

# 高強度 PAA-Silica-Chitosan 複合水膠應用於修復膝關節軟骨之研發

徐楓茜、凌銘鴻、林鴻儒\*

南台科技大學 化學工程暨材料工程所

E-mail:hrlin@mail.stut.edu.tw

**摘要**—本研究利用 UV 光照射聚合 Poly(acrylic acid)-Silica-Chitosan(PAA-Si-Ch)水膠，應用於修復膝關節軟骨。本實驗分別添加 Silica 與 Chitosan，來進行水膠物性探討，測試其機械性質、FT-IR、摩擦試驗、膨潤度及 SEM。結果顯示，添加 Silica 與 Chitosan 後的水膠，會增加材料本身的韌性其機械性質也隨之增加，壓縮強度可高達 42 MPa。添加 Si 與 Ch 所測得的摩擦係數為 0.00038。且具有良好的膨潤度，其含水率皆可達 80 % 以上，符合軟骨所需之含水率。由 SEM 圖也可以看出，有添加 Si 與 Ch 的水膠，孔洞較多、緻密且具有鋼骨結構。綜合以上結果，本實驗所製備的 PAA-Si-Ch 水膠有利於修復膝關節軟骨。

**關鍵字：**水膠(hydrogel)、幾丁聚醣(chitosan)、丙烯酸(arylic acid)、二氧化矽(silica)、支架(scaffold)、UV 聚合(UV polymerization)

## 一、前言

關節軟骨是一種特殊的結締組織，能夠忍受長時間且高重量負載，其組成包含了軟骨細胞以及細胞外基質，如主要為第二型膠原蛋白、醣蛋白等。健康的軟骨需要三種物質：第一、作為潤滑和滋養的水分；第二、吸收並保持水分的「蛋白多糖」；第三、固定蛋白多糖在適當良好位置的「成膠質」。軟骨中沒有血管以及神經的分佈，因此當軟骨受到傷害時，不會流血，也不能經由血管系統引發發炎反應，或缺乏修復的功能，不能產生使軟骨恢復成正常的新組織[1]。膝關節軟骨的退化為膝關節面的軟骨產生病變、磨損，多為 60 歲以上之中老年人；除了心臟病、高血壓外，退化性關節炎為第二大族群之中老年人疾病。現在大多數的治療方法，只是減輕患者的疼痛，而無法根治，例如：口服止痛消炎藥、物理治療和玻尿酸關節液黏稠補充劑等。但是對於雞肉或雞蛋會過敏者，施打玻尿酸者須小心，否則可能會造成副作用；口服的止痛藥大多為普拿疼

或阿斯匹靈，這些非類固醇的藥可能會抑制蛋白多糖的合成，所以雖然可以減少疼痛但也有可能正在加速惡化。現在有一些使軟骨缺損再生長的方法，例如：軟骨磨擦出血生長刺激方法、軟骨穿洞生長刺激方法、軟骨再造微小骨折生長刺激方法。

幾丁聚醣是從幾丁質而來的高分子量多醣體，是自然界中第二大的天然高分子僅次於纖維素。幾丁聚醣具有良好的生物降解性且在體內亦無毒性。幾丁聚醣也有良好的抗菌效果，以及生物相容性所以可被廣泛的使用，例如在生醫材料上可應用於凝血、敷料、修復骨頭。

聚丙烯酸具有能解離的親水性-COOH 基，解離後分子鏈間靜電排斥力增加，使其具有良好的吸水性質。吸水性的高分子材料是具有親水性或水溶性的分子以化學或物理性交聯產生三維網狀立體空間結構，可以使水分進入網狀結構中並能保存在網狀結構的網孔中

不流失。

聚丙烯酸早期多應用在生理用品與紙尿布上，但隨著人工合成技術的快速發展在生醫材料、化妝用品、隱形眼鏡材料、藥物釋放載體、生理感測材料等具高附加價值的成品中都可見到聚丙烯酸被使用。

