

聚氨酯-接枝-磺化聚氧乙烯的合成 及其血液相容性研究*

陈宝林** 计 剑 季任天 邱永兴 封麟先***

(浙江大学高分子科学与材料研究所 杭州 310027)

摘 要 通过梳状的磺化聚氧乙烯接枝共聚醚和4,4'-二苯甲烷二异氰酸酯(MDI)反应,合成了磺酸根离子和聚氧乙烯复合修饰的聚氨酯(PEU-g-PEO-SO₃Na).通过血小板粘附试验对材料的体外抗凝血性试验表明将具有“类肝素”生物活性的磺酸根离子通过PEO为“间隔臂”固定在聚醚氨酯上,不仅可以有效地抵抗血小板的粘附、活化,还可以有效地阻断内外源凝血途径,具有较好的血液相容性.

关键词 聚氨酯,类肝素,血液相容性

血液环境是人体最重要的环境之一,良好的血液相容性材料可广泛地应用于各类与血液接触的医用导管、血液净化与透析装置、体外循环装置及人工肺、人工肝、人工心脏等各种人造脏器,具有重要的临床意义.然而,当合成高分子材料和血液接触时,血浆蛋白质会在材料表面吸附、变性,引起血小板的粘附、活化,并激活各种凝血因子,导致材料表面不同程度的凝血,严重地限制了高分子材料在临床上的应用.聚氧乙烯(PEO)由于其独特的高亲水性和高流动性,呈现出良好的生物惰性,可抵抗多种蛋白质和血细胞的粘附,是一种改善高分子材料血液相容性的理想材料^[1,2].同时,人们发现某些阴离子功能基(如磺酸根离子、磺胺基)在血液中表现出和天然抗凝物质——肝素类似的生物活性,可通过直接络合凝血因子、干扰不溶性纤维蛋白网络的形成、促进凝血因子和抗凝血因子的结合等作用控制材料界面的凝血反应^[3,4].

本研究将具有一定“类生物活性”功能的磺酸和高生物惰性的聚氧乙烯链复合,探索通过在高生物惰性表面上负载生物活性片段改善材料的血液相容性的可行性.

1 实验部分

1.1 原料和试剂准备

4,4'-二苯甲烷二异氰酸酯(MDI)减压蒸馏得标准馏份(198℃/3999Pa);1,4-丁二醇(C.P)加CaH₂回流6h,减压蒸馏得标准馏份(85℃/5332Pa);二丁基二月桂酸锡(A.R),直接使用;反应性接枝共聚物PTMG-g-PEO-SO₃⁻Na⁺(如图1)的制备见参考文献[5].

* 1998-05-11 收稿,1998-07-10 修稿;国家自然科学基金资助项目(基金号 28904009);** 现在内蒙古呼伦贝尔学院化学系,浙江大学高分子系访问学者;*** 通讯联系人

1.2 聚氨酯-接枝-磺化聚氧乙烯的合成

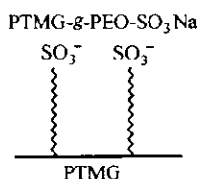


Fig. 1 Schematic illustration of PTMG-g-PEO-SO₃⁻

在带有平衡管的恒压漏斗和氮气进出管的干燥三颈瓶中,准确加入 1.0g 的 MDI. 通氮,油浴加热至 70~80℃,滴入反应性接枝共聚物 1.23~4.92g. 加入 1~2 滴二丁基二月桂酸锡催化聚合. 预聚反应 1~2h 后,加入 1,4-丁二醇 0.32~0.18g 扩链,反应 2~3h. 将反应产物倒入热水中沉析,在水中浸泡 24h 后除去表面附着水,真空干燥得到 EO(wt%) 为 14.34~23.93 的产品.

1.3 聚合物的表征

对所得聚合物红外光谱分析在 Nicolet FTIR 5DX 红外光谱仪(盐片涂膜法,分析纯氯仿为溶剂)上进行;核磁共振氢谱在 JEOL FX-90Q 核磁共振谱仪(CDCl₃ 为溶剂)上进行.

