

生物降解高分子——类重要的生物材料

2. 生物相容性及脂肪族聚酯的表面改性

王身国*, 贝建中

(中国科学院化学研究所, 北京 100190)

摘要:脂肪族聚酯是一类越来越受到关注的生物可降解生物材料。由于所有的医疗和药物制品在临床用时都将不同程度地同机体组织或血液接触,而其表面又将是首先与机体组织或血液接触的部分,因此脂肪族聚酯医用制品的表面生物相容性更是同制品生物安全性和有效性有直接关系的性质。本文在分析脂肪族聚酯自身特性及对其制品表面生物相容性影响因素的基础上,介绍了采用物理、化学和等离子体处理方法对脂肪族聚酯制品表面生物相容性的改进。在分析和讨论各表面改性方法优点的同时,也指出了该法所存在的缺点、不足和应用的局限性。从而可为提高具体的脂肪族聚酯医用制品的表面生物相容性提供可供选择的表面改性方法。

关键词:生物材料; 脂肪族聚酯; 生物相容性; 表面改性

引言

所有的材料都是由分子或由不同原子组成的分子“组分”以不同的排列组合而构成的分子集合体。由于不同材料的分子、组分以排列组合形式的不同导致所形成的材料结构也不同,因此不同的材料会呈现不同的本体性能和表面性能,包括亲水性、荷电性、力学性能、降解性能、表面拓扑结构和细胞亲和性等物理、化学与生物学性能。

生物降解高分子是生物医用高分子中的一个类别,是专指“以医疗为目的、用于同活组织接触以形成功能的生物可降解高分子”,包括天然生物降解高分子和人工合成生物降解高分子。根据国际标准化组织(International Standards Organization, ISO)的解释,由于生物医用材料在植入人体后会对生物组织环境产生影响和作用,而生物组织也会对生物医用材料产生影响和作用,这两者间的影响和作用将一直持续、直至达到平衡或生物医用材料从人体内消失。

以聚乙交酯(PGA)、聚丙交酯(PLA)、聚己内酯(PCL)及它们共聚物为代表的脂肪族聚酯是通过人工合成的脂肪族聚酯类生物可降解的生物医用高分子材料。由于在生理环境下它们的高分子链会逐渐断裂,从而从大分子变成小分子,从不溶变为可溶,直至最终被机体代谢或吸收。因此,用脂肪族聚酯制备的医用制品在使用后就不会存留在体内,从而既可避免异物反应的发生,也可避免再施行二次手术将其取出的必要。脂肪族聚酯不但可通过分子设计来人工调节其生物降解速率,而且它还具有优良的加工性、可灭菌性以及较好的生物相容性;相比一般的天然生物可降解高分子材料,脂肪族聚酯还具有更好的

10.14028/j.cnki.1003-3726.2017.11.001

收稿:2017-08-03;

作者简介:王身国(1942—),男,工学博士,中国科学院化学研究所(退休)研究员、博导。2001年起任日本纯粹和应用配位化学研究会名誉会员;1993年起享受中华人民共和国政府特殊津贴;2004年起任生物材料科学与工程国际 Fellow (IFBSE)。现任:丹麦 Aalborg 大学医学院合作教授(2011年6月~2021年5月)、中国降解塑料专业委员会专家委员会委员、Biomaterials 编委,等。主要从事于生物材料,包括生物降解高分子合成、改性和结构性能关系,以及药物控制释放和组织工程的研究;

* 通讯联系人, E-mail: wangsg@iccas.ac.cn.

力学性能、优良的质量重现性和较低的价格,因此已成为一类重要的生物医用高分子材料,被我国及国际上多个国家的食品药品监督管理部门(FDA)批准为可以植入体内的生物医用材料。

对于生物医用材料而言,“生物相容性”是对包括生物降解性材料和生物惰性材料在内所有生物医用材料都必须具备的性能。因此,虽然脂肪族聚酯高分子材料具有诸多优点,但它固有的疏水性等本体和表面性能的不足,还是远不能满足各种生物医学应用要求的。由此,除了对脂肪族聚酯高分子进行本体改性外,还必须对其制品进行表面改性,以期脂肪族聚酯高分子材料及其制品能在生物医学领域充分发挥作用。

1 生物相容性

“生物相容性”是非活性的材料在机体内的静态与动态变化环境下,材料对生命体组织本能的反应性能,包括材料对机体的“生物反应”和发生在材料本体的“材料反应”。“生物反应”包括材料的“血液相容性”和“细胞亲和性”两方面性能。“血液相容性”是指材料对血小板血栓反应、凝血系统激活反应、纤溶系统激活反应、溶血反应、白细胞反应、细胞因子反应、蛋白黏附反应等各种血液成分反应的相容性。“细胞亲和性”则是指材料对机体免疫反应和组织反应的影响,包括对补体系统激活反应、体液免疫反应、细胞免疫反应的影响,以及对炎症反应、细胞黏附反应、细胞增值反应、囊膜生成反应、细胞质转变反应的影响。“材料反应”则是指机体对材料物理和化学性能的影响。由于机体的不同组织、不同部位的生理环境不同,使生理环境对材料理化性能的影响也不相同;此外,在不同生物医学应用时,生物医用制品同机体的接触方式和接触时间也不相同,导致机体对制品物化性能产生的影响也不相同。因此,材料反应是受多种因素影响的材料性能。

由于材料的生物相容性实质上是材料能耐受机体各组织的作用、不引起生物抗原反应而仍能保持相对稳定、不被排斥或破坏的生物学性能;因此,生物相容性亦称为“生物适应性”或“生物可接受性”,即材料与宿主之间的相容性,其中主要是材料的亲水性、荷电性、表面的拓扑结构,以及材料的细胞亲和性等性能。因此,生物相容性是生物医用材料必须具备的性能,也是与采用生物医用材料制备的医疗和药物制品生物安全性及有效性密切相关的性能。

鉴于所有的生物医用制品在临床应用时都会不同程度地同机体组织或血液接触,有的还会被植入体内;而生物医用制品在实际应用时首先与机体组织或血液接触的又是它的表面,因此生物医用制品的表面性质是尤为重要的性质。为避免生物医用制品的表面不对人体器官造成危害、不产生凝血性、致癌性、细胞毒性等生物不相容反应,就必须在分析阐明所用制品现存生物相容性不足之处的基础上,再根据该制品将被具体应用的环境和要求,进行具有针对性地表面改性。

2 生物相容性的影响因素

影响生物材料生物相容性的因素,是与细胞在材料上的粘附机理密不可分的。目前较为认可的细胞粘附机制是细胞粘附存在着细胞贴附与细胞粘附两个过程^[1]。由于细胞贴附过程是由细胞与材料间的一些物理(如范德华力)和化学作用(如离子吸引力等)所引起,因此非常迅速。而细胞粘附过程则是由材料与一些生物活性分子(如细胞外基质蛋白、细胞膜蛋白、细胞骨架蛋白等)相互作用所引起的,因此相对耗时较多、粘附期较长。归总起来,材料的以下性能对其生物相容性具有重要的影响:

(1)表面疏水性影响 由于细胞只有在与材料表面间产生适当的粘附后,才能在材料表面铺展、生长,乃至分化、增殖。而细胞与材料表面间的粘附是以蛋白质为介导、通过细胞膜上的受体(receptors)来调节的。因此,材料表面必须具有一定的疏水性以吸附蛋白质^[2],才能使细胞膜上的受体能特异性地识别材料表面的粘附分子而粘附蛋白。

(2)表面亲水性影响 因为细胞膜具有一定的亲水性,细胞具有在有水存在的环境下才能生长和繁

衍的特性。因此,只有亲水性的表面才能有利于细胞粘附生长;而又由于太亲水的表面不利于对疏水性蛋白质的吸附,因此材料表面必须保持一定的亲/疏水性平衡,才能保证所吸附的蛋白质层与材料间达到一定的粘附强度,从而保证细胞的生长环境^[3]。

(3)表面荷电性影响 鉴于细胞自身是一种荷负电性的物质。因此,细胞同荷正电性材料表面间的静电相吸作用可利于细胞的粘附;而细胞同荷负电性的材料表面间的静电相斥作用则不利于细胞的粘附。虽然有新生鼠颅盖骨成骨细胞在荷正电荷或负电荷的聚苯乙烯离子交换树脂微球表面都能粘附、且都可极大影响蛋白质的吸附与细胞的迁移的报道,但发现它们间的细胞形貌尚有很大的差别^[3]。因此说明,材料表面的荷电特性及电荷密度对细胞的粘附和生长有重要的影响。

(4)表面自由能影响 据文献报道,细胞的粘附与材料的表面自由能有一定关系,而高表面自由能的材料表面更有利于细胞的粘附与铺展^[4],因此对特定的细胞,只有在表面自由能佳的材料表面生长才较好。由于材料的表面自由能取决于材料表面的化学组分、组成、基团的种类、含量与分布、荷电性等表面理化性能,而材料表面的理化性能又主要决定于材料本体的理化性能;因此可以说,生物材料的本体性能对其生物相容性具有实际决定性的影响。

(5)表面形貌结构影响 基于粗糙的表面有利于生物膜的形成、有利于生物膜的迅速再生长,因此粗糙的表面可有利于细胞的粘附^[5]。此外,在有微“沟槽-脊”结构的表面,细胞是沿着微沟槽取向、伸展、繁衍、排列和迁移的事实,既证明了细胞生长符合于“接触诱导效应”生长的事实(如图 1 所示)^[6,7],又说明了材料表面形貌结构对细胞粘附、生长、繁衍和组织形成的重要影响。

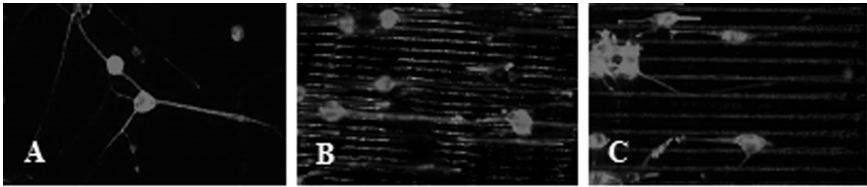


图 1 神经细胞在涂有 PLGA 的支架上培养 6 天的取向生长(×10)^[7]

(A)在光滑表面;(B)在 5 μm 宽沟槽的支架;(C) 在 10 μm 宽沟槽的支架。

Figure 1 Orientation of neurite growth on laminin peptide coated PLGA scaffold after 6 days culture (×10)^[7]
(A) On smooth surface; (B) On scaffold with 5 μm of groove; (C) On scaffold with 10 μm of groove

该结果同时也启示了,要采用组织工程技术制备如组织工程肌腱、组织工程周围神经、组织工程脊髓等具有取向结构的组织工程化机体组织,必须首先具有与天然肌腱、周围神经、脊髓等机体组织呈相应取向结构(如图 2 所示)的细胞支架,进而再利用支架结构对细胞生长的“接触诱导效应”,以得到具有取向结构的组织工程化肌腱、周围神经和脊髓。该结果也进一步表明了支架结构的仿生对组织工程的重要性和必要性^[8,9]。



图 2 一些具有平行取向结构的天然组织^[7]

(A) 肌腱;(B) 周围神经;(C) 脊髓

Figure 2 Some natural tissues have a parallel orientation structure^[7]
(A) Tendon; (B) Peripheral nerve; (C) Spinal cord

又及,根据本作者等的研究,发现材料表面的粗糙程度对细胞的粘附、生长和繁衍也有很大的影响。

虽然 OCT-1 成骨细胞在光滑的、有微凹陷[见图 3(A)]的和有微凸起[见图 3(B)]的 PLLA 表面都能粘附,但是细胞的贴壁和铺展状态存在一定的差别:在有微凹陷[见图 3(C)]和微凸起[见图 3(D)]的 PLLA 表面,OCT-1 成骨细胞的贴壁、铺展及形态均优于在光滑的 PLLA 表面[见图 3(E)];且在有微凸起的 PLLA 表面粘附的细胞高度明显低于在光滑 PLLA 表面粘附的 OCT-1 成骨细胞高度^[10]。表明:材料表面的微凹陷或微凸起都会导致 OCT-1 成骨细胞更好地粘附与铺展。由此可以结论:粗糙的表面可更有利于细胞的粘附与铺展。

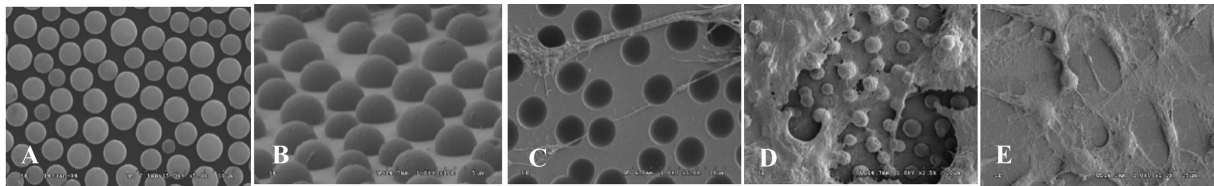


图 3 OCT-1 成骨细胞在不同形貌表面培养 6h 的电子显微镜图像^[10]

(A)有微米级凹陷的 PS 表面,×10000;(B)有微米级凸起的 PLLA 表面,×10000;

(C)OCT-1 成骨细胞在有微米级凹陷的 PS 表面,×5000;(D)OCT-1 成骨细胞在有微米级凸起的 PLLA 表面,×2500;

(E)OCT-1 成骨细胞在光滑的 PLLA 表面,×2500

Figure 3 SEM images of OCT-1 osteoblasts adhered on different morphological surface for 6 hrs^[10]

(A) PS surface with micrometer scale pits, ×10000; (B) PLLA surface with micrometer scale islands, ×10000;

(C) OCT-1 osteoblasts on PS surface with micrometer scale pits, ×5000; (D) OCT-1 osteoblasts on PLLA surface with micrometer-scale islands, ×2500; (E) OCT-1 osteoblasts on smooth PLLA surface, ×2500

