

# 含 DNA 配体的 VT 吸附剂结构及其血液相容性研究\*

杨彦 俞耀庭

(南开大学分子生物学研究所, 天津, 邮政编码: 300071)

郭贤权

(南开大学高分子化学研究所, 天津, 邮政编码: 300071)

王铁丹 余毅

(中国人民解放军第一军医大学, 广州)

## 摘 要

本文以异氰尿酸三烯丙酯 (TAIC) 为交联剂, 醋酸乙烯酯 (VAC) 为单体合成的共聚物 (VT), 经皂化和活化后, 固载上 DNA, 即得含 DNA 配体的 VT 吸附剂。测定了各产物的物理性能, 表面形态, 红外光谱和血液相容性。实验结果表明: 聚合物具有较大平均孔径, 皂化后亲水性增强, 随活化而使比表面积增大, 孔分布趋于均匀, 固载 DNA 的能力高, 致使最后产物表面 DNA 覆盖致密程度高, 考察其血液相容性良好, 对血小板粘附率约为 10%, 对白细胞无破坏, 每克吸附剂清除抗-DNA 蛋白 2 小时可达 60% 以上。

**关键词** 异氰尿酸三烯丙酯、血液相容性、DNA 吸附剂

当前对制备生物医用高分子材料以清除大分子病理毒物的研究已引起人们的关注。采用异氰尿酸三烯丙酯作交联剂合成共聚物及离子交换树脂已有不少报导<sup>[1-4]</sup>, 由于这类共聚物具有较高机械强度、化学稳定性好, 有较大的孔径及适用于较宽 pH 值范围等优点, 因此用它作制备医用高分子材料或载体具有重要意义。本文在前文<sup>[5-7]</sup>工作的基础上, 将悬浮聚合制得的共聚物小球, 经皂化后用 3-氯-1, 2-环氧丙烷的碱溶液进行活化, 得到活性小球, 固载上 DNA 制得含 DNA 配体的 VT 吸附剂, 对各产物的物理性能, 表面形态和吸附剂的血液相容性进行了考察, 并测定了它们体外清除病理抗体的效率。

## 实 验 部 分

### 1. 材料

异氰尿酸三烯丙酯(工业品, 合肥东风化工厂), 醋酸乙烯酯(工业品, 北京化工厂), 环氧氯丙烷(分析纯, 天津试剂一厂), DNA (生化试剂, 上海牛奶公司综合厂)。

\* 1989年10月6日收到;曾在1989年中国化学会高分子学术论文报告会上宣读。



表 1 各产物的孔结构参数

| 产物编号* | 孔结构参数 | 骨架密度<br>$\rho_s(\text{g/ml})$ | 表观密度<br>$\rho_a(\text{g/ml})$ | 比表面积<br>$S(\text{m}^2/\text{g})$ | 平均孔径<br>$\bar{r}(\text{\AA})$ | 孔容<br>$V(\text{ml/g})$ | 孔度<br>$P(\%)$ |
|-------|-------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|------------------------|---------------|
| I     |       | 1.2752                        | 0.6508                        | 64.74                            | 232                           | 0.7524                 | 48.9          |
| II    |       | 1.3573                        | 0.6735                        | 58.49                            | 256                           | 0.7480                 | 50.4          |
| III   |       | 1.3330                        | 0.9871                        | 107.21                           | 49                            | 0.2629                 | 26.0          |
| IV    |       | 0.9880                        | 0.8157                        | 79.51                            | 53                            | 0.2117                 | 17.3          |

\* I 为共聚物, II 为皂化后共聚物, III 活化后共聚物, IV 含 DNA 配体吸附剂

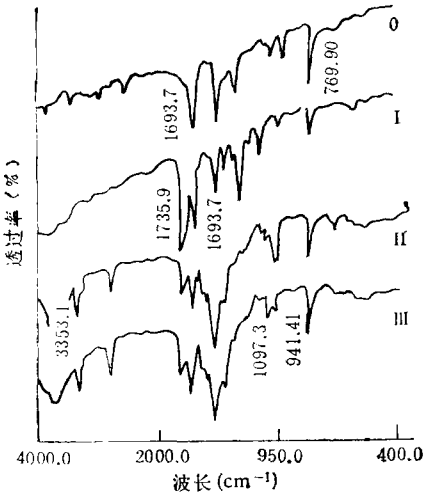


图 2 单体与三个产物的红外光谱图  
0, TAIC 单体 I, VAC/TAIC 共聚物  
II, 产物 (II) III, 产物 (III)

