

天然—合成高分子生物杂化材料在生物医学领域中的应用

姚芳莲¹, 周玉涛¹, 陈 炜¹, 安晓燕¹, 孟继红¹, 姚康德²
(¹ 天津大学化工学院; ² 天津大学高分子材料研究所, 天津 30072)

摘要:综述了天然—合成高分子生物杂化材料在生物医学领域中的应用,并分析了它作为组织工程基质和药物载体的优点,指出生物杂化材料是生物医用材料的发展趋势。

关键词:天然高分子; 合成高分子; 杂化; 生物医学

前言

生物医用材料已经在人工脏器、药物控释体系、人造骨骼及各种软组织等方面得到广泛应用,并在不断拓宽应用领域,其中聚合物医用材料已成为主流,占体内植入物中的 70% 以上^[1]。目前研究的医用生物材料以可降解材料为最佳,主要分为三类:一类为可降解合成聚合物材料。这类材料与无机玻璃、多孔陶瓷相比不但可以支持细胞在生物体外的增殖^[2],引导组织在生物体内的增长^[3],传递生物活性分子^[4],而且由于合成聚合物的组成和结构,可以根据特殊的需要进行调整,因而具有设计上的灵活性^[5]。而其最大的缺点是缺乏细胞识别信号、不利于细胞特异性粘附及特异基因的激活。目前对这类材料的研究主要集中于材料的改性,以提高材料的生物相容性、减少材料降解后代代谢产物的副作用等方面。第二类材料主要集中于经过特殊处理的天然聚合物,如胶原蛋白、壳聚糖等,有良好的生物相容性,降解的产物可被人体吸收,免疫原性较低,且数量较多,获取方法也较为容易,因而引起了人们的兴趣。但天然聚合物也不是没有它的缺陷,机械强度低、稳定性差就是它的致命伤。目前研究方向主要集中于保持其良好的生物相容性的同时,进一步提高其理化性状^[6]。当今生物材料正由第二代的可吸收聚合物材料或天然活性物质向将两种特性综合的第三代生物材料发展,亦即使可吸收聚合物材料生物活性化,构筑细胞或/和基因活化生物材料^[7]。正如 Mooney^[8]在开发组织工程用生物相容性合成细胞外基质综述中指出的“将合成材料与天然衍生材料的细胞识别位点结合的概念极为诱人”,此类杂化(hybrid)材料可将合成材料的有利性质与天然衍生材料特异生物活性结合,可望将多种细胞按特异方式组构。

1 天然—合成高分子材料在生物医学中的应用

1.1 在组织工程中的应用

通常,在组织工程的应用中,聚合物支架要负载上生长因子,以促进组织在生物体内的再生,另一方面,把特殊的粘附因子,如粘连蛋白结合到支架上,可使聚合物表面能够促进对某种细胞的粘附,而排斥其它种类的细胞^[9~11],即支架对细胞进行有选择的粘附。例如,在骨损伤的治疗中,使支

基金项目:973G199954305;

作者简介:姚芳莲(1964—),女,博士,副教授。近年来的主要研究方向为可降解性材料的合成及改性。

e-mail:yaofanglian@eyou.com, **Tel:**022-27402893

架能够排除对骨愈合无用的细胞进入愈合点就是所面临的主要挑战^[11]。为了使生长因子和粘附因子能够结合到可降解聚合物上,就需要对聚合物进行表面改性,使之带上特殊的官能团,而像聚乳酸(PLLA)、聚乙醇酸(PGA)、聚己内酯(PCL),表面没有活性的官能团,这些聚合物进行表面改性很困难,因此可以考虑用它们与天然聚合物杂化的方法来达到上述目的,同时由于这些合成聚合物有良好的机械性能,又可以弥补天然聚合物强度不高、稳定性差的缺点。

1.1.1 壳聚糖与合成聚合物的杂化 壳聚糖是由甲壳素经脱乙酰化反应制备的,在体内溶菌酶、甲壳酶的作用下水解成低聚糖,降解过程中产生的低分子量壳聚糖或其寡聚糖在体内不积累,无免疫原性。而且壳聚糖分子中有许多氨基和羟基,容易进行化学修饰和改性^[12],将其与合成聚合物复合而成的杂化材料受到了广泛的关注^[13,14]。

