

·研究简报·

水溶性梳状聚乙二醇构建的血液相容性涂层*

浦 鸣 计 剑** 李晓林 沈家骢

(浙江大学高分子科学与工程系 高分子合成与功能构造教育部重点实验室 杭州 310027)

关键词 血液相容性, 梳状聚乙二醇, 涂层, 药物释放

随着现代医学的飞速发展,各种微创介入医疗装置如医用导管、手术导引线、金属支架已广泛地应用到各种医疗手段中,极大地丰富了现代医学诊疗技术.然而,现有的装置在临床应用中,依然不同程度地存在感染、凝血和术后组织增生等问题^[1].为了解决这一问题,人们设计了一系列血液相容性的涂层表面,如构建仿细胞膜的磷酸胆碱基聚合物载药涂层^[2],含肝素的血液相容性涂层^[3]等.设计生物相容性聚合物基载药涂层实现药物在预定部位的定向释放,为解决这些问题提供了有效的途径^[4-6].

聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)在人造血管和血液过滤材料等方面有较为广泛的应用,而提高其表面的血液相容性显得尤为必要,聚乙二醇(PEG)作为FDA认证的一种聚合物材料,已广泛用于材料表面的修饰,以阻抗非特异性粘附以及提高材料的血液相容性^[7,8].如Kim^[9]等利用化学接枝的方法将PEG引入PET表面,并将肝素固定到PEG末端来提高材料的血液相容性.但是PEG通过物理方法改性PET的研究鲜有文献报道.另外有研究报道高支化的PEG比线形PEG具有更优异的阻抗非特异性粘附能力^[10-12],并能有效提高材料的血液相容性.本课题组利用原子转移自由基聚合(ATRP)的方法合成了高密度具有多臂结构的梳状PEG(CPEG)^[13].并研究探索采用CPEG的特殊性能,利用通过简单的涂层技术在材料表面形成具有优异血液相容性以及稳定的高密度支化型聚合物层和模型药物涂层.

1 原料与试剂

聚对苯二甲酸乙二醇酯薄膜(PET,杭州争光树脂厂),在丙酮和无水乙醇以及双重蒸馏水中分

别超声10 min以除去表面油污及杂质,用氮气流吹干备用;物理吸附型罗丹明RD6G,中国医药公司,直接使用;线形聚乙二醇(LPEG, $M_w = 4000$, 1×10^4);梳状聚乙二醇(comb-like PEG, CPEG, $M_w = 7400$)按照文献^[13]合成,其结构式如图1.

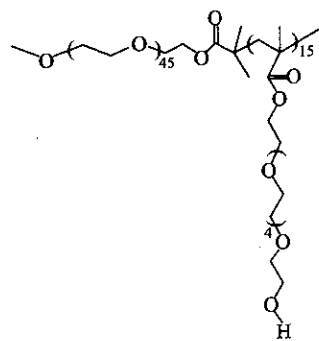


Fig. 1 The structure of comb-like PEG

2 涂层制备

将100 mg CPEG加入10 mL水溶液中,配制10 mg/mL的CPEG水溶液,将预处理后的洁净PET膜切割为10 mm × 20 mm的尺寸大小,用浸涂(dip-coating)的方法,利用低转速马达,匀速的牵引膜片在CPEG溶液中经过,使PET表面均匀的涂覆CPEG,反复两次,使之形成厚度约为80 nm的CPEG涂层表面,约20 μg,取出于空气中自然挥发晾干,将涂层表面置于70℃真空烘箱中放置48 h,取出,干燥保存,用于接触角的测试.作为对比,用相同浓度的LPEG($M_w = 1 \times 10^4$)水溶液进行涂层的制备.

3 模型药物涂层的制备

在上述CPEG和LPEG的聚合物水溶液中分别加入10 mg的模型药物RD6G,重复上述聚合物涂层的制备方法,得到装载模型药物的聚合物载

* 2005-09-20 收稿,2006-04-26 修稿;国家自然科学基金(基金号 50373036)、国家重点基础研究规划项目(973)(项目号 2005CB623902)和教育部霍英东基金优选(项目号 J20040212)资助项目; ** 通讯联系人, E-mail: Jijian@zju.edu.cn

药涂层.

4 材料的表征

涂层在水中浸泡不同的时间后测其接触角,在 DSA 10 MK2 型接触角测试仪(KRUSS)上采用 Sessile drop 法测定接触角,每个样品平行测试 5 组,取平均值.人血浆血小板粘附实验参照文献[14]的方法进行.涂层药物释放的实验中,将包裹模型药物的涂层放入水中浸泡,每隔一段时间取出膜片测定紫外吸收强度.