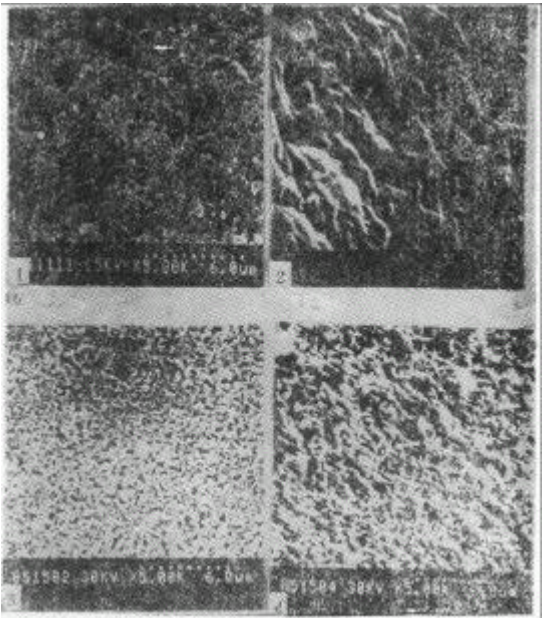


图 3 各产物扫描电镜照片  
(1) VT 共聚物(产物 I); (2) 皂化后共聚物(产物 II);  
(3) 活化后共聚物(产物 III); (4) 含 DNA 配体吸附剂(产物 IV)。

减小,平均孔径稍为增大。

2. 各产物的红外光谱分析

图 2 中 O 是 TAIC 单体,在  $769.90\text{ cm}^{-1}$  处有异三嗪环特征吸收峰,在  $1693.7\text{ cm}^{-1}$  处有羰基的特征峰,产物 I、II、III 均存在上述特征峰。产物 I 在  $1735.9\text{ cm}^{-1}$  处有酯基吸收峰,表明醋酸乙烯酯和异氰尿酸三烯丙酯发生共聚。产物 I 与 II 比较,产物 II 在  $1735.9\text{ cm}^{-1}$  处的吸收峰减弱了,在  $3353.1\text{ cm}^{-1}$  处出现新的吸收峰,这是共聚物经皂化后酯基变成醇式羟基所致,  $3353.1\text{ cm}^{-1}$  即为羟基的特征峰。产物 II 与 III 比较,产物 III 除存在有 0、I、II 特征峰外,它在  $1097.3$  和  $941.41\text{ cm}^{-1}$  处出现新的特征峰,  $1097.3\text{ cm}^{-1}$  即为环氧基的特征峰,这表明产物 II 经环氧氯丙烷活化后,确实在产物 III 中存在有活性的环氧基。DNA 的特征吸收峰是在  $260\text{ nm}$  的紫外区,因此产物 IV 在红外光谱反映不出来。

3. 各产物的扫描电镜照片

由图 3-(1) 可看到共聚物的表面有不规则的孔隙,分布不均匀;图 3-(2) 是皂化后的共聚物的表面形态。从图中可看出它也有不规则、不均匀的孔隙存在,但它比图 3-(1) 产物 I 的表面光滑;图 3-(3) 为皂化后,经环氧氯丙烷活化得到的一个表面形态与图 3-(1)、(2) 完全不同的产物 III,其孔隙变小,分布较均匀。这是由于环氧氯丙烷与产物 II 的醇式羟基反应形成醚键,碳链增长且末端带有一个活性的环氧基,它可以和邻近骨架上的羟基起交链反应<sup>[9]</sup>,起到后交联作用。导致其比表面积增大,孔径减小,表面分布较均匀。密集具有活性的环氧基易与大分子 DNA 在表面发生键合反应,致使 DNA 很好地固载在产物 III 上形成均匀、致密的网状结构。图 3-(4) 是固载 DNA 后的产物 IV,它清楚地显示出均匀、致密的网状表面结构形态。表面观察到的致密程度越大,负载的 DNA 量越多。

