为0.31,其值为缓释液中最大摩擦因数值的1.5倍。由图5可得,BSA含量相同的缓释液比牛血清白蛋白溶液的摩擦因数低;其中,5天的缓释液的摩擦因数仅为同等浓度下牛血清白蛋白的0.5左右。根据摩擦试验可得,缓释液具有较低的摩擦因数。

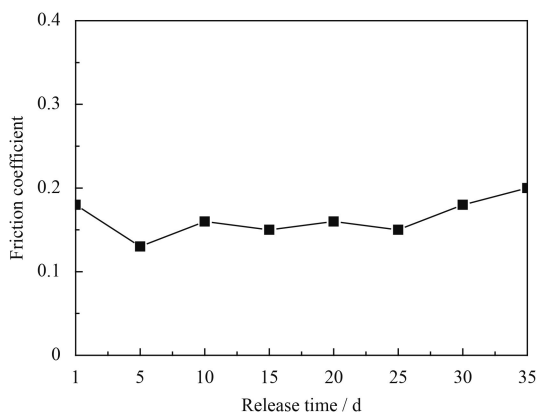


图3 不同天数内缓释液的摩擦因数

Fig.3 Friction coefficient of slow-release liquid in different days

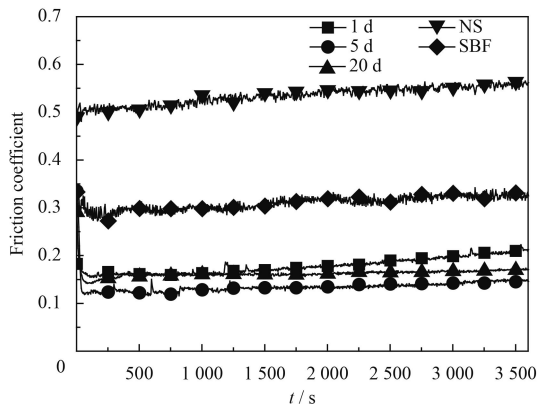


图4 不同润滑液的摩擦因数随时间的变化

Fig.4 Friction coefficient varied with time under different lubrication

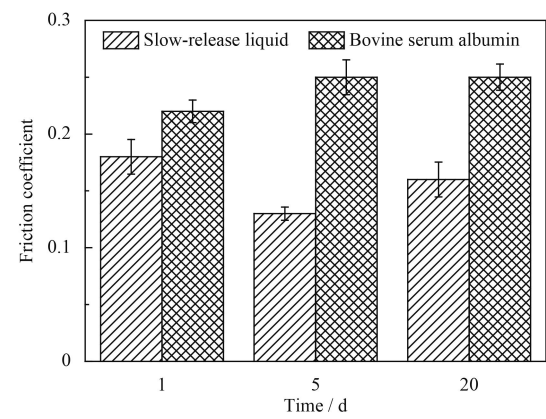


图 5 缓释液与牛血清蛋白溶液的摩擦因数
Fig.5 Friction coefficient of slow-release liquid and BSA solution

摩擦曲线既能反映摩擦因数的大小，还能反映磨合初期(跑合期)的时间长短。由图 4 得，缓释液润滑条件下，摩擦试验的磨合期小于 100 s；模拟体液润滑条件下的磨合期约在 400 s；缓释液作为润滑液时，摩擦试验跑合时间比模拟体液缩短了 75%。缓释液润滑下摩擦试验磨合期缩短的原因与 BSA 在试样盘表面形成的吸附膜有关^[15]。

为了探究缓释液的润滑性能，分别与生理盐

水、模拟体液润滑下试样表面磨损形貌进行对比分析。试验测得了不同浓度溶液润滑条件下磨损试样表面的磨损形貌 (SEM)，测试结果如图 6 所示。由图 6(a)(b) 可知，生理盐水和模拟体液作为润滑液的条件下，磨损后的试样表面均出现明显的犁沟，产生了严重的磨损；生理盐水润滑条件下，试样表面的磨痕宽度为 366.9 μm，模拟体液润滑条件下为 256.8 μm；但同等试验条件下，缓释液润滑条件下的试样表面光滑，没有明显的犁沟，磨痕宽度最大值为 224.4 μm，如图 6(c)(d) 所示。缓释液润滑下的试样磨损区域出现深颜色区域，可能是由于牛血清白蛋白在摩擦期间产生吸附作用，在磨损表面形成吸附膜^[16]，且在缓释期间，缓释液中也有凝胶脱落碎片，凝胶碎片的产生增加了缓释液的粘度，提高了润滑膜的承载能力^[17]，对降低摩擦磨损有益。