研究还发现,OCT-1 成骨细胞在材料表面的粘附除了与材料表面有否微凸起或微凹陷有关外,还与表面微凸起间的距离及微凹陷的直径大小有关。可以观察到:OCT-1 成骨细胞的尾足不但能伸展并粘附到相邻的微凸起上,而且随着微凸起的起伏,贴着微凸起的弧面生长、伸展并粘附到更远的微凸起上[见图 4 (A)],以致最终铺展到整个材料表面[见图 4 (B)]。正是由于细胞同有微凸起或微凹陷的材料表面比光滑的材料表面有更多的实际接触面积、细胞铺展更好,才形成如图 3 (E) 所示的 OCT-1 成骨细胞在有微凸起或微凹陷的粗糙表面黏附的高度明显低于在光滑表面黏附的高度的结果^[10]。

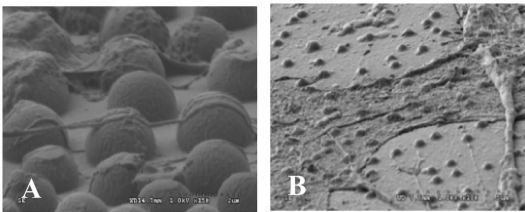


图 4 OCT-1 成骨细胞在有微凸起的 PLLA 表面培养 6 h 的电子显微镜图像

(A)微米级凸起表面,×10000;(B)微米级凸起表面,×5000

Figure 4 SEM images of OCT-1 osteoblasts on PLLA surface with micro-island for 6hrs

(A) The surface with micrometer scale islands, ×10000;(B) The surface with micrometer scale islands, ×5000

又及,从 OCT-1 成骨细胞在有微凹陷聚苯乙烯表面的生长可见:OCT-1 成骨细胞的尾足及细胞整体能跨越直径为微米级($2.2 \pm 0.3 \mu\text{m}$)的微凹陷[见图 5(A)];对于直径较大的微凹陷,细胞尾足及细胞本体则是先贴着凹陷的内表面粘附和生长[见图 5(B)],然后沿着凹陷的内表面铺展,且随着接触面的凹陷形貌而变化;但对于直径较小($\sim 500\text{nm}$)的微凹陷,由于凹陷的直径太小、细胞尾足难以形变到能使细胞长入凹陷的形态,因此细胞尾足只能在伸展到微凹陷的边缘时沿着凹陷的边缘棱角生长[见图 5(C)],从而只能改变原有的伸展方向、遵循“接触引导效应”的方向生长^[10, 11]。

文献^[10]还报道,材料的表面形貌不仅影响细胞在其上的粘附和生长行为,而且还影响细胞在其上的

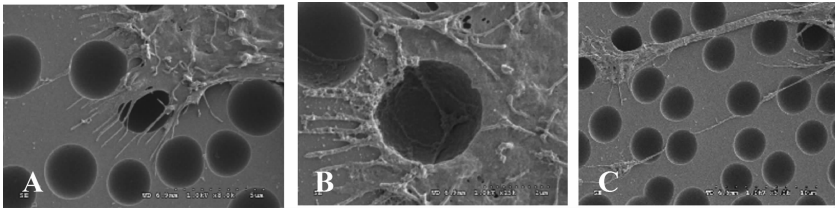


图 5 OCT-1 成骨细胞在有微凹陷 PS 表面培养 6h 的电子显微镜图像^[10]

(A)微米级凹陷,×8000;(B)微米级凹陷,×15000;(C)微米级凹陷,×5000

Figure 5 SEM images of OCT-1 osteoblasts on PS surface with micro-pits for 6hrs^[10]

(A) For micrometer scale pits, ×8000; (B) For micrometer scale pits, ×15000; (C) For micrometer scale pits,×5000.

粘附效果。如图 6 所示,OCT-1 成骨细胞在光滑 PS 表面的贴壁率为~30%;有小微凹陷 PS 表面的贴壁率为~40%;而在有大凹陷 PS 表面的贴壁率为~55%。然而,虽然也有材料的表面形貌对细胞的粘附质量有一定影响的报道,但目前的结果尚不能证明材料的表面粗糙度能提高细胞在材料表面的增殖,尚需进一步予以研究。

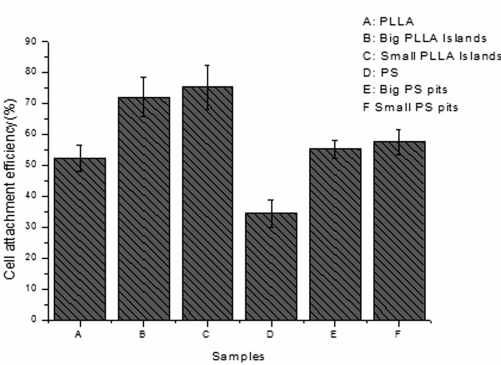


图 6 有不同大小微凹陷的 PS 及微凸起的 PLLA 的表面细胞粘附效果^[10]

(A)在光滑的 PLLA 表面;(B) 在有 大凸起的 PLLA 表面;(C) 在有 小凸起的 PLLA 表面;(D) 在光滑的 PS 表面;

(E) 在有 大凹陷的 PS 表面;(F) 在有 小凹陷的 PS 表面

Figure 6 Cell attachment efficiency on polystyrene and poly(l-lactide) surface with different sized pits and islands^[10]

(A)On smooth PLLA surface; (B) On PLLA surface with big ilands; (C) On PLLA surface with small ilands;

(D) On smooth PS surface; (E) On PS surface with big pits; (F) On PS surface with small pits

(6)表面结构影响 有研究报道表面结构对细胞的粘附与生长也有一定影响。多孔结构利于营养物质渗透和细胞的正常代谢,因此更利于细胞的粘附与生长^[12]。此外,基于细胞贴壁生长的特点,由于小孔径网的网丝比表面大大高于大孔径网的网丝比表面,因此在小孔径尼龙网上培养出的 3T3 成纤维细胞数量大大高于在大孔径网上培养出的细胞数量,表明孔结构大小对细胞的生长也有一定影响。作者认为,这一结果还与细胞的种植效果密不可分:在用大孔径网种植细胞时,一些细胞可能会因穿网而过,无法与网丝接触及被粘附;但在小孔径网上种植时,由于细胞易与同网丝接触、被粘附,因而可以培养出更多的细胞。这说明,材料的表面孔结构及孔径大小对细胞的粘附与生长有一定的影响^[13]。由此也进一步说明,组织工程的细胞支架必须具有孔结构,而且孔径大小必须同拟修复重建的目的组织的细胞大小相匹配,从而组织工程细胞支架的制备指明了结构设计的方向^[14, 15]。

综上所述,影响材料生物相容性与细胞亲和性的因素及影响效果可归结如表 1。因此,为提高材料的生物相容性与细胞亲和性,必须根据具体使用材料的理化性能和实际应用的目的、部位和要求,有的放矢地开展对材料表面生物相容性与细胞亲和性的改性。

