

文章编号: 1000-324X(2007)06-1255-04

## 软骨修复用 HA/PU 多孔支架材料的制备与表征

董志红, 李玉宝, 张 利, 左 奕

(四川大学 纳米生物材料研究中心, 分析测试中心, 成都 610064)

**摘 要:** 研制了用于软骨的组织工程的 HA/PU 多孔支架材料, 采用气体发泡法制备了三维贯通的多孔 HA/PU 支架材料, 通过 XRD、IR 对其结构组成进行了分析, 用 DSC 测量了玻璃化转变温度, 用 SEM 观察了微观形貌和孔径尺寸, 并计算了孔隙大小和孔隙率的分布. 通过燃烧试验分析了 HA/PU 复合材料中 HA 的百分含量, 并对力学性能进行了评估. 结果表明, 多孔 HA/PU 复合支架材料, 其大小孔道相互贯通, 孔径范围在 100~800 $\mu\text{m}$ , 大孔中含有微孔, 孔隙率可达到 78%~80%, HA 含量达到 30wt%, 力学强度达到 271kPa. 多孔 HA/PU 复合材料具有一定的弹性, 是一类性能很好的可望用于软骨修复的支架材料.

**关 键 词:** HA/PU 复合材料; 多孔; 制备; 表征

**中图分类号:** R318 **文献标识码:** A

## Preparation and Characterization of Porous HA/PU Scaffold Material for Soft Bone Repair

DONG Zhi-Hong, LI Yu-Bao, ZHANG Li, ZUO Yi

(Research Center for Nano-Biomaterials, Analytical and Testing Center, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

**Abstract:** Three dimensional and interconnective porous HA/PU scaffold material was prepared for tissue engineering by a gas foaming method, and its structure and composition were analyzed by XRD, IR. Glass transition temperature was measured by DSC curve. The micromorphology and pore size were observed and the pore sizes and distribution were calculated. The content of HA in PU/HA composite and mechanical performance were tested. The results indicate that porous HA/PU composite scaffold has good interconnectivity with typical pore sizes ranging from 100 $\mu\text{m}$  to 800 $\mu\text{m}$ . Its porosity can reach 78%–80%. When the content of HA in HA/PU composite is 30wt%, the mechanical strength of the HA/PU composite is 271kPa. The porous HA/PU scaffold has good elasticity which is a good potential material for soft bone repair scaffold.

**Key words:** HA/PU composite materials; preparation; characterization; porosity

### 1 引言

近年来, 复合人工骨研究取得了很大进展. 骨组织是天然的纳米复合材料, 由有机和无机相组成. 羟基磷灰石 (HA) 的结构组成与人体骨中磷灰石相似, 具有较好的骨传导性<sup>[1]</sup>和骨诱导性<sup>[2]</sup>, 但 HA 的脆性大大限制了它的应用. 为了制备与天然骨结构相类似的复合材料用 HA 和高聚物复合,

合成多孔组织支架材料已成为关注的焦点. 聚氨酯 (PU) 高分子材料, 具有良好的生物相容性、血液相容性、不吸收人体蛋白及优良的物理性能, 在人工心脏辅助装置、假肢、软骨等方面得到了广泛地应用<sup>[3]</sup>. 用聚氨酯合成的多孔支架材料, 多用于软骨组织修复<sup>[4,5]</sup>.

本研究通过纳米羟基磷灰石和聚氨酯复合制备多孔复合材料. HA 的加入, 不但有利于引导

收稿日期: 2006-10-25, 收到修改稿日期: 2006-12-22

基金项目: 国家 973(中-荷战略科学联盟计划) 项目 (2004CB720604)

作者简介: 董志红 (1978-), 女, 博士研究生. E-mail: girluyao@163.com 通讯联系人: 李玉宝. E-mail: nic7504@scu.edu.cn

组织的生成,且可以使软骨细胞获得稳定的机械支撑,从而形成稳定的透明软骨. HA 和聚氨酯复合后,使 HA 颗粒难以向周围组织迁移,克服了 HA 颗粒植入体内后易发生迁移的缺点,使生物稳定性增强,这种多孔支架材料合成简单且易加工,较高的孔隙率和三维贯通的孔径,利于纤维组织的长入,使得复合材料在软骨组织修复上具有广阔的发展前景.