为了更进一步分析缓释液的磨损状况，将生理盐水(作为缓释基液)、缓释液作为润滑液进行摩擦试验，随后对摩擦试样表面进行了 AFM 分析，结果如图 7、图 8 所示。由图 7 可得，生理盐

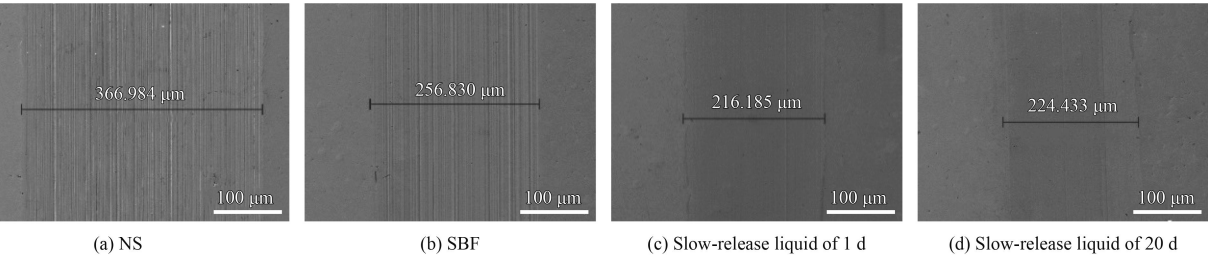


图 6 不同溶液润滑条件下磨损试样表面的磨损形貌 (SEM)

Fig.6 Worn surface morphologies of samples under different solution lubrication conditions (SEM)

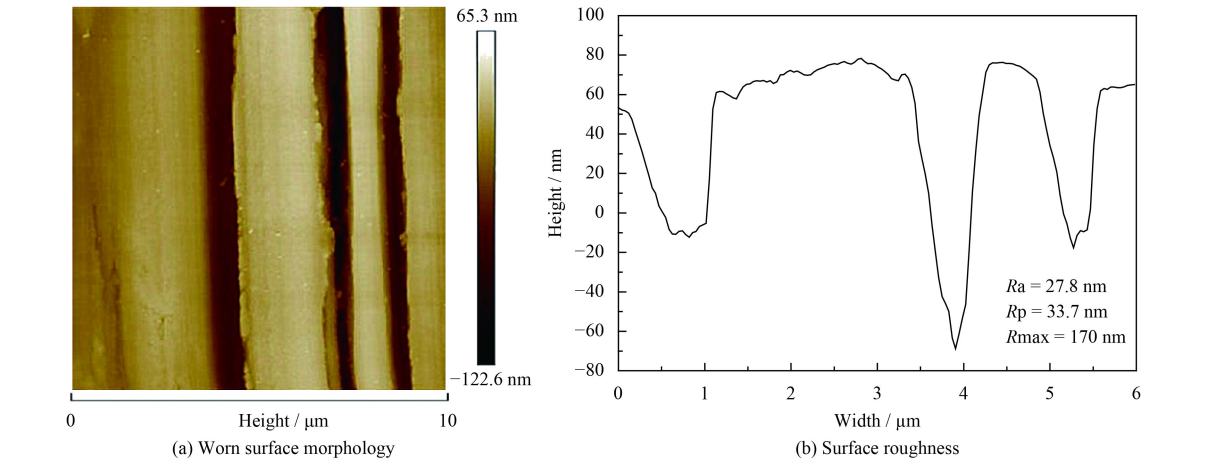


图 7 生理盐水润滑条件下试样磨损表面 (AFM)

Fig.7 Wear condition of the specimen surface under lubrication of normal saline (AFM)

水作为润滑液时，试样表面磨损严重，磨损表面粗糙度高于缓释液润滑的试样表面。图 8 结果显示，缓释液润滑后的磨损表面较平整，呈现明显的 BSA 蛋白吸附特征^[18-19]。缓释液良好的润滑性能主要是由于其中含有 BSA，具有良好的水溶性，

