

高分子的表面化学组成与生物相容性

刘 芸^{a, b}, 陈杰^b *

(^a西安交通大学理学院化学系; ^b西安交通大学能动学院, 西安 710049)

摘要: 生物相容性是高分子材料在临床上用作医用装置的基本要求, 改变高分子材料的表面化学组成是提高其生物相容性的重要途径。综述了构建表面化学组成改性高分子材料生物相容性的最新研究进展, 并对改善高分子材料生物相容性的研究方法提出了一些看法。

关键词: 高分子材料; 表面化学成分; 生物相容性

引言

高分子材料以其优良的机械性能和力学耐久性在临床上被广泛地用作医用装置(如人工血管、人工心脏瓣膜、人工心瓣膜及透析器等)和组织工程用支架材料。作为与血液接触的高分子材料, 植入体内诱发的血栓形成是限制其临床应用的主要原因; 而作为组织工程材料, 细胞在材料表面不能很好地黏附、铺展和生长成为生物医用高分子材料应用的主要障碍。由于血栓的形成和细胞黏附主要发生在材料表面, 为了使高分子材料具有良好的血液相容性和细胞亲和性, 需要对材料表面进行改性。研究表明, 材料表面的成分、结构、表面形貌、表面的能量状态、亲/疏水性、表面电荷、表面的导电特征等均会影响材料与生物体间的相互作用, 从而影响到材料的生物相容性^[1]。近年来, 人们通过在材料表面构建不同化学成分, 使高分子材料的生物相容性有了大幅度改善。在材料表面构建的化学成分大致可分为: (1) 中性亲水基团或分子; (2) 两性离子; (3) 氨基酸/小肽; (4) 生物大分子。本文就这些化学成分在改性高分子材料生物相容性方面的最新研究进展做一综述。

1 中性亲水基团或分子

在材料表面引入亲水性基团如 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 等是改性材料生物相容性的一个关键步骤。通过以上功能基的引入, 可以使材料的亲水性增强, 或借助这些基团将生物分子固定在材料表面以达到改善材料生物相容性的目的。如 Gupta 等^[2] 将丙烯酸通过等离子体诱导的方法在 PET 膜表面接枝共聚并将胶原蛋白固定, 细胞培养实验发现, 平滑肌细胞能在未改性的材料表面黏附但细胞生长很慢, 在丙烯酸改性的材料表面如果没有胶原蛋白存在时, 细胞不但不能黏附而且很快死亡, 认为膜表面的丙烯酸酸性环境会对细胞产生毒性, 抑制细胞生长; 而在固定有胶原的改性膜表面, 细胞黏附和生长都得到增强。Vasilets 等^[3] 用微波 CO_2 等离子体引发丙烯酸在 PTFE 表面气相接枝聚合, 并将人凝血酶(hTM) 进行固定, 发现接枝并固定 hTM 的膜表面能将凝血蛋白酶转变成抗凝血因子, 使材料的抗凝血性能提高。以上研究中 $-COOH$ 的引入虽能增加材料的亲水性, 但对材料的生物相容性似乎没有什么贡献, 说明材料的亲水性与材料的生物相容性没有正相关关系。研究还发现, 表面 $-NH_2$ 功能化能够有效地改善材料的细胞黏附性能, Hamerli 等^[4] 用微波等离子体将烯丙胺涂敷在 PET 表面, 材料的润湿性不仅改善, 而且体外生物相容性试验表明, 人皮肤成纤维细胞在改性的膜表面黏附和扩散良好, 并指出材料表面的氨基

基金项目: 国家自然科学基金项目(20174030); 高等学校博士学科点基金项目(20010698007); 教育部留学回国人员启动基金项目(2001[345]); 陕西省重点科技攻关项目(2003K10-G61);

作者简介: 刘芸(1966—), 女, 副教授, 博士生, 研究方向为生物化学与分子生物学。E-mail: Liuy@tjrc.org.

