

胆固醇改性聚硅氧烷的合成和血液相容性*

王晓丽 计剑 徐建平 沈家骢

(浙江大学)

摘要 合成了胆固醇基团直接键合和通过长链烷基柔性链键合的胆固醇-聚硅氧烷接枝共聚物,研究了胆固醇改性聚硅氧烷的血液相容性。结果表明,未经长链烷基键合的共聚物不能形成液晶相,而经长链烷基键合的共聚物可以形成热致液晶。侧链液晶聚硅氧烷的液晶结构和材料的血液相容性具有独特的依赖性,热处理后形成的液晶相有助于提高材料的血液相容性。

关键词 有机高分子材料, 聚硅氧烷, 胆固醇, 液晶, 血液相容性

分类号 TB324

文章编号 1005-3093(2005)06-0608-05

Synthesis and hemocompatibility of liquid crystalline polysiloxane with cholesterol in side chain

WANG Xiaoli JI Jian** XU Jianping SHEN Jiacong

(Institute of Polymer Composites, Department of Polymer Science, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

* Supported by National High Technology Research and Development Program of China No.2001AA326030. Manuscript received November 15, 2004; in revised form April 20, 2005.

** To whom correspondence should be addressed, Tel:(0571)87953729, E-mail:jijian@zju.edu.cn

ABSTRACT Liquid crystalline (LC) polysiloxane with cholesterol group in side chain was prepared by a dehydrogenation reaction of poly(hydrogenmethylsiloxane) with cholesterol(SC0) or with terminal hydrogen of cholesterol decyl ether(SC10). The structures purification of these polymers was confirmed by analysis of FTIR and proton nuclear magnetic resonance ($^1\text{H-NMR}$). SC0 did not form liquid crystalline, while SC10 with flexible spacer formed LC, and the LC transform temperature was about 124.9 °C. The anneal-quenched film (SC10) formed continuous LC phase, whereas the unannealed films presented amorphous structure. The biocompatibility of the coating was evaluated using the platelet-adhesion test and the plasma recalcification time (PRT). The platelet's adhesion to coating surface was assessed by SEM observation. The results showed that the formation of LC phase could improve the hemocompatibility of the materials.

KEY WORDS organic polymer materials, polysiloxane, cholesterol, liquid crystalline, hemocompatibility

聚硅氧烷具有良好的生理惰性和优良的生物相容性,被广泛应用在医学领域中。但是,聚硅氧烷与血液接触时依然会导致不同程度的凝血,对聚硅氧烷血液相容性改性成为一个重要的问

* 国家高技术研究发展计划 2001AA326030 资助项目。2004年11月15日收到初稿;2005年4月20日收到修改稿。
本文联系人: 计剑, 教授, 杭州市 310027, 浙江大学高分子科学与工程系

题^[1]. 在生命体内, 介导细胞与细胞, 细胞与细胞外基质作用的细胞膜具有蛋白质和糖镶嵌在脂质双分子层上的流动脂质液晶结构. 研究液晶材料生物相容性与液晶结构间的内在联系, 是获得改性聚合物生物相容性的有效方法之一^[2,3]. 胆固醇是真核细胞细胞膜的重要组成成分, 对细胞膜具有很高的亲合性, 具有改变细胞膜的渗透性和流动性的功能. 同时, 胆固醇衍生物具有特殊的液晶驱动性质, 可以制备出具有有序结构的自组装功能材料^[4~6], 是研究液晶结构和材料生物相容性的理想体系. 因此, 本文利用羟基与硅氢键进行脱氢缩合反应合成了以胆固醇基团为侧链的聚硅氧烷液晶聚合物 (SC), 研究液晶相对材料血液相容性的影响.

