

聚乙烯醇衍生的聚离子复合物的研究 IV. 乙烯-乙烯醇共聚物衍生的聚离子复合物的 电荷性质与抗凝血性*

丁 虹 李福绵

(北京大学化学系 北京 100871)

摘 要 分别将 3-磺酸丙基、磷酸基和 4-N-苯基三甲基碘化铵基引进乙烯-乙烯醇共聚物 (EVA) 链中制得了聚阳离子和聚阴离子, 然后得到相应的聚离子复合物. 当 EVA 分子链中的羟基的取代度在 60% 以上时, 所制得的中性聚离子复合物的血浆凝固时间和空白玻璃的血浆凝固时间之比可在 8~13 之间, 而负电性聚离子复合物可高达 110 左右. 这些聚离子复合物膜对小分子电解质或小分子中性物质如氯化钠、尿素、葡萄糖等表观渗透系数皆在 $10^{-7} \text{cm}^2/\text{s}$ 以上.

关键词 聚离子复合物, 乙烯-乙烯醇共聚物, 抗凝血性, 透过性, 负电荷 PICs

聚离子复合物 (PIC) 的特点之一是具有较好的组织相容性和血液相容性. 将电荷中性的 PIC 膜埋入实验兔的肌肉中, 7 天以后未观察到埋入部周围组织有明显的损伤^[1,2]. PIC 涂布后的材料直接和动物的静脉血接触时, 发现 PIC 具有良好的抗血栓形成的性质^[2,3]. 通过化学修饰在聚乙烯醇分子链上引进可解离基团而制得的聚乙烯醇型 PIC 显示出和普通 PIC 类似的性质^[4~9]. In vitro 实验表明, 当聚乙烯醇的取代度大于 60% 时, 所制得的 PIC 具有较好的抗凝血性^[9].

许多生物高分子如蛋白质和核酸等的结构中皆含有硫酸基或磷酸基等负离子性基团, 这些生理活性物质中的可解离基团通常具有非常重要的生理功能, 例如, 肝素中存在的硫酸基负离子和肝素所表现的优异的抗血栓性质密切相关. 在合成高分子材料中引进类似的负离子性基团也往往能够改善这些材料的生物相容性^[10]. 乙烯-乙烯醇共聚物 (EVA) 和聚乙烯醇一样, 分子结构中含有可供修饰的羟基, 从而经酯化、缩醛化等功能化反应可将磺酸基、磷酸基、胺基等可解离的基团引进分子结构中, 进而可得相应的电中性或荷电性的 EVA 型 PICs. 由于结构中乙撑链段的存在, 这类 PICs 的强度, 特别是湿态强度要比聚乙烯醇型 PICs 为好; 而且, 负电性 PICs 的结构中由于磺酸基、磷酸基等负离子基团的存在, 可望作为具有良好的血液相容性材料.

1 实验部分

1.1 聚离子复合物样品的制备^[9]

乙烯-乙烯醇共聚物 (EVA) 和磺酸丙内酯、磷酸、对二甲氨基苯甲醛等的反应如

* 1993-04-01 收稿

前文所述^[4]. 将聚正离子和聚负离子按一定当量配比以 12wt% 的浓度溶解于 H_2O —DMF—NaSCN 三组分混合溶剂体系中 (重量比为 24/70/6), 形成均匀透明的溶液. 取 0.1 ml 该溶液注入 $\Phi 10 \times 75 \text{ mm}$ 的试管底部, 在缓慢旋转下, 用红外灯烘烤使聚离子复合物均匀地涂布于试管内壁上并挥发掉溶剂, 待膜的表面刚开始有白色的无机盐颗粒析出时, 小心向试管中注入蒸馏水浸渍数分钟以除去小分子盐和 DMF. 倾出蒸馏水后, 再反复进行上述操作数次, 即可在试管内壁上涂布一层均匀透明的聚离子复合物膜, 以备测抗凝血性实验用.

1.2 聚离子复合物的抗凝血性测定

聚离子复合物的抗凝血性是用复钙法测定的^[9]. 将加有 3.8% 柠檬酸钠作为抗凝剂的新鲜狗全血在 1500 r.p.m 下离心 10 min. 后, 吸去上层血浆. 取 0.1 ml 该血浆注入内壁上涂布有聚离子复合物膜的试管中, 于 $37 \pm 1^\circ \text{C}$ 的恒温槽中恒温 3 min. 后, 加入 0.1 ml 0.25 M 的氯化钙水溶液, 观察血浆蛋白的凝固时间. 样品的凝固时间和空白玻璃的凝固时间之比即为抗凝血指数 A_f .

