

超临界 CO₂ 发泡法制备 PLGA 多孔组织工程支架*

刘倩倩 唐川 杜哲 关怡新** 姚善泾 朱自强

(浙江大学化学工程与生物工程学系 杭州 310027)

摘要 利用超临界 CO₂ (SC-CO₂) 发泡法制备了一系列聚(乳酸-乙醇酸)共聚物(PLGA)多孔支架材料,研究了 PLGA 分子量和组成、发泡过程温度、压力以及泄压速率等对泡孔尺寸及形态的影响. 结果表明,随着 PLGA 组成中乳酸含量的增加,泡孔平均孔径增大且连通性增强;提高过程压力易形成孔径小且泡孔密度大的微孔结构材料;降低泄压速率,泡孔易合并形成大孔. 聚合物处于高弹态时,较低的发泡温度易导致特殊的多面体结构大孔的形成;而当温度较高时,泡孔塌缩形成球形微孔结构,且泡孔尺寸随着温度升高而增大. SC-CO₂ 发泡法能有效地去除有机溶剂,避免在高温条件下操作,可以实现 5 ~ 500 μm 范围内孔径可控的 PLGA 多孔支架材料的制备.

关键词 聚(乳酸-乙醇酸)共聚物, 超临界 CO₂, 发泡, 多孔支架

组织工程学的提出为众多具有组织缺陷和器官功能衰竭病人的治疗带来了希望,因其能够避免自体移植中的附加损伤和并发症、以及异体移植中资源有限和排斥反应等问题而受到越来越广泛的关注. 其中支架材料的开发对推动组织工程学的发展至关重要. 组织工程学中应用的支架材料,应具备以下几个基本特征^[1]: (1)良好的生物相容性; (2)生物可降解性; (3)三维多孔结构,其中孔道间的连通尤其重要,一般要求孔隙率达到90%以上; (4)一定的机械强度; (5)友好的材料-细胞界面,利于细胞的黏附生长. 目前,应用于组织工程学中的材料大致可分为天然高分子材料和合成高聚物^[2]. 聚乳酸(PLA)及其共聚物聚(乳酸-乙醇酸)(PLGA)是组织工程支架中应用较广的可降解聚合物材料,已被美国 FDA 批准用于临床. 其中,PLGA 因 2 种单体比例不同而呈现出不同的降解速率,使得利用 PLGA 制备多孔支架材料有着更广泛的应用前景.

现有制备多孔材料的方法,主要包括纤维粘结法(fibre bonding)^[3]、溶剂浇铸/颗粒滤沥(solvent casting/particulate leaching)^[4]、熔融成型/颗粒滤沥(melt moulding/particulate leaching)^[5]、乳液冷冻干燥(emulsion freeze drying)^[6]、相分离法(phase separation)^[7]等. 利用

这些传统方法制备支架材料时会使用大量的有机溶剂或者需要在高温下操作,有机溶剂的残留对后续的细胞培养具有一定的毒副作用,而高温操作条件则使支架形成过程中无法引入生物活性物质,因而限制了其在组织工程领域的应用. 气体发泡法在组织工程支架构建方面的应用始于 1996 年,起初使用气态 CO₂ 作为发泡剂^[8]. 由于超临界 CO₂ (SC-CO₂) 具有扩散性能好、操作条件温和、过程参数易于调节等优点,逐渐取代了气态 CO₂^[9]. 在此方法中,SC-CO₂ 先扩散溶解进入聚合物,随后因系统泄压或升温导致体系热力学失稳,大量气核在聚合物基质内形成并生长,产生泡孔,得到聚合物的多孔结构^[10]. 该过程可以避免有机溶剂的使用,简化了后续操作. 迄今为止,国内外学者对其不断进行改进,形成了许多工艺的变体^[11~13]. 但总的说来,该技术在组织工程学中的应用仍处于发展阶段.

本文拟利用 SC-CO₂ 发泡法制备 PLGA 多孔支架,系统考察 PLGA 的分子量和组成、发泡过程温度、压力和泄压速率等因素对泡孔形成的影响,实现对泡孔从微孔到大孔范围内的调控,以期应用于组织工程学细胞培养. 而高孔隙密度的 PLGA 则为微孔材料(泡孔密度 > 10⁹/cm³, 孔径 < 10 μm)方面的应用提供了可能.

* 2012-06-26 收稿, 2012-08-28 修稿; 国家自然科学基金(基金号 21276225)和高等学校博士学科点专项科研基金(基金号 20110101110032)资助项目.

** 通讯联系人, E-mail: guanyx@zju.edu.cn

doi: 10.3724/SP.J.1105.2013.12189

1 实验部分

1.1 材料及设备

聚(乳酸-乙醇酸)共聚物(PLGA),医用级,购自深圳市光华伟业实业有限公司,外观为白色至浅黄褐色块状固体,其基本物性数据见表 1;聚乙烯醇(PVA) AH-26,购自国药集团化学试剂有限公司;二氯甲烷,分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司;CO₂,食品级,纯度大于 99.9%,购自杭州今工特种气体有限公司.