1 实验方法

实验用原料有含氢聚硅氧烷 (PHDMS, Aldrich, 63148-57-2)、胆固醇 (cp) 和胆固醇癸二醇醚. 按照文献 [7] 中的方法合成聚硅氧烷液晶聚合物 (SC). 将胆固醇 (或胆固醇癸二醇醚, 12.93 mmol) 和含氢聚硅氧烷 (12.93 mmol) 溶解于 80 mL 无水甲苯中, 加入 2 mL 浓度为 0.1% 氯铂酸的四氢呋喃溶液 (催化剂), 在 40 °C 反应 3 d. 滤去不溶物, 旋转蒸发浓缩以除去溶剂甲苯和无水乙醇. 沉淀后得到胆固醇-接枝-聚硅氧烷 (SC0) 和胆固醇癸二醇醚-接枝-聚硅氧烷 (SC10) 样品, 将其真空干燥后, 在干燥器中保存备用.

参照文献 [8] 中的方法完成人体血浆血小板粘附实验和再钙化凝血时间的测定, 并进行血液评价.

血小板粘附实验: 取 20 μ L 新制富血小板血浆, 使膜片材料与其接触 30 min 后, 用 PBS (pH=7.4) 缓冲溶液清洗. 将膜片浸入 1% 戊二醛中固定 30 min 后用三蒸水清洗数次, 再依次用浓度 (体积分数) 为 30%、50%、60%、70%、8%、90%、100% 的乙醇/水梯度溶液分别浸洗 10~20 min 脱水. 在空气中自然干燥后, 在 STEREOSCAN 260 型扫描电镜下观察血小板的粘附情况.

再钙化凝血时间: 将浓度为 5 mg/mL 的 SC0、SC10 的 THF 溶液, 涂于干净的 75 mm \times 10 mm 的玻璃试管内表面, 每种样品涂 10 个试样, 抽真空干燥. 干燥后将每种样品各取 5 个, 将其在 140 °C 烘箱中热处理 5 h, 然后缓慢冷至室温, 得到玻璃试管涂层. 将已预热至 37 °C 的人体血浆 (已除去 Ca^{2+}) 1 mL 倒入内表面已有样品涂层的玻璃试管中, 在 37 °C 水浴中静置 10 min 后, 加入已预热的浓度 0.025 mol/L 的 CaCl_2 溶液 1 mL, 一旦发现有纤维蛋白形成, 记录纤维蛋白形成的时间, 即再钙化时间. 每个样品重复测定 5 次, 取平均值.

用型号为 BRUKER, VECTOR 22 的红外谱仪测定材料的红外谱, 用 KBr 盐片涂膜法制备样品, 溶剂为分析纯四氢呋喃. 用型号为 DMX500 的 BRUCKER 核磁共振仪测定材料的核磁共振谱, 溶剂为氘代氯仿; 用型号为 Perkin-Elmer DSC7 的差热分析仪测定材料的 DSC 曲线, 升降温速率为 ± 10 °C/min, 温度范围为 40~200 °C; 在 OLYMPUS BX51 型偏光显微镜 (POM) 下观察样品中液晶的数量和状态. 将样品的四氢呋喃溶液 (5 mg/mL) 旋涂于玻璃基材表面, 真空干燥后在 140 °C 进行热处理, 然后进行偏光显微镜 (POM) 观察.

2 结果与讨论

由图 1 可见, 在 SC0 与 SC10 中没有聚硅氧烷中 Si-H 的特征吸收峰 (2140 cm^{-1}), 亦没有胆固醇的 -OH 特征吸收峰 (3400 cm^{-1}) 以及癸二醇的 -OH 特征吸收峰 (3475 cm^{-1}). 由此可以判断, 接枝反应基本上是完全的. 图 2 表明, 反应后胆固醇中 g 处的 H 峰 ($\delta=3.12$) 相对于反应前 ($\delta=3.49$) 发生了位移, 而在 $\delta=3.49$ 处的峰在反应后基本不可见, 表明胆固醇癸二醇醚与聚硅

氧烷发生了加成反应, 且反应比较完全. 根据胆固醇中甲基上的 H(a, $\delta=0.68$) 和主链 Si-CH₃ 中甲基上的 H(k, $\delta=0.14$) 计算出 SC0 和 SC10 中胆固醇的摩尔含量 ($=I_{0.68}/(I_{0.14}+I_{0.68}) \times 100\%$, 其中 I 为该处峰的积分面积), 其数值分别为 34% 和 31%, 比较接近.