奈米二氧化矽是一種無定型白色粉末，無毒、無味、無污染的無機非金屬材料，呈絮狀和網狀結構。表面存在不飽和的殘鍵及不同鍵結狀態的烴基，呈缺氧而偏離穩態的矽氧結構，即以  $\text{SiO}_2\text{-x}$  表示之。奈米二氧化矽粉體應用非常廣泛：(1)可做為抗紫外線劑應用於化妝品上，(2)做為塑料之增韌及抗老化劑，(3)做為塗料添加劑以抗紫外線及提高耐洗刷性，(4)做為補強及抗老化之橡膠添加劑等。

承如上述，使用 UV 光來照射聚合水膠，對於降低毒性有極大的幫助，而 UV 光照射聚合水膠是以高能量方式打斷鍵結達到聚合目的，並可縮短聚合時間。本文利用高吸水性丙烯酸為基材分別添加天然高分子幾丁聚醣與無機奈米二氧化矽聚合形成高強度水膠，用來修補破損膝關節軟骨。

## 二、實驗與方法

本實驗樣品分為 4 組(A、B、C、D)，所有樣品都以 PAA 為基材，A 組為 PAA、B 組為 PAA-Si、C 組為 PAA-Ch、D 組為 PAA-Si-Ch，以下為配置方式。

A 組配置方式，先取 40 ml 的去離子水，加入 0.0616 g 的交聯劑 N,N'-methylenebisacrylamide (NMBA)及 0.91 g 的起始劑 Ammonium peroxodisulfate (APS)攪拌至完全溶解，再加入單體 24.71 ml Acrylic acid (AAc)，持續攪拌後，加入交聯劑 Glutaraldehyde (GA)。混合均勻後，注入直徑 1.5 公分的圓柱形玻璃模具中，移至 UV 光照射聚合形成 PAA 水膠，隨後將聚合完成之水膠置於去離子水中水洗 3 次，以除去未反應之單體。B 組則是添加 5 wt % Silica 水溶液；C 組則是添加 10 wt%的 Chitosan；D 組將 5 wt %

Silica 水溶液與 10 wt% Chitosan 一起添加，皆利用 UV 光照射聚合形成水膠。

### 機械性質測試

將製備好的水膠置於 37°C PBS 充分膨潤至平衡，利用萬能材料試驗機以單軸壓縮的方式進行壓縮試驗，壓縮速率為 10 mm/min，可得知水膠之壓縮強度及彈性模數。

### FTIR 光譜分析

將常溫乾燥後所得之水膠研磨成細粉，並與溴化鉀(KBr)以 1：99 的比例混合均勻後，在壓製成錠，以 FTIR 觀察本研究在自由基聚合反應所得到特性吸收峰。

### 摩擦試驗

以適當比例製備 15×10×0.5 cm 水膠，將配製完成的水膠置於 37°C 之 PBS 中充分膨潤至平衡，利用萬能材料試驗機以單向試驗進行表面試驗，以標準荷重 0.2 kg，滑動速度固定為 150 mm/min 進行測試。

### 膨潤度與含水率測試

將配製完成水膠，稱重置於 37°C PBS 恆溫水浴中，並固定時間測量水膠重量，直到重量不再變化太大為止，才達平衡，由公式算出膨潤度。

$$\text{膨潤度 (w/w)} = (\text{Ws} - \text{Wo}) / \text{Wo} \quad (1)$$

(Wo：水膠未膨潤之重量；Ws：水膠膨潤後之重量)

將充分乾燥後的水膠，置於 37°C PBS 中，等達到完全膨潤後取出稱重，代入公式算出其含水率。

$$\text{含水率(\%)} = (\text{Wt} - \text{Wo}) / \text{Wt} * 100 \quad (2)$$

(Wt：水膠充分膨潤後之重量；Wo：水膠完全乾燥時之重量)