4. 吸附剂的血液相容性

(1) 大鼠血液灌流前、后血液有形成份及血液电解质的各参数见表 2。实验分 A、B 二组,A 组为实验组,是通过吸附剂小柱的活体循环血液灌流的;B 组为对照组,除无吸附剂填充小型柱外,其余同实验组。

表 2 大鼠血液灌流前、后实验组与对照组各参数比较

| 灌流<br>时间<br>(分) | 白细胞<br>(10 <sup>9</sup> /l) |                | 血小板<br>(10 <sup>9</sup> /l) |                | 总蛋白<br>(g/l) |            | K <sup>+</sup><br>(mmol/l) |               | Na <sup>+</sup><br>(mmol/l) |               | Cl <sup>-</sup><br>(mmol/l) |               | Ca <sup>++</sup><br>(mmol/l) |               |
|-----------------|-----------------------------|----------------|-----------------------------|----------------|--------------|------------|----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|------------------------------|---------------|
|                 | A 组                         | B 组            | A 组                         | B 组            | A 组          | B 组        | A 组                        | B 组           | A 组                         | B 组           | A 组                         | B 组           | A 组                          | B 组           |
| 0               | 9.69<br>±1.19               | 11.34<br>±1.72 | 698.0<br>±41.3              | 756.2<br>±11.2 | 58.0<br>±7   | 58.0<br>±7 | 4.75<br>±0.26              | 4.73<br>±0.06 | 144.3<br>±7.8               | 146.2<br>±7.8 | 104.5<br>±3.8               | 106.4<br>±8.9 | 1.19<br>±0.05                | 1.19<br>±0.15 |
| 15              | 8.87<br>±1.24               | 12.80<br>±1.00 | 658<br>±42.0                | 722.6<br>±12.2 |              |            |                            |               |                             |               |                             |               |                              |               |
| 30              | 8.63<br>±3.43               | 15.74<br>±3.11 | 622.1<br>±55.9              | 609.0<br>±38.1 |              |            |                            |               |                             |               |                             |               |                              |               |
| 60              | 10.44<br>±1.87              | 12.86<br>±1.37 | 601.2<br>±43.9              | 675.4<br>±17.9 | 51.0<br>±6   | 51.0<br>±6 | 4.81<br>±0.2               | 4.66<br>±0.64 | 144.6<br>±7.9               | 146.2<br>±2.9 | 110.0<br>±118               | 106.8<br>±1.8 | 1.20<br>±0.13                | 1.22<br>±0.13 |

注: A 组代表实验组, B 组代表对照组

表 2 指出,实验组血小板下降  $11.64 \pm 2.83\%$ ,对照组血小板下降  $9.72 \pm 4.29\%$ ,均低于 15—10%,两组之间比较无统计学上的显著差异。故可认为血小板下降主要不是由于吸附剂本身引起的,可能是动物局部麻醉手术及灌流装置等影响所致。此外,两组动物血液白细胞,总蛋白和电解质成份等参数都无明显的改变。

(2) 吸附剂吸附人血清白蛋白的动态曲线见图 4。图中表示对白蛋白的吸附与血小板的降低程度相一致,在 2 h 内白蛋白降低率为 6.7—12.7%。结合二者分析可以说吸附剂的血液相容性是良好的。DNA 是聚阴离子,它与吸附剂表面活性基团结合后交联成均匀的网状结构,其覆盖致密度高(见图 3—4),可以排斥表面带负电荷的物质。因此,像血小板这类血液有形成份便不易被粘附到吸剂表面,从而能大大改善吸附剂本身的血液相容性。

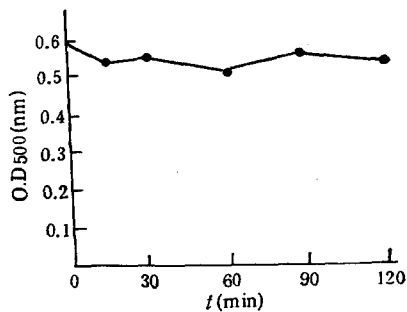


图4 吸附剂吸附入血清白蛋白的动态曲线

白蛋白 (0.75mg/ml, 用 20ml) 室温 25℃, 循环泵流动吸附 2h, 柱床体积为  $\phi 0.9 \times 4\text{cm} = 5.6\text{ml}$ , 吸附剂用量为 1g.