DSC 分析结果表明, 在 SC0 的 DSC 曲线中并没有出现明显的吸热峰或放热峰, 而在 SC10 的降温过程中 DSC 曲线在 125 °C 出现比较明显的放热峰. 这与文献 [9] 中所报道过的侧链含胆固醇基团的聚硅氧烷的液晶转变温度 (109~154 °C) 接近, 具体温度与所接枝的胆固

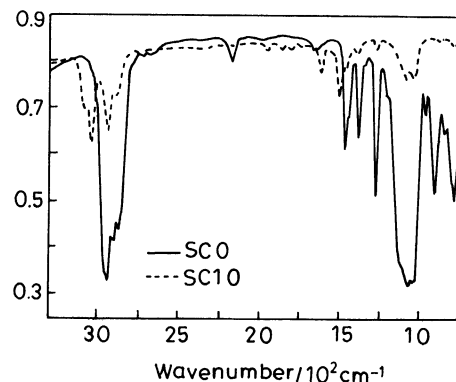


图 1 SC0 和 SC10 的红外谱图
Fig.1 FTIR of SC0 and SC10

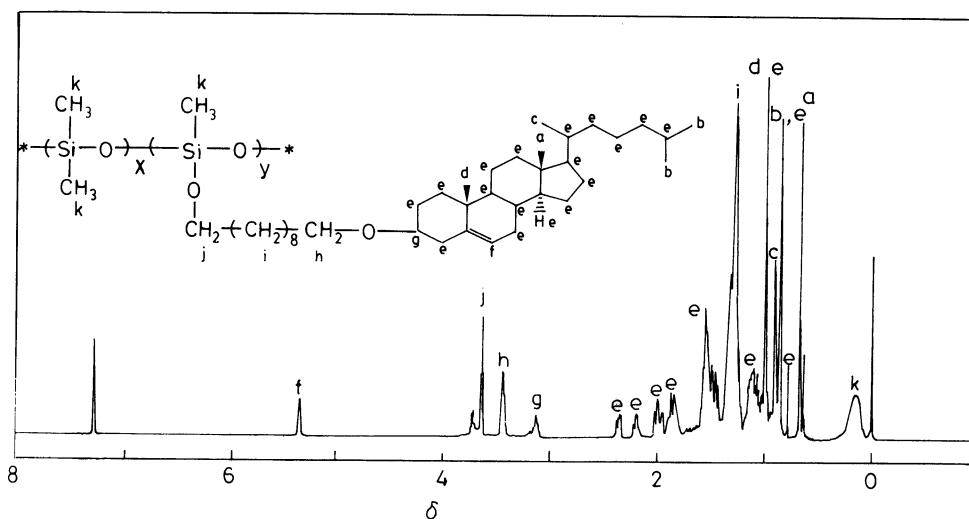


图 2 SC10 的 ¹H NMR 谱图
Fig.2 ¹H NMR results of SC10 (solvent is CDCl₃)

醇的含量有关. 于是可以判断, 125 °C 是 SC10 的液晶相转变温度. 偏光显微镜观察结果表明, 与 DSC 结果相对应, SC0 在热处理前后在偏光显微镜中均未呈现任何液晶现象; 而对于未经热处理的 SC10, 所形成的液晶量非常少且呈分散状态 (图 3a), 在 140 °C 热处理后, 形成的液晶非常完整 (图 3b). 由此可见, 对于 SC10, 在热处理前, 由于胆固醇基团运动受到限制, 形成的液晶不完整; 在热处理过程中, 胆固醇基团通过中间的亚甲基柔性链段自由运动, 形成比较完整的液晶相; 而对于 SC0, 由于缺少柔性链段, 胆固醇基团的运动受到主链的限制, 导致热处理前后均未能形成液晶相.