3 脂肪族聚酯的表面改性

前文^[16]已述,聚乳酸(PLA)、聚乙醇酸(PGA)等脂肪族聚酯都因自身疏水、分子链中缺乏荷电性基团、材料表面缺乏细胞结合位点、结晶性又较强而导致细胞亲和性和生物相容性都不佳的结果。由此,为提高脂肪族聚酯制品的表面生物相容性,不但要对脂肪族聚酯进行本体改性,从根本上提高材料的亲水性、增加材料的荷电性基团、降低材料的结晶性;更为重要的是,还必须根据脂肪族聚酯制品实际的生物医用目的、应用部位及使用要求,根据所用脂肪族聚酯本体的亲水性、反应性功能基团和荷电基团等性状,进行具有针对性的、专门的表面改性,以达到提高该脂肪族聚酯制品生物相容性与细胞亲和性的目的。

表 1 影响材料生物相容性与细胞亲和性的因素及其影响效果	
Table 1 The factors and influences of material on biocompatibility and cell affinity	
影响因素	影响效果
表面亲/疏水性	适宜亲水性的表面利于细胞的粘附和生长
表面自由能	高表面能的表面利于细胞的粘附及铺展
表面荷电性	荷正电荷的表面同荷负电荷细胞间的静电作用利于细胞的粘附
表面化学基团	胺基、酰胺基、羟基、羧基、磺酸基等利于细胞的粘附与生长
材料形态结构	粗糙的表面利于细胞的粘附和生物膜的迅速生长

目前应用较多、较广的表面改性方法可归纳于表 2。

表 2 脂肪族聚酯制品的表面改性方法		
Table 2 The surface modification methods for polylactone-type products		
改性手段	改性方法	改性机制
物理改性手段	表面涂覆法	在表面覆盖生物相容性好的其它材料
化学改性手段	表面化学处理法	改变材料的表面化学基团
等离子体改性手段	低温等离子体处理法	使材料表面形成拓扑结构
	等离子体处理-生物大分子锚定法	以材料表面形成的荷电基团作为细胞识别位,而后将生物活性大分子锚定在其上

3.1 物理改性手段

物理改性手段是指采用简单的物理手段使脂肪族聚酯制品得到表面改性的手段。表面涂覆法是最为简单易行的表面改性方法。该法是通过在脂肪族聚酯制品表面涂覆具有良好亲水性及生物相容性的生物材料,从而达到在不影响脂肪族聚酯制品原有形貌结构及生物降解性、力学性能等本体性能前提下,达到对脂肪族聚酯制品进行表面改性目的的方法。

常用于作为脂肪族聚酯制品表面涂覆改性的生物材料有如透明质酸、蛋白质、脂类、胶原、多糖、多肽、明胶、琼脂等天然高分子材料,以及通过乙交酯、丙交酯、己内酯等内酯单体同具有反应性基团的亲水性单体或齐聚物(如苹果酸、葡聚糖、壳聚糖、聚乙二醇等)共聚得到的带有荷电性侧基(如羧基、氨基、巯基等)的合成高分子材料^[16~21]。常用的溶剂是水、乙醇、氯仿、二氯甲烷、二氧六环、四氢呋喃等无毒或毒性小、挥发性强、容易除去的液体。所配得的涂覆液则是采用浸渍法、刷涂法、喷镀法等工艺涂覆于制品的表面干燥后,最终进行彻底的脱溶剂处理。

透明质酸和胶原是源自机体组织的天然高分子材料,具有十分优良的生物相容性和细胞亲和性,是应用最多的表面改性用涂覆材料。但它们都是水溶性材料,不仅同疏水性的脂肪族聚酯制品表面结合牢

度差,而且由于它们的水溶性会很容易被体液和环境中的水分溶解,从而很快地就会丧失表面改性的效果。此外,透明质酸和胶原等天然高分子都存在质量的重现性差、来源有限的缺点,且存在因灭菌处理而丧失活性、发生分解及变性的隐患。因此,虽然用天然高分子对脂肪族聚酯制品进行表面涂覆后生物相容性的改善效果显著,但它们所存在的缺陷也是十分明显、且是无法改变的。

由于将羟基酸单体同亲水性较好、含有荷电性基团(如羧基、羟基、胺基、亚胺基、磺酸基、酰胺基等)的其它单体共聚合成的脂肪族共聚酯、或将脂肪族聚酯同其它亲水性好的或含有多种功能基团的聚合物通过共混制得的脂肪族聚酯共混物都能影响原脂肪族聚酯制品的表面结晶性、亲水性、荷电性、反应性基团种类和数量等性能,最终会影响它们制品的细胞粘附性、细胞亲和性及生物相容性又由于这样的共聚酯或聚酯共混物的性能在一定程度上可通过分子设计、调控亲水性基团种类、含量、高分子的分子结构和聚集态结构及分子量等方法来调控^[22~27],因此虽然不可能通过脂肪族聚酯的本体改性,即使脂肪族共聚酯或共混物制品本体的降解性能和力学性能等符合应用要求,又使制品的表面亲水性、荷电性和拓扑结构等符合应用要求的细胞亲和性和生物相容性;但采用由脂肪族聚酯本体改性所得的共聚酯和共混物为表面涂覆材料,仍是能在一定程度弥补天然高分子材料上述缺点和隐患的有效表面涂覆材料。

例如,聚乙烯醇(PVA)是既亲水、又能在体内代谢后通过尿液排出的合成高分子化合物,是已被许多国家的FDA批准允许作为可植入体内的生物材料。但PVA的亲水性太强,导致因同脂肪族聚酯间的亲/疏水性差异太大、脂肪族聚酯制品同表面涂层间相容、相溶性太差而涂覆困难,并且涂层难以达到均匀。因此,将内酯单体同PVA的共聚产物,如(聚L-丙交酯-聚乙烯醇)多嵌段共聚物PLE^[28~30]作为涂覆材料,不但可改善脂肪族聚酯制品的亲水性(见图7)和生物相容性,而且可利用共聚物分子中的聚酯成分提高涂层同制品表面的亲和性,达到提高涂层与制品间的结合牢度、延长表面处理有效时间的目的。

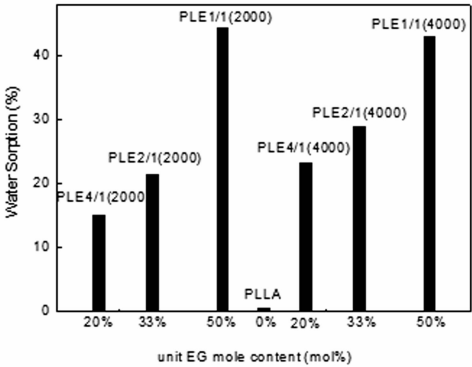


图 7 (聚 L-丙交酯-聚乙烯醇)多嵌段共聚物的组成同亲水性的关系^[28]

Figure 7 Dependence of water uptake on composition of PLE multiblock copolymer^[28]

又如,由丙交酯同苹果酸(2-羟基丁二酸, MA)共聚得到的(丙交酯-苹果酸)共聚酯(PLMA)的亲水性可以通过调节共聚酯中的MA含量而予以调控,PLMA表面的对水接触角随着MA含量的增加而减小(见图8)。

