

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

鈦金屬表面 Arg-Gly-Asp 共價接枝修飾之研究

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2213-E-040-002-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：中山醫學大學牙科材料研究所

計畫主持人：丁信智

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 9 月 22 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告
鈦金屬表面Arg-Gly-Asp共價接枝修飾之研究
Surface modification of titanium implant covalent grafting with
Arg-Gly-Asp peptides

計畫編號：NSC 91-2213-E-040-002

執行期限：91年8月1日至92年7月31日

主持人：丁信智 中山醫學大學牙科材料研究所 (sjding@csmu.edu.tw)

共同主持人：陳震漢 中興大學獸醫微生物學研究所

共同主持人：張憲彰 成功大學醫學工程研究所

計畫參與人員：陳俊儒 林晴嵐 中山醫學大學牙科材料研究所

一、中文摘要

鈦及鈦合金具有高機械性質、質輕、耐疲勞、抗腐蝕性及優異的生物相容性，可作為人工牙根、骨釘、骨板及人工關節等承受負荷之修補材。使鈦合金表面擁有生物活性的能力，一直是生醫材料界汲汲追求的目標之一。本研究利用簡單電化學方法，進行鈦金屬表面改質，及使用原子力顯微鏡、紅外線光譜儀及薄膜 X 光繞射儀，特性化鈦金屬。結果指出純鈦金屬經簡單的化學或電化學處理後，似乎金屬表面發生相變化，尤其是(002)晶面的變化，此變化與氧化鈦或鈉鈦氧化物形成有關。後續將針對此表面層進行修飾與 RGD 接枝。

關鍵詞：鈦、RGD 胜、接枝、表面

Abstract

Due to its excellent biocompatible, superior mechanical properties and better resistance to corrosion, the intriguing Ti metal can be used as dental implant, bone plate and artificial joint replacement for load-bearing applications. The lack of bonding directly to bone tissue is a significant shortcoming. In this study, simple chemical treatment and electrochemical method were used to perform surface modification of Ti at an aim of enhancing its activation. AFM, thin film XRD, and FTIR were used to characterize the treated Ti metals. Experimental results indicated that the crystal structure was changed on the treated surface, especially for (002) plane, dependent of the formation of Na-Ti oxides. Further, modification and RGD-peptide grafting on the treated surface is under investigation.

Keywords: titanium, RGD peptide, grafting, surface modification.

二、緣由與目的

鈦及鈦合金因有極佳的生物相容性及優異的機械性質，加之密度比不銹鋼、Co-Cr 金屬小，植入體內後，較不會造成重大的負擔，已廣泛地被應用於牙科及骨科的作為承受負荷用途上[1-6]。然而，所有金屬包含鈦及鈦合

金，都不具備生物活性，無法直接和骨組織產生化學鍵結，長久以來一直成為生醫工程界欲克服解決的難題之一。為了改善此問題，近二十年各研究者發展出各種表面改質技術，來促使材料表面能夠具備與骨組織相互結合的特性[1-11]。目前最常被研究及應用的改質方法為以電漿噴鍍法(plasma-spray)披覆似骨質氫氧基磷灰石(Hydroxyapatite, HA)於金屬表面上[7,9,10]。然在人工牙根、人工關節的臨床植入發現在鍍層與金屬間界面有剝離現象，再度使骨組織面對金屬離子釋出的危害。日本 Kokubo 等人利用簡單的酸鹼化學及熱處理，發展出一套簡單的鈦表面改質的製程[1-3,8]，期使賦予鈦金屬生物活性的表面，達成能夠與骨組織產生強烈化學結合。其研究結果指出當鈦經鹼處理後，浸泡於人工模擬體液中，有利於含鈣磷之磷灰石析出。基本上化學處理是利用電子轉移原理，有鑑於此，本研究嘗試利用電化學法對鈦金屬表面進行改質，並分析其表面特性，進而後續再將細胞貼壁因子 RGD 胜 接枝到鈦表面，促使其能誘導組織內長。