从图 4 可以看到, 对于 SC0, 热处理后比热处理前血小板粘附量略有下降, 统计数量分别为

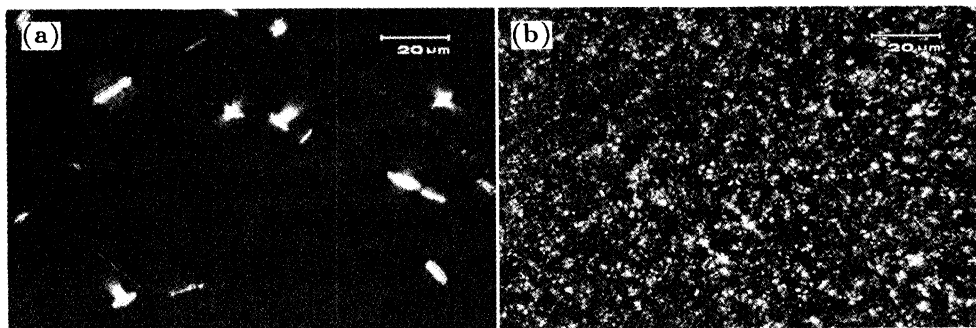


图 3 SC10 热处理前后的偏光显微镜观测结果

Fig.3 Polar optical microscopy of SC10. (a) untreated; (b) treated

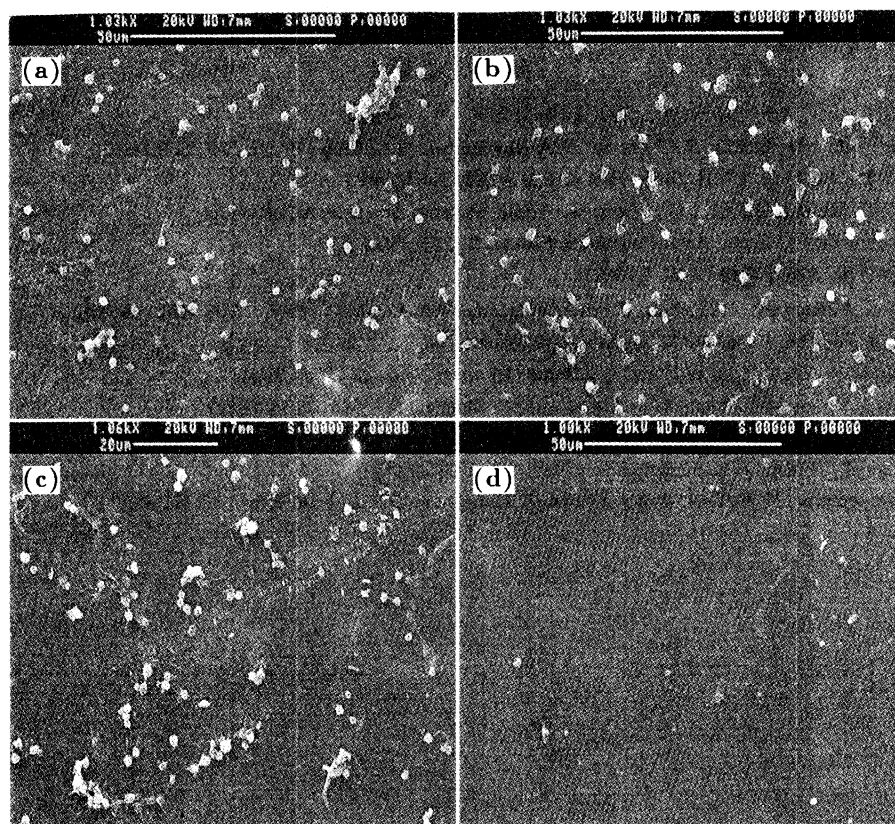


图 4 热处理前后 SC0 和 SC10 血小板粘附的扫描电镜照片

Fig.4 SEM micrographs of platelet adhesion for SC0 and SC10

(a) untreated SC0; (b) treated SC0; (c) untreated SC10; (d) treated SC10

6.8×10^5 和 $11 \times 10^5/\text{mm}^2$; 对于 SC10, 热处理后比热处理前血小板粘附量有大幅度的下降, 统计数量分别为 0.8×10^5 和 $12 \times 10^5/\text{mm}^2$. 处理后 SC10 表面所粘附的血小板非常少, 并且血小板由原来的聚集状态变为分散状态, 表明其血液相容性有了很大的提高. 这个结果与采用聚硅氧烷和胆甾油烯基碳酸酯液晶复合膜的结果相似^[10]. 材料与血液接触引起血液一系列的变化, 先是小分子的吸附, 进而是血浆蛋白的吸附, 引起血小板粘附聚集, 最终导致血栓的形成^[11]. 根据 ^1H NMR 的结果, SC0 和 SC10 中胆固醇的摩尔含量是相接近的, 所以血液相容性的差别并不是胆固醇含量的不同引起的, 而是热处理后 SC10 形成了比较完整的液晶, 降低了血小板的粘附聚集. 材料再钙化时间也表现出相同的趋势, 热处理后 SC0 的再钙化时间没有延长, 而 SC10 的再钙化时间有了非常明显的提高, 由原来的 270 s 提高到了 394 s.

3 结 论

使用长链烷基修饰的胆固醇癸二醇醚, 能够制备出胆固醇基团直接键合和通过长链烷基柔性链键合的胆固醇-聚硅氧烷接枝共聚物. 未经长链烷基键合的共聚物不能形成液晶相. 经长链烷基键合的共聚物可以形成热致液晶, 有助于降低材料表面的血小板粘附和延长再钙化时间, 具有良好的血液相容性.