Table 1 Physical properties of PLGA

Composition Lactic acid (LA): Glycolic acid (GA)	M_w^a (kDa)	Inherent viscosity (dL/g)	T_g^b (°C)
85:15	50	0.43	53.1
85:15	200	1.20	52.6
50:50	200	0.77	48.9

^a M_w : weight average molecular weight; ^b T_g : glass transition temperature

1.2 实验方法

1.2.1 PLGA 原料片制备

将 PLGA 原料溶解于二氯甲烷溶液中,配制浓度 10% (g/mL,下同)的溶液,作为分散相.配制浓度 1% 的 PVA 水溶液,作为连续相.取 10 mL PLGA 二氯甲烷溶液倒入 400 mL PVA 水溶液中,5000 r/min 高速剪切分散 1 min,并于 30℃ 水浴中连续搅拌 12 h,待分散相中的二氯甲烷挥发完全,PLGA 固化形成微球,离心收集 PLGA 颗粒,置于 25℃ 真空干燥箱中干燥.然后,取一定质量的烘干 PLGA 微球颗粒,利用 769YP-24B 压片机在 20 MPa 压力下保压 2 min 形成圆柱形薄片,固定薄片直径 13 mm,厚度随 PLGA 质量不同而变化,一般 0.05 g PLGA 颗粒对应的薄片厚度约为 0.6 mm.

1.2.2 超临界 CO₂发泡工艺

发泡实验采用 SFE-500MR-2-FMC 10 System 超临界装置,流程如图 1 所示.该系统包括一个 300 mL 的高压釜用于发泡,操作温度、压力、泄压速率等参数均由计算机控制,压力精度为 ± 0.1 MPa,温度精度为 $\pm 1^\circ\text{C}$. 具体实验流程如下:将 PLGA 圆柱形薄片置于高压釜 V_1 中,CO₂ 由钢瓶进入换热器 H_1 冷却至 0℃ 左右(由冷却槽 CB 制冷,与 H_1 和柱塞泵 P_1 构成循环回路),经 P_1 加压至一定的压力,由换热器 H_2 预热至合适的温度后,进入高压釜 V_1 与样品充分接触.釜内的温度

SFE-500MR-2-FMC 10 System 超临界装置,美国 Thar 公司;XHF-D 高速分散器(内切式匀浆机),宁波新芝生物科技股份有限公司;769YP-24B 压片机,上海山岳科学仪器有限公司;JSM-6390A 扫描电子显微镜(SEM),日本电子株式会社;AutoPore IV 9500 V1.07 压汞仪,美国 Micromeritics 公司;Zwick/Roell Z2.5 拉力试验机,德国 Zwick/Roell 公司;图像处理分析软件 Image Pro Plus 5.0,美国 Media Cybernetics 公司.

由电加热套加热,压力由柱塞泵 P_1 调节.待 CO₂ 在样品中完全饱和后,打开高压釜下游的自动控压阀 ABPR₁ 泄压,利用阀门的开度调节泄压速率,可由程序设置完成.取出发泡后的样品进行性能表征.

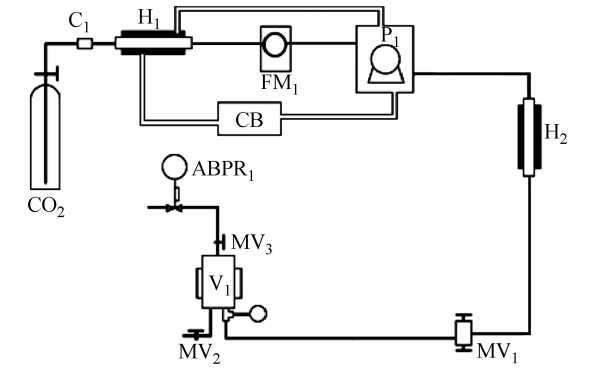


Fig. 1 SFE-500MR-2-FMC 10 system for supercritical foaming experiment
ABPR₁: automated pressure regulating valve; C₁: check valve; CB: cooling bath; FM₁: flowmeter; H₁, H₂: heating jacket; MV₁-MV₃: manual valve; P₁: pump; V₁: high pressure cell

1.3 孔结构表征

1.3.1 平均孔径及孔径分布

支架首先于液氮中淬断,取其横截面,使用碳胶带固定于样品台上,喷金处理 60 s 后,置于扫描电子显微镜 JSM-6390A 下观察其形貌.用图像处理分析软件 Image Pro Plus 5.0 得到支架材料

的平均孔径和孔径分布。

1.3.2 孔隙率

对于多孔介质,孔隙率的表征可分为两种:多孔介质内相互连通的微小空隙的总体积与该多孔介质的总体积的比值称为有效孔隙率或连通孔隙率,以 φ_e 表示;多孔介质内相通和不相通的所有微小空隙的总体积与该多孔介质的总体积的比值称为总孔隙率,以 φ_T 表示. 本文采用比重法和压汞法分别测定支架材料的总孔隙率和有效孔隙率,研究 SC-CO₂ 发泡材料泡孔的连通性. 利用比重瓶通过排水法间接测出样品的体积,计算发泡前后样品的密度 ρ_s (发泡前 PLGA 压片的密度) 和 ρ_b (发泡后 PLGA 多孔材料的密度),由公式 (1) 可得到材料的总孔隙率 φ_T . 压汞法测定有效孔隙率时,汞能渗透进入材料的最小孔径随施加压力的升高而减小,通过设定能与外界连通的最小孔径可量化多孔材料的连通性^[13, 14],得到相应的有效孔隙率 φ_e .

$$\varphi_T = 1 - \rho_b / \rho_s \tag{1}$$

1.3.3 压缩模量

利用 Zwick/Roell Z2.5 拉力试验机测试材料的抗压缩强度. PLGA 多孔材料的总体尺寸随发

泡条件而异,压缩实验前需先测量每个样品的直径及厚度 (L),再以 0.5 mm/s 的加载速度进行压缩测试. 设定预载 5 N,最大载荷 2000 N,得到作用力 (F) 与材料压缩量 (ΔL) 之间的曲线. 利用公式 (2) 和 (3) 分别计算出相应的应力 (stress) 和应变 (strain),得到应力-应变关系曲线,其初始线性部分的斜率即为材料的压缩模量.

$$\text{Stress} = F/A \tag{2}$$

$$\text{Strain} = \Delta L/L \tag{3}$$

式中, A 为材料在作用力方向上的横截面积.