1.3 聚离子复合物膜的透过性

膜的透过性是用浴式透析池来测定. 膜的有效面积为 $2.0 \times 2.0 \text{ cm}^2$, 测定温度为 23°C . 透析池两侧 NaCl 浓度的变化是由 DDS—IIA 型电导仪测定溶液的电导率变化来确定的. 尿素浓度的变化是通过在对二甲氨基苯甲醛的存在下尿素的显色反应来确定. 葡萄糖浓度的变化是通过测定溶液的旋光度变化来确定.

2 结果与讨论

2.1 EVA 型 PICs 和血浆蛋白质的相互作用

经化学修饰, 在乙烯—乙烯醇共聚物 (EVA) 的分子链中分别引进 3-磺酸丙基、磷酸基和 4-三甲基苯胺基等取代基而获得的聚离子 (分别记为 ESA、EPA、ENI) 的化学结构如图 1 所示. 在这些 EVA 型聚离子中, 离子取代基所占链节的百分数 $n\%$ 为

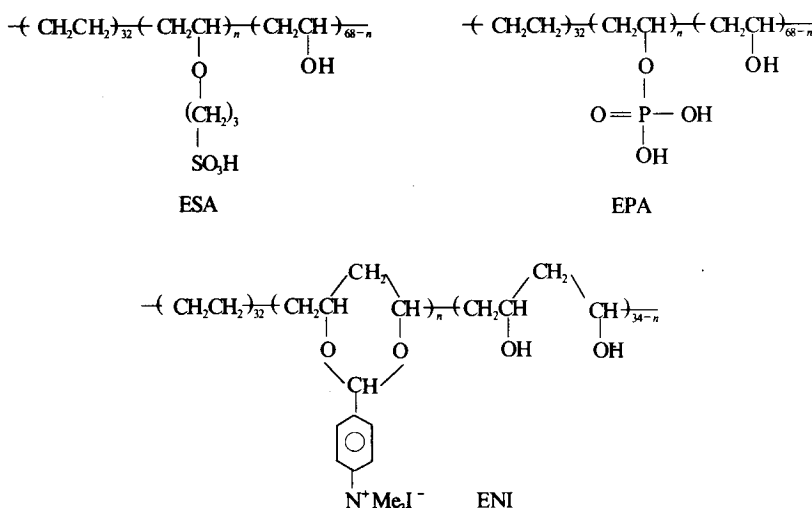


Fig.1 Structures of EVA cation and EVA anion

该离子的电荷密度，而离子取代基占羟基总数的百分数为取代度。为了研究 EVA 分子链上的电荷密度对所形成 PIC 的血液相容性影响，合成了数种具有不同电荷密度的 EVA 型聚离子，如表 1 所示。EVA 型聚离子的电荷密度在数值上要小于其羟基的取代度。而对于聚乙烯醇型聚离子来说，其电荷密度即为其取代度^[6]。

Tab-1 Charge density and substitution degree of hydroxy groups of EVA type PICs

PIC _i	Charge density (n%)	Substitution degree of hydroxy groups (%)	Equivalent weight charge
ESA	25.9	38	294
	33.5	50	259
	41.9	62	237
EPA	4.1	6	727
	25.8	38	176
	47.6	70	135
ENI	7.8	23	828
	15.6	46	550
	22.4	66	451

Tab-2 Antithrombogenicity of EVA typer PICs

Samples	Charge density of PICs (%)		Blood congulation Time (min.)	Antithrombogenicity Index
	ENI	ESA or EPA		
SANI	7.8 (23) *	25.9 (38)	2.3	2.0
	15.6 (46)	33.5 (50)	2.0	1.7
	22.4 (66)	41.9 (62)	7.9	6.8
PANI	7.8 (23)	4.1 (6)	1.6	1.4
	7.8 (23)	25.8 (38)	1.7	1.5
	22.4 (66)	25.8 (38)	15.0	13.2

* The data appeared in parentheses represent the substitution degree of —OH group