三、實驗方法

鈦金屬拋光處理後再浸蝕於鹼性溶液中，維持定溫約 1 小時，再將試片熱處理。處理過的金屬試片，浸泡於含鈣磷的人體模擬體液 (SBF) 中，成分如表一所示。部分試片鹼性處理後浸於模擬體液，再經熱處理。在電化學處理上則是利用電化學分析儀 (CHI660A) 改變通電電位、時間及溶液濃度、種類進行電活化過程。各種處理後的試片以原子力顯微鏡 (AFM)、薄膜傅立葉紅外線光譜儀 (FTIR) 與薄膜 X 光繞射儀 (XRD) 探討微結構及化學組成，並與單純化學處理相互比較其優劣。

四、結果與討論

圖一為純鈦經簡單的化學處理後之薄膜 XRD 繞射圖形。純鈦金屬本身在 $2\theta = 35^\circ - 41^\circ$ 會有明顯的三個波峰，分別為 (010)、(002)、(011) 晶面，然而經鹼處理過的試片在這三個繞射峰的高低起伏卻大

有異趣，尤其是(002)晶面的特性，似乎顯示鈦金屬表面發生相變化。相對於圖一，經電化學處理過後的 XRD 圖譜(圖二)亦在 $2\theta = 38.4^\circ$ 顯現不同於純鈦(002)面的繞射峰高度。薄膜 FTIR 的結果清楚地顯示經化學處理過後的試片有吸收波峰的形成(純鈦無任何特性吸收峰)，可推斷其表面形成化合物。日本 Kokubo 等人之研究結果指出，此化合物很可能為氧化鈦(rutile phase)與鈉鈦氧化合物所組成[1]。鈦金屬經電化學處理的 AFM 顯微圖(圖三)，顯示由原本均勻粗糙表面結構，變為高低落差更大的粗糙組織，似有被侵蝕的跡象。

SEM 微結構顯示鈦金屬經鹼處理後由原本平滑的表面結構，變為粗糙組織，有被侵蝕的痕跡。再經熱處理與 SBF 浸泡則呈現不同的形態，為細小的顆粒及均勻的結構，可誘導模擬體液中的離子吸附於鈦金屬表面上活化鈦金屬(圖四)。反觀，先經 SBF 浸泡再熱處理後不同於前者的是表面高低起伏更為明顯，這似乎有利於骨組織內長。利用電化學方法處理後之 SEM 微結構圖，與化學處理的結果相較之下，除具有相同大小顆粒結構外，其粗度似乎加大。經 SBF 浸泡後表面吸附鈣磷物(圖五)。Kokubo 等人研究發現鈦金屬表面經處理後浸於 SBF 中，可誘導 SBF 形成磷灰石層[1-3,8]。原因在於鈦表面的氧化鈦被鹼侵蝕，形成鈉鈦氧元素組成的陶瓷層，藉由此層提供鈦金屬的表面活性，使其與 SBF 溶液進行化學作用形成磷灰石。

五、結 論

由各項分析顯示，不論經由簡單化學或電化學法對鈦表面進行改質，似乎有異曲同工效用，皆在原本純鈦(002)晶面的繞射峰產生變化。且可誘導模擬體液中的離子吸附於鈦金屬表面上活化鈦金屬。