## 2 材料与方法

### 2.1 原材料

蓖麻油(C.O)为化学纯,1,4-丁二醇(BDO)为分析纯,均在110~120℃真空度为1330Pa左右减压、脱水后密封保存. 甲苯-2,4-二异氰酸酯(TDI)为分析纯,含量≥98.0%,密封于冰箱中冷藏保存. 纳米羟基磷灰石粉末(HA),自制浆料<sup>[6]</sup>,脱水烘干、研磨成粉、过200目筛,干燥密封备用.

### 2.2 多孔支架的制备

将一定量的C.O加入到装有电动搅拌器、氮气保护的三颈瓶中,慢慢加入HA粉末,搅拌均匀,溶液呈粘稠的乳白色. 滴加TDI,并逐渐升温到60℃,反应1h,再滴加计量的扩链剂BDO,反应10min后,快速倒入瓷盘,放入烘箱中,于120℃熟化4h,取出合成产物浸泡在乙醇溶液中,滤出小分子,用去离子水冲洗,烘干,制得多孔的HA/PU复合支架材料.

### 2.3 多孔支架的测试与表征

分别用转靶X射线衍射仪(XRD)、红外光谱仪(FT-IR)和扫描电镜(SEM)对支架材料的结晶强弱、组成及复合材料的微观形貌、孔径大小和孔的贯通情况进行观察;用示差扫描量热仪(DSC)测量玻璃化温度;用燃烧试验测量复合材料中HA的百分含量;并测定多孔材料的孔隙率和抗压强度.

#### 2.3.1 孔隙率测定

多孔支架的孔隙率采用改进的比重法测定<sup>[7]</sup>. 选一个比重瓶装满乙醇称重 $W_1$ ;把重 $W_s$ 的样品浸入乙醇中,脱气,使乙醇充盈于多孔支架的孔中,然后再加满乙醇,称重为 $W_2$ ;把浸满了乙醇的样品取出后,剩余的乙醇与比重瓶称重 $W_3$ .  $\rho$ 为20℃下乙醇密度(0.8g/mL). 样品支架本身体积:  $V_s = (W_1 - W_2 + W_s)/\rho$ ; 样品支架孔体积:  $V_p = (W_2 - W_3 - W_s)/\rho$ ; 样品支架孔隙率:  $\varepsilon = V_p/(V_p + V_s) = (W_2 - W_3 - W_s)/(W_1 - W_3)$ . 计算多孔支架的孔隙率.

#### 2.3.2 抗压强度测定

采用国标GB1964-80,把样品加工成5个10mm×10mm×10mm的立方体,用日本岛津AG-10TA型电子万能材料试验机测试其抗压强度,载荷为200N.

## 3 结果和讨论

### 3.1 反应原理

本实验是按照预聚法合成的聚氨酯,由于聚氨酯很难和羟基磷灰石复合,故在反应初期就将蓖麻油和HA混合,再滴加TDI,这样既能使HA分散均匀,提高生物相容性,又能使蓖麻油和HA中的-OH和TDI中的-NCO基团充分反应,生成氨基甲酸酯基团. 然后再加入扩链剂BDO,这样只有扩链剂本身的-OH和-NCO基团反应,使产物结构规整,当迅速放入120℃的烘箱中时,反应继续进行,一方面,未反应完全的-OH能和-NCO充分反应. 另一方面,过量的-NCO和空气中的水发生反应,生成取代脲基团,释放出二氧化碳,产生气泡,并释放出热量,因生成脲键的反应速度比生成氨基甲酸酯基团快<sup>[8]</sup>,由含脲基形成的刚性链段极易发生微相分离,形成多孔的HA/PU复合材料. 在整个反应过程中,链增长、交联和释放气体反应同时进行<sup>[9]</sup>,形成了互穿网络结构.

### 3.2 XRD、FT-IR和DSC分析

从图1(a)可以看出,HA在26°,32°,34°,40°,47°和50°左右都有磷灰石的特征峰,呈弱结晶状态,除单一的HA相外,无其他无机相存在. 合成的HA/PU复合材料中,PU是高分子聚合物,它的诸多性能都依赖于其结晶度和晶体结构. 从图1(b)可看出,衍射图谱整体呈现出非晶态和晶态状态,衍射峰在 $2\theta=21^\circ$ ,HA的主要特征峰依然存在,但呈现弱化现象. 这是因为HA被包埋在PU中或吸附于PU表面,或与异氰酸酯产生了偶联,但是这种现象并不完全,所以聚氨酯还有部分结晶,纳米羟基磷灰石粒子对PU有机相具有一定的弥散增强作用. 经过熟化后,玻璃态和熔融态的样品结构和性能都得到完善,使复合材料具有较好的性能.

