

# 聚氨酯表面接枝聚甲基丙烯酸羟乙酯的研制

王琴梅, 潘仕荣

(中山医科大学附属第一医院人工心研究室, 广东 广州 510080)

**摘要:** 【目的】用 2,4-甲苯二异氰酸酯(TDI)作偶联剂在聚氨酯(PU)片表面引入聚甲基丙烯酸羟乙酯(PHEMA), 以得到一种具有良好的机械性能和优良的血液相容性的高分子材料。【方法】先用 TDI 活化 PU 表面, 生成 PU-NCO 衍生物, 然后 PHEMA 中的 -OH 再和 PU-NCO 上的 -NCO 起反应生成 PU-PHEMA。用拉力机测定材料的抗张强度, 并进行血小板粘附实验。【结果】与 PU 相比, 在 PU 表面接枝 PHEMA 后, 材料的抗张强度基本不变, 粘附的血小板数量减少, 变形也小。【结论】PU-PHEMA 是一种具有良好的机械性能和优良的血液相容性的高分子材料。

**关键词:** 聚甲基丙烯酸类; 血小板粘附; 血液相容性材料

**中图分类号:** R318.08      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-257X(2001)01-0025-03

## Immobilization of Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) onto Polyetherurethane Surface

WANG Qin-mei, PAN Shi-rong

(Artificial Heart Laboratory, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China)

**Abstract:** 【Objective】 Immobilizing Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) onto Polyetherurethane surface by diisocyanate (TDI) to obtain an better mechanical properties and blood compatible polymer material. 【Methods】 The surface of PU was reacted with TDI to introduce reactive isocyanate group (-NCO), then PHEMA was coupled onto the surface of PU by reaction of -OH groups in PHEMA with -NCO on PU surface. Finally, tensile strength of polymer materials was determined, and their hemocompatibility was evaluated by platelet adhesion experiment. 【Results】 The tensile strength of PU-PHEMA was almost the same as PU, the number of adhered platelets and their deformation was less than that of PU. 【Conclusion】 PU-PHEMA showed good mechanical properties and blood compatibility.

**Key words:** polymethacrylic acid; platelet adhesiveness; biocompatible materials

聚甲基丙烯酸羟乙酯(PHEMA)有弹性和强度,能透过水蒸汽和代谢物,可防止细菌引起的感染。它的物理性质和人体组织相似,有优异的组织相容性,能吸收大量水分(质量的 20%~95%)。它做为一种重要的生物医用材料大量应用。聚甲基丙烯酸羟乙酯的主要缺陷是膨胀后机械性能不佳,为了改善它的不足,可以把它共价接枝在另一种机械性能良好的材料表面,得到一种兼具两种材料优点的新材料。嵌段聚氨酯(PU)具有优异的机

械强度和耐屈挠性,较好的生物相容性和血液相容性,广泛应用于各种与血液接触的装置上,但在使用过程中出现钙化、感染和内在血栓形成而限制了它的应用范围。我们通过异氰酸酯法在聚氨酯片表面引入 PHEMA,以期得到一种具有良好的机械性能和优良的血液相容性的高分子材料。

### 1 材料和方法

收稿日期: 1999-11-25

基金项目: 中山医科大学基金资助项目(1996年)

作者简介: 王琴梅(1971-),女,湖北荆门人,在职博士生,助理研究员。

### 1.1 主要原料试剂

嵌段聚醚型聚氨酯 Pallethane 2263(PU), 美国 Uppjohn 公司, PU 用丙酮萃取 1 d, 然后在 40 °C 真空烘箱中干燥 48 h; 甲基丙烯酸羟乙酯(HEMA), 美国 Sigma 公司, 在氮气下减压蒸馏; 2, 4-甲苯二异氰酸酯(TDI)分析纯, 上海试剂一厂, 氮气下减压蒸馏; 二椰子油酸二丁基锡, 工业纯, 北京化工三厂; 偶氮二异丁氰(AIBN), 分析纯, 广州化学试剂厂, 丙酮重结晶后真空烘箱中干燥。半胱氨酸(AESH), 瑞典 Fluka 公司。

### 1.2 PHEMA 的合成

根据文献[1]的方法合成 PHEMA 并测其相对分子质量。100 g/L 的 PU/(西氢咪喃、二氧六环)溶液使用浇注法制成 PU 样片, 厚约 0.3 mm, 脱模后置 40 °C 的真空烘箱中干燥 48 h。PU 片在 40 g/L TDI(苯作溶剂), 1 g/L 二椰子油酸二丁基锡溶液中室温振荡反应 3 d。而后用苯洗 3 次, 40 °C 真空干燥 24 h, 得到 PU-NCO 衍生物。同时测定 PU 表面-NCO 的浓度。PU-NCO 片在 50 g/L 的 PHEMA/甲酰胺, 1 g/L 二椰子油酸二丁基锡溶液中室温振荡反应 3 d。取出用丙酮洗、大量蒸馏水冲洗, 真空烘箱中 40 °C 干燥, 即得 PU-PHEMA。称重法测定接枝 PHEMA 的程度。