1.4 血小板粘附试验

参照文献[6],采用溶液浇铸成膜法在洁净的玻片表面形成聚合物薄膜,将一滴富血小板血浆滴在聚合物膜表面,保留 5min,然后将其放入 PBS 缓冲液中(pH=7.2)洗去吸附不牢固的血小板.将试样浸入戊二醛固定液(25%戊二醛 0.4mL、0.2mol/L PBS 缓冲液 5mL、二次蒸馏水 4.6mL)中固定 30min 后,将试样依次浸入 40%、50%、60%、70%、80%、90%、100% 乙醇-水溶液中脱水,每次 15~30min.于超净环境下自然干燥.采用显微摄影对粘附血小板进行统计计数(该技术由浙江大学生物医学工程系提供).

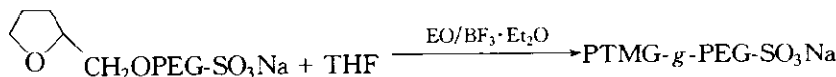
1.5 复钙化凝血时间(RT)及部分凝血活酶时间(PTT)的测定

将预热至 37℃ 的人体抗凝血浆(去钙)0.1mL 加入涂覆了聚合物膜的玻璃试管中,在 37℃ 水浴中静置 1min 后,加入已预热的 0.025mol/L 氯化钙溶液 0.1mL(RT),或含钙凝血活酶液 0.1mL(含钙凝血活酶 100mg/2.2mL 生理盐水)(PTT).同时开动秒表计时,将一根不锈钢小钩伸入溶液中均匀缓慢的搅动,记录小钩上刚开始出现白色丝状物的时间,此时间即是复钙时间(或部分凝血活酶时间),每个样品重复测 6 次,取平均值.

2 结果与讨论

2.1 磺化聚醚氨酯的合成

2.1.1 反应性接枝共聚醚 PTMG-g-PEO-SO₃⁻Na⁺ 的纯化 反应性接枝共聚物 PTMG-g-PEO-SO₃⁻Na⁺ 采用三氟化硼乙醚络合物(BF₃·Et₂O)作引发剂,环氧乙烷(EO)为共引发剂引发大分子单体和四氢呋喃进行阳离子共聚.反应可能存在未反应的大单体,为得到高分子量的聚氨酯,必须对产物进行纯化.



对于两亲接枝共聚物 PTMG-g-PEO-SO₃Na 而言,其疏水的 PTMG 和亲水的 PEO 结构本身就是一个良好的表面活性剂,磺酸钠离子的引入更进一步加强了它的乳化能力.因

此,无论采用选择性沉淀还是多次抽提,都产生强烈的乳化,使共聚物的纯化十分困难.对于亲水-疏水共聚物的水溶液,当温度升高时,会引起聚合物在水溶液中的相分离.这种热诱导相变的主要机理是随着温度的升高,亲水-疏水共聚物释放了疏水界面上的水,从而引起了聚合物的沉淀.这种相转变都存在一个转变温度,称为下部临界溶解温度(LCST).这一温度与共聚物的结构和亲疏水性密切相关. α -四氢糠基- ω -丙基磺酸钠聚氧乙烯大单体的水溶液在 100℃ 内无相分离,而共聚产物在 90~100℃ 发生明显的相分离,利用这一特性可对共聚产物进行分离.

相分离产物与共聚产物的 GPC 谱图 2a,图 2b 显示,共聚产物中分子量为 2615 的大单体在相分离产物中已消失.因而利用两亲接枝共聚物的 LCST 特性,采用“热致相分离技术”可以对两亲接枝共聚物进行了有效的分离.残存的少量均聚物进一步用 75/25(体积比)的环己烷/正庚烷混合溶剂除去而得到纯的共聚物(图 2c).

接枝共聚物 PTMG-*g*-PEO-SO₃⁻Na⁺ 的 IR 谱显示(图 3),共聚产物在 1040cm⁻¹和 1205cm⁻¹有一对明显的小肩峰,该峰为共聚醚接枝 PEO 末端烷基磺酸盐的特征峰.表明产物具有预期烷基磺酸盐的结构.