### 孔洞形態之觀察

將配製好之水膠利用冷乾機乾燥後，再以刀片切割成小試片，將試片鍍金後利用電子掃描顯微鏡 (SEM) 觀察其切割面之孔洞型態。

## 三、結果與討論

本實驗中使用 AAc 為單體，添加交聯劑與起始劑，並利用 UV 光照射聚合形成 PAA

水膠，添加不同材料並比較其機械強度及其物性探討。為了解本實驗製備出的水膠是否達到一般軟骨所需之荷重(10MPa)，我們利用萬能材料試驗機做壓縮測試，所得結果如表一所示。純 PAA 水膠其壓縮強度約為 5 MPa，但分別添加 Si 與 Ch 於 PAA 水膠基材中，其機械強度有明顯的提高，其機械強度約為 6~8 MPa，但無法達到一般軟骨所需的機械強度，當 Si 與 Ch 一起添加進 PAA 中，可得到最好的機械強度約為 42 MPa，其機械強度可符合軟骨所需之荷重。並由表一中的韌性與交聯密度可以證實，其壓縮強度越高，韌性與交聯密度也相對提高。因壓縮強度越高，曲線下所圍成的面積越大，其水膠的韌性也相對提高；相同地壓縮強度越高，水膠所交聯的網狀結構會較為緊密，因此交聯密度也隨之增加。

PAA 的網狀結構會與天然高分子 Ch 形成互穿型網狀結構，Si 則會在交錯的網狀結構中形成 void，由文獻可以得知，PAA 和 Ch 在酸性環境下，會產生氫鍵，且因 PAA 具有負電荷與 Ch 的正電荷會藉由兩者間的靜電庫倫力而形成錯合物，PAA 的 COOH 會與 Si 的 OH 反應時會產生氫鍵[2]，GA 與 Ch 會產生由共價鍵組成的內外部交聯[3] (GA 的醛基會與 Ch 的氨基產生縮合反應)，來增加鍵結的強度，使網狀結構趨於緊密，如圖 1。

為了證實 Silica 與 Chitosan 是否成功的與 PAA 產生聚合，我們利用 FT-IR 來證明，如圖 2。PAA 在  $1413-1558\text{ cm}^{-1}$  和  $1694-1710\text{ cm}^{-1}$  分別有  $\text{COO}^-$  和  $\text{C=O}$  之特性吸收峰；PAA-Si 在  $939\text{ cm}^{-1}$ 、 $1020\text{ cm}^{-1}$  有 Si-O 和 Si-O-Si 之特性吸收峰，PAA-Ch 在  $1039-1192\text{ cm}^{-1}$ 、 $1380\text{ cm}^{-1}$  和  $1598\text{ cm}^{-1}$  有 C-O-C、NHCO 和  $\text{NH}_2$  之特性吸收峰，PAA-Si-Ch 則包含所有的特性吸收峰，因此由 FTIR 可以證實 Si 與 Ch 可成功的與 PAA 產生聚合。

為了得知所製備之水膠表面摩擦係數是否與膝關節軟骨相符，我們利用萬能材料試驗機測試其摩擦係數。由表二得知，所製備出的水膠皆可達到一般軟骨所需之摩擦係數( $10^{-4}$ )

[4]。

在軟骨組織內其含水率約為 70 % 以上，為了證實本實驗所製備的水膠是否可達到一般軟骨所需之含水率，故測試其水膠膨潤度與含水率。由圖 3 可得知，PAA、PAA-Si、PAA-Ch 和 PAA-Si-Ch 含水率都在 80 % 以上，所以符合一般軟骨所需的含水率。