六、成果自評

本計劃先期著重在鈦金屬經化學及電化學處理後之特性差異，並利用浸泡模擬測試生物活性。此部份之成果將發表在國際期刊，且檢覓相關專利評估申請性。後續研究將進一步

修飾此表面層，以接枝 RGD 胜，以期使新製程成果能實際應用到承受負荷之硬組織修補。

參考文獻

- [1] H.M. Kim, F. Miyaji, T. Kokubo, T. Nakamura, "Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surface treatment," *J. Biomed. Mater. Res.*, **32**, 409-417 (1996).
- [2] S. Nishiguchi, T. Nakamura, M. Kobayashi, M. Kobayashi, H.M. Kim, F. Miyaji, T. Kokubo, "The effect of heat treatment on bone-bonding ability of alkali-treated titanium," *Biomaterials*, **20**, 491-500 (1999).
- [3] W.Q. Yan, T. Nakamura, M. Kobayashi, H.M. Kim, F. Miyaji, T. Kokubo, "Bonding of chemically treated titanium implants to bone" *J. Biomed. Mater. Res.*, **37**, 267-275 (1997).
- [4] K. Tsuru, S. Takemoto, S. Hayakawa, A. Osaka, "Apatite formation on electrochemically treated titanium," *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.*, **599**, 141-146 (2000).
- [5] X. Zhu, K.H. Kim, Y. Jeong, "Anodic oxide films containing Ca and P of titanium biomaterial," *Biomaterials*, **22**, 2199-2206 (2001).
- [6] D. Dunn, S. Raghavan, "Formation and characterization of anodized layers on CP Ti and Ti-6Al-4V biomaterials," *Surface and Coatings Technology*, **50**, 223-232 (1992).
- [7] 呂明泰，黃敏勝，高嘉澤，黃翠賢，陳瑾惠，朱建平，丁信智 "氫氧磷灰石之特性及其製程"，中華口腔顎面植體雜誌，**1**，39-45 (2001)。
- [8] T. Kokubo, "Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment," *Acta Mater.*, **46**, 2519-2527 (1998).
- [9] S.J. Ding, C.P. Ju, J.H. Chern Lin, "Morphology and immersion behavior of plasma-sprayed hydroxyapatite/bioactive glass coatings," *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **11**, 183-190 (2000).
- [10] S.J. Ding, T.H. Huang, C.T. Kao,

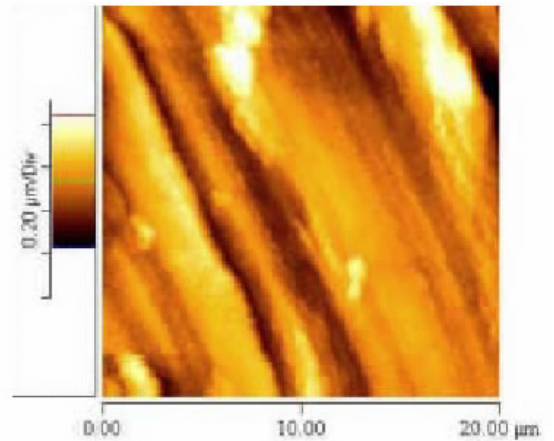
“Immersion behavior of plasma-sprayed modified hydroxyapatite coatings after heat treatment,” *Surface Coating Technol.*, **165**, 248-257 (2003).

- [11]. S.J. Ding, “Properties and immersion behavior of magnetron-sputtered multi-layered hydroxyapatite/titanium composite coatings,” *Biomaterials*, **24**, 4233-4238 (2003).

表一 人工模擬體液化學組成

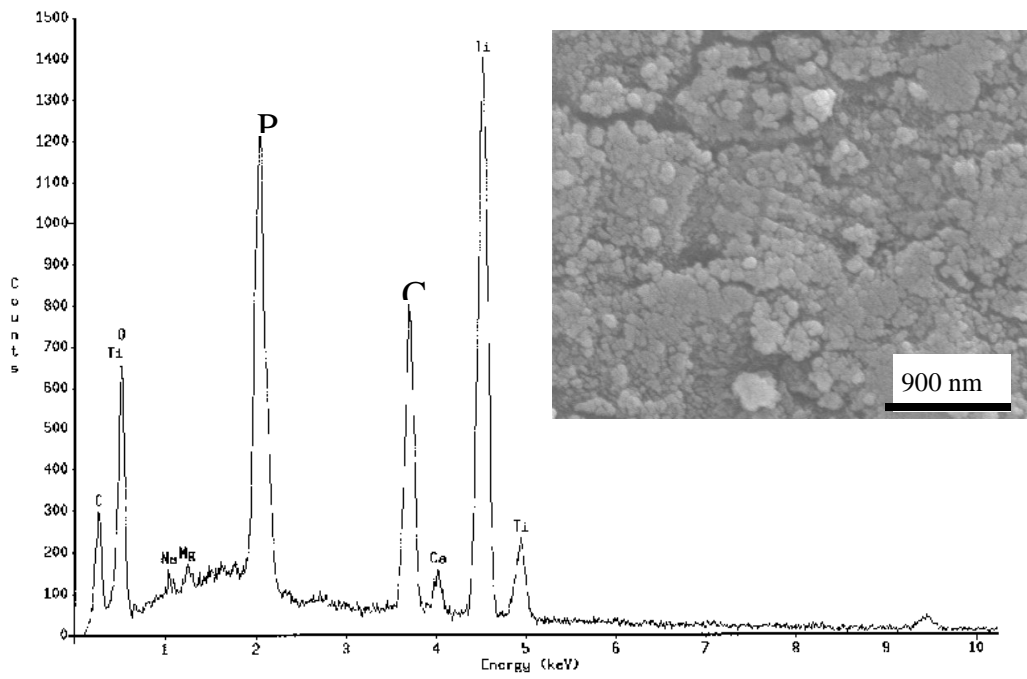
Constituent	g/L
NaCl	8.00
NaHCO ₃	0.35
KCl	0.22
MgCl ₂ •6H ₂ O	0.31
CaCl ₂	0.28
K ₂ HPO ₄	0.15
Na ₂ SO ₄	0.07

