

文章编号: 1000-3851(2010)02-0043-07

浸没凝胶相分离法制备聚己内酯多孔支架

丁晓红, 刘榕芳*, 肖秀峰, 刘淑琼, 朱丹琛, 梁建鹤

(福建师范大学 化学与材料学院, 高分子材料重点实验室, 福州 350007)

摘要: 为了制备结构和性能满足骨组织工程支架要求的聚己内酯(PCL)多孔支架材料, 采用浸没凝胶相分离法, 以冰醋酸和丙酮为混合溶剂, 水为凝固剂, 壳聚糖(CS)颗粒为添加剂制得一系列 PCL 多孔支架。探讨了溶剂组成、PCL 浓度、CS 添加量对 PCL 多孔支架结构和性能的影响。结果表明: 添加 CS 颗粒有利于形成多孔三维支架, 随着 CS 含量的增加, 孔隙率略微下降, 抗压强度提高。随着 PCL 质量分数的增加, 孔隙率明显下降, 但抗压强度增大。当溶剂组成中丙酮含量为 50 wt%~60 wt%, PCL 质量分数不高于 10 wt%时, 通过改变 CS 用量, 可制得孔隙率和力学性能满足骨组织工程要求的相互贯通的三维多孔支架材料。

关键词: 聚己内酯; 壳聚糖; 多孔支架; 浸没凝胶相分离

中图分类号: TB332; TQ320.66 **文献标志码:** A

Fabrication of poly(ϵ -caprolactone) porous scaffolds by immersion precipitation method

DING Xiaohong, LIU Rongfang*, XIAO Xiufeng, LIU Shuqiong, ZHU Danchen, LIANG Jianhe

(Fujian Key Laboratory of Polymer Materials, College of Chemistry and Materials Science,

Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China)

Abstract: To prepare the poly(ϵ -caprolactone) (PCL) porous scaffolds whose structure and property could meet the needs of bone tissue engineering, a series of PCL porous scaffolds were prepared by means of the immersion precipitation method using acetic acid and acetone as the blend solvent, distilled water as the quenching bath and chitosan (CS) as the additives. The effects of solvent, PCL concentration and the amount of CS on the structure and property were studied. The results show that the addition of CS is beneficial for forming three-dimensionally porous scaffolds. With the CS amount increasing, the porosity decreases slightly while the compressive strength improves. The porosity decreases obviously with the increasing of PCL mass fraction. When the content of acetone is 50 wt%~60 wt% and the content of PCL is below 10 wt%, three-dimensionally porous PCL scaffolds with satisfying porosity and mechanical property could form by adjusting the amount of CS.

Keywords: polycaprolactone; chitosan; porous scaffold; immersion precipitation method

骨组织工程支架应该具有三维结构^[1], 一方面, 支架应该在需要的部位保持高的弹性模量, 并且提供一定的物理空间供组织生长; 另一方面, 理想的用作骨替换和引导骨再生的材料, 需要具有相互连通的网状结构和大比表面积的多孔结构, 利于三维支架内营养物质的扩散。有利于新骨生成的孔尺寸大约在 100~350 μm , 并且孔隙率要大于 80%^[2]。目前, 已经有许多方法用于制备低密度多孔高聚物支架, 其中包括溶剂蒸发、溶液浇铸/盐粒子滤出^[3]、相分离^[4-5]、冷冻浸提^[6]、乳液冷冻干燥法^[7]、凝胶浇铸^[8]、气体发泡法^[9]和层层自组装/

盐析法^[10], 但是这些方法都存在着如主要产生小孔结构、难以制备具有较大三维厚度的支架等问题。

聚己内酯(PCL)是一种经美国食品和药物管理局(FDA)批准的可降解脂肪聚酯^[11], 因具有生物相容性、生物可降解性、形状记忆特性及柔韧性和可加工性等优良性能, 被广泛应用于药物控释载体、软组织的缝合线、骨缺损修复和组织工程支架等领域。壳聚糖(CS)是自然界中唯一的阳性线性多糖, 且无毒性、无刺激性^[12], 由于其弱碱性, 它和人体相容性好, 具有良好的生物降解性和生物相容性, 并且在一定的条件下可以形成水凝胶^[13]; 此

收稿日期: 2009-04-30; 收修改稿日期: 2009-07-06

基金项目: 国家自然科学基金(306000149, 30970887); 福建省科技厅重点项目(2006I0015)

通讯作者: 刘榕芳, 教授, 主要从事生物材料的研究 E-mail: rliu@vip.sina.com

外 CS 可溶于醋酸溶液中, 以此为添加剂, 在结晶性高聚物-溶剂-非溶剂三元体系中可以起到致孔剂的作用^[14]。

本文中采用浸没凝胶相分离法, 以冰醋酸和丙酮为混合溶剂配制成 PCL 浇铸液, 并在浇铸液中添加 CS 粒子, 以水为凝固剂, 当 PCL 浇铸液浸入水中时, CS 粒子经历滤出-溶胀-溶解-凝胶化这一系列的物理变化, CS 分子为亲水性的大分子, 可起到致孔剂的作用, 由此制得一系列形貌和性能不同的支架, 并对支架形貌的形成机制以及支架的孔隙率和力学性能进行了分析。