如图9所示,鼠3T3成纤维细胞在不同MA含量的PLMA上培养5h的形态则表明,在一定的MA含量范围内,PLMA的细胞亲和性也是随着MA含量的增加而提高的^[31~34]。

由于PLMA的降解产物苹果酸是天然果汁的重要成份,也是人体必需的有机酸;MA又与LA一样都能参与人体代谢,而后被机体代谢和吸收,是一类具有生物医用前景的人工合成生物降解高分子。基于PLMA可溶于脂肪族聚酯不能溶解的乙醇,可配成以乙醇为溶剂的涂覆液对脂肪族聚酯制品进行表面涂覆;且PLMA分子中LA成分可大大改善PLMA涂层同脂肪族聚酯制品表面间的亲和性,提高结合牢度,具有天然高分子涂覆材料所缺乏的优点,因而是进行脂肪族聚酯制品表面改性较理想的涂覆改性用合成高分子材料。

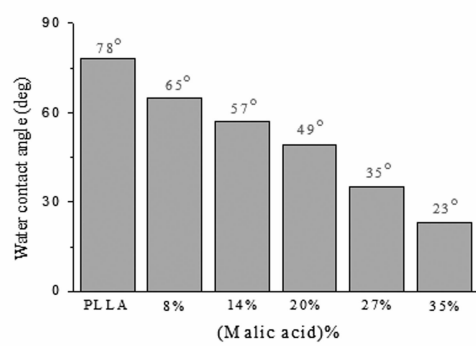


图 8 苹果酸含量对(丙交酯-苹果酸)共聚酯(PLMA)对水接触角的影响^[31]
Figure 8 Effect of malic acid content on water contact angle of PLMA^[31]

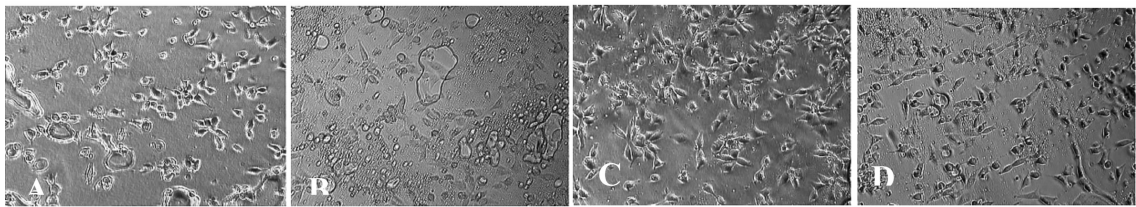


图 9 鼠 3T3 成纤维细胞在不同组成 PLMA 上培养 5 h 的形态(×150)^[31]
(A) PLLA; (B) PLMA(96/4); (C) PLMA(92/8); (D) PLMA(86/14)
Figure 9 Morphology of 3T3 mice fibroblasts cultivated on PLMA with different composition for 5 hrs (×150)^[31]
(A) PLLA; (B) PLMA(96/4); (C) PLMA(92/8); (D) PLMA(86/14)

然而,虽然表面涂覆法是一种简单、有效,并且已经得到实际应用的表面改性方法。但是由于这样的改性只是一种物理处理,涂层与脂肪族聚酯制品表面间是依赖范德华力而结合的,因此相对于其它作用力的结合牢度还是较差,特别是在有水或体液存在的环境下涂层更易溶失,使表面处理效果的持续时间缩短^[35]。此外,由于涂覆液必须用溶剂配制,存在有溶剂对脂肪族聚酯制品表面溶蚀的可能,导致脂肪族聚酯制品表面原有拓扑结构的破坏而对脂肪族聚酯制品表面细胞亲和性和性不利的影响。又及,涂覆液不仅可能封闭脂肪族聚酯制品表面原有的拓扑结构,而且也可能因其自身的粘度和表面张力而不能进入制品表面的微细结构(如开放性的微多孔结构及微沟槽结构等),导致表面改性效果的变差。因此,表面涂覆法虽然方法简单易行,不需专门的设备,但是应用效果和应用范围还是具有一定局限性的。

3.2 化学改性手段

高分子化合物是由一种或多种单体聚合而成的分子集合体,所以在高分子的两端及高分子的聚合单元中或多或少地存在着有反应性的功能基团。因此,对于脂肪族聚酯而言,就有望通过化学链接或物理作用的途径,使具有亲水性或/和荷电性基团的单体同暴露于脂肪族聚酯制品表面的反应性功能基团反应,从而将亲水性或/和荷电性的基团结合到脂肪族聚酯制品的表面,使其生物相容性得到改善。

常用的脂肪族聚酯制品表面化学改性手段是表面接枝改性和表面共聚改性。通过在脂肪族聚酯及其制品的表面接枝具有亲水性基团的分子,是改善其表面生物相容性、细胞亲和性和血液相容性,提高材料抗凝血性的有效途径。由于该法是将亲水性基团以化学方法结合到脂肪族聚酯及其制品的表面,因此结合牢度较强,容易达到避免亲水性基团从表面脱落、延长表面改性效果的目的。

例如,采用将亲水性的葡聚糖分子接枝到 PLA 分子上,使聚丙交酯接枝葡聚糖的共聚物(PLA-g-dextran)表面载有亲水性的葡聚糖侧基,从而得到既提高了共聚物的亲水性,又明显改善共聚物的细胞亲和性等生物医用性能的表面改性效果,如表 3 所示^[36, 37]。

图 3 葡聚糖含量对聚丙交酯接枝葡聚糖共聚物亲水性的影响^[36]

Table 3 Dependence of hydrophilicity of PLA-g-dextran copolymer on glucose content^[36]

聚合物	葡聚糖单元 (mol%)	接触角/度	吸水率/(%) (wt)
PLA	0	80.1±1.4	0.65
PLA-g-葡聚糖-1	0.96	72.4±0.7	1.40
PLA-g-葡聚糖-2	1.50	72.1±0.9	6.41
PLA-g-葡聚糖-3	3.10	69.5±2.1	7.90
PLA-g-葡聚糖-4	28.57	68.8±2.2	— ^a

^a 因为样品太脆而无法测得数据

又如,基于肝素可通过对凝血酶原活化的抑制而延缓和阻止由于纤维蛋白网络形成而导致的凝血,是抗凝血效果非常优良的天然抗凝血药物。此外,还可通过导入肝素以降低感染的发生率,因此可通过表面肝素化来提高脂肪族聚酯及其制品的抗凝血性的效果。由于肝素是由于化学偶合作用而被结合到脂肪族聚酯制品表面的,因此同脂肪族聚酯本体间有较高的结合牢度,具有比表面涂覆更好、时间更长的表面改性效果^[38]。由于表面接枝改性的方法可以较明显地改善脂肪族聚酯制品的表面亲水性和细胞亲和性、生物相容性,因此越来越受到重视,可望在今后的生物医学生领域发挥越来越重要的作用^[39]。