将溶解于 H₂O—DMF—NaSCN 三组分混合溶剂中的 ESA 或 EPA 分别和 ENI 按等摩尔混合后，经流涎—浸渍法制得均匀透明的 EVA 型 PIC 膜（分别记为 SANI 和 PANI），该膜的吸水率远较聚乙烯醇型 PIC 为低。将 EVA 膜置于水中浸泡两天后，测出其吸水率约为 170—350%；和聚乙烯醇型 PICs 不同，EVA 型 PIC 膜即使在水中浸泡后，仍呈现较好的韧性和弹性，具有一定的抗拉强度。

将血浆蛋白质和涂布于试管内壁上的 PIC 膜直接接触，观测血浆蛋白质的凝固时间来评价 PIC 的血液相容性，结果列于表 2 中。当聚离子的电荷密度或取代度较低时，所形成的 PIC 的抗凝血性很差，只有当聚离子的电荷密度较高，即 EVA 分子链中羟基被可解离基团取代的取代度在 60% 以上时，所形成的 PIC 才具有良好的抗凝血性。这和

聚乙烯醇型的 PIC 类似，当聚乙烯醇分子链中羟基的取代度在 60% 以上时，所形成的 PIC 才显示出明显的抗凝血性^[9]。

在相同聚正离子的情况下，对于由芳香族磺酸基或芳香族羧基为取代基的聚乙烯醇型聚负离子所形成的 PIC 来说，其抗凝血指数只不过在 3 以下^[9]。而在本研究中，以脂肪族 3-磺酸丙基或磷酸基为取代基的聚负离子 ESA 或 EPA 所参与组成的 PIC，其抗凝血指数可分别达到 7 或 13 左右。这表明聚离子的解离基团和主链之间的“臂”的化学结构对所形成的 PIC 的抗凝血性有极大的影响。

作为优异的抗凝血性试剂而广泛使用的肝素是一种带电性，特别是硫酸基的物质，模拟肝素的这种荷电结构而合成的一些表面带负电荷的材料也往往具有较好的血液相容性^[11,12]。PIC 的一个很重要的优点就是能够很容易地调节其荷电结构，在 PIC 的制备过程中，若使 3-磺酸丙基取代的聚负离子 ESA 或 4-三甲苯基铵取代的聚正离子 ENI 适当过量，则可获得负电性的或正电性的 PIC 材料。这些 PIC 的抗凝血指数如图 2 所示，带正电荷的 PIC 的抗凝血性最差，而 ESA 过量 10% 的负电性 PIC 的抗凝血性最好，后者的抗凝血指数高达 110，远远超过正电性 PIC 的 2 左右，也远超过中性 PIC 的 7。使负电性的 PIC 直接和血浆蛋白质接触时，要经过两个多小时后才能观察到血纤维蛋白的凝固。而用同样方法测定的聚酯聚氨酯等材料的凝固时间只不过 3~4min。负电性 PIC 的抗凝血性和过剩的磺酸负离子的密度有关，当磺酸负离子过量 20% 时，PIC 的抗凝血性又急剧下降，抗凝血指数降到 24。这种负电性的 PIC 膜的荷电结构荷用负电性的肝素进行表面涂布的材料很相似，利用其优良的抗凝血性能，经聚酯等补强后，可望作为血液相容性材料。

2.2 PIC 膜的透过特性

将聚离子分别溶于 H₂O-DMF-NaSCN 三组分混合溶剂中所得均匀 PIC 膜具有疏水凝集区域和含水性凝集区域的两相结构，表现为典型多孔膜的性质^[13]。这种特点是由于制膜过程中随着水的浸渍和 DMF 及小分子强电解质的逐渐除去而形成的。EVA 型 PIC 膜中，由于疏水性乙撑链段的存在，更易形成这种两相结构，因此，EVA 型 PIC 膜显示出非常优异的透水性。在 2.267×10³Pa 的操作压下，含水率 170% 的 PIC 膜的透水率为 10⁻¹²cm²/s 左右，而铜纤膜（含水率 57.6%）的透水率为 10⁻¹⁵cm²/s。

	Solute		
	NaCl	Urea	Glucose
Apparent permeation Ratio (cm ² /s)	3 × 10 ⁻⁶	5 × 10 ⁻⁷	3 × 10 ⁻⁷