* 通讯联系人

浓度与材料表面黏附的代谢活性细胞量及材料的亲水性呈正相关性。因此,常利用氨基的高反应活性,将生物分子进行固定或在生理 pH 下通过氨基的质子化吸引带负电荷的生物分子提高细胞的黏附性^[5]。顾进伟等^[9]在丝素蛋白膜表面用等离子体法引入磺酸基,体外凝血实验表明,丝素蛋白本身没有抗凝血性,而改性的丝素蛋白部分凝血活酶时间(APTT)和凝血酶时间(TT)都有大幅度延长,证明抗凝血性与磺酸基的存在有关。

除了在材料表面引入中性基团以直接或间接改善材料的生物相容性外,在材料表面接枝亲水性的大分子聚乙二醇(PEG)或聚氧乙烯(PEO)是改善材料血液相容性的有效途径。陈宝林等^[7]将磺酸基通过 PEO 链为“间隔臂”(spacer)接枝在聚氨酯表面,发现改性的聚氨酯能有效的抵抗血小板黏附,认为 PEO 链的高亲水性和柔顺性及磺酸根的似肝素活性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重要条件。Ji 等^[8,9]制备了聚苯乙烯(PS)和聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)与 PEO 端基十八烷基(stearyl)化的共聚物 PS-*g*-SPEO 和 PMMA-*g*-SPEO,研究发现,这两种共聚物表面对白蛋白具有良好的可逆吸附特性,证明聚合物/水界面具有“尾形”SPEO 链结构,认为 SPEO 链末端十八烷基的引入可在保持 PEO 有效抵抗蛋白质非特异性吸附的同时,通过十八烷基和白蛋白的“特异性”吸附形成高选择的聚合物-白蛋白复合界面,这种可逆吸附的、高白蛋白选择性的复合界面归因于 PEO 与十八烷基的协同作用。但从抗血栓性意义上来说,用 PEO 处理材料表面以降低蛋白吸附和防止血小板黏附仍未被证实^[10]。Chen 等^[11]将甲氧基聚乙二醇单甲基丙烯酸甲酯(PEGMA)接枝在翠绿亚胺(EM)表面,改性的膜表面能有效地降低血小板黏附,而且随着接枝密度增加,材料表面黏附的血小板相对量降低,认为改性膜表面血小板黏附量降低是由于表面存在的水合接枝链可能对接近的血小板产生流体和空间位阻作用引起。

2 两性离子

自从日本科学家 Ishihara 合成出具有两性离子结构的化合物 2-甲基-丙烯酰氧乙基磷脂酰胆碱(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine, MPC)以来,他带领的研究小组制备了一系列含有 MPC 成分的高分子膜材料,研究证明,这类材料的类生物膜结构赋予材料优异的生物相容性^[12~15]。近来他们又将 MPC 的结构进行改造,合成出新的含磷脂酰胆碱(phosphorylcholine, PC)的高分子材料^[16,17],通过在丙烯酰氧基和胆碱磷酰氧基之间引入二氧化二乙烯基($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}^-$)和 1,6-亚己基 $[-(\text{CH}_2)_6-]$ 桥单位(bridging units),获得了单体 MEO2PC 和 MHPC,然后将 MPC、MEO2PC 和 MHPC 分别与正丁基甲基丙烯酸甲酯(BMA)共聚(聚合物分别表示为 PMB、PMEO2B 和 PMHB),研究比较了 PC 摩尔分数为 0.3 时不同聚合物的抗凝血性能和抗蛋白吸附性能,发现蛋白质在 PMEO2B 和 PMHB 表面的吸附量均小于 PMB,水合状态下,三种聚合物表面的蛋白吸附量均比 poly-BMA 小;干燥状态下,PMHB 中 PC 基的高表面密度会影响蛋白吸附的下降,血小板黏附也与聚合物是否预水化有关,材料未经水化处理时,血小板在 PMB 上的黏附量比在 PMEO2B 和 PMHB 上都大,而在水化后的材料表面,血小板黏附均被抑制,认为磷脂酰类聚合物中 PC 基与主链骨架之间的桥单位会影响 PC 基的表面密度、聚合物链的移动性及聚合物的水化动力学,进而影响聚合物表面的抗蛋白吸附和抗血小板黏附性能。