然而需要注意的是,脂肪族聚酯具有分子链本身缺乏具有反应性的基团、而暴露于材料表面的反应性基团则更少的特点,因此即使其表面所有的反应性基团都进行了接枝或改性反应,所得到的表面改性效果仍然是有限的。同时,在化学改性过程中常会用到有机溶剂,从而既可能导致因对脂肪族聚酯制品本体及表面的溶蚀而破坏它们原有的形貌结构,又会在一定程度上造成对环境的污染,所以化学处理手段对脂肪族聚酯制品而言也并非是完全理想的表面改性方法。

3.3 等离子体改性手段

(1) 等离子体处理法

离子体是一类具有较高能量的和较高活性的,由中性的原子或分子、激发态的原子或分子、自由基、电子或负离子、正离子以及辐射光子组成的复合物体系,是既不属于固态、也不属于液态和气态的物质第四态^[40]。一般认为:电磁辐射,特别是紫外线(UV)和真空紫外线区域的电磁辐射是等离子体的富产源。采用图 10 那样的等离子体发生器,在 0.1Pa~100Pa 气压下气体射频放电就可获得等离子体。因为其中的离子、自由基、中性原子或分子等粒子的温度接近或略高于室温,故亦称低温等离子体。

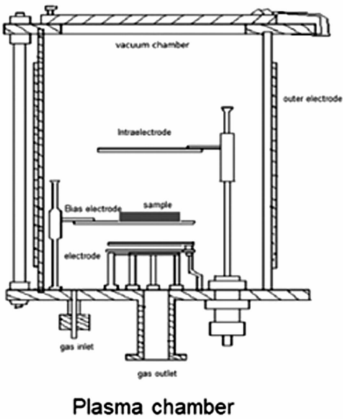


图 10 等离子体发生器简图

Figure 10 Scheme of plasma treatment device

等离子体处理的过程为:将需要处理的制品置于充有甲烷、氨、氮、氧、氩等非聚合性气氛的等离子体

腔内,利用在静电场下生成的等离子体能量粒子,诱发材料表面的分子激发、电离或断键,从而在不会导致制品材料热分解或烧蚀的情况下,使制品表面深度为几十至几千埃的范围受到蚀刻,形成一定的拓扑结构。采用不同的气氛,就可在制品表面形成具有不同物理和化学性质的新表面基团,从而得到可同时改变制品表面拓扑结构和荷电性能的效果。

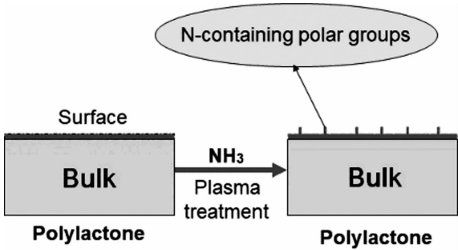


图 11 氨等离子体表面处理后聚内酯表面含氮极性基团的形成

Figure 11 Scheme of formation of N-containing polar groups on surface of polylactone-type polymer after ammonia plasma treatment

等离子体改性手段所能达到的表面形貌结构和荷电性能的改变程度同等离子体处理时所采用的气氛、气压、处理时间和处理功率等因素有关。不同的气氛和气压下导致形成不同种类和性质的荷电基团;而不同的等离子体处理时间和处理功率,则导致不同的表面处理深度、表面拓扑结构和荷电基团的密度,最终形成不同的表面处理效果^[41~43]。

例如,在氨气氛下进行离子体处理的聚内酯表面会形成含氮元素的极性机团(如图 11 所示)^[43]。而被改性的表面深度(如图 12 所示的可吸收蓝墨水的 PLGA 支架深度)和表面拓扑结构的变化程度(如图 13 所示)都随离子体处理时间的增长和处理功率的加大而增大^[43]。

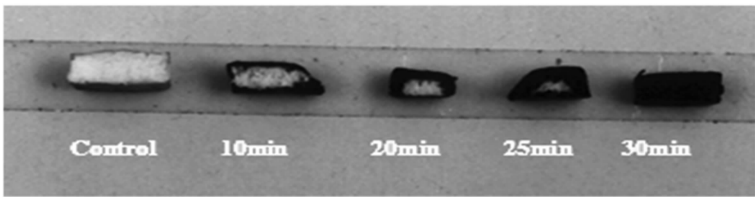


图 12 在 30Pa 氨气氛和 20W 功率下,等离子体处理时间同 PLGA 支架处理深度的关系^[43]

Figure 12 Dependence of treated depth of PLGA scaffold on plasma-treating time under power 20W and 30Pa of NH₃ atmosphere^[43]

由此表明:相比其它表面改性手段,低温等离子体法不但较容易改变材料表面的拓扑结构,还可通过在材料表面形成特定的官能团或其它高分子链而有效地改变材料表面的亲水性和荷电性。由于该表面处理方法既可避免制品的自体发生理化性能和形貌结构的变化,还是一种无污染和快速的绿色表面改性方法,因此是较为理想的聚内酯类高分子表面改性手段。

然而,作为物质第四态的等离子体在一定的温度环境下也会发生热运动,在制品表面形成的等离子体会随着热运动而渐渐向制品的自体迁移和扩散,导致在表面形成的特定官能团数量逐渐下降,表面改性效果也逐渐衰减。因此,为降低等离子体热运动的影响,维持等离子体表面改性的效果,只能:(1)在低温下保存等离子体表面改性的制品;(2)尽量缩短等离子体表面改性制品的存放时间^[43]。这两种方法虽然有效(见图 14),但也成了等离子体表面改性样品的应用制约。

(2)等离子体处理-生物大分子锚定法

基于等离子体处理过程中伴随有高分子的激发、电离或断键,从而可能在适当的气氛下形成含有该气氛元素的、具有特殊物理和化学性质的基团,因此就有可能利用这样具有特殊性质的表面基团与具有

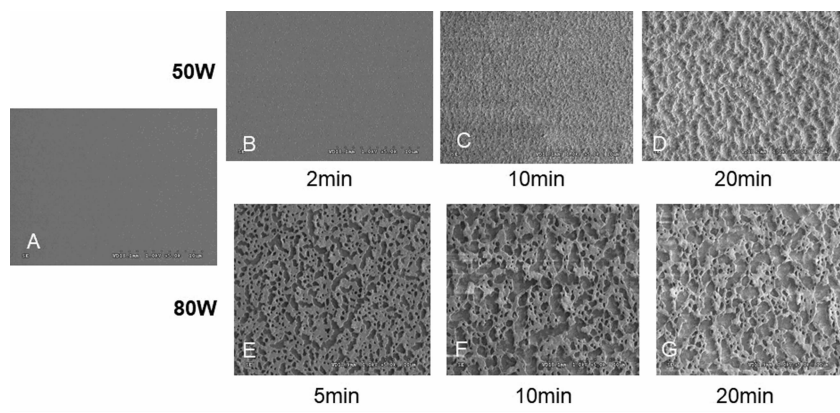


图 13 用不同功率和氧等离子体处理时间处理的 PLGA 表面电子显微镜图像^[43]
(A) 未处理;(B) 50W 下处理 2mins;(C) 50W 下处理 10mins 分钟;(D) 50W 下处理 20mins;
(E) 80W 下处理 5mins;(F) 80W 下处理 10mins;(G) 80W 下处理 20mins

Figure 13 The SEM images of control and oxygen-plasma treated PLGA surface^[43]
(A) Untreated; (B) Treated under 50W for 2mins; (C) Under 50W for 10mins; (D) Under 50W for 20mins;
(E) Under 80W for 5mins; (F) Under 80W for 10mins; (G) Under 80W for 20mins.