### 1.3 抗张强度的测定

25 °C, 拉伸速度为 300 mm/min 时, 用 XL-100A 型拉力机测 PU-PHEMA 和 PU 各样片断裂时的拉力。

### 1.4 血小板粘附实验

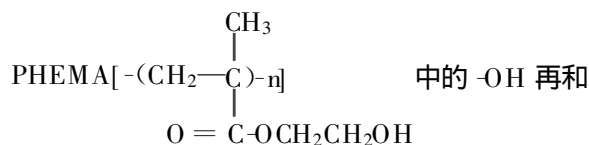
血小板粘附实验参照文献[2]进行。用甲基硅油处理的注射器取 1/10 体积的 38 g/L 枸橼酸钠溶液, 从健壮新西兰雄兔心脏穿刺取血, 800 r/min 离心 20 min(半径为 159 mm), 得富血小板血浆(PRP)。取 0.5 mL PRP 备用, 计算血小板数。剩余 PRP 再以 3 000 r/min 离心 20 min, 得贫血小板

血浆(PPP)。滤膜孔径为 0.45 μm 的滤器过滤 PPP 得无血小板血浆(PFP)。用 PFP 和 PRP 配制成 2 000/μL 浓度的稀释血小板血浆。将试片贴在自制有盖平底有机玻璃管里, 每个样品管加约 1 mL 稀释血小板血浆, 小心旋上盖, 确保管里无气泡。样品同时以 3 500 r/min 离心 1 min, 迅速颠倒样品管, 再以 3 500 r/min 离心 1 min, 以除掉非真正粘附在样品表面的血小板。倒出稀释血小板血浆, 台氏缓冲液漂洗 3 次。注意试片与稀释血小板血浆接触时间不得超过 5 min。取出试样, 常规方法固定, 脱水, 临界点干燥, 镀金, 最后在 HITACHI-450 扫描电镜(SEM)上观察粘附的血小板个数和形态。

## 2 结果

### 2.1 接枝程度

嵌段聚醚型聚氨酯 Pallethane 2263 的硬段内含有-(O-CO-NH-)基团, 这些基团里的-NH-可和 TDI 中的-NCO 基团起反应, 生成带有-NCO 基团的衍生物 PU-NCO。化学滴定法分析 PU 表面的-NCO 的浓度是  $(21.9 \pm 1.8) \text{ mmol/m}^2$ 。



PU-NCO 上的-NCO 起反应生成 PU-PHEMA。

合成了  $M_n$  分别为 4 000, 8 000, 12 000 的 PHEMA。表 1 表明了不同相对分子质量的 PHEMA 对接枝量的影响。接枝率的定义为:

$$\%(\text{接枝}) = \frac{W_1 - W_0}{W_0} \times 100\%$$

这里,  $W_0$  是初始膜的质量,  $W_1$  是接枝聚合物的质量。

表 1 改性 PU 的 PHEMA 表面接枝程度及性质

Table 1 Surface grafting degree of PHEMA and properties of PU

Materials	$M_n$ of PHEMA	Grafting degree (%)	Tensile strength(MPa)	Adhered platelet number( $10^8/\text{m}^2$ )	Decreased amount <sup>1)</sup>
PU	—	—	49.4±1.5	335±38	1
PU-PHEMA1	4 000	7.50±0.13	48.3±1.2	251±16	0.71
PU-PHEMA2	8 000	6.91±0.21	48.6±1.1	269±13	0.76
PU-PHEMA3	12 000	5.84±0.17	48.8±1.2	293±21	0.82

1) Decreased amount is the ratio of adhered platelet number on PU-PHEMA surface and that on PU surface

由表1可以看出随着 PHEMA 分子质量的增加, PHEMA 在 PU 表面的接枝率逐渐降低。

## 2.2 材料的抗张强度

拉力机上测得 PU-PHEMA 和 PU 各样片被扯断时的抗张强度见表1第3行。接枝前 PU 的抗张强度为 49.4 MPa, 接枝后 PU 的抗张强度随 PHEMA 相对分子质量的不同而在 48.0 ~ 50.0 MPa 之间稍有变化, 接枝前后 PU 的抗张强度基本不变。