2 结果与讨论

SC-CO₂ 发泡法是利用 SC-CO₂ 与聚合物相互作用制备多孔材料的技术. 其中,聚合物基质的物理化学性质,过程压力、温度以及泄压速率是影响 SC-CO₂ 发泡法制备多孔材料过程的重要因素. 本文以 PLGA 基质作为发泡材料,考察了其分子量、组成,以及发泡过程中操作温度、压力和泄压速率等对泡孔形成的影响.

2.1 PLGA 基质对泡孔的影响

2.1.1 PLGA 分子量

图 2 为原料片厚度 0.6 mm,过程温度 45℃,

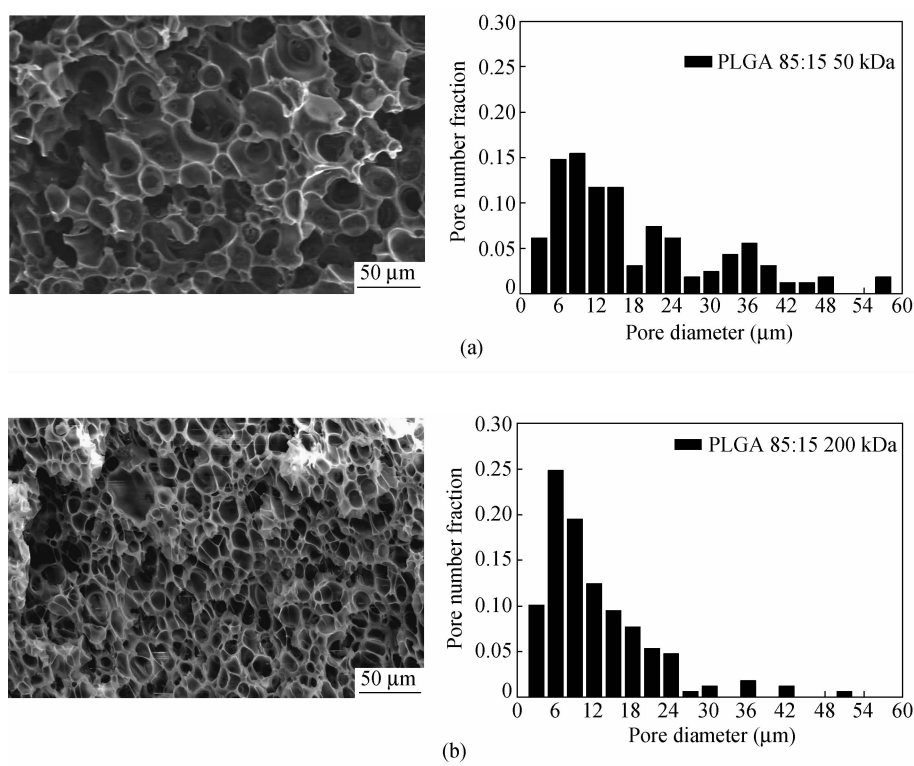


Fig. 2 SEM images and pore size distribution for PLGA scaffolds with different molecular weight (a) PLGA 85:15 50 kDa; (b) PLGA 85:15 200 kDa fabricated at 45℃ and 20 MPa for 2 h with depressurization rate of 0.20 MPa/s

压力 20 MPa,保压时间 2 h,泄压速率 0.20 MPa/s 条件下,50 kDa 和 200 kDa 两种 PLGA 分子量 (LA:GA = 85:15) 对发泡过程中泡孔形成的影响.结果显示,聚合物分子量较高时,得到的泡孔平均孔径更小,并且孔径分布区间较窄.在 SC-CO₂发泡过程中,CO₂在聚合物中的溶解度及其释放速率是控制发泡效率的关键^[15],聚合物的分子量和组成则是影响 CO₂溶解和释放行为的重要参数之一.当分子量较低时,聚合物在超临界流体中易呈熔融态;只有当分子量达到一定值以上,聚合物在 SC-CO₂中处于溶胀状态才易于成孔,并且分子量越高的聚合物,其在超临界流体中的溶胀程度越大,越有利于泡孔的形成^[16].从聚合物的黏度方面考虑,聚合物分子量越大,其黏度就越高,泄压引起的成核及泡孔生长过程中,长链(高分子量)聚合物易锁住 CO₂,而短链(低分子量)聚合物中的 CO₂则更易释放出去,从而导致分子量

低的聚合物,在泄压时气核生长更快,形成更大且脆的泡孔结构^[17].

2.1.2 PLGA 组成

PLGA 是乳酸 (LA) 和乙醇酸 (GA) 的共聚物,其中 LA 和 GA 的比例决定了 PLGA 与 CO₂的亲性和,一般 CO₂在 PLGA 中的溶解和溶胀程度随 LA 含量的增多而加强^[18, 19].从 LA 和 GA 的分子结构出发,LA 分子中含有甲基,一方面,会增加聚合物的空间位阻,使 CO₂和羰基的相互作用减弱;另一方面,立体效应的存在同时增加了聚合物基质的自由体积,从而增大 CO₂在其中的溶解程度.本实验中,自由体积效应对 CO₂在 PLGA 中的溶解行为起主导作用,也即随着 LA 含量的增多,得到具有较大泡孔孔径的多孔结构材料.在各种操作条件下不同 PLGA 组成对应的泡孔尺寸如表 2 所示,与文献报道的结果吻合^[17].