艾飞等^[18]用臭氧化法在聚氨酯表面接枝两性离子单体 *N,N'*-二甲基-*N*-(2-甲基丙烯酰氧乙基)-*N'*-(3-磺丙基)铵[*N,N'*-Dimethyl-*N*-methacryloyloxyethyl-*N'*-(3-sulfopropyl)-ammonium, DMMSA] (结构式如图 1 所示)。在长达 3h 的血小板黏附实验中,DMMSA 接枝的聚氨酯表面几乎找不到血小板,证明 DMMSA 链能非常有效地阻止血小板黏附。周静等^[19]将 DMMSA 聚合,发现聚合物也呈现相似的抗血小板黏附性能,认为聚合物优异的抗血小板黏附性能,原因在于磺胺两性离子结构,这种两性离子结构不仅与蛋白质等生物体大分子及其自组装体间作用力小,而且其水合能力强,不能进入蛋白质天然构象的内部,有利于维持蛋白质的原有构象。袁江等^[20]将自行合成的苯乙烯型丙磺酸铵内盐 *N,N'*-二甲基-*N*-(4-乙烯基苄基)-*N'*-(3-磺丙基)铵[*N,N'*-Dimethyl-*N*-(4-vinylbenzyl)-*N'*-(3-sulfopropyl)-ammonium, DMVSA] (结构如图 2 示)进行聚合,发现聚合物表面基本没有血小板黏附。

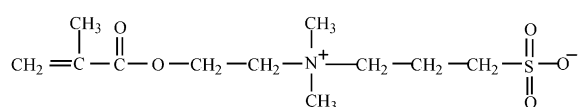


图 1 DMMSA 的结构式

Figure 1 Structure of DMMSA

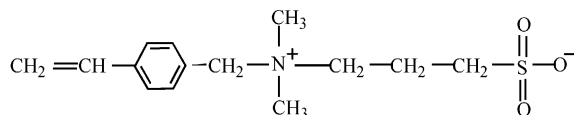


图 2 DMVSA 的结构式

Figure 2 Structure of DMVSA

3 氨基酸、活性小肽

氨基酸作为生物体必需的营养成分之一,在改善生物材料的生物相容性方面也发挥着重要作用。Duan 等^[21]将 *L*-半胱氨酸和 *L*-甘氨酸用化学方法分别固定在 PET 和 PU 上,发现没有血浆蛋白存在时, *L*-半胱氨酸固定的 PET 和 PU 膜与 *L*-甘氨酸固定的膜有基本相似的血小板黏附性能,有血浆蛋白存在时,黏附到 *L*-半胱氨酸固定的 PET 和 PU 膜上的血小板数比 *L*-甘氨酸固定的膜分别下降了 40%~50%,这种现象意味着固定的半胱氨酸的巯基与贫血小板血浆中的一种或多种成分间的相互作用有助于防止血小板黏附到 *L*-半胱氨酸固定的聚合物表面;而且,当 *L*-半胱氨酸固定的聚合物在含有亚硝化的牛血清清蛋白(BSA-NO)的磷酸缓冲液中进行孵育时,NO 能转移到聚合物表面然后再释放出来,他认为固定的 *L*-半胱氨酸能通过 *S*-亚硝基转移作用(*S*-transnitrosation)催化 BSA-NO 释放 NO,抑制血小板黏附,指出这种机理可用于改善生物材料的血液相容性。McClung 等^[22]用光化学法将赖氨酸残基固定在 PU 上,获得了两种表面,一种表面的赖氨酸有游离 $\epsilon\text{-NH}_2$,另一种表面的赖氨酸没有 $\epsilon\text{-NH}_2$,发现有游离 $\epsilon\text{-NH}_2$ 赖氨酸的材料表面具有选择性地键合血纤维蛋白溶酶原的能力,且在组织血纤维蛋白溶酶原存在下能将血纤维蛋白溶酶原转变成血纤维蛋白溶酶,可使血纤维蛋白血栓溶解。Fang 等^[23]将赖氨酸共价固定在纤维素粒上,研究发现改性的纤维素粒作为吸附剂能有效地去除细菌性内毒素(endotoxin, ET),认为碱性赖氨酸修饰的纤维素粒表面所带的正电荷,能够通过静电作用吸附表面带负电荷的 ET,使材料显示出良好的血液相容性,并明显地改善了 ET 诱导的败血症。Young 等^[24]将赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、甘氨酸分别共价结合在乙烯和乙烯醇共聚膜表面,在改性膜表面对小鼠小脑粒状神经细胞进行培养,发现赖氨酸、精氨酸和鸟氨酸三种碱性氨基酸修饰的膜表面能够促进神经细胞的存活、生长,形成神经网络,同时作者实验验证了赖氨酸在材料表面存在状态对神经细胞存活率的影响,认为基质表面碱性氨基酸的伯氨基侧链对神经细胞的生长是必需的,在神经细胞和表面基质的赖氨酸分子间可能存在着某种相互作用。