作者研究组以壳聚糖、*O*-羧甲基壳聚糖及 *N*-烷基化壳聚糖修饰聚-*DL*-乳酸(PDLLA),明显地改善了其对鼠颅骨或骨细胞的粘附、增殖性能,预示将生物源的壳聚糖与生物降解聚乳酸复合的应用前景^[15~18]。

Wang 等^[19]以低毒性的二甲亚砜为溶剂制备出聚乙醇酸(PGA)与壳聚糖的混合溶液,然后用热诱导相分离的方法制备出了多孔的 PGA-壳聚糖杂化材料,并对所制备的分别含有 70%(Wt)和 30%(Wt)PGA 的两种杂化基质(分别称为 P/C-1 和 P/C-2)与纯壳聚糖进行了比较。成纤维细胞在三种基质上生长良好,且在 P/C-1 的密度高于 P/C-2 和壳聚糖(chitosan)(见图 1)。这充分说明 P/C-1 有相对较高的强度、孔隙率和良好的生物相容性。壳聚糖上的氨基官能团,为对该材料实施进一步的改性,如与生物分子结合,创造了条件。

1.1.2 胶原与合成聚合物的杂化 天然聚合物——胶原具有良好的亲水性且可以与特殊的细胞发生相互作用,但其机械强度甚低。但将胶原与一些合成聚合物复合就可制得性能优异的杂化材料^[20,23]。

最近就出现了一种由可降解聚合物与胶原杂化而成的多孔组织工程支架^[22,24]。Ide 等^[25]用 PLLA 纤维网浸入胶原质的酸性溶液中,冻干后再用戊二醛交联胶原的方法,制备了用于人体韧带修复的 PLLA 纤维网与胶原质的杂化支架。其断裂载荷高于人体韧带的平均值。由于 PLLA 的疏水性,在向 PLLA 纤维网中植入细胞时,需要把纤维网预先润湿,但 PLLA 纤维网与胶原质的杂化提高了它的亲水性,从而无须进行任何预湿处理,细胞就可轻松植入,大大提高了材料的实用性。无论是在体内还是在体外,在杂化支架中都观察到了比 PLLA 纤维网更多的细胞,而且细胞分布更为均一。由此可见,与胶原的杂化不仅促进了细胞的粘附,而且促进了细胞在空间上的均匀分布。研究表明,在韧带断裂后,体内会立即释放出细胞生长因子,但在 7~10d 后便不再释放了,因此,为了韧带能更好的生长,还需把促进细胞生长的生长因子引入杂化支架中来。杂化支架中的胶原质是天然高分子,有良好的生物相容性,为实现这一目的提供了可能。Chen 等^[26]以乳酸-乙醇酸共聚物(PLGA)编织网和胶原用相似的合成方法制备了 PLGA-胶原杂化编织

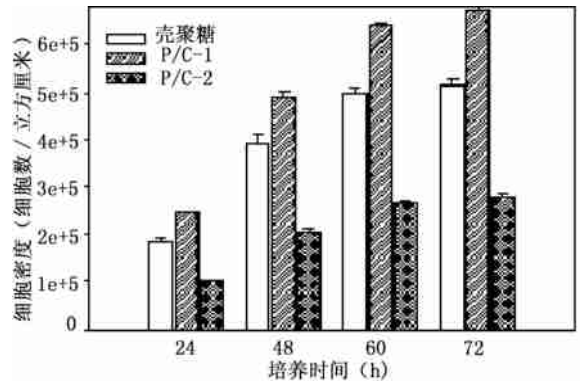


图 1 纤维原细胞在基质上的增生。细胞植入密度为 1.5×10^4 细胞数/ cm^2 , 在 DMEM 中培养
Figure 1 Proliferation of fibroblast cells on the matrices. Cells were seeded at a density of 1.5×10^4 cells/ cm^2 and cultured in DMEM supplemented with 10% FBS (n=3).