Table 2 The effect of polymer composition on the pore size of PLGA scaffolds

Process parameters		Mean pore diameter (μm)	
Temperature (°C)	Pressure (MPa)	LA:GA (85:15)	LA:GA (50:50)
45	15.0	375.8 ± 16.0	161.1 ± 6.7
55	15.0	16.6 ± 0.5	12.6 ± 0.6
65	15.0	34.1 ± 2.1	19.2 ± 3.3

2.1.3 原料片厚度对发泡过程的影响

泄压过程中,CO₂在 PLGA 基质中的传递现象对泡孔的形成具有显著的作用.图 3(a)和 3(c)是在温度 45℃、压力 15 MPa、保压时间 2 h 以及泄压速率 0.20 MPa/s 条件下,厚度分别为 0.6 mm 和 1.2 mm 的 PLGA (LA:GA = 50:50, 200 kDa)原料片在 SC-CO₂下发泡的情况.泄压导致环境压力在瞬间骤降,对于较厚的原料片,泄压时原料片中存在 CO₂浓度梯度,材料表面气核生长的推动力大,聚合物固化后形成较大的泡孔^[18];而材料内部,CO₂释放时泡孔生长的推动力较小,因而形成的泡孔也较小,最后在聚合物基质表面和内部呈现出不同的泡孔结构.通过过程参数的调控,此方法同样适用于制备更大尺寸的多孔结构材料^[13],以扩大其在组织工程中的应用范围.本文还研究了 SC-CO₂保压时间为 4 h 下的泡孔形态,如图 3(b)和 3(d),与 SC-CO₂处理 2 h 得到的结果无明显差别,表明在 2 h 的保压时间内,CO₂在 PLGA 原料片中已基本达到溶解平衡,后续实验确定 SC-CO₂发泡保压时间为 2 h.

2.2 过程参数对泡孔的影响

CO₂在聚合物中的溶解度、聚合物的熔体黏度、CO₂成核密度以及扩散速率与过程操作条件有着密切的关系^[15, 20],SC-CO₂发泡过程的主要操作参数包括发泡温度、压力以及泄压速率,改变过程参数可以较好地调控泡孔尺寸和形貌.本实验选用 PLGA 分子量 200 kDa,组成分别为 85:15 和 50:50 (LA:GA),厚度为 0.6 mm 的原料片考察过程参数对材料泡孔的影响.

2.2.1 操作压力

考察了温度 45℃,泄压速率 0.20 MPa/s,不同压力作用下泡孔的形成,材料截面的 SEM 照片以及平均孔径随压力的变化分别如图 4 和 5 所示.结果表明,泡孔平均孔径随压力升高而逐渐减小,泡孔密度则逐渐增大.压力越高,CO₂在聚合物相的扩散系数和溶解度越大,泄压时产生的过饱和度较高,成核密度变大^[21, 22].均相成核理论指出,泄压时压力下降幅度越大,成核的能垒越低,因而单位体积内形成的泡核数就越多^[23].另外,压力较高时能得到平均孔径小于 10 μm 且泡

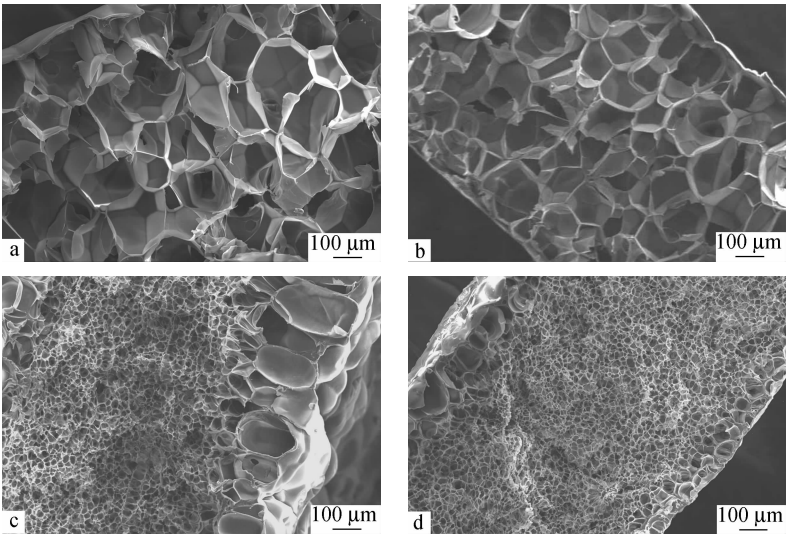


Fig. 3 SEM images of PLGA scaffolds (LA:GA = 50:50, 200 kDa) with different disc thickness and saturation time (a) 0.6 mm, 2 h; (b) 0.6 mm, 4 h; (c) 1.2 mm, 2 h and (d) 1.2 mm, 4 h fabricated at 45℃ and 15 MPa with the depressurization rate of 0.20 MPa/s