在生理盐水等环境中会发生解离等反应带有强电荷，在对摩过程中，形成吸附膜润滑^[20]。由于吸附膜的产生，增加了材料磨损表面的强度，对材料表面起到保护的作用^[21-24]，因此摩擦试验磨合期较短，且降低了磨损，起到良好的润滑效果。

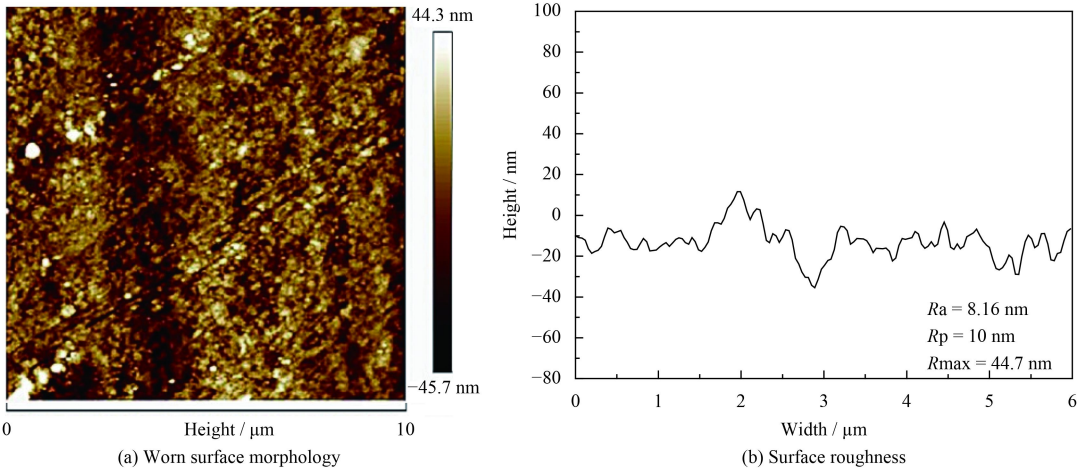


图 8 缓释液润滑条件下试样磨损表面 (AFM)

Fig.8 Wear condition of the specimen surface under lubrication of slow-release liquid (AFM)

2.3 不同条件下缓释液的摩擦

材料的磨损会随着接触载荷状况的改变而变化，研究材料在不同载荷作用下的摩擦状况可用于评判缓释液的润滑性能。试验测试了摩擦副在不同载荷作用下的摩擦行为，润滑介质分别为释放 5 天的缓释液、模拟体液、生理盐水，试验往复频率为 2 Hz，试验结果如图 9 所示。由图 9 可知，3 种不同润滑液润滑条件下，试样的平均摩擦因数随着载荷的增加而降低。载荷增大，平均接触压力增大，摩擦因数减小。缓释液润滑下，试验平均摩擦因数小于模拟体液、生理盐水，主

要原因是与形成的吸附膜有关，剪切运动能影响蛋白分子的吸附速率。载荷较低时，磨损只发生在接触的部分微凸体上，摩擦剪切作用小，蛋白吸附膜难以形成。载荷增大时，吸附膜能够较快形成，起到了润滑防护的作用。

往复频率主要影响摩擦过程中温度的变化状况。试验测得了摩擦副在不同往复频率下的摩擦行为，润滑液分别为释放 5 天的缓释液、模拟体液、生理盐水，试验载荷为 5 N，试验结果如图 10 所示。由图 10 可知，生理盐水润滑下，摩擦因数