為了觀察不同組成的水膠經過冷凍乾燥後其表面形態是否有無變化，我們利用掃描式電子顯微鏡觀察其表面形態，由圖 4 可看出，PAA 水膠的孔洞大小不一致，其對照機械性質來比較，強度也較差；而 PAA-Si 水膠雖有大孔洞，但因添加 Si 後孔洞較為緻密，其機械強度略微增加；PAA-Ch 水膠因孔洞大小不一致且無緻密的小孔洞支撐，所以機械強度低於 PAA-Si 水膠；而 PAA-Si-Ch 水膠機械強度遠大於其它三組水膠，因在骨幹上皆由小孔洞所組成且具有鋼骨的結構，可分擔其所施加之荷重，所以具有較好的機械強度。

#### 四、結論

本實驗成功地利用 UV 光照射聚合，製備出 PAA-Si-Ch 水膠，且由 FTIR 光譜圖觀察其所添加之 Si 與 Ch 成功的與 PAA 產生聚合，其水膠之含水率、壓縮強度與摩擦係數皆符合軟骨所需之條件，並由 SEM 觀察水膠孔洞，可以證明 PAA-Si-Ch 水膠具有鋼骨結構，並可分散其所施加之荷重，進而提高其機械強度，由此證明本實驗所製備出 PAA-Si-Ch 水膠有利於修復破損之膝關節軟骨。

#### 三、參考文獻

- [1] H. J. Mankin, "The response of articular cartilage to mechanical injury", *Journal of Bone & Joint Surgery*, **64**, 460-466(1982).
- [2] Xiaomei Shi, Shimei Xu, Jiantao Lin, Shun Feng, Jide Wang \* "Synthesis of  $\text{SiO}_2$ -polyacrylic acid hybrid hydrogel with high mechanical properties and salt tolerance using sodium silicate precursor through sol-gel

process”, *Materials Letters*, **63**, 527–529 (2009).

[3] Ida Genta, Monica Costantini, Annalia Asti, Bice Conti, Luisa Montanari, “Influence of glutaraldehyde on drug release and mucoadhesive properties of chitosan microspheres” *Carbohydrate Polymers*, **36**, 81-88(1998).

[4] Jian Ping Gong, Yoshinori Katsuyama, Takayuki Kurokawa and Yoshihito Osada, “Double-Network Hydrogels Extremely High Mechanical Strength” *Advanced Materials*, **14**, 1155-1158(2003).

表一、壓縮測試

名稱	彈性模數 (MPa)	最大應力 (MPa)	最大應變 (%)	韌性 (J)	交聯密度 ( $\times 10^{-5}$ mole/cm <sup>3</sup> )
PAA	0.91 ± 0.14	4.94 ± 1.44	29.33 ± 3.70	0.76 ± 0.08	0.195 ± 0.047
PAA-Si	1.49 ± 0.16	8.92 ± 1.22	25.92 ± 1.43	1.99 ± 0.68	0.764 ± 0.15
PAA-Ch	1.44 ± 0.18	6.34 ± 0.44	30.12 ± 2.51	1.47 ± 0.16	0.204 ± 0.041
PAA-Si-Ch	2.50 ± 0.28	42.26 ± 3.63	25.23 ± 0.59	5.23 ± 1.48	2.293 ± 0.06