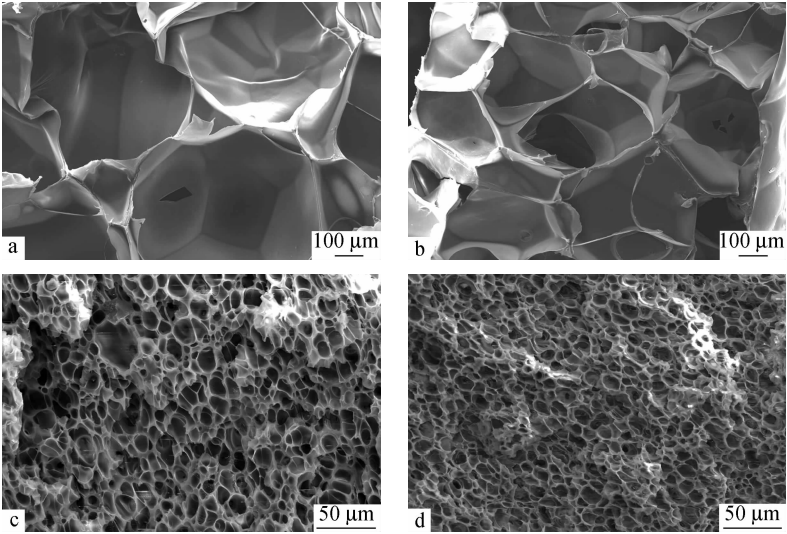


Fig. 4 SEM images for PLGA (LA:GA = 85:15, 200 kDa) scaffolds fabricated at different pressure of (a) 10 MPa, (b) 15 MPa, (c) 20 MPa and (d) 25 MPa and 45℃, for 2 h with the depressurization rate of 0.20 MPa/s

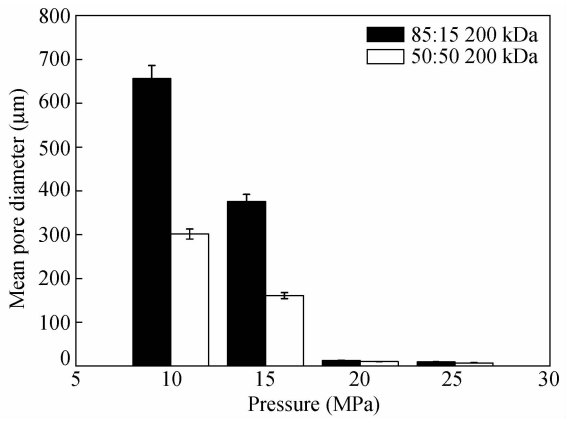


Fig. 5 Mean pore diameters of PLGA scaffolds fabricated at different pressure (temperature 45℃, depressurization rate 0.20 MPa/s)

孔密度高达 $10^{11}/\text{cm}^3$ 的微孔材料,这种微孔结构材料密度轻且具有良好的机械性能以及热稳定性等,在新型医用材料制备和药物制剂方面具有很好的应用前景^[24].

2. 2. 2 操作温度

温度对泡孔形态的影响与聚合物在 SC-CO₂ 中 T_g 的降低以及泄压时气核的生长情况有关. 研究了过程压力 15 MPa,泄压速率 0.20 MPa/s 条件下,泡孔结构随温度的变化情况,材料截面 SEM 照片以及平均孔径变化分别如图 6 和 7 所示. 由图 6 可见,温度低于 45℃ 时,泡孔呈现多面体大孔结构 (polygonal cells)^[23],其平均孔径约为

350 μm,在此温度范围内,泡孔的形成无显著差异(图 6(a)和 6(b)),此种结构泡孔有望应用于骨组织工程修复^[25,26];当温度上升至 55℃ 时,泡孔显著变小(图 6(c)),然而此后随着温度的升高,泡孔孔径逐渐增大(图 6(d)和 6(e)),其中

20 ~ 100 μm 孔径的泡孔在表皮细胞培养以及生长因子引入方面具有很好的应用价值^[27]. 本文得到的泡孔结构随操作温度先急剧变小再逐渐增大的现象,鲜见文献报道.

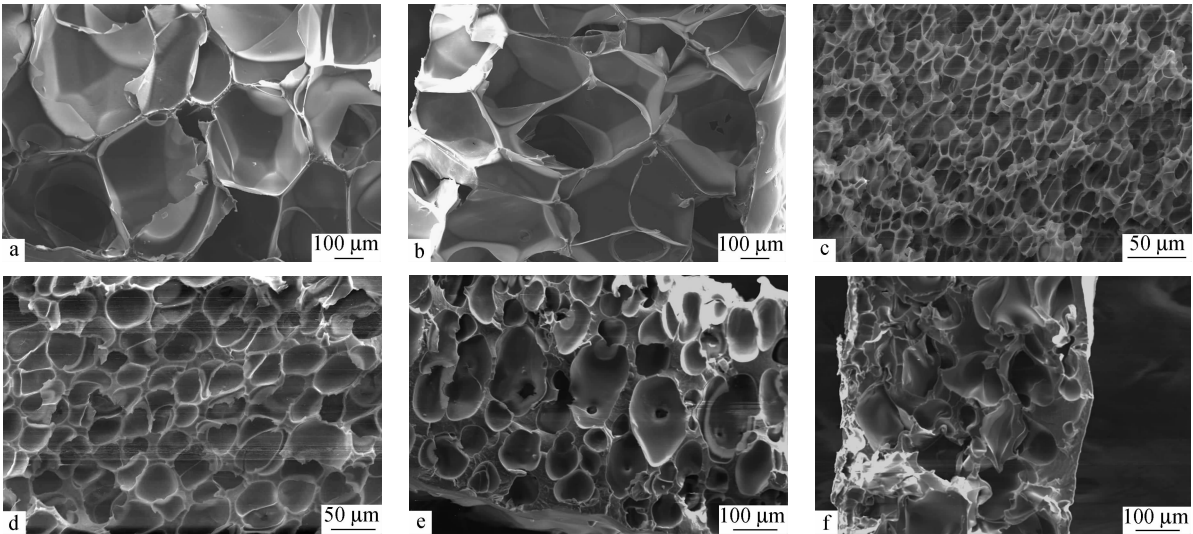


Fig. 6 SEM images for PLGA (LA:GA = 85:15, 200 kDa) scaffolds fabricated at different temperatures: (a) 35℃, (b) 45℃, (c) 55℃, (d) 65℃, (e) 75℃, (f) 85℃ and 15 MPa, for 2 h with the depressurization rate of 0.20 MPa/s