图2为HA/PU复合材料的红外图谱,分析表明:3570cm<sup>-1</sup>处的纳米羟基磷灰石的-OH特征峰消失或被掩盖,3332cm<sup>-1</sup>是N-H的特征吸收峰,呈N-H...N-H模式排列<sup>[10]</sup>,而3340cm<sup>-1</sup>左右无明显的吸收峰,说明NH几乎都氢键化,氢键作用有利于PU软硬段的微相分离. 在1725cm<sup>-1</sup>处出现了氨基甲酸酯基团中的C=O伸缩振动峰,表明NCO和羟基反应生成氨基甲酸酯. 2927和2855cm<sup>-1</sup>是

蓖麻油脂肪酸分子链上的甲基和亚甲基特征峰, 在  $1530\text{cm}^{-1}$  出现了 C-NH 面内对称弯曲振动吸收峰, 表明有缩二脲基团形成, 发生了交联反应.  $1450$  和  $1413\text{cm}^{-1}$  是  $\text{CO}_3^{2-}$  的离子特征峰,  $1059\text{cm}^{-1}$  是  $\text{PO}_4^{3-}$  的特征峰, 这表明纳米羟基磷灰石中除含有  $\text{OH}^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$  外, 还含有  $\text{CO}_3^{2-}$  基团. TDI 中, 苯环的特征峰表现在  $1598$ 、 $1530$ 、 $1450\text{cm}^{-1}$  处,  $1220\text{cm}^{-1}$  是  $\text{CH}_3$  弯曲振动峰, 过量的  $-\text{NCO}$  与空气中的水反应形成取代脲基团交联键,  $1642\text{cm}^{-1}$  是脲基团中  $\text{C}=\text{O}$  峰, 呈规则  $\text{C}=\text{O}\cdots\text{N}-\text{H}$  排列<sup>[10]</sup>, 在  $2274\text{cm}^{-1}$  处, 未出现  $-\text{NCO}$  的伸缩振动峰, 表明  $-\text{NCO}$  反应完全.

图 3 是 HA/PU 复合材料的 DSC 曲线, 表现出两个明显的玻璃化转变温度 ( $T_g$ ), 说明复合材料存在着明显的相分离, 软段的玻璃化转变温度越低, 表明微相分离越大<sup>[11]</sup>,  $-48^\circ\text{C}$  左右对应的温度即为软段玻璃化转变温度  $T_g(\text{s})$ ; 硬段的玻璃化转变温度  $T_g(\text{h})$  在  $48\sim 51^\circ\text{C}$ . 熟化过程中脲键的生成, 氢键作用增强, 使得复合材料中硬段微区的凝聚力增大,

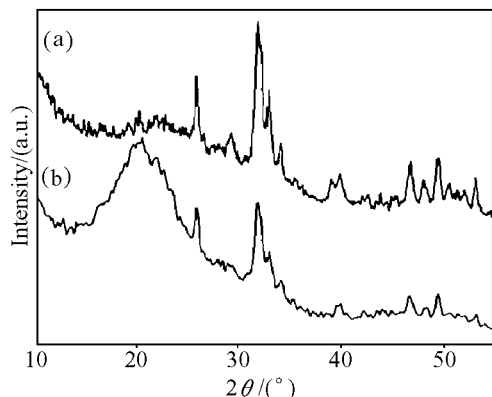


图 1 (a) 纯 HA 和 (b) HA/PU 复合材料的 XRD 图谱  
Fig. 1 XRD patterns of HA powders (a) and HA/PU composite (b)

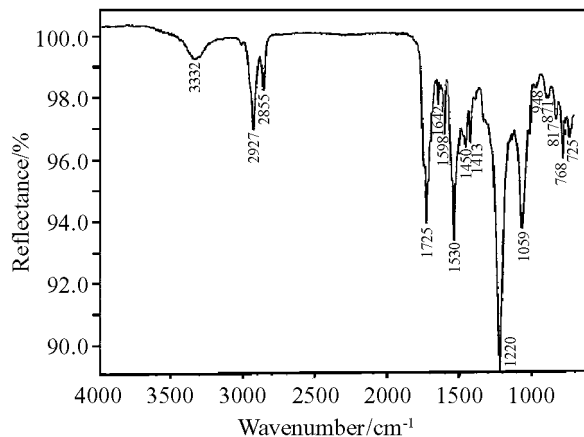


图 2 HA/PU 复合材料的 IR 图谱  
Fig. 2 IR spectrum of HA/PU composite material

相分离程度提高, 最终使 HA/PU 复合材料结构和性能趋于完善, 具有较好的强度和弹性.