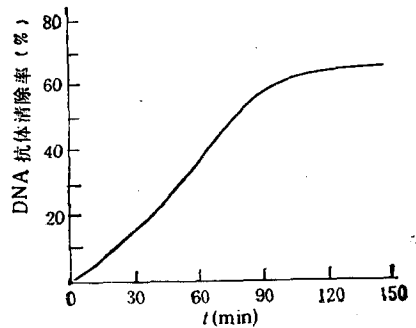


图5 清除病理抗体(抗-DNA) 曲线

抗-DNA (0.714mg/ml, 用 20ml), 室温 25℃, 循环泵流动吸附 2h, 柱床体积为  $\phi 0.9 \times 4\text{cm} = 5.6\text{ml}$ , 吸附剂用量为 1g.

### 5. 动态清除病理 DNA 抗体的实验结果

图5显示的是清除病理抗体(抗-DNA) 曲线, 图中表明在清除血清病理抗体中, 1克吸附剂两小时内能清除 60% 以上, 它已大大超过以往用炭化树脂为载体包埋 DNA 的吸附水平 (20—40% /g), 可以认为它的高吸附率与 DNA 在预聚体表面覆盖致密程度有直接关系。而致密度的增大与载体结构以及活化后的结构有关。DNA 是大分子, 也是抗原物质。因此, 从表面结构上考虑增大活化表面积, 提高 DNA 与活性基的键合程度, 从而增加覆盖面积, 这对增加抗体分子的结合(或从血液中清除)是个重要条件。

综上所述, 考察吸附剂结构和性能之间的一致性说明, 开发 VT 系列吸附剂作为医用高分子材料的理想载体, 清除血液中大分子毒物方面是很有前途的。

### 参 考 文 献

- [1] Yanagihara, Yuzo, *Eur.* **1984**, 129, 295.
- [2] 柳原裕二, *JP. KoKai*, **1983**, 58, 185, 524.
- [3] 笠井雅夫, *JP. KoKai*, **1984**, 59, 38, 649.
- [4] 笠井雅夫, *JP. KoKai*, **1984**, 59, 57, 160.
- [5] 张耕宜、郭贤权、张全兴、何炳林, *高分子学报*, **1989**, 2, 217—222.
- [6] Ryan, C.J. and Calvin, J.R., *J. Artif. Organs*, **1986**, 10(2), 135.
- [7] 杨彦, *中华微生物学和免疫学杂志*, **1986**, 6, 353.
- [8] 朱秀昌, 离子交换与吸附科学技术讨论会, 论文预印集, 宜宾, **1985**, p. 73.
- [9] 华家桢、奚国良、易庆成编译, *实用蛋白质化学技术*, 上海科学技术出版社, **1982**.

# STUDY ON THE STRUCTURE OF TRIALLYL ISOCYANURATE/VINYL ACETATE COPOLYMER CONTAINING DNA LIGAND AND THEIR PROPERTIES

YANG Yan, YU Yaoting

*(Institute of Molecular Biology Nankai University, Tianjin, Post code 300071)*

GUO Xianquan

*(Institute of Polymer Chemistry Nankai University, Tianjin 300071)*

WANG Tiedan and YU Yi

*(The First Surgeon University of The PLA)*

## ABSTRACT

Vinyl acetate was copolymerized with triallyl isocyanurate which was then saponified, activated, and DNA was immobilized on to the adsorbent. The physical properties and blood compatibility of the adsorbents were determined. Results showed that the copolymers possessed large average pore size and after saponification the hydrophilicity of the copolymer was increased, followed by the activation the surface area of the copolymer was increased, and the pore distribution was homogenized. The adsorbent showed good blood compatibility. Platelet depletion was about 10% and no destruction of leucocyte was observed. Up to 60% of the an-DNA (0.714 mg/ml, 20 ml was used) was removed by 1 g of adsorbent, during 2 h of adsorption in vitro.

**Key words** Vinyl acetate, DNA adsorbent, Blood compatible properties