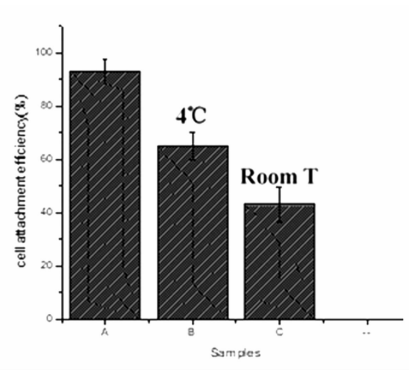


图 14 20.3N/m² 强度下氨等离子体处理 60min 的 PLGA 膜的存放时间对鼠 3T3 成纤维细胞粘附的影响^[43]
(A) 在室温空气下 0 周;(B) 在 4℃ 空气下 5 周;(C) 在室温空气下 5 周
Figure 14 Effect of storing temperature on adherence of mice 3T3 fibroblasts on NH₃ plasma-treated PLGA films under 20.3N/m² of shear stress for 60mins^[43]

(A) At room temperature in air for 0week; (B) At 4℃ in air for 5 weeks;(C) At room temperature in air for 5 weeks.

相应基团的其它分子(包括生物活性分子)结合,使高分子表面具有更为多样性的功能。而同生物活性分子结合后所形成的大基团因受空间位阻的影响难以热运动,无法在材料表面迁移和扩散,可以起到长时间保持等离子体处理效果的作用。

例如,利用在氨气氛下进行等离子体处理聚内酯表面所生成的含氮基团(C—N⁺, —NH—)来固定胶原,既可保持等离子体表面处理的效果,还可使聚内酯表面的生物相容性得到进一步的提高^[44~47]。

同样,采用氧等离子体处理的 PLGA,既可提高表面粗糙度^[43],还可由于 PLGA 表面发生变化后形成的表面基团,使在细胞培养过程中从培养液中均匀地吸附一层牛血清蛋白,以直接介导细胞在 PLGA 表面的均匀贴附,达到改善 PLGA 面的细胞亲和性的目的。

此外,如图 15 所示,PLGA 分子中的含氧基团(—C—O—)在经过氧等离子体处理后可更增强同 OCT-1 细胞间的亲和性,所以将这样经过氧等离子体处理的 PLGA 支架放入模拟体液后,PLGA 支架表面可较快地形成似骨的磷灰石层^[48]。

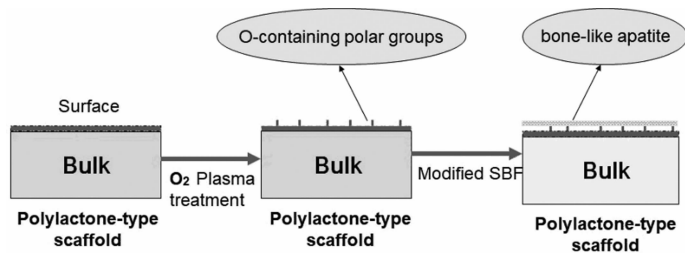


图 15 采用氧等离子体处理后模拟体液中似骨磷灰石培育的 PLGA 改性^[48]

Figure 15 Modification of PLGA by oxygen-plasma treatment then bone-like apatite incubation in modified SBF^[48]

生长因子是一类具有调节微生物正常生长代谢,通过与特异高亲和的细胞膜受体结合来调节细胞生长与其它细胞功能等多效应的天然多肽类物质。生长因子存在于血小板和各种成体与胚胎组织及大多数培养细胞中,对不同种类的细胞有一定的专一性,也是组织工程三大要素中的一大要素。然而,生长因子的热稳定性很差,特别是在室温和有水的环境下会很快失去生物活性,十分难以维持生物活性。

生长因子与胶原等天然生物大分子一样,分子链中也有可与等离子体作用而后形成能被固定的功能性基团,因此就可将经二氧化碳气氛下等离子体处理的 PLGA 锚定碱性成纤维生长因子(bFGF)^[49],或将经氧气气氛下等离子体处理的 PLGA 锚定人骨形态发生蛋白(rhBMP-2)^[50, 51],从而既可获得防止等离子体向制品本体迁移和扩散,避免等离子体的处理效果减小和丧失的效果,而且还可获得固定生长因子、保持生长因子的生物活性,并使生长因子缓慢释放的效果^[52]。

基于等离子体具有很好的穿透性,所以不仅能处理光滑的表面,而且可以透入有孔的结构、实现对呈多孔结构制品的孔内表面处理,从而已经成为生物医学工程表面处理的一种重要的手段。对于组织工程而言,由于细胞支架都呈多孔结构,采用等离子体进行表面改性,特别是利用等离子体处理-生长因子锚定技术进行支架处理,只要调控好等离子体处理的功率、时间和气氛等因素,不仅支架本体的形貌结构和理化性能不会受到影响和破坏,而且还可在支架表面性能得到改性的同时,实现对生长因子的锚定和控制释放,成为支架仿生的重要手段,是具有潜在广泛应用前景的表面改性方法。

然而必须指出的是,采用等离子体处理手段时,必须装备等离子体发生器、各种气源和控制设备,因此投资将较高。此外,等离子体处理的制品体积还受等离子体处理腔室大小的限制,一般对于体积较大的制品还不能采用等离子体法进行表面处理,使应用范围受限。

4 结论

综上所述,可用于脂肪族聚酯制品进行表面改性的手段不少,各手段都有各自的特点和优点,但同时也都存在各自的缺点和应用的局限性。正如世上不存在可适用于所有应用的万能材料一样,也不存在对所有材料和结构都能适用的万能加工和处理方法。由于不同的生物医学应用需要不同的生物材料相适应,不同的生物材料和结构也需采用不同的加工和表面改性手段相适应。基于不同表面改性手段的改性机制不同,得到的表面改性效果也不尽相同^[53, 54]。因此对于脂肪族聚酯类生物医用制品而言,必须根据具体的生物医学应用部位和应用要求,采用与之相适应的脂肪族聚酯材料,选择可满足制品应用环境及表面形貌结构和性能要求的加工方法,再有的放矢地采用合适的表面改性方法,以得到能符合生物医学实用要求的脂肪族聚酯制品。

参考文献:

- [1] Anselme K. Biomaterials, 2000, 21: 667~681.
- [2] Hynes RO. Cell, 1992, 69: 11~25.
- [3] 高长有, 李安, 封麟先. 功能高分子学报, 1998, 11(3): 408~414.