### 3.3 力学性能分析

多孔支架的强度对修复骨和软骨组织尤为重要. 本实验所形成的氨基甲酸酯基团和取代脲基团的内聚能分别达到  $36.5$  和  $35.5\text{kJ/mol}$ , 由于内聚能较大, 又彼此缔合, 形成许多微区小单元, 当脲键形成的硬段部分超出了体系的熔融限制时, 便产生微相分离, 所形成的脲微区通过氢键相互连接, 使力学强度得到提高<sup>[12]</sup>, 从 XRD 也可看出 PU 聚合物呈现出玻璃态、次晶或微晶态, 这些小单元和柔性链段相互贯穿, 分布均匀且彼此交联, 形成软硬段聚合的微相分离互穿网络结构, 使材料既有一定的力学强度, 又具有一定的弹性. 在聚氨酯  $120^\circ\text{C}$  熟化过程中, 可以使 BDO 扩链剂继续和异氰酸酯反应, 使软硬端相规整排列, 形成结晶, 使力学强度进一步稳定和提高. 形成的多孔结构三维贯通, 但其力学强度很低, 抗压强度测试为  $271\text{kPa}$ , 可能有三方面原因, 一是二氧化碳产生过多, 导致孔径太大, 抗压强度降低; 二是异氰酸酯和水反应, 产生的脲键基团硬段部分交联和分支也影响了硬段的部分结晶; 第三也可能是形成的聚合物分子量低, 导致力学强度不高. 一般用于软骨修复支架的最低强度要求达到  $150\text{kPa}$ <sup>[5]</sup>, 故本研究制备的复合材料能满足软骨修复力学强度的要求.

### 3.4 形貌分析

聚氨酯和羟基磷灰石复合, 微小的单元聚合物相互贯穿, 形成了互穿网络的聚合物体系, 产生的二氧化碳不但使孔隙相互贯通, 且网络间的缠绕改善了羟基磷灰石的分散体系, 得到了均匀、稳定的 HA/PU 复合体系, 实现了有机-无机的特性互补, 提高了复合材料的利用价值. 图 4 为 HA/PU 多孔复合支架材料的宏观形貌, 由图可见孔径分布较宽, 这是因为释放出二氧化碳的过程中, 气泡和气泡相互接触而产生并泡, 且反应过程中生成的脲段发生相分离, 促进了开孔行为<sup>[13]</sup>. 随着聚合和交联的进行, 体系粘度增加, 孔的大小和形状固定下来, 最终形成了多孔结构. 该多孔材料用手按压具有一定的弹性, 适合软组织修复使用.

图 5 SEM 照片表明孔径尺寸范围在  $100\sim 800\mu\text{m}$  之间. 并含有丰富的微孔, 孔与孔之间相互贯通, 孔的结构不规则, 形成的皮层导致部分孔径关闭. 测得孔隙率达到  $78\%\sim 80\%$ . 研究表明, 支架材料的孔隙率和孔隙大小, 对于引导组织再生极其重要. 孔隙率的增加, 材料的表面积必然增加, 这不但有