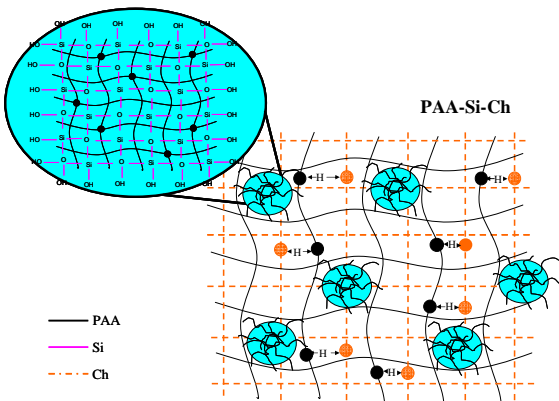


圖 1、PAA-Si-Ch 結構示意圖

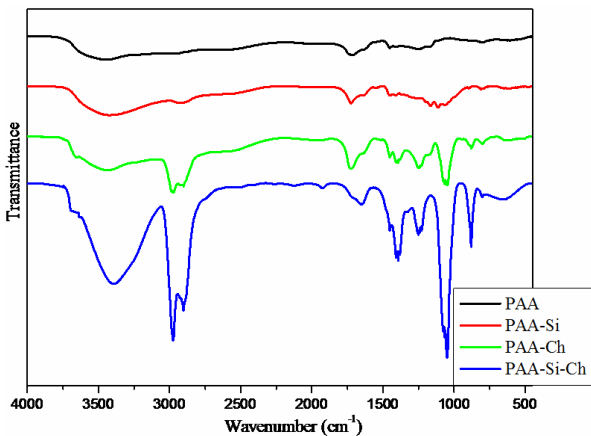


圖 2、PAA、PAA-Si、PAA-Ch 及 PAA-Si-Ch 水膠之 FTIR 光譜圖

表二、摩擦測試

名稱	第一個峰的力 (Kgf)	平均力 (Kgf)	靜摩擦係數 ( $\times 10^{-4}$ )	動摩擦係數 ( $\times 10^{-4}$ )
PAA	0.306 ± 0.04	0.23 ± 0.03	2.17 ± 0.37	1.78 ± 0.21
PAA-Si	0.279 ± 0.08	0.31 ± 0.03	2.44 ± 0.81	2.37 ± 0.42
PAA-Ch	0.230 ± 0.03	0.22 ± 0.06	3.18 ± 0.35	2.22 ± 0.29
PAA-Si-Ch	0.185 ± 0.01	0.20 ± 0.01	3.82 ± 0.16	1.94 ± 0.35

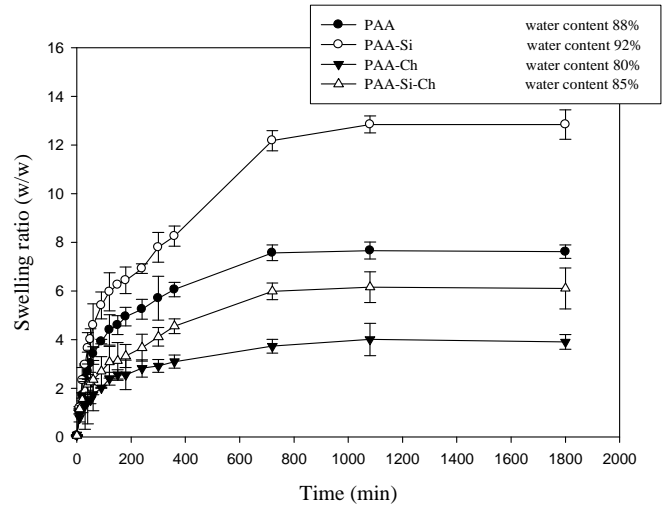


圖 3、膨潤試驗

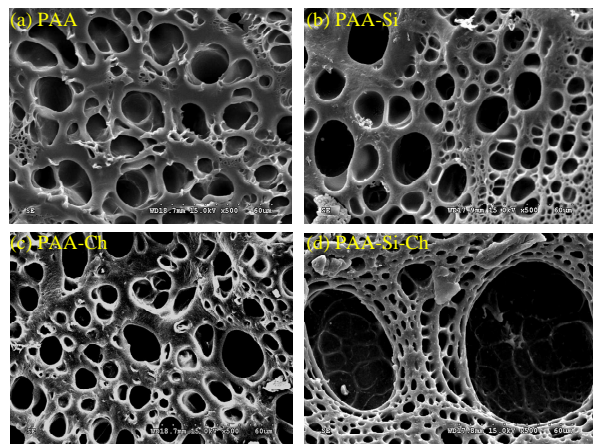


圖 4、掃描式電子顯微鏡(a) PAA (b) PAA-Si (c) PAA-Ch (d) PAA-Si-Ch