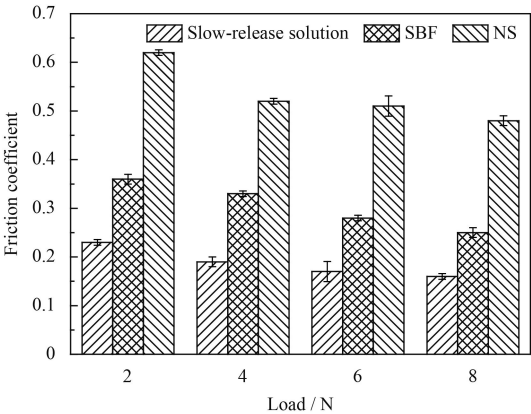


图 9 不同载荷下摩擦因数随时间的变化

Fig.9 Variation of friction coefficient with time under different load

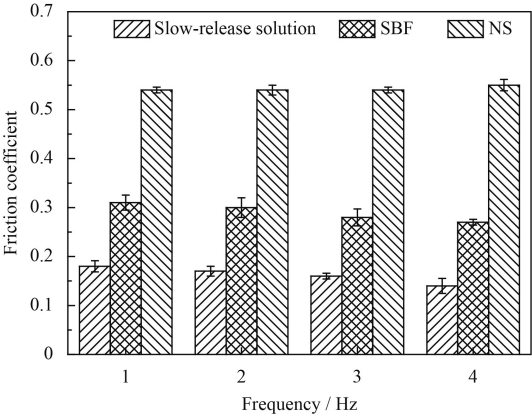


图 10 不同往复频率下摩擦因数随时间的变化

Fig.10 Variation of friction coefficient with time under different frequency

几乎不变,模拟体液、缓释液的摩擦因数随着往复频率的升高而降低,缓释液的平均摩擦因数均小于生理盐水、模拟体液。当频率增加时,对磨过程中产生较大的热量,促进表面蛋白吸附作用的产生,从而降低了摩擦因数。

3 结论

(1) 通过开环聚合法制备了可在 37 °C 下实现溶胶-凝胶原位相变的 PCEC 温敏水溶胶,贮存并释放 BSA/CS 润滑液;经过 35 天,BSA 的释放总量仅为缓释试验前凝胶中 BSA 含量的 15%。温敏水凝胶 PCEC 具有良好的缓释性能,有望延长润滑时间。

(2) 35 天后的缓释液摩擦因数最大的仅约为生理盐水摩擦因数的 37%,模拟体液摩擦因数的 64%,牛血清白蛋白溶液的 82%。缓释液作为润滑液时,摩擦试验跑合期时间比模拟体液缩短了 75%;缓释液润滑下试样表面形成吸附膜,能够有效降低人工关节材料的摩擦磨损。

(3) 相同试验条件下,生理盐水、模拟体液和缓释液作为润滑液时,摩擦因数均随载荷的增加而降低;随着往复频率的增加,生理盐水的摩擦因数变化不大,而缓释液和模拟体液的平均摩擦因数均随之降低。

参考文献

- [1] 中国大陆关节炎患者 1.2 亿,年轻人发病率逐渐升高[EB/OL]. <http://www.askci.com/news/dxf/20161013/14055069427.shtml>.
There are 120 million patients with arthritis in mainland China and a rising incidence of young people[EB/OL]. <http://www.askci.com/news/dxf/20161013/14055069427.shtml> (in Chinese).
- [2] 韦赤勇,杨有猛.人工髋关节置换术后假体无菌性松动的原因及处理[J].广西医科大学学报,2014,31(3): 503-504.
WEI C Y, YANG Y M. Causes and treatment of aseptic loosening of prosthesis after artificial hip replacement[J]. Journal of Guangxi Medical University, 2014, 31(3): 503-504 (in Chinese).
- [3] 王荣,周胜虎,李旭升.人工关节磨损颗粒对骨髓间充质干细胞影响的研究现状[J].中国骨与关节杂志,2016,5(10): 775-778.
WANG R, ZHOU S H, LI X S. Research status of the effects of prosthesis wear particles on bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Chinese Journal of Bone and Joint, 2016, 5(10): 775-778 (in Chinese).
- [4] 李久青,顾正秋.透明质酸对人工关节材料的润滑作用[J].北京科技大学学报,2000,22(4): 343-346.
LI C J, GU Z Q. Lubricating behaviour of hyaluronic acid on artificial articular materials[J]. Chinese Journal of Engineering, 2000, 22(4): 343-346 (in Chinese).
- [5] ZHOU J L, ZHAI C S, YANG S Y, et al. The friction and wear of silicon nitride ceramic with BSA lubricant[J]. Key Engineering Materials, 2015, 642: 125-127.
- [6] GHOSH S, CHOUDURY D, PINGGUAN B. Lubricating ability of albumin and globulin on artificial joint implants: a tribological perspective[J]. International Journal of Surface Science and Engineering, 2016, 10(2): 193-206.
- [7] LI F, WANG A, WANG C. Analysis of friction between articular cartilage and polyvinyl alcohol hydrogel artificial cartilage[J]. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2016, 27(5): 1-8.
- [8] OSAHANI A O, FINKELSTEIN E B, MATHER P T, et al. Synthesis and characterization of a zwitterionic hydrogel blend with low coefficient of friction[J]. Acta Biomaterialia, 2016, 46: 245-255.
- [9] ZHANG L, HE Y, MA G, et al. Paclitaxel-loaded polymeric micelles based on poly (ϵ -caprolactone)-poly (ethylene glycol)-poly (ϵ -caprolactone) triblock copolymers: in vitro and in vivo evaluation[J]. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2012, 8(6): 925-934.
- [10] DONG X, WEI C, LIU T, et al. Real-time fluorescence tracking of protoporphyrin incorporated thermosensitive hydrogel and its drug release in vivo[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2016, 8(8): 5104-5113.
- [11] ZHAO J, ZHAO X, GUO B, et al. Multifunctional interpenetrating polymer network hydrogels based on methacrylated alginate for the delivery of small molecule drugs and sustained release of protein[J]. Biomacromolecules, 2014, 15(9): 3246-3252.
- [12] 郭颖娜,孙卫.蛋白质含量测定方法的比较[J].河北化工,2008,31(4): 36-37.
GUO Y, SUN W. Comparison of methods for determination of protein content[J]. Hebei Chemical, 2008, 31(4): 36-37 (in Chinese).
- [13] 钟天翼. PLA-PEG-PLA/丝素水凝胶的制备及作为药物缓释载体的研究[D].苏州:苏州大学,2012.
ZHONG T Y. Studies on the preparation and application as drug delivery carrier of PLA-PEG-PLA/SF hydrogels[D]. Suzhou: Soochow University, 2012 (in Chinese).
- [14] 苗博龙,马桂蕾,宋存先.温敏性 PCL-PEG-PCL 水凝胶的合成,表征及蛋白药物释放[J].高等学校化学学报,2009,30(12): 2508-2513.