许多小肽具有一定的生理活性,精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)三肽中的氨基酸序列就在介导细胞黏附、生长和迁移方面起着重要作用,通过在材料表面涂敷固定 RGD 或含 RGD 的肽或蛋白是实现材料表面内皮化的重要途径,可以达到改善材料生物相容性的目的。赵强等^[25]将 RGD 耦合接枝到 PET 表面,研究表明,接枝的表面能促进内皮细胞的贴壁、黏附和生长。Yamauchi 等^[26]在羊毛角蛋白(keratins)的游离半胱氨酸残基端连结 Arg-Gly-Asp-Ser(RGDS)四肽,然后将改性的羊毛角蛋白涂敷在玻璃表面,发现鼠成纤维细胞在基质表面的黏附能力明显增强,认为 RGDS-keratins 是哺乳动物细胞生长的良好基质。

4 生物大分子

在材料表面固定生物活性分子是提高生物材料生物相容性最为有效的方法。临床上肝素广泛地用于治疗植入物引起的血栓,常将肝素分子固定在材料表面(即肝素化)以提高材料的抗凝血性。研究认为,肝素分子在材料表面的微观形态也会影响其抗凝血功能,孙永红等^[27]在聚氨酯表面先接枝 PEG 构建“间隔臂”,再接枝肝素,发现血小板黏附数量和变形程度都明显低于直接接枝肝素的聚氨酯表面。但由于天然肝素的分子量不均匀性以及会引起诸如出血、血小板减少、骨质疏松及高血钾等症,低分子量肝素在临床上获得了一定的应用。然而,低分子量肝素在某些病例的应用中却诱发了皮肤坏死等症状^[28]。近年来研究发现,肝素的结构类似物如壳聚糖硫酸酯、软骨素-6-硫酸酯等多糖硫酸酯显示出比肝素更好

的抗凝血性能^[29,30],这些多糖衍生物已用于改善高分子材料的生物相容性。

目前的研究认为,白蛋白为凝血抑制蛋白,通过在高分子材料表面涂敷/固定白蛋白或构建能选择性地吸附白蛋白的材料表面^[8,9],能有效降低血小板黏附,阻止血栓形成。

结束语

综上所述,众多的表面化学成分中,使改性材料呈现较好生物相容性的主要是与人体环境能够天然相容的生物活性分子如脂类、氨基酸和多糖等。由于凝血途径的复杂性,以及目前对血栓形成和抗凝血机理尚不十分清楚,要想通过在材料表面构建适当的化学成分改性高分子材料的生物相容性,还需进一步研究:(1)生物活性分子、血小板及白细胞等在抗凝血机制中所起的作用;(2)人体组织细胞赖以生存、生长的生物化学环境以及环境中的化学成分对细胞黏附、生长的影响;(3)血液成分与细胞在分子水平上与高分子材料表面化学成分的相互作用。

在此基础上,找到理想的生物功能性分子,再从分子水平对材料进行设计、改性(即仿生设计、改性),方能获得性能更为优异的生物相容性高分子材料。

参考文献:

- [1] 俞耀庭主编. 生物医用材料. 天津: 天津大学出版社, 2000, 224.
- [2] Gupta B, Plummer C, Bisson I, et al. *Biomaterials*, 2002, 23: 863.
- [3] Vasilets V N, Hemel G, Konig U, et al. *Biomaterials*, 1997, 18: 1139.
- [4] Hamerli P, Weigel Th, Groth Th, et al. *Biomaterials*, 2003, 24: 3989.
- [5] Meyer-Plath A A, Schroder K, Finke B, et al. *Vacuum*, 2003, 71: 391.
- [6] 顾进伟, 杨新林, 王俐勇, 等. 高技术通讯, 2001, 8: 7.
- [7] 陈宝林, 计剑, 季任天, 等. 高分子学报, 1999, 4: 449.
- [8] 计剑, 封麟先, 沈家骢. 高等学校化学学报, 2002, 23(12): 2369.
- [9] Ji J, Feng L X, Barbosa M A. *Biomaterials*, 2001, 22: 3015.
- [10] Gorbet M B, Sefton M V. *Biomaterials*, 2004, 25: 5681.
- [11] Chen Y J, Kang E T, Neoh K G, et al. *Synth Met*, 2000, 110: 47.
- [12] Ishihara K, Iwasaki Y, Elihara S, et al. *Colloid Surf B*, 2000, 18: 325.
- [13] Ogawa R, Watanabe J, Ishihara K. *Sci Technol Adv Mater*, 2003, 4: 523.
- [14] Watanabe J, Ishihara K. *Sci Technol Adv Mater*, 2003, 4: 539.
- [15] Ishihara K, Nishiuchi D, Watanabe J, et al. *Biomaterials*, 2004, 25: 1115.
- [16] Yamasaki A, Imamura Y, Kunita K, et al. *Colloid Surf B*, 2003, 28: 53.
- [17] Iwasaki Y, Yamasaki A, Ishihara K. *Biomaterials*, 2003, 24: 3599.
- [18] 艾飞, 袁幼菱, 吴一多, 等. 高分子学报, 2002, 4: 535.
- [19] 周静, 沈健, 林思聪. 高等学校化学学报, 2002, 23(12): 2393.
- [20] 袁江, 沈健, 林思聪. 应用化学, 2003, 20(3): 269.
- [21] Duan X B, Lewis R S. *Biomaterials*, 2002, 23: 1197.
- [22] McClung W G, Clapper D L, Hu S P, et al. *Biomaterials*, 2001, 22: 1919.
- [23] Fang H, Wei J, Yu Y T. *Biomaterials*, 2004, 25: 5433.
- [24] Young T H, Hu W W. *Biomaterials*, 2003, 24: 1477.
- [25] 赵强, 万昌秀, 刘建伟, 等. 生物医学工程学杂志, 2003, 20(3): 384.
- [26] Yamauchi K, Hojo H, Yamamoto Y, et al. *Mater Sci Eng C*, 2003, 23: 467.
- [27] 孙永红, 邱永兴, 郑筱祥, 等. 中国生物医学工程学报, 2002, 21(2): 118.
- [28] Ang K L, Bose A, Halil O, et al. *Int J Cardiol*, 2003, 19: 239.
- [29] Vongchan P, Sajomsang W, Subyen D, et al. *Carbohydr Res*, 2002, 337: 1233.
- [30] Keuren F W, Wielders J H, Willems G M, et al. *Biomaterials*, 2003, 24: 1917.

此外,在教学过程中教师还要不断提高自身素质。如今很多学校重新提出“让教授上讲台”的教学策略,其出发点就是以科研促进教学,增加课堂教学的广度和深度,达到在课堂上可以信手拈来,游刃有余的效果,这也是年轻教师不断努力的方向。

致谢: 作者在高分子物理授课以及作此总结过程中,得到所在高分子物理教学小组宁平副教授、童真教授等的指导与帮助,在此向他们表示衷心感谢!

参考文献:

- [1] 萧聪明. 高分子通报,2004, 2: 106.
- [2] 王香梅,张丽华. 华北工学院学报(社科版),2003,19(1): 42.
- [3] 翟震,郗向丽,李海梅,刘保臣. 河南教育学院学报(自然科学版),2002,11(1): 15.
- [4] 胡文兵. 高分子通报,1998, 2: 93.
- [5] 何平笙. 高分子通报,1997, 1: 59.
- [6] 朱平平,杨海洋,何平笙. 高分子通报,2004, 5: 93.
- [7] 何平笙. 高分子通报,2000, 9: 89.

The Experience of First Teaching about Polymer Physics

XUE Feng

(College of Materials Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: As a young teacher who taught polymer physics first time, summarized how to give a good class through attending a class, preparing for lessons, having class, doing after school. Only to do all these procedures well, and improve own qualities constantly, a eligible teacher would grow up gradually.

Key words: Polymer physics; Teaching; Experience

(上接第 45 页)

Surface Chemical Composition of Polymers and Biocompatibility

LIU Yun^{a,b}, CHEN Jie-long^b

(^a Department of Chemistry, School of Sciences, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China;

^b School of Energy & Power Engineering, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Abstract: Biocompatibility is the basic requirement for polymers used as medical device in clinic, and it's a crucial pathway changing surface chemical composition to improve the biocompatibility of polymers. In this paper, the latest developments on modification of biocompatible polymers by constructing surface chemical composition were reviewed, and an outlook on the research methods of biocompatible polymers was presented.

Key words: Polymer; Surface chemical composition; Biocompatibility