网。其特点为在合成聚合物网的间隙中形成了带有互相贯穿微孔的结构(见图 2)。杂化网的机械强度与合成聚合物网相当,远高于胶原海绵体,与细胞有着良好的相互作用。

在天然-合成高分子杂化材料的制备过程中,为了提高材料的整体机械性能,天然聚合物通常需经交联反应,如:聚甲基丙烯酸羟乙酯(PHEM)-明胶杂化材料的制备,就是通过先将明胶溶液浸透具有大孔洞、交联结构的冻干 PHEM 凝胶薄膜,然后再用戊二醛交联明胶相而成的带有互穿网络结构的生物杂化材料^[17]。正是这种化学交联导致了許多生物杂化材料的一大缺陷,这就是残存的催化剂、引发剂、未反应或部分反应的交联剂会引起毒性的问题。因而,Coombes 等^[27]采用了 PCL 的二氯甲烷溶液浸透冻干胶原质网垫,随后蒸出溶剂的方法,制备出了由未交联的胶原质和 PCL 组成的生物复合薄片材料。这种方法避免了由于化学交联而引起的毒性问题,同时保持了生物材料的优点。由合成聚合物对天然聚合物进行局部的包裹,可以起到稳定天然聚合物的作用,同时在蒸发溶剂的过程中把初始的冻干胶原质网垫压缩成薄片,也可以提高材料整体的机械性能。这种拥有连通孔洞结构的材料,孔洞尺寸一般为 50~100 μm ,比较适合与宿主的组织结合。而且胶原质暴露在材料表面,可以直接或间接的促进细胞对材料的粘附。在以前的报道中称,成骨细胞对 PCL 的识别能力很弱^[28],但在 PCL 与胶原复合后,细胞的粘附和分布特性会有明显的改善。通过改变胶原质与 PCL 的质量比,还可以调整材料的性能,也可以用其他可降解聚合物如聚乳酸,来代替 PCL,扩展材料的性能和应用。

1.1.3 细胞特异性多肽或蛋白质与合成聚合物的复合 用共价键把生物分子,如甘氨酸-精氨酸-天冬氨酸序(RGD)连接到生物材料表面就可以促进细胞对材料的粘附。但采用共价键结合生物分子需要注意两点:(1)聚合物表面要有能与生物分子结合的活性侧基;(2)反应条件不能破坏聚合物或是生物分子配体。Saem 等^[29]合成的聚乳酸-聚乙二醇-生物素(PLA-PEG-biotin)就可以在温和的水性条件下,用共价键在生物材料表面结合多种生物分子(见图 3),为任何生物素标记的肽链序列或配体提供可供结合的区域。在 PLA-PEG-biotin 分子中,柔性链段 PEG 的引入减小了空间位阻的影响,从而提高生物素的结合能力。PLA-PEG-biotin 的制备可采用溶液聚合或熔融聚合,聚合过程中生物素单元没有降解且活性(结合其他生物分子的能力)没有被破坏,材料的本性能取决于共聚物的分子量及 PLA 与 PEG 之间的比率,并没有受到生物素末端官能团的影响。

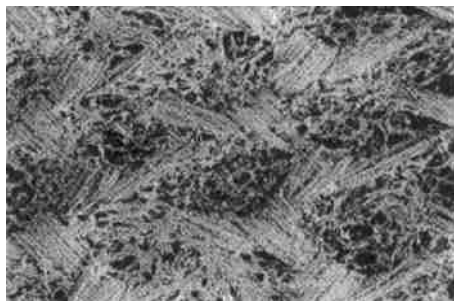


图 2 成纤维细胞植入一天后的 PLGA-胶原杂化网的扫描电镜

Figure 2 SEM photomicrographs of human fibroblasts cultured in PLGA-collagen hybrid mesh for one day