PLGA 在 SC-CO₂ 存在以及高压下,其 T_g 会剧烈下降^[17],因而在本文的实验操作温度范围内,聚合物均处于高弹态. 温度低时 PLGA 中溶解更多的 SC-CO₂^[18],泄压时气核生长的驱动力大,因而形成大孔结构(图 6(a)和 6(b)). 当温度升高使得聚合物的黏度过低不能很好地支撑泡孔扩大时,泡孔在形成过程中即存在塌缩现象,表观得到致密的微孔结构^[28];然而温度升高的同时又会使 CO₂ 在聚合物中的扩散系数增加,并且聚合物黏度的降低使其限制泡孔生长的回缩力变小,趋向于形成更大的泡孔结构^[17]. 因此在温度影响泡孔形成的过程中,温度升高使得泡孔塌缩与形成大孔这两种因素共同决定了泡孔的最终形态. 从 45℃ 上升到 55℃ 时,由于温度升高,聚合物黏度降低,此时泡孔塌缩占主导,形成致密的微孔(图 6(c));而 55℃ 之后继续升高温度,CO₂ 在聚合物中扩散系数增大,泡孔合并形成大孔,同时也能看到塌缩现象(图 6(d)和 6(e)). 85℃ 操作温度下无法形成较好的泡孔结构,这是由于高温下聚合物的黏度极低^[29],泄压时 CO₂ 形成的气核过度生长,聚并形成不规则结构(图 6(f)).

2.2.3 泄压速率

在泄压过程中,泄压速率并非恒定值,实验中

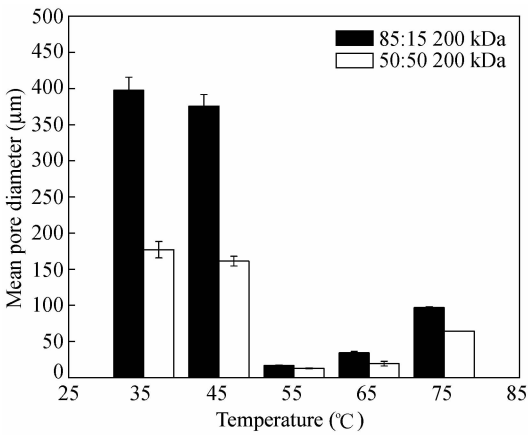


Fig. 7 Mean pore diameters of PLGA scaffolds fabricated at different temperatures (pressure 15 MPa, depressurization rate 0.20 MPa/s)

取整个泄压过程的平均速率(总压力降/总泄压时间),研究其对泡孔形成的影响. 在其他操作条件不变的情况下,控制泄压速率分别为 0.20 和 0.05 MPa/s,结果如图 8 所示. 由 SEM 照片可以看出,泄压速率越慢,泡孔越大,并且孔径分布越不均一. 气体在孔内的扩散导致泡孔的生长,当泄压速率较快时,成核数多且聚合物固化快,此时气体的扩散效应可以忽略,形成孔径较为均一的泡孔;而当成核速度放慢时,最初形成的泡孔由于气

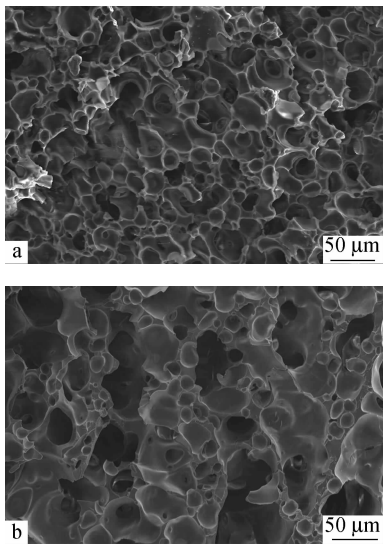


Fig. 8 SEM images for PLGA scaffolds with different depressurization rates: (a) PLGA 85 : 15 50 kDa, 0. 20 MPa/s and (b) PLGA 85 : 15 50 kDa, 0. 05 MPa/s fabricated at 45 °C and 20 MPa for 2 h

Table 3 Porosity and compression strength of PLGA scaffolds fabricated at different experimental conditions

Process parameters ^a		Porosity, φ_T (%) ^b		Compression strength (MPa)
Temperature (°C)	Pressure (MPa)	LA: GA (85:15)	LA: GA (50:50)	LA: GA (85:15)
45	20. 0	68. 93 ± 2. 63	69. 78 ± 2. 45	28. 66 ± 2. 38
45	15. 0	94. 45 ± 0. 89	95. 01 ± 0. 86	0. 70 ± 0. 02
55	15. 0	68. 46 ± 2. 76	66. 41 ± 3. 95	27. 70 ± 2. 93

^aProcessing conditions: PLGA 200 kDa, saturation time 2 h, depressuration rate 0. 2 MPa/s; ^b Porosity calculated by Eq. (1)

压汞法测定有效孔隙率时, φ_e 随设定的最小连通孔径的变化如图 9 所示. 若最小连通孔径设定为 0. 3 μm , 有效孔隙率与总孔隙率相当, 但是液体进入如此微小的孔需要很高的压力, 且这种微孔对于细胞系统的黏附与生长并无作用; 当最小连通孔径的设定值上升至 5 μm , 材料相应的孔连通性急剧下降, 之后再改变设定的最小连通孔径, 材料的孔连通性变化不大. 组织工程细胞培养一般在常压下进行, 在此培养体系中, PLGA 多孔材料不具有足够的连通性供细胞生长以及营养物质传递, 可通过加入拓孔剂等手段提高孔连通性. 从 PLGA 组成方面看, 当 LA 比例提高时, 制备的材料具有更高的有效孔隙率, 这也证实了 LA 成分的增多有助于增强 SC-CO₂ 与 PLGA 的相互作用^[18, 19].