## 2.3 PU-PHEMA 接枝共聚物的血液相容性

一般被研究的血液相容性的主要参数是血小板对外部材料的反应。许多研究者都研究血小板激活参数的变化, 比如, 计算直接或间接沉积在材料表面的血小板数量<sup>[4]</sup>, 观察血小板形态变化等<sup>3,4]</sup>。笔者进行了血小板粘附实验, 用扫描电镜观察粘附在材料表面血小板形态及个数来分析材料的血液相容性。通常材料表面粘附的血小板数量越多, 变形越严重, 材料的血液相容性越差。

扫描电镜图可见, 各接枝表面粘附的血小板数都比 PU 少, 而且血小板的变形也较轻, PU 表面粘附的血小板都伸出了伪足。

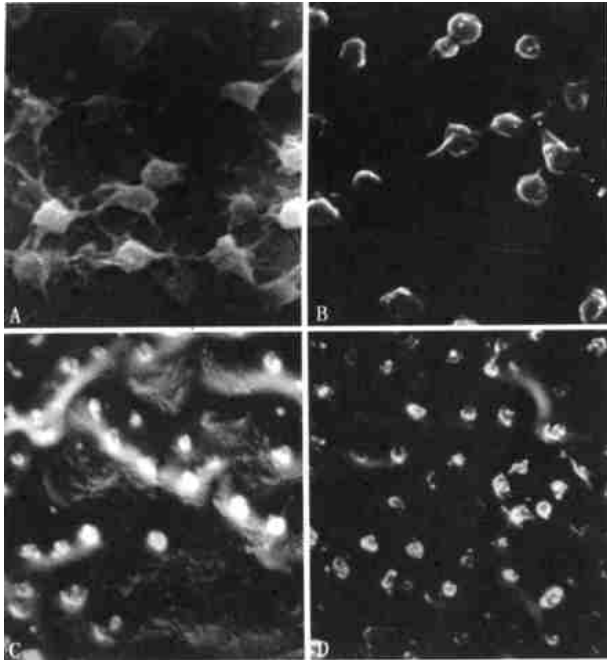


图1 不同材料表面粘附的血小板扫描电镜图

Fig. 1 SEM photographs of adhered platelet for different materials surfaces

A: PU( $\times 5\ 000$ ), B: PU-PHEMA1( $\times 5\ 000$ ), C: PU-PHEMA2( $\times 3\ 000$ ) D: PU-PHEMA3( $\times 3\ 000$ )

片上血小板个数并取平均值, 即得试片上粘附的血小板个数, 结果见表1第4、5列。表1可见接枝了 PHEMA 的 PU 表面粘附的血小板个数明显比纯的 PU 少; 随着 PHEMA 相对分子质量的增加, PHEMA 在 PU 表面的接枝率逐渐降低, 材料表面粘附的血小板数逐渐增加。这说明 PU-PHEMA 血液相容性比 PU 好; 在选定的分子质量范围内, 接枝率越大, 血液相容性越好。

## 3 讨论

### 3.1 PHEMA 相对分子质量对接枝量的影响

PHEMA 的相对分子质量为 4 000, 8 000 和 12 000 时, 接枝率分别是 7.50%, 6.91%, 5.84%。PHEMA 相对分子质量增加, PHEMA 在 PU 表面的接枝率降低, 可能的原因如下。PHEMA 分子质量增加, 分子间的范德华力、分子间和分子内的氢键力越来越大, 它在甲酰胺中的溶解度逐渐降低。当分子质量增加到一定程度时, 它不能再溶解在该溶剂中。因此, 分子质量不同的 PHEMA 在甲酰胺中的抗张程度不一样。分子质量小的 PHEMA 完全舒展开来, 分子链上的每一个-OH 都暴露在外面, 它们都有跟 PU 表面的-NCO 基团反应的机会。分子质量大的 PHEMA, 由于分子间的相互作用力很大, 它们有可能互相缠绕在一起成线团状, 链上的大多数-OH 都被包埋在线团中。这样, 只有暴露在线团外面的-OH 才有机会和-NCO 反应。PHEMA 分子质量增大, 但有机会参与反应的-OH 数可能少, 故随着 PHEMA 分子质量增加, 接枝率反而降低。

### 3.2 接枝对 PU 抗张强度的影响

接枝前后 PU 的抗张强度基本不变是由于接枝反应仅限于表面反应, 且接枝程度较低(最大的接枝率为 7.8%), PU 的骨架没有改变, 其抗张强度也基本不会改变。这正是实验希望达到的目的, 即改性既不影响原材料本身的物理机械性能, 同时又得到所需要的表面性质。

### 3.3 接枝对材料的血液相容性的影响

接枝了 PHEMA 后, PU 表面的血液相容性变好。这是因为 PU 具有微相分离结构, 血液相容性较好, 但表面亲水性较差。接枝 PHEMA 后, 由于 PHEMA 上有许多亲水性的-OH, 能吸收大量水分, 改性 PU 表面亲水性大大增加。在一定的范围内,