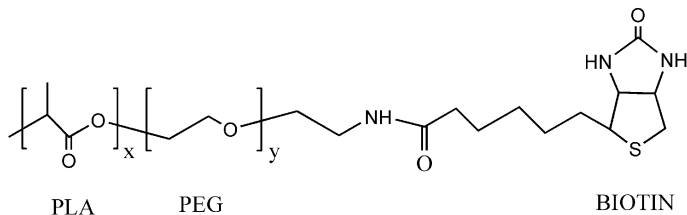


图 3 PLA-PEG-biotin 的分子结构

Figure 3 Structure of PLA-PEG-biotin

识别的位点。据此, Hubbel 等将 REDV 修饰到 PHEMA 骨架上, 并在其上培养 NIH/3T3 成纤维细胞^[30]。

1.2 作为药物载体的应用

1.2.1 两亲性嵌段共聚物 两亲性嵌段共聚物在水性环境下会自组装形成胶束, 可用于药物载体。Jeong 等^[31]把反义寡核苷酸(antisense ODN)结合到 PLGA 上制成两亲性嵌段共聚物, 其在水相中可形成胶束。ODN 和 PLGA 分别组成了胶束的亲水壳和疏水核, 胶束的直径大约为 65.2 nm。此胶束作为反义寡核苷酸控释的载体, 可以通过内吞作用被细胞所吸收。通过控制 PLGA 的降解速度, 可以达到持续释放 ODN 的效果。

两亲性树枝状嵌段共聚物是把低分子量表面活性剂的特性结合到高分子量两亲性嵌段共聚物上而得到。它可以在水性溶液中形成聚集体, 就像是嵌段共聚物的自组装, 通过改变树枝嵌段的大小可控制聚集体的形态。Harm-Anton Klok 等^[32]合成了一系列新型两亲性树枝状嵌段共聚物, 并将其用于组织工程和促进细胞生长的临时分子构架。这种分子的主体为连有胆甾醇基的聚合度为 20 的 *L*-乳酸低聚物, 末端为 *L*-赖氨酸(见图 4)。*L*-赖氨酸的引入, 阻止了分子的长程有序, 使其更易形成纳米结构。胆甾醇基可以形成液晶相, 这为分子的自组装提供了驱动力。胆甾醇基与细胞膜有良好的热力学亲和性, 而带正电荷的 *L*-赖氨酸单元又可以与细胞外基质中的带负电荷的蛋白质聚糖以及细胞膜中的带负电荷的磷脂发生相互作用, 从而促进细胞对整个分子的粘附。

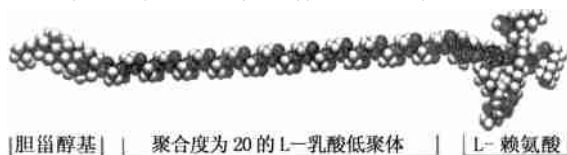


图 4 胆甾醇基-(*L*-乳酸)₂₀-*L*-赖氨酸分子结构的图形表示

Figure 4 Molecular graphics representation of a cholesteryl-(*L*-lactic acid)₂₀-(*L*-lysine)₆₃ molecule

1.2.2 壳聚糖基树枝状高分子杂化体 高支化度聚合物(dendrimer)上有多功能结合点, 是实现分子设计的一种重要方法。其特殊的结构和性能能够非常有效地控制药物的传递与释放^[33]。聚酰胺-胺(PAMAM)树枝状大分子是一类由中心向外对称发散而高度支化的新型纳米大分子化合物, 通过反复的 Michael 加成和酰胺化反应可得到不同代数(0—10代)的树状大分子。其大小随代数增加而增加, 范围为 1~10 nm^[34], 结构见图 5。其内部具有空腔, 可以包裹药物分子, 末端基团通过修饰可连接基因和抗体等生物活性物质, 致密的末端基团允许每个树枝状高分子结合更多的活性物质。与目前的脂质体药物载体相比, 树枝状高分子具有稳定、无免疫原性、在使用剂量下不存在毒性、对生物活性剂的转运效率高等优点, 已成为生物医学领域的研究热点之一^[35]。

甲壳素和壳聚糖可以作药物的辅料, 它们不但可以像淀粉一样直接作为稀释剂、压制片剂, 而且更广泛地用作缓释剂的辅料, 如制成缓释颗粒、片剂、薄膜剂、微囊剂等; 经研究发现, 壳聚糖还具有直接抑制癌细胞的作用, 可研制抗癌药物; 此外, 甲壳素聚精及其衍生物还可以制人工肝的吸附解毒剂、酶固定化载体、免疫吸附剂等。