- [4] Vander P, Valk A, Pelf W, Van J. J Biomed Mater Res, 1983,17(5): 807~817.
- [5] Quirynen M, Bollen C M. J Clin Periodontol, 1995, 22: 1~14.
- [6] Campbell C E, Von Recum A F. J Invest Surg, 1989, 2: 51~74].
- [7] Li Y, Wang SG, Cui WJ, Richard S, Claire O, Gopinath D, Adrienne G, Anthony W, Abhay P. ACTA-Biomaterialia, 2009, 5: 580~588].
- [8] Wang S G, Hou J W, Bei J Z, Zhao Y Q. Sciences in China (Series B), 2001, 44 (4): 419~426.
- [9] 杨健, 贝建中, 王身国. 功能高分子学报, 2000, 3 (4): 455~460.
- [10] Wan Y Q, Wang Y, Liu Z M, Qu X, Han B X, Bei J Z, Wang SG. Biomaterials, 2005, 26 (21): 4453~4459.
- [11] Curtis A, Wilkinson C. Biomaterials, 1997,18: 1573~1583.
- [12] Kuo S M, Tsai S W, Huang L H, Wang Y J. Art Cell Blood Subs and Immob Biotech, 1997, 25, 551~562.
- [13] Richer E, Fuhr F, Moller T. J Mater Sci: Materials in Medicine, 1996, 7: 85~93
- [14] Cai Q, Yang J, Bei J Z, Wang S G. Biomaterials, 2002, 23 (23):4483~4492.
- [15] Wang S G, Bei J Z. Chin J Biomed Eng, 2001, 10 (2): 47~49.
- [16] Fietier I, Le Borgne, Spassky N. Polym Bull (Berlin), 1990, 24, 349.
- [17] Zhou Q X, Kohn J. Macromolecules, 1990, 23, 3399.
- [18] Barrera D A, Zylstre E, Lansbury P T, Langer R. Macromolecules, 1995, 28, 425.
- [19] Ouchi T, Nozaki T, Ishikawa A, Fujimoto I, Ohya Y. J Polym Sci Polym Chem, 1997, 35, 377.
- [20] Wang D, Feng X. Macromolecules, 1997, 30, 5688.
- [21] Zhang G, Wang D, Feng X. Macromolecules, 1998, 31, 6390.
- [22] 王身国. 高分子通报, 2011, 10: 1~14.
- [23] 王身国. 中国康复理论与实践, 2002, 8 (5): 267~269.
- [24] He B, Wan YQ, Bei JZ, Wang SG. Biomaterials, 2004, 25: 5239~5247.
- [25] 石强, 栾世 方金晶. 中国材料进展, 2014, 55(4): 212~225.
- [26] Wang S G, Cui W J, Bei J Z. Anal Bioanal Chem, 2005, 381(3): 547~556.
- [27] 崔文瑾, 贝建中, 王身国. 高分子通报, 2005, 5: 16~23.
- [28] 陈文娜, 杨健, 王身国, 贝建中. 高分子学报, 2002, 5: 695~698.
- [29] Chen W N, Luo W J, Wang S G, Bei J Z. Polym Adv Technol, 2003, 14: 245~253.
- [30] Wang S G, Wan Y Q, Cai Q, He B, Chen W N. Chem Res in Chin Univ, 2004, 20 (2): 191~194.
- [31] He B, Wan Y Q, Bei J Z, Wang S G. Biomaterials, 2004, 25: 5239~5247.
- [32] 何斌, 万玉青, 贝建中, 王身国. 高分子学报, 2004, 5: 693~699.
- [33] He B, Bei J Z, Wang S G. Polymer, 2003, 44(4): 989~995.
- [34] He B, Bei J Z, Wang S G. Polym Adv Technol, 2003, 14: 645~652.
- [35] Balaji A, Jaganathan S K, Vellayappan MV, John AA, Subramanian AP, Kumar MS, Mohandas H, Raj S, Supriyanto E. RSC Adv, 2015, 5, 69660~69679.
- [36] Cai Q, Wan Y Q, Bei J Z, Wang SG. Biomaterials, 2003, 24: 3555~3562.
- [37] 蔡晴, 贝建中, 王身国. 高分子学报, 2004, 5: 719~725.
- [38] 刘鹏, 丁建东. 中国医疗器械信息, 2011, 11(5): 422.
- [39] 刘孝波. 维普资讯, <http://www.cqvip.com>, p. 6~8.
- [40] 赵化侨. 等离子体化学与工艺. 合肥: 中国科大出版社. 1993, 1~3.
- [41] Favia P, D'agostino R. Surf Coat Technol, 1998, 98: 1102~1106.
- [42] Wang M J, Chang Y I, Poncin-Epaillard F. Surf Interface Anal, 2005; 37: 348~55.
- [43] Wan Y Q, Qu X, Lu J, Zhu C F, Wan L J, Yang J L, Bei J Z, Wang S G. Biomaterials, 2004; 25: 4777~4783.
- [44] 杨健, 贝建中, 王身国. 中国修复重建外科杂志, 2001, 15(5): 269~272.
- [45] Yang J, Bei J Z, Wang S G. Polym Adv Technol, 2002, 13: 220~226.
- [46] Yang J, Wan Y Q, Yang J L, Bei J Z, Wang S G. J Biomed Mater Res, 2003, 67A: 1139~1147.
- [47] Yang J, Bei J Z, Wang S G. Biomaterials, 2002; 23: 2607~2614.
- [48] Qu X, Cui W J, Yang F, Min C C, Shen H, Bei J Z, Wang SG. Biomaterials, 2007, 28: 9~18.
- [49] Shen H, Hu X X, Bei J Z, Wang SG. Biomaterials, 2008, 29: 2388~99.
- [50] Shen H, Hu X X, Yang F, Bei J Z, Wang S G. Biomaterials, 2009; 30: 3150~7.
- [51] Shen H, Hu X X, Yang F, Bei J Z, Wang S G. Acta Biomaterialia, 2010, 6: 455~65.

- [52] Shen H, Hu X X, Yang F, Bei J Z, Wang S G. *Biomaterials*, 2007, 28: 4219~30.
- [53] Wang S G, Wan Y Q, Cai Q, He B, Chen W N. *Chem Res Chin Univ*, 2004, 20 (2): 191~194.
- [54] Wang S G. *Tissue Eng*, 2006, 12(4): 983.

Biodegradable Polymer——A Kind Important Biomaterial

2. Biocompatibility and Surface Modification of Aliphatic Polyester

WANG Shen-guo* , BEI Jian-zhong

(*Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China*)

Abstract: Aliphatic polyester is one kind of the biodegradable polymers that has been more and more suffered concerning. Due to the fact that in clinical application all of the medical products will contact with the tissues or blood of the organization in different level, and in the case the surface of the medical products will be firstly contact with the tissues or blood of the organization. Therefore the surface biocompatibility of the medical products has more directly relationship with the safety and effectiveness of the products. In the present paper, the specific property of the aliphatic polyester and the influence factors of specific property on surface biocompatibility of the medical products were analyzed. Then the surface modification methods such as physics, chemistry and plasma processing methods, their merits, shortages and limitations for application of various method were also analyzed and pointed. It is expected that the paper can provide and to supply the modified method to improve surface biocompatibility of the aliphatic polyester made medical products.

Key words: The biological material; The aliphatic polyester; The biocompatibility; The surface modification