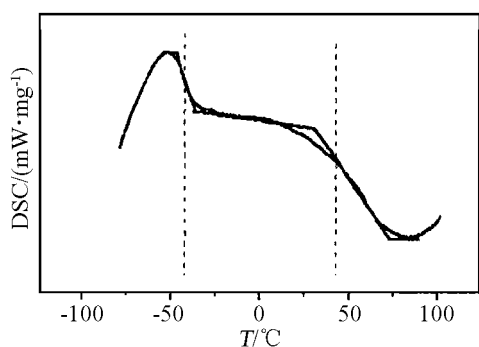


图3 HA/PU 复合材料的 DSC 曲线

Fig. 3 DSC curve of HA/PU composite material

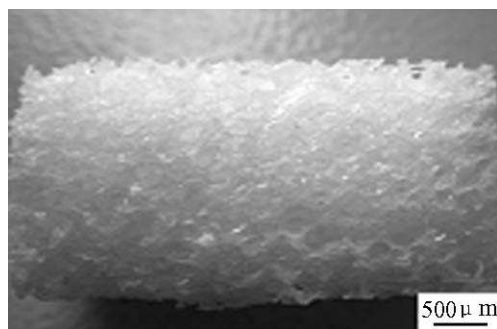


图4 HA/PU 多孔复合支架的宏观形貌

Fig. 4 Morphology of porous HA/PU composite scaffold

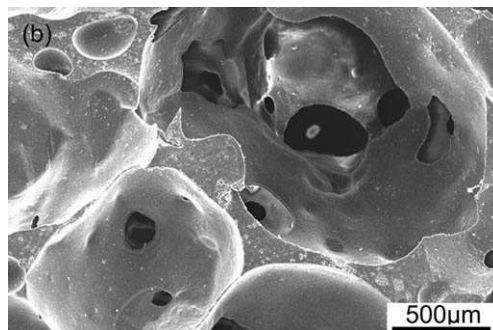
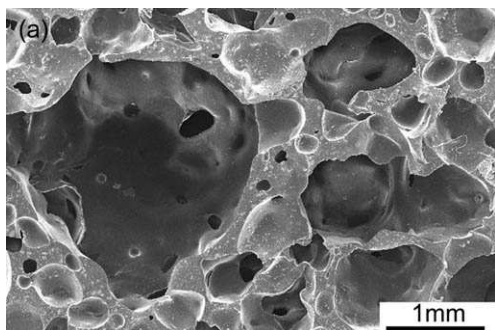


图5 不同放大倍数的 HA/PU 多孔复合支架 SEM 微孔结构照片

Fig. 5 SEM photographs of micro-pores of HA/PU composite scaffold with different magnifications

利于促进细胞的黏附和生长,同时也利于培养更多的细胞,促进再生器官的生成.孔隙有利于营养物质的运输和代谢废物的排出,且有利于新生血管的长入,孔隙的大小至少应能满足细胞进入和组织生长,一般来说,100~350 $\mu\text{m}$ 孔径利于骨的形成,如含有丰富的血管和组织纤维,孔径应 $>500\mu\text{m}$ ,才有利于血管的长入和细胞的存活.同时燃烧实验证明了在HA/PU复合材料中,HA占30wt%,为骨、软骨组织键合提供了一定的生物活性.材料的多孔性也可增加新生组织长入的生物诱导活性,同时也增加促进血管化发生的空间.

#### 4 结论

合成的HA/PU多孔复合支架材料,不但具有高的孔隙率和100~800 $\mu\text{m}$ 适合组织长入的孔径,且孔隙之间相互贯通,30wt%的HA含量,使复合支架不但具有促进组织生长的引导能力,同时具有一定的力学强度和弹性,在植入体内后不至于松散,是一类很有发展前景的软组织修复支架材料.

#### 参考文献

- [1] Tadashi Kokubo, Hyun-Min Kim, *et al.* *Biomaterials*, 2003, **24**: 2161-2175.
- [2] Ripamonti U, Crooks J, Kirkbride A N. *South African Science*, 1999, **95** (8): 335.
- [3] Zdrahala R J, Zdrahala I J. *J. Biomater. Appl*, 1999, **14**: 67-90.
- [4] Jianjun Guan, Kazuro L. Fujimoto. *Biomaterials*, 2005, **26**: 3961-3971.
- [5] Spaans C J, Belgraver V W, *et al.* *Biomaterials*, 2000, **21**: 2453-2460.
- [6] Wei Jie, Li Yubao. *Europe Polymer Journal*, 2004, **40**: 509-515.
- [7] 石桂欣, 王身国, 贝建中. 功能高分子学报, 2001, **14** (1): 7-11.
- [8] Michael J. Elwell, Anthony J. Ryan. *Polymer*, 1996, **37** (8): 1353-1361.
- [9] 傅明源, 孙酃经. 聚氨酯弹性体及其应用, 第三版. 北京: 化学工业出版社, 2006. 15-16.
- [10] Emel Yilgör, İskender Yilgör, Ersin Yurtsever. *Polymer*, 2002, **43**: 6551-6559.
- [11] Wang C B, Cooper S L. *Macromolecules*, 1983, **16**: 775.
- [12] Ashish Aneja, Garth L. Wilkes, *Polymer*, 2002, (43): 5551-5561.
- [13] Yasunaga K, Neff R, Zhang X, *et al.* *Journal of Cellular Plastics*, 1996, **32**: 427-447.