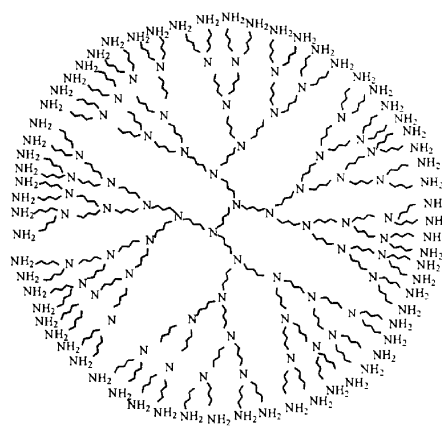


图 5 树形分子结构图

Figure 5 Diagram of the molecular structure of the dendrimer

Hitoshi Sashiwa 等^[36,37]制备了高取代度的壳聚糖-唾液酸树枝状高分子杂化体。他们以 PAMAM 为核,将壳聚糖酰胺化为 *N*-羟基乙基壳聚糖甲基酯。在提高树枝状高分子的代数(*generation*)时,壳聚糖骨架上的取代度会从 0.53 下降到 0.11。他们又进一步把预先乙酰化的 *p*-甲酰基苯基 α -sialode 结合到树枝状高分子-壳聚糖杂化体的伯胺末端基上,再对官能团进行水解保护和壳聚糖 *N*-丁二酰化后,就可得到水溶性壳聚糖-唾液酸树枝状高分子杂化体。它在结构上的优势是普通唾液酸聚合物无法比拟的。

2 结束语

随着材料科学和生命科学的不断发展和相互渗透,聚合物生物材料在医学领域的应用越来越广泛,其生物相容性是人们普遍关心和重视的基本问题。在医用生物材料结构设计中,除考虑材料的化学结构对材料性能的影响外,还必须重视其微观的形貌结构对生物相容性的影响(结构相容性)。只有兼顾材料的表面相容性和结构相容性,才能真正设计得到具有良好生物相容性的医用生物材料,而生物杂化材料在这方面的表现是相当突出的,必将成为医用生物材料发展的主要趋势。

参考文献:

- [1] Buddy D R. Trends in Polymer Science, 1994, 2, 402~415.
- [2] Thomason R C, Wake M C, Yaszemski M J, et al. Adv Polym Sci, 1995, 122, 245~74.
- [3] Thomason R C, Yaszemski M J, et al. J Biomater Sci Polym Ed, 1995, 7, 23~38.
- [4] Yaszemski M, Payne R, Hayes R, et al. Tissue Engng, 1995, 1, 41~52.
- [5] Nielsen F F, Karring T, Gogolewski S. Acta Orthop Scandinavica, 1992, 63, 66~69.
- [6] 曹谊林, 崔磊, 商庆新, 刘伟. 中国医疗器械信息, 2002, 8, 11~14.
- [7] Larry L H, Julia M P. Science, 2002, 295, 1014~1017.
- [8] Kim B S, Mooney D J. Trends in Biotech, 1998, 224~226.
- [9] Myles J L, Burgess B T, Dickinson R B. J Biomater Sci Polym Ed, 2000, 11, 69~86.
- [10] Lestini B J, Sagnella S M, Xu Z, et al. J Control Rel, 2002, 78, 235~247.
- [11] Bures P, Huang Y, Oral E, Peppas N A. J Control Rel, 2002, 72, 25~33.
- [12] Massia S P, Stark J. J Biomed Mater Res, 2002, 56, 390~399.
- [13] 郑磊, 王前, 裴国献. 中国修复重整外科杂志, 2000, 14, 175~180.
- [14] Zhao F, Yin Y J, William W L, et al. Biomaterials, 2002, 23, 3227~3234.
- [15] Liu W G, Yao K D. J Controlled Release, 2002, 83, 1~11.
- [16] Cai K Y, Yao K D, Cui Y L, et al. J Biomed Mater Res, 2002, 60, 398~404.
- [17] Cai K Y, Yao K D, Li Z, et al. J Biomater Sci, Polym Ed, 2001, 12, 1303~1315.
- [18] Cai K Y, Liu W G, Yao K D. J Biomater Sci, Polym Ed, 2002, 13, 1353~1366.
- [19] Wang Y C, Lin C M, Wang D M, Hsieh H J. Biomaterial, 2003, 24, 1047~1057.
- [20] Hirota M, Ando N, Ozawa S, et al. ASAIO J, 1999, 5, 525~536.
- [21] Chen G, Ushida T, Tetsuya T. Chem Lett, 1999, 561~568.
- [22] Chen G, Ushida T, Tetsuya T. Adv Mater, 2000, 12, 455~457.
- [23] Chen G, Ushida T, Tetsuya T. J Biomed Mater Res, 2000, 51, 273.
- [24] Chen G, Ushida T, Tateishi T. J Chem Soc, Chem Commun, 2000, 16, 1505~1506.
- [25] Ide A, Sakane M, Chen G, et al. Material Science and Engineering C, 2001, 17, 95~99.
- [26] Chen G, Ushida T, Tateishi T. Macromol Biosci, 2002, 2, 67~77.
- [27] Coombes A G A, Verderio E, Shaw B, et al. Biomaterials, 2002, 23, 2113~2118.
- [28] Verderio E, Coombes A, Jones R A, Li X L. J Biomed Mater Res, 2001, 54, 294~304.
- [29] Salem A K, Cannizzaro S M, Davies M C, et al. Biomacromolecules, 2001, 2, 575~580.