- MIAO B L, MA G L, SONG C X. Synthesis characterization and protein drug release of temperature-sensitive PCL-PEG-PCL hydrogel[J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2009, 30(12): 2508-2513 (in Chinese).
- [15] GUO F, HUA M, HO J K, et al. Tribological performance and anti-corrosion stability of Co-Cr-Mo alloy with thermal oxidation layer under bovine serum albumin solution[J]. Tribology Transactions, 2016, 59(6): 1070-1080.
- [16] GISPERT M P, SERRO A P, COLACO R, et al. Friction and wear mechanisms in hip prosthesis: Comparison of joint materials behaviour in several lubricants[J]. Wear, 2006, 260(1): 149-158.
- [17] LIU G, WANG X, ZHOU F, et al. Tuning the tribological property with thermal sensitive microgels for aqueous lubrication[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2013, 5(21): 10842-10852.
- [18] SERRO A P, COLACO R, SARAMAGO B. Effect of albumin adsorption on biotribological properties of artificial joint materials[J]. Acs Symposium, 2012, 1120: 497-523.
- [19] AWSIUK K, BUDKOWSKI A, MARZEC M M, et al. Effects of polythiophene surface structure on adsorption and conformation of bovine serum albumin: A multivariate and multitechnique study[J]. Langmuir, 2014, 30(46): 13925-13933.
- [20] 刘国强, 郭文清, 刘志鲁, 等. 聚合物仿生润滑剂研究进展[J]. 摩擦学学报, 2015, 35(1): 108-120.
- LIU G Q, GUO W Q, LIU Z L. Research progress on polymer-based biomimetic lubricants[J]. Tribology, 2015, 35(1): 108-120 (in Chinese).
- [21] CHEN X M, JIN Z M, FISHER J. Effect of albumin adsorption on friction between artificial joint materials[J]. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology, 2008, 222(3): 513-521.
- [22] VIDAL C V, MUNOZ A I. Study of the adsorption process of bovine serum albumin on passivated surfaces of CoCrMo biomedical alloy[J]. Electrochimica Acta, 2010, 55(28): 8445-8452.
- [23] MYANT C, UNDERWOOD R, FAN J, et al. Lubrication of metal-on-metal hip joints: the effect of protein content and load on film formation and wear[J]. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2012, 6(2): 30-40.
- [24] ZHOU J L, YANG S Y, ZHAI C S, et al. Tribological characteristics of silicon nitride ceramic in three water-based lubricants[J]. Key Engineering Materials, 2015, 642: 99-103.

(责任编辑: 王文字)