5 涂层稳定性评价

通过 CPEG 双亲聚合物水溶液所构建的涂层在水中浸泡不同时间后,取出涂层材料,干燥后测其接触角,涂层的接触角(图 2)研究显示,经过 CPEG 修饰的表面在水中浸泡 10 天内接触角基本保持不变,在 52° 左右,而分子量为 1×10^4 的 LPEG 涂层改性的表面在水中浸泡短时间后膜片的接触角就由 57° 左右重新到上升 74° 左右,与纯的 PET 表面接触角一致,证明了用 LPEG 构建的涂层表面在水环境中不稳定,而 CPEG 能在材料表面构建稳定化的涂层.这种特殊的稳定作用可能来源于 CPEG 的特殊结构,首先 CPEG 的疏水主链加强了与 PET 表面的结合力,其次,CPEG 分子中含较多的 $-OH$ 可能与 PET 表面的 $-COOH$ 发生作用从而进一步增强了涂层的结合力.另外,CPEG 这种特殊的结构引起了分子间或分子内的氢键作用从而形成稳定的聚合物网络结构,如图 3 所示,为消除水的影响,涂层充分干燥后保存一段时间后在室温下测其红外光谱,发现 CPEG 的 $C-O-C$ 伸缩振动的吸收峰在 1103 cm^{-1} 处,将 CPEG 在红外灯下烘烤 2 min 后,测得其吸收峰变为 1108 cm^{-1} ,且吸收强度有所降低,同样,在烘烤后,CPEG 的 $C=O$ 振动的吸收强度降低,谱带变窄且向高频方向位移,吸收峰从 1719 cm^{-1} 处变为 1723 cm^{-1} .将 CPEG 放置一段时间后再对其进行红外光谱的分析,发现其吸收峰与原来未经烘烤前一致,证明了 CPEG 分子内或分子间能形成大量的氢键,这种端羟基的多支链结构可能在与 PET 表面基团作用增强结合力的同时,利用其自身分子内或分子间的氢键作用,形成了稳定的聚合物涂层网络.

另外,称重法数据也证明了 CPEG 能够在材料表面上构建稳定的生物涂层.将 100 个纯 PET 膜片放在一起称量,得到纯的 PET 总质量为 2.7623 g ,CPEG 涂层化后,其总质量增加为

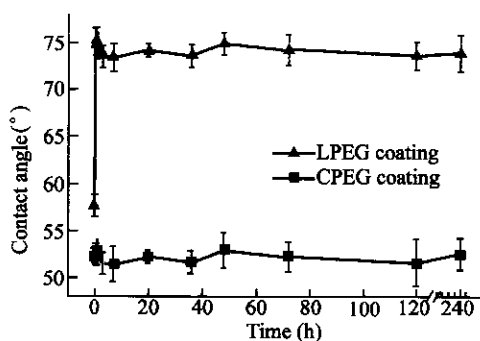


Fig. 2 Contact angle for different times

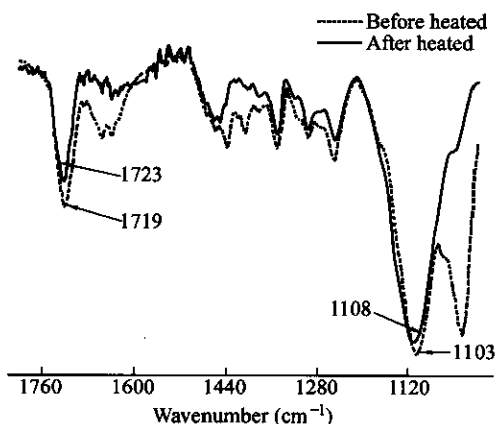


Fig. 3 FTIR spectra of CPEG before and after heating

2.7642 g ,计算得出每片 PET 膜上的 CPEG 约为 $19\text{ }\mu\text{g}$,在水中浸泡 20 天后, 90°C 下真空干燥两天,取出测得其总质量为 2.7643 g ,计算得出每片 PET 膜上的 CPEG 约为 $20\text{ }\mu\text{g}$,相比浸泡前反而增加了 $1\text{ }\mu\text{g}$,变化率为 5% ,由于电子天平仅保留小数点后四位,本身读数所产生的误差范围在 $0 \sim 10\%$ 内.因此可以认为 CPEG 在水中浸泡 20 天内保持稳定,基本未溶.