圖二 各種不同電化學處理後之鈦試片 XRD 圖譜

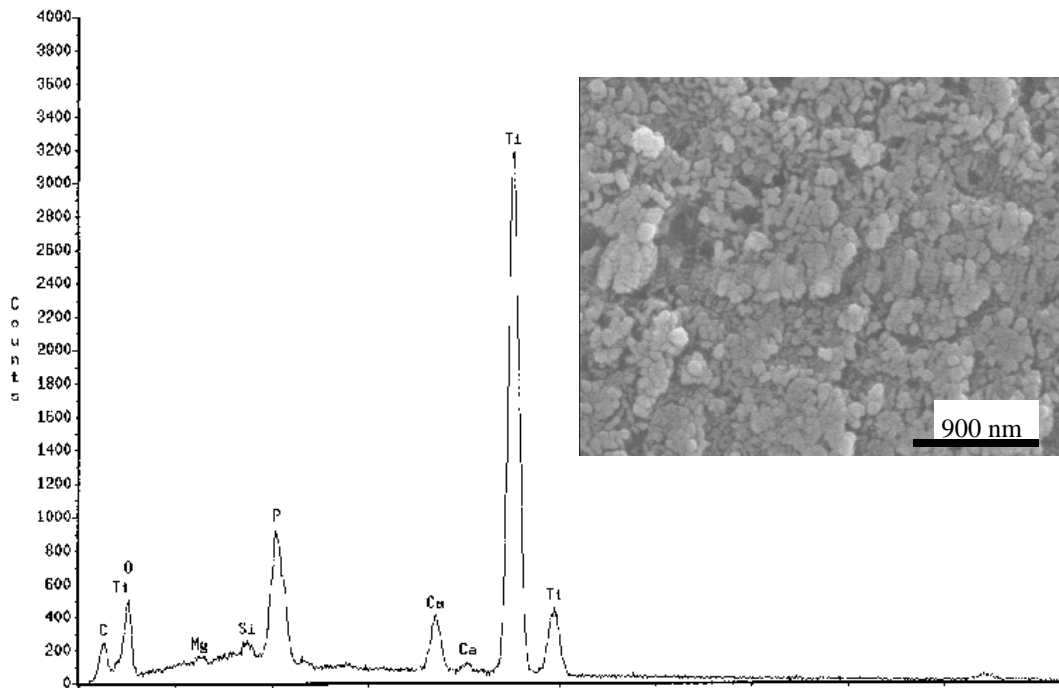


圖三 電化學處理後之鈦之AFM結構圖。

圖一 (a)1 M ; (b) 10 M NaOH 處理 ; (c) 10 M NaOH 處理後再經熱處理之鈦試片 XRD 圖譜。



圖四 鹼處理後經熱處理再浸泡在SBF溶液的SEM&EDS圖



圖五 電化學處理後浸泡於SBF之SEM&EDS圖