* SANI membrane, 23 ℃

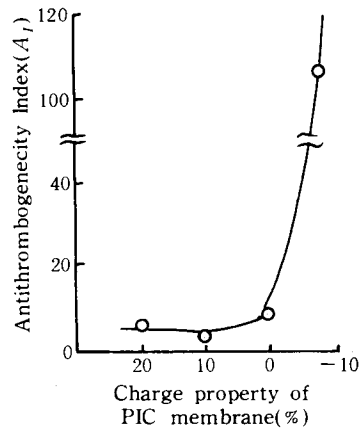


Fig.2 The influence of charge property of PIC membranes on their antithrombogenicity

中性 PIC 膜对某些小分子电解质和小分子物质的渗透系数列于表 3 中。对于 NaCl，PIC 膜显示出最大的透过性，其表观渗透系数可达 10⁻⁶cm²/s 左右，对于分子量较小的中性分子如尿素或葡萄糖，其渗透系数也可达 10⁻⁷cm²/s 左右，因分子量的不同而稍有

差异。在同样条件下测定的作为血液透析膜而广泛使用的铜纤膜对 NaCl 和尿素的表观渗透系数分别为 $2 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$ 和 $1.4 \times 10^{-2} \text{ cm}^2/\text{s}$ 。比较之下可知, EVA 型 PIC 的透过性能可以满足作为血液透析膜的要求。

利用 EVA 型 PIC 的高血液相容性和对低水、低分子电解质、中性低分子物质的高透过性, 这种水凝胶作为诸如抗凝血性材料、血浆透析膜等方面的实际应用亟待开发和研究。

致谢 本论文在写作过程中, 承蒙冯新德教授的指教和关心, 谨致谢忱。

参 考 文 献

- [1] 土田英俊, 堀江一之, 阿部康次编, 高分子集合体, 学会出版センター 1983, P263
- [2] Cross R A, Michaels A S. *Macromolecular Preprints*, XXIII, Int'l Congr. Pure Appl. Chem., Boston, 1977, P570
- [3] Ratner B D, Hofmann A. S. Hydrogels for Medical and Related Applications, Andrade J D. ed., *ACS Symp Ser* 31, Washington D. C. 1979, P1
- [4] Nakajima Y, Nakajima A. *Artificial Organs*, 1980, 9: 678
- [5] Nakajima A, Sato H. *Biopolymers*, 1972, 11: 145
- [6] Hosono M, Sujii S, Kitamura R, et al. *J Appl Polym Sci*, 1977, 21: 2125
- [7] Sato H, Maeda M, Nakajima A. *J Appl Polym Sci*, 1979, 23: 1759
- [8] Li F M, Wang L, Feng X D. *Polym Commun*, (Beijing) 1985, 4: 382
- [9] Li F M, Wang L, Feng X D. *Polym Commun*, (Beijing) 1985, 4: 390
- [10] Chen H Y, Xu B Z, Feng X D. *J Polym Sci: Polym Chem Ed*, 1982, 20: 547
- [11] 王 林, 丁 虹, 李福绵. 高分子学报, 1993, 6: 753
- [12] Bruck S D. "Blood Compatible Synthetic Polymers, An Introduction" Springfield, Ill, 1974
- [13] Kuznetsova N L, Bogino N A, Tsivinskaya L K, et al. *Polym Sci USSR*, 1974, 16: 2826

STUDIES ON POLYIONIC COMPLEXES DERIVED FROM POLYVINYL ALCOHOL

IV. ANTITHROMBOGENECITY OF CHARGED POLYIONIC COMPLEXES PREPARED FROM ETHYLENE-VINYL ALCOHOL COPOLYMER

DING Hong, LI Fumian

(Department of Chemistry, Peking University, Beijing 100871)

Abstract Neutrally, positively and negatively charged polyionic complexes(PICs) derived from ethylene-vinyl alcohol copolymer(EVA) were prepared by mixing of EVA cation and EVA anions which were obtained by introducing 3-sulfonyl-propanyl, phosphoryl and 4-phenyl trimethylammonium iodide onto EVA respectively. The antithrombogenicity of these PICs were tested by recalcification method. It was found that the substitution degree of hydroxy group in EVA chains were above 60%, the ratio(A_t) of the plasma clotting time of the formed neutrally charge PIC_s against that of bared glass were 8—13. A_t of the negatively charged PIC was as high as 110. The apparent permeability of these PIC membranes for small molecular weight electrolytes or neutral molecules such as NaCl, urea, glucose, etc. were tested to be approximately $10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$.

Key words Poyionic complexes, Ethylene-Vinyl alcohol copolymer, Antithrombogenicity, Permeability, Negatively charged PICs