6 模型药物的释放行为

为了研究模型药物的释放行为,将载药涂层膜片浸泡在水中,一段时间后取出膜片,轻轻用氮气流吹干,在紫外吸收波长 535 nm 处测其紫外吸收强度.将测过的膜片重新放入换过的浸泡液,继续释放行为,反复上述过程,测得不同释放时间的紫外吸收值.如图 4,涂层经过 LPEG 水溶液涂覆过的 PET 表面的罗丹明紫外吸收值在短时间内迅速降低到 0 附近,而 CPEG 水溶液处理的 PET 表面的罗丹明紫外吸收值尽管在 1 h 内迅速降低,但随后几天内趋于一个稳定的值,这说明了 LPEG 涂层在表面非常的不稳定,遇水即溶解,相比较而言,CPEG 涂层在水溶液环境中不能被溶

解,能够在表面形成一层稳定的聚合物网络,使得罗丹明在网络层中缓慢的释放出来.因此 CPEG 双亲聚合物水溶性涂层技术也为各种水溶性药物,包括蛋白质或者多肽的表面固定和包埋释放提供了可能.

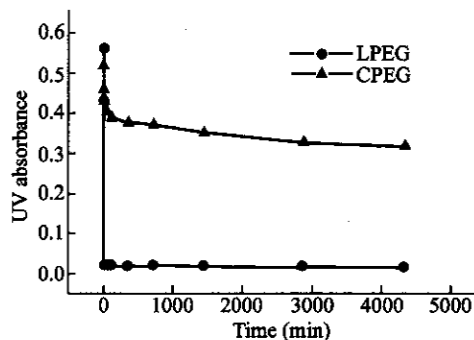


Fig. 4 UV absorbance of RD6 g loaded in LPEG and CPEG coating

7 涂层血液相容性评价

不同分子量的线性 PEG 对材料表面接枝改性后具有不同的阻抗非特异性粘附的能力,而分子量为 4000 左右的 PEG 对材料表面化学接枝改性后,显示了良好的抗非特异性粘附行为^[8,15],作为和 CPEG 涂层表面的对比,本文选用分子量为 4000 的 LPEG(LPEG4000)对聚酯膜表面进行化学接枝处理,其表面接枝过程参照文献[16],扫描电镜照片显示(放大倍数为 5000),如图 5,经过 LPEG4000 改性过的 PET 膜表面的抗血小板粘附情况有所改善.而用 CPEG 水溶液对材料表面经过简单工艺处理后得到的稳定涂层表面几乎没有血小板粘附情况的出现,血小板粘附实验证明了这种由 CPEG 形成的稳定涂层具有比一般 LPEG 修饰的表面更优异的抗凝血性能和良好的生物相容性.

综上所述,通过 Dip-coating 的方法用 CPEG 双亲聚合物水溶液进行材料表面改性,获得了一种环境友好的涂层,涂层中高密度多臂 CPEG 由于

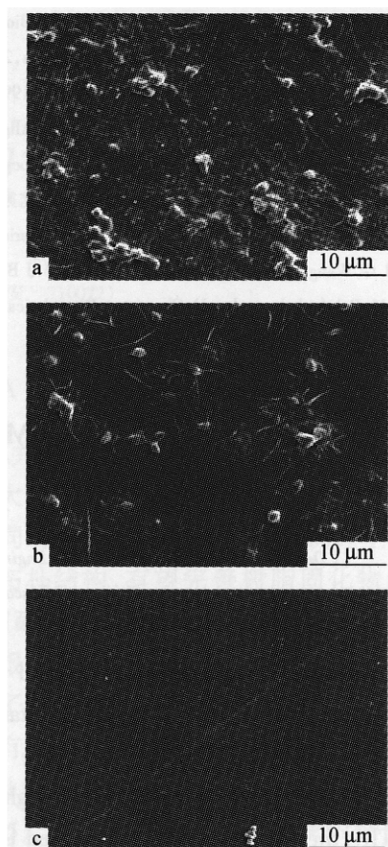


Fig. 5 SEM images of platelet adsorption both on pure PET and surface-modified PET substrates

a) Pure PET; b) Linear PEG ($M_w = 4000$) grafted on PET surface; c) PET surface with CPEG coated on

其特殊的分子结构,疏水的主链增强与基材结合力的同时,其支链末端羟基和 PET 表面的化学键合作用以及 CPEG 本身分子间或分子内的氢键作用使 CPEG 双亲聚合物可在材料表面形成稳定的高密度 PEG 涂层.该涂层不仅可有效的阻抗血小板的富集和粘附,而且可以实现水溶性药物,包括蛋白质或者多肽的表面固定和包埋释放,这种涂层改性技术为设计生物相容性聚合物基载药涂层和实现药物在体内预定部位的释放提供了新的选择.