- [30] Hubbell J, Massia S, Desai P N. *USP* 5, 330, 911, 1994, 7, 19.
- [31] Jeong J H, Park T G. *Bioconjugate Chem*, 2001, 12, 917~923.
- [32] Klok H A, Hwang J J. *Macromolecules*, 2002, 35, 6101~6111.
- [33] 王俊, 杨锦宗. *日用化学工业*. 2002, 32, 35~37.
- [34] Tomalia D A, Naylor A M, Godard W A. *Angew Chem Int Ed Engl*, 1990, 29, 138~175.
- [35] Malik Y, Wiwattanapatapee R, Klopsch R, et al. *J Controlled Release*, 2000, 65, 133~148.
- [36] Hitoshi Sashiwa, Yoshihiro Shigemasa, Rene Roy. *Macromolecules*, 2001, 34, 3211~3214.
- [37] Hitoshi Sashiwa, Yoshihiro Shigemasa, Rene Roy. *Macromolecules*, 2001, 34, 3905~3909.

The Application of the Natural-Synthetic Polymeric Biological Hybrid Material in the Biomedical Field

YAO Fang-lian¹, ZHOU Yu-tao¹, CHEN Wei¹, AN Xiao-yan¹, MENG Ji-hong¹, YAO Kang-de²

(¹ School of Chemical Technology and Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

² Research Institute of Polymeric Materials, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: This paper reviewed the application of the natural-synthetic polymeric biological hybrid material in the biomedical field, its unique properties as the matrix of the tissue engineering and the medicament carrier were analyzed, and pointed out that biological hybrid material is the tendency of the development of the biomedical material.

Key words: Natural polymer; Synthetic polymer; Hybrid; Biomedical

(上接7页)

Mechanistic Roles of Nucleophiles in the Carbocationic Polymerization of Isobutylene

ZHU Han WU Yi-xian* XU Xu WU Guan-ying

(Beijing University of Chemical Technology, Key Laboratory of Science and Technology of Controllable Chemical Reactions, Ministry of Education, Beijing 100029, China)

Abstract: The mechanistic roles of nucleophiles in living carbocationic polymerization of isobutylene were reviewed. There are 4 mechanisms; A. The “carbocation stabilization”—nucleophiles and/or their complexes with Lewis acid interact with the growing chain end to reduce its “cationicity” and the reduction in cationicity to decrease the polymerization rate, suppress chain transfer and termination reactions; B. The “proton-scavenging”—the removal of protic impurities by externally added nucleophiles and the elimination of “induced” chain transfer; C. The “apparent stabilization of the growing chain ends”—the reduction in the instantaneous carbocation concentration; D. The “suppression of free ions”—the common ions in situ production via the scavenging of protic impurities.

Key words: Cationic polymerization; Nucleophiles; Living polymerization; Isobutylene