3 结论

通过改变 SC-CO₂ 发泡过程参数可以制备具有特定孔尺寸和形貌的 PLGA 多孔支架. 高压条

体的扩散逐渐生长进而合并, 形成的泡孔孔径分布变宽, 此时泡孔的平均孔径也相对较大^[30, 31].

2. 3 孔隙率及压缩强度测定

PLGA 支架材料的总孔隙率 φ_T 及压缩强度部分数据列于表 3. 多孔材料的孔隙率及压缩强度均与泡孔形态密切相关, 表中高孔隙率对应于图 6(b) 的多面体大孔结构, 此时泡孔孔径大, 孔壁薄, 因此机械强度较弱; 而 20 MPa 压力(图 4(c)) 或者 55 °C 温度(图 6(c)) 条件下得到的微孔结构材料, 因其孔壁较厚, 材料内部所有空隙占据的体积相对较小, 因此孔隙率较低, 同时具有很高的抗压强度. 由表 3 可见, 多面体大孔材料的孔隙率高达 90% 以上, 符合组织工程学对支架材料孔隙率的要求, 其对应的抗压强度属于软组织工程支架材料(0. 4 ~ 10 MPa) 的应用范畴, 通过引入生物陶瓷等无机材料可进一步提高材料的抗压强度, 使其能够应用于骨组织修复.

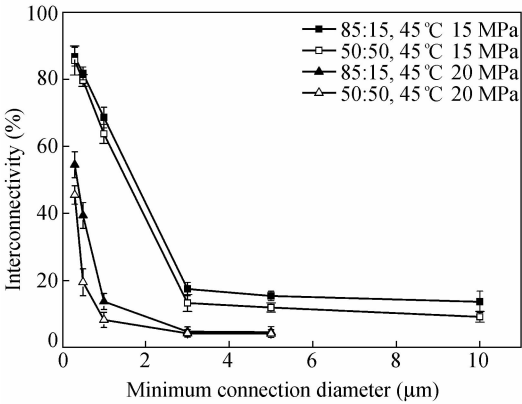


Fig. 9 Interconnectivity of PLGA scaffolds at different experimental conditions

件下能溶解更多的 CO₂ 分子而形成孔径小泡孔密度高的多孔材料. 温度影响泡孔形成的过程中, 聚合物玻璃化转变温度(T_g) 的降低及 CO₂ 的扩散共同决定了泡孔的最终形态. 降低泄压速率会延长泡孔的生长周期, 形成孔径分布范围宽并且平均孔径较大的泡孔结构. PLGA 基质的物理化学性

质同样会影响 CO₂在聚合物中的溶解及释放行为,从而决定泡孔的形貌.泡孔结构的不同赋予多孔材料性质的差异,呈现出不同的孔隙率及抗压强度.

本文可以实现对泡孔在大孔和微孔范围内的连续调控,其中 100 ~ 400 μm 结构的泡孔材料有望应用于骨组织工程修复;而孔径介于 20 ~ 100 μm 的多孔材料在动物表皮细胞培养以及载入生长因子方面具有一定的应用前景;孔径小于 10

μm 并且泡孔密度达到 10¹¹/cm³ 的多孔材料是近年来微孔聚合物材料的研究热点之一,因其优良的机械强度、较轻的密度,良好的热稳定性等,在新型医用材料制备和药物制剂方面具有得天独厚的优势.利用 SC-CO₂发泡法制备泡孔孔径及支架形态可控的三维多孔支架材料,过程中有效避免了有机溶剂的使用和高温操作条件,在组织工程及医用材料领域具有广阔的应用前景.

REFERENCES

1 Kim B S, Mooney D J. Trends Biotechnol, 1998, 16(5): 224 ~ 230

2 Shikunami Y, Okuno M. Biomaterials, 1999, 20(9): 859 ~ 877

3 Mooney D J, Baldwin D F, Suh N P, Vacanti L P, Langer R. Biomaterials, 1996, 17(14): 1417 ~ 1422

4 Freed L E, Vunjak-Novakovic G, Biron R J, Eagles D B, Lesony D C, Barlow S K, Langer R. Nat Biotechnol, 1994, (12): 689 ~ 693

5 Evans G R D, Brandt K, Widmer M S, Lu L, Meszlenyi R K, Gupta P K, Mikos A G, Hodges J, Williams J, Gurlek A, Nabawi A, Lohman R, Patrick C W. Biomaterials, 1999, 20(12): 1109 ~ 1115

6 Whang K, Tsai D C, Nam E K, Aitken M, Sprague S M, Patel P K, Healy K E. J Biomed Mater Res, 1998, 42(4): 491 ~ 499

7 Honda M, Yada T, Ueda M, Kimata K. J Oral Maxillofacial Surgery, 2000, 7(58): 767 ~ 775

8 Mooney D J, Mazzoni C L, Breuer C, Mcnamara K, Hern D, Vacanti J P, Langer R. Biomaterials, 1996, 17(2): 115 ~ 124

9 Howdle S M, Watson M S, Whitaker M J, Popov V K, Davies M C, Mandel F S, Wang J D, Shakesheff K M. Chem Commun, 2001, (1): 109 ~ 110