REFERENCES

- Pitt W G, Park K, Cooper S L. *J Colloid Interface Sci*, 1986, 111: 343 ~ 362
- Yasuhiko I, Akira Y, Kazuhiko I. *Biomaterials*, 2003, 24: 3599 ~ 3604
- Kjeld C, Rolf L, Håkan E, Graciela E, Anders L. *Biomaterials*, 2001, 22: 349 ~ 355
- Kaetsu I, Nakayama H, Uchida K, Sutani K. *Radiation Physics and Chemistry*, 2001, 60: 513 ~ 520
- Mcnaur A M. *Medical Device Technology*, 1996, 12: 16 ~ 21
- Ji Jian (计剑), Feng Linxian (封麟先), Shen Jiacong (沈家骢). *Chem J Chinese Univ (高等学校化学学报)*, 2002, 23(11): 2196 ~ 2201
- Chen Baolin (陈宝林), Ji Jian (计剑), Ji Rentian (季任天), Qiu Yongxing (邱永兴), Feng Linxian (封麟先). *Acta Polymerica Sinica (高分子学报)*, 1999, (4): 449 ~ 453

- 8 Groll J, Ademovic Z, Ameringer T, Klee D, Moller M. *Biomacromolecules*, 2005, 6(2): 956 ~ 962
- 9 Kim Y J, Kang I K, Huh M W, Yoon S C. *Biomaterials*, 2000, 21: 121 ~ 130
- 10 Irvine D J, Mayes M A, Griffith C L. *Macromolecules*, 1996, 29: 6037 ~ 6043
- 11 Irvine D J, Mayes A M, Satija S K, Barker J G, Sofia-Allgor S J, Griffith L G. *J Biomed Mater Res*, 1998, 40: 498 ~ 509
- 12 Groll J, Amigoulova E V, Ameringer T, Heyes C D, Rocker C, Nienhaus G U, Moller M. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 4234 ~ 4239
- 13 Li Xiaolin (李晓林), Ji Jian (计剑), Shen Jiacong (沈家骢). *Chem J Chinese Univ (高等学校化学学报)*, 2005, 26(2): 388 ~ 390
- 14 Wang D A, Ji J, Gao C Y, Yu G H, Feng L X. *Biomaterials*, 2001, 22: 1549 ~ 1562
- 15 Wayne R G, Wang G H, Thomas A H, Hoffman A S. *J Biomed Mater Res*, 1991, 25: 1547 ~ 1562
- 16 Harris J M. *Poly(ethylene glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications*. New York: Plenum Press, 1992. 225 ~ 227

CONSTRUCTION OF A BLOOD COMPATIBLE COATING VIA AMPHIPHILIC COMB-LIKE POLY(ETHYLENE GLYCOL)

PU Ming, JI Jian, LI Xiaolin, SHEN Jiacong

(Department of Polymer Science and Engineering, Key laboratory of Macromolecule Synthesis and Functionalization,
Ministry of Education, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

Abstract A water soluble hydroxy-capped comb-like poly(ethylene glycol) (CPEG) was prepared *via* atom transfer radical polymerization (ATRP). A stable CPEG coating was obtained *via* dip-coating followed by curing at 70 °C for 48 h. The CPEG-modified surface was proved to be stable in both aqueous environment and ambient according to contact angle behavior and weight decrement testing. The coating forming mechanism was investigated through FTIR, the spectra data demonstrated the stability of CPEG coating derived from its hydrogen bond of inter-molecules and intra-molecules. Platelet experiment showed CPEG modified surface reacted extremely weakly with platelet and showed excellent thrombus resistance than that of both on the pure PET surface and PET surface modified with linear PEG. The model drug RD6G was applied to fabricate a drug-buried CPEG coating surface. The drug-releasing curve demonstrated the stability of the CPEG coating and the controlled-release behavior of RD6G. The unique property of CPEG coating surface provided the potential application in the immobilization and release of aqueous drug, including protein and peptide.

Key words Comb-like PEG, Coating, Blood compatibility, Drug release