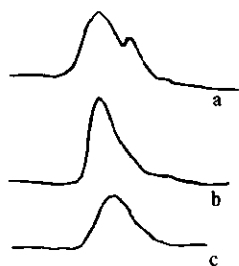


Fig. 2 GPC curves for the product before (a)、after (b) purified by LCST technology and fraction (c) after washing by mixture solvent of cyclohexane/octane (75/25 V/V)

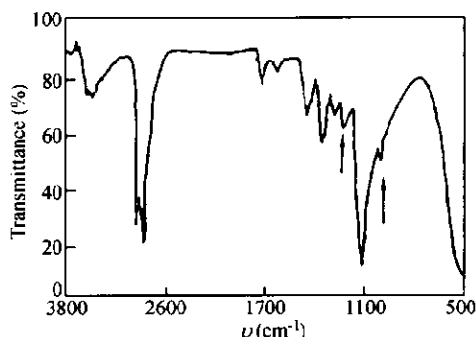
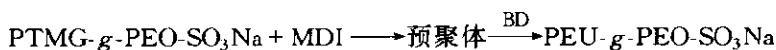
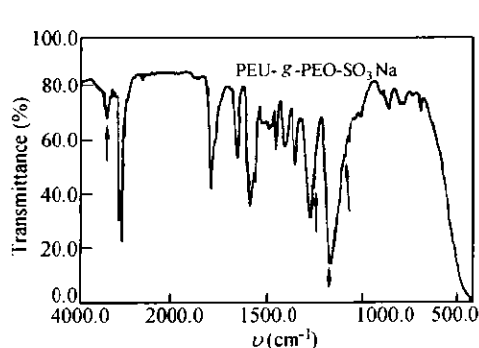
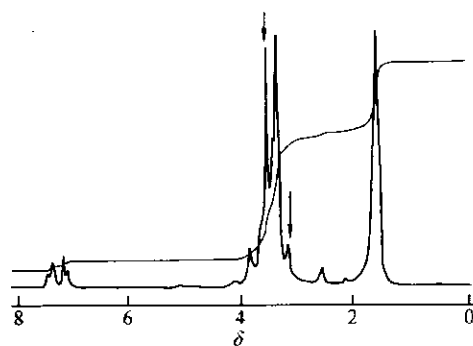
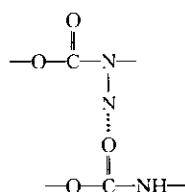


Fig. 3 IR spectrum of PTMG-PEO-SO₃Na

2.1.2 磺化聚醚氨酯的合成 磺酸基为末端基的聚氧乙烯(PEO)接枝聚醚氨酯采用反应性接枝共聚醚 PTMG-*g*-PEO-SO₃⁻Na⁺ 与 MDI 预聚后,由 1,4-丁二醇扩链制得.



分离后产物的红外光谱(图 4)显示,在 1120cm⁻¹处有强烈的醚键吸收,同时在 1040cm⁻¹和 1205cm⁻¹处有一对丙基磺酸钠的特征吸收峰,说明产物中含有磺化基团.此外,对于由 PTMG 均聚物合成的 PEU 的红外谱图,可以发现无 PEO 侧链的 PEU (PTMG)在 1700cm⁻¹附近的羰基峰分裂为二个峰,一个是 1728cm⁻¹处的游离羰基峰,一个是 1706cm⁻¹处的成氢键的羰基峰;而 PEU-*g*-PEO-SO₃⁻Na⁺ 只有在 1728cm⁻¹处的游离羰基峰.柔顺性的 PEO 接枝链的引入显然增大了氨基甲酸酯基 N 上的氢与羰基间的空间位阻,使二者形成氢键的可能性降低.

Fig. 4 IR spectrum of PEU-PEO-SO₃NaFig. 5 ¹H-NMR spectrum of PEU-PEO-SO₃Na

产物的¹H-NMR谱图(图5)上三个明显的吸收峰分别为主链 PTMG $\delta = 1.28 \sim 1.84$ ($(-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-)_n$) 和 $\delta = 3.06 \sim 3.52$ ($(-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-)_n$) 以及 PEO 接枝链 $\delta = 3.52 \sim 3.68$ ($(-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-)_n$) 的吸收峰, 另外在 $\delta = 7.2$ 附近有两个峰, 这是硬段 MDI 中苯环的特征吸收峰, 同时在 $\delta = 3.1$ 附近有丙基磺酸钠的特征吸收峰。

2.3 聚醚氨酯接枝-磺化聚氧乙烯的血液相容性评价

材料界面血小板的粘附和活化是导致凝血的重要因素。活化的血小板不仅可激活多种凝血因子, 也是材料表面血栓的重要组成部分。因此, 对材料界面血小板粘附行为的研究可初步评价材料的血液相容性。