10 Park C B, Baldwin D F, Suh N P. Am Soc Mechanical Eng, 1994, (53): 109 ~ 124

11 Wang Chuanbao(王传宝), Ying Sanjiu(应三九), Xiao Zhenggang(肖正刚). Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 2011, (12): 1419 ~ 1424

12 Tsimpliaraki A, Tsivintzelis I, Marras S I, Zuburtikudis I, Panayiotou C. J Supercrit Fluids, 2011, 57(3): 278 ~ 287

13 White L J, Hutter V, Tai H Y, Howdle S M, Shakesheff K M. Acta Biomaterialia, 2012, 8(1): 61 ~ 71

14 Moore M J, Jabbari E, Ritman E L, Lu L C, Currier B L, Windebank A J, Yaszemski M J. J Biomed Mater Res Part A, 2004, 71A(2): 258 ~ 267

15 Stafford C M, Russell T P, McCarthy T J. Macromolecules, 1999, 32(22): 7610 ~ 7616

16 Zhang Run(张润), Deng Zhengxing(邓政兴), Li Lihua(李立华), Zhou Changren(周长忍). Chinese Journal of Material Research(材料研究学报), 2003, 17(6): 665 ~ 672

17 Tai H Y, Mather M L, Howard D, Wang W X, White L J, Crowe J A, Morgan S P, Chandra A, Williams D J, Howdle S M, Shakesheff K M. Eur Cells Mater, 2007, 14: 64 ~ 76

18 Liu D H, Tomasko D L. J Supercrit Fluids, 2007, 39(3): 416 ~ 425

19 Tai H Y, Upton C E, White L J, Pini R, Storti G, Mazzotti M, Shakesheff K M, Howdle S M. Polymer, 2010, 51(6): 1425 ~ 1431

20 Sproule T L, Lee J A, Li H B, Lannutti J J, Tomasko D L. J Supercrit Fluids, 2004, 28(2-3): 241 ~ 248

21 Singh L, Kumar V, Ratner B D. Biomaterials, 2004, 25(13): 2611 ~ 2617

22 Sun Xinghua(孙兴华), Li Gang(李刚), Liao Xia(廖霞), He Jiasong(何嘉松). Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 2004, (1): 93 ~ 97

23 Arora K A, Lesser A J, McCarthy T J. Macromolecules, 1998, 31(14): 4614 ~ 4620

24 Cai Q, Yang J, Bei J, Wang S. Biomaterials, 2002, 23(23): 4483 ~ 4492

25 Tian Hong(田虹), Fan Yubo(樊瑜波). Transactions of Beijing Institute of Technology(北京理工大学学报). 2011, 31(1): 105 ~ 108

26 Wang W, Li D, Wang M C, Li Y L, Gao C Y. Chinese J Polym Sci, 2011, 29(2): 233 ~ 240

27 Hile D D, Amirpour M L, Akgerman A, Pishko M V. J Controlled Release, 2000, 66(2-3): 177 ~ 185

28 Corre Y M, Maazouz A, Duchet J, Reignier J. J Supercritical Fluids, 2011, 58(1): 177 ~ 188

29 Tomasko D L, Li H B, Liu D H, Han X M, Wingert M J, Lee L J, Koelling K W. Ind Eng Chem Res, 2003, 42(25): 6431 ~ 6456

30 Barry J, Silva M, Cartmell S H, Guldberg R E, Scotchford C A, Howdle S M. J Mater Sci, 2006, 41(13): 4197 ~ 4204

31 Lv Wei(吕蔚). Chemical World(化学世界), 2008, (3): 182 ~ 184

FABRICATION OF POROUS POLY(LACTIC ACID-*co*-GLYCOLIC ACID) SCAFFOLDS USING SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE

Qian-qian Liu, Chuan Tang, Zhe Du, Yi-xin Guan, Shan-jing Yao, Zi-qiang Zhu

(Department of Chemical and Biological Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

Abstract Supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) foaming technology was applied to fabricate highly porous poly(lactic acid-*co*-glycolic acid) (PLGA) scaffolds. The effects of polymer chemical composition (the mole percentage of glycolic acid in the polymer was 15 and 50 respectively), molecular weight (50 kDa and 200 kDa) and the processing parameters including foaming pressure (from 10 MPa to 25 MPa), temperature (from 35°C to 85°C) and depressurization rate (0.05 MPa/s and 0.20 MPa/s) on the scaffold structure were investigated in detail. Morphologies of the scaffolds were characterized by scanning electron microscopy (SEM) and pore size distribution was obtained *via* analysis of SEM images. Porosity and interconnectivity of the scaffolds were measured by pycnometer (Archimedes' principle) and mercury intrusion technique, respectively. The results showed that the pore size and interconnectivity increased while increasing the lactic acid content of the polymer. Higher pressure led to higher cell density and smaller pores, and pore coalescence occurred at low depressurizing rates. Glass transition temperature (T_g) of the polymer decreased under SC-CO₂, and large polygonal cells were formed when the foaming temperature was set below 45°C. Differently, higher foaming temperature resulted in globular cells, with cell size decreased sharply. However, further increasing the temperature led to slightly larger pore sizes. Supercritical carbon dioxide foaming method makes it possible to fabricate the macro-cellular and micro-cellular foams of PLGA without using organic solvents and high temperature, which provide a way to fabricate porous polymer scaffolds for potential applications in tissue engineering.

Keywords Poly(lactic acid-*co*-glycolic acid), Supercritical carbon dioxide, Foaming, Porous tissue engineering scaffolds