随意取试片的 6 处视野拍成照片, 计算每张照

接枝率越大,亲水性增加越多,材料表面的亲-疏水结构可能更类似生物体的高级结构(由亲水性区域和疏水性区域形成的微观结构)。

一般认为,含水量高的聚合物与蛋白质或细胞的作用小。由于材料表面与血液接触,首先是发生血浆蛋白的吸附,然后引起血小板和白血球等细胞水平的反应,最终才可能导致血栓的形成。与蛋白质或细胞作用小的聚合物与血液接触时造成血栓的可能性当然也小。并且亲水性材料与血液接触时,表面优先吸附白蛋白,而白蛋白的吸附可以减少血小板的进一步粘附,对抗凝血性的提高是有利的。因此 PU-PHEMA 的血液相容性比 PU 好,并且在试验的分子质量范围内, PHEMA 接枝率越大 PU 表面血液相容性越好。

本实验用 TDI 作偶联剂在 PU 表面接枝 PHEMA 后,材料的抗张强度基本不变,其表面粘附的血小板个数比 PU 少,所粘附的血小板变形也比

PU 轻。PU-PHEMA 是一种具有良好的机械性能和血液相容性的材料。

#### 参考文献:

- [ 1 ] 潘仕荣,周 群. 共聚物表面亲疏水微相分离与抗凝血性[ J ]. 生物医学工程学杂志, 1989, 6(3): 201.
- [ 2 ] 潘仕荣,周 群,许教文,等. 医用高分子材料表面血浆蛋白吸附对血小板粘附的影响[ J ]. 中山医科大学学报, 1989, 10(2): 4.
- [ 3 ] Engbers G H M, Dost L, Hennink W E, *et al*. An in vitro study of the adhesion of blood platelets onto vascular catheters. Part II[ J ]. J Biomed Mater Res 1987, 21(5): 613.
- [ 4 ] Park K, Mao F W, Park H. Morphological characterization of surface-induced platelet activation[ J ]. Biomaterials 1990, 11(1): 24.

(编辑 黄小延)

(上接第 24 页)

造血干细胞宫内移植的途径,在人主要通过胎儿脐静脉或胎儿腹腔内注射两条途径,本研究通过胎鼠腹腔途径移植成功。Blaza BR 等<sup>[ 8, 9 ]</sup>的实验表明:经腹腔注射较脐静脉注射易种植成功,推测宿主腹腔的间皮细胞提供支架基质作用,使腹腔如同一个造血干细胞库,它不断地把造血干细胞甚至造血干细胞已分化的细胞输送到血循环。本研究通过胎鼠腹腔途径移植成功率 64%,且有一定的手术并发症,可否通过胚胎更早期的结构(例如胚外体腔及卵黄囊等结构)进行宫内移植,使成功率提高,并减少并发症的发生,有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Broxmeyer H E, Kurtzberg J, Gluckman E, *et al*. Umbilical cord blood hematopoietic stem and repopulating cells in human clinical transplantation[ J ]. Blood Cells, 1991, 17(2): 313.
- [ 2 ] Shields L E, Bryant E M, Easterling T R, *et al*. Fetal liver cell transplantation for the creation of lymphohematopoietic chimerism in fetal baboons[ J ]. Am J Obstet Gynecol, 1995, 173(4): 1157.

- [ 3 ] Touraine J L, Raudrant D, Royo C, *et al*. In utero transplantation of hemopoietic stem cells in humans[ J ]. Transplant Proc, 1991, 23(1): 1706.
- [ 4 ] Yuh D D, Gandy K L, Hoyt G, *et al*. A rodent model of in utero chimeric tolerance induction[ J ]. J Heart Lung Transplant, 1997, 16(2): 222.
- [ 5 ] Clare T H. Umbilical cords: turning garbage into clinical gold science[ J ]. Science, 1995, 268(5): 805.
- [ 6 ] Amos T, Gordon M Y. Sources of human hematopoietic stem cells for transplantation—a review[ J ]. Cell transplantation, 1995, 4(6): 547.
- [ 7 ] 陆道培. 造血干细胞移植的现状与展望[ J ]. 实验血液学杂志, 1996, 4(4): 337.
- [ 8 ] Blazar B R, Taylor P A, Vallera D A, *et al*. Adult bone marrow derived pluripotent hematopoietic stem cells are engraftable when transferred in utero into moderately anemic fetal recipients[ J ]. Blood, 1995, 85(3): 833.
- [ 9 ] Blazar B R, Taylor P A, Vallera D A, *et al*. In utero transfer of adult bone marrow cells into recipients with severe combined immunodeficiency disorder yields lymphoid progeny with T- and B-cell functional capabilities[ J ]. Blood, 1995, 86(11): 4353.

(编辑 关淡庄)