Table 1 Platelet adhesion, RT and PTT on PEU and PEU-g-PEO-SO₃⁻

Polymer	EO(wt %)(bulk)	RT(s)	PTT(s)	Number of platelet adhered in 10 ⁴ μm ²
PEU(PPG2000)	0	162 ± 13	17 ± 1	>100
PEU(PTMG1000)	0	166 ± 8	20 ± 2	44.2
PEU-g-SO ₃ Na	0	—	—	124
PEU-g-PEO	28.6	164 ± 2	—	28 ± 6
PEU-g-PEO-SO ₃ Na	14.34	224 ± 10	26 ± 3	7.8
PEU-g-PEO-SO ₃ Na	23.93	248 ± 18	24 ± 1	5.3

过去的大量研究表明, 高生物惰性的聚氧乙烯接枝修饰是提高材料抗血小板的粘附能力的有效手段; 而单纯采用磺酸根修饰聚氨酯, 不能降低材料表面的血小板粘附^[7,8]。表1中不同材料表面血小板粘附量显微摄影计数的结果显示, 当磺酸根离子通过 PEO 为“间隔臂”固定在聚醚氨酯上时, 磺化 PEO 修饰 PEU 表面血小板粘附量远远低于 PEU (PTMG) 及 PEU-g-PEO 表面。这种聚氧乙烯和磺酸根复合修饰表面对血小板的阻抗作用可能来源于快速运动的水合 PEO 链及磺酸根负离子的协同作用。

与此同时,聚醚氨基酯的凝血时间试验结果(表1)显示,磺化 PEO 修饰的聚醚氨基酯表面,RT 和 PTT 相对 PEU(PTMG)、PEU(PPG)及 PEU-g-PEO 表面均有显著延长,侧链 PEO 上末端基磺酸根有很好的阻抗内源和外源凝血途径的能力,即具有“似肝素”活性。

以上的研究结果表明,将磺酸根通过聚氧乙烯链为“间隔臂”复合在聚氨基酯上时,不仅可通过有效地阻抗血小板的粘附;而且可以有效阻抗内源和外源凝血途径。PEO 链的高亲水性和柔顺性、磺酸根的负电性和降低材料表面电位的作用以及似肝素活性(如:直接络合凝血因子、干扰不溶性纤维蛋白网络的形成、促进凝血因子和抗凝血因子的结合等)等多种抗凝血有利因素的复合为改善材料的血液相容性提供了有效途径。

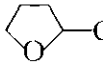
REFERENCES

- 1 Brash J L. Makromol Chem Suppl, 1985, 9: 69~80
- 2 Andrade J D, Nagaoka S, Cooper S L, Okano T, Kim S W. ASAIO J, 1987, 10: 75~77
- 3 Silver J H, Lewis K B, Ratner B D, Cooper S L. Polym Prepr., 1993, 34(2): 56~57
- 4 Han D K, Joeng S Y, Kim Y H. J Biomed Mater Res, 1991, 25: 561~575
- 5 Ji Jian, Feng Linxian, Qiu Yongxing, Yu Xiaojie, Yang Shilin. Journal of Chinese Polymer Science, 1997, 15(2): 180~186
- 6 Ito Y, Sisido M, Imanishi Y. J Biomed Mater Res, 1989, 23: 191~206
- 7 Lelah M D, Cooper S L, Ohnuma H, Kotaka T. J Colloid and Interface Sci, 1985, 104(2): 422~439
- 8 Liu S Q, Ito Y, Imanishi Y. J Biomater Sci Polymer Edn, 1989, 1(2): 111~122

SYNTHESIS OF POLYURETHANE-GRAFT-SULFONATE AND ITS STUDY OF BLOOD-COMPATIBILITY

CHEN Baolin, JI Jian, JI Rentian, QIU Yongxing, FENG Linxian

(Department of Polymer Science and Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

Abstract A new reactive graft copolymer, poly(tetramethylene glycol)-graft- ω -propyl sodium sulfonate-poly(ethylene glycol) (PTMG-g-PEG-CH₂CH₂CH₂SO₃⁻Na⁺), was synthesized by the cationic polymerization of α , ω -bifunctional PEG macromonomer () and THF. Polyurathane-graft- ω -propyl sodium sulfonate-poly(ethylene glycol) (PEU-g-PEO-CH₂CH₂CH₂SO₃⁻Na⁺), was synthesized by using the copolymer as a polyether. In vitro blood-compatibility tests results indicated that the sulfonate-modified polyurathane can resist platelet adhesion and is more blood-compatible.

Key words Polyurathane, Blood-compatibility, Heparin-like