参 考 文 献

- 1 D.Klee, H.Hocker, *Adv. in Polym. Sci.*, **149**, 1(1999)
- 2 J.J.Hwang, S.N.Iyer, L.S.Li, R.Claussen, D.A.Harrington, S.I.Stupp, *PANS*, **99**, 662(2002)
- 3 L.H.Li, M.Tu, Sh.Mou, Ch.R.Zhou, *Biomaterials*, **22**, 2595(2001)
- 4 J.Sh.Hu, B.Y.Zhang, Z.J.Liu, B.L.Zang, *J. Appli. Polym. Sci.*, **86**, 2670(2002)
- 5 YAN Shouke, ZHOU Enle, *Acta Polymeric Sinica*, **2**, 157(1992)
(阎寿科, 周恩乐, *高分子学报*, **2**, 157(1992))
- 6 J.Scheerder, A.Marcelis, R.Achten, E.SudhÖlter, *Macromol. Chem. Phys.*, **201**, 1303(2000)
- 7 S.W.Cha, J.Jin, D.C.Kim, W.C.Zin, *Macromolecules*, **34**, 5342(2001)
- 8 D.A.Wang, J.Ji, Ch.Y.Gao, G.H.Yu, L.X.Feng, *Biomaterials*, **22**, 1549(2001)
- 9 J.G.Zhi, B.Y.Zhang, B.L.Zang, G.H.Shi, *J. Appli. Polym. Sci.*, **85**, 2155(2002)
- 10 LI Lihua, TU Mei, MO Wenjun, ZHOU Changren, *J. Functional Polym.*, **13**, 133(2000)
(李立华, 屠美, 莫文军, 周长忍, *功能高分子学报*, **13**, 133(2000))
- 11 J.M.Gruunkemeier, W.B.Tsai, T.A.Horbett, *J. Biomater. Sci. Polym. Edn.*, **12**, 1(2001)