1 实验部分

1.1 原料

冰醋酸(A. R.), 国药集团化学试剂有限公司; 壳聚糖(CS, DD86.9), 山东奥康生物科技有限公司; 聚己内酯(PCL, 分子量 70000, 熔点 $\geq 60^{\circ}\text{C}$, 密度为 $1.08 \sim 1.12 \text{ g/cm}^3$, 熔体流动速率为 $8 \sim 9 \text{ g/10 min}$), 日本大赛璐(Daicel)化学公司; 丙酮(A. R.), 上海兴达化工试剂厂。

1.2 PCL 多孔支架的制备

在 54 g 丙酮/冰醋酸混合溶剂(丙酮用量为 50 wt%)中, 加入 6 g PCL 固体, 配成 10 wt% PCL 溶液, 溶解后加入 1.2 g CS(PCL 投料量的 20 wt%), 搅拌使其均匀分散形成浇铸液; 然后在搅拌下将浇铸液缓慢倒入凝固剂水中进行相分离成型, 固化成型后反复洗涤, 置于 45°C 烘箱内烘干, 所制备的支架如图 1 所示。以上述条件制备的支架为基准, 在其他条件不变的情况下分别探讨以下条件对支架的影响: (1) 混合溶剂中丙酮的用量 10 wt%~90 wt%; (2) PCL 的用量 5 wt%~30 wt%; (3) CS 投料量 0 wt%~40 wt%。

1.3 孔隙率的测定

测定过程参考文献[5]。选用一个比重瓶装满乙醇称重 W_1 ; 把重 W_s 的样品浸入乙醇中, 真空脱气, 务必使乙醇充盈于多孔支架的孔中, 然后再加满乙醇, 称重为 W_2 ; 把浸满了乙醇的样品取出后, 剩余的乙醇与比重瓶称重 W_3 。支架孔隙率按以下公式计算: $\epsilon = (W_2 - W_3 - W_s) / (W_1 - W_3)$ 。

1.4 样品的表征

采用 Philips XL 30 ESEM 环境扫描电子显微镜(SEM)观察 PCL 支架的内部形貌及孔径大小。采用英国 LLOYD 公司 LR5K 型电子材料试样机测

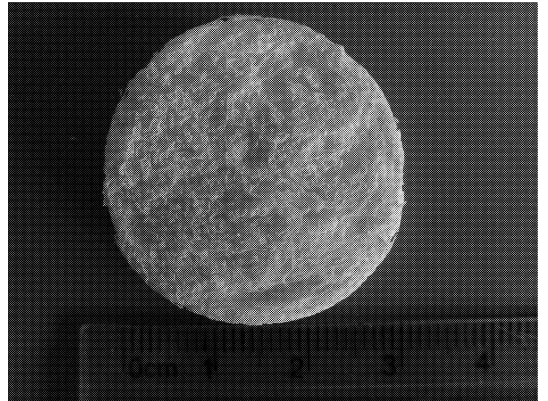


图 1 PCL 多孔支架照片

Fig. 1 Digital photo of PCL porous scaffolds

定 PCL 支架的抗压强度(预载荷: 5.00 N, 速度: 3.00 mm/min , 在 50.0%应变停止)。将材料制成直径约 4 cm、高约 2 cm 的圆柱体, 每组样条测 3 个数据取平均值。

2 结果与讨论

2.1 相分离机制

结晶性聚合物-溶剂-非溶剂三元体系的相行为包括液液分相和液固分相, 其三元相图如图 2 所示^[15]。液固分相线在双节线液液分相的均相区, 这说明, 从热力学角度, 结晶性聚合物液固分相优先于液液分相。液固分相是由聚合物结晶引起的, 因此液固分相线也叫做结晶线。分相时液固分相主要是由于聚合物链段规整排列进行结晶造成的, 这个过程需要一定的时间, 液固分相过程相对于液液分相是一个慢过程, 并且液固分相是先于液液分相出现。因此液固分相表现为延时分相, 液液分相表现为瞬时分相。瞬时分相和延时分相主要由传质速度导致的结晶液固分相与液液分相相互竞争的结果

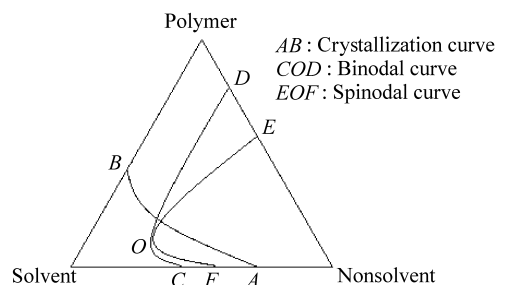


图 2 结晶性聚合物-溶剂-非溶剂体系的等温三元相图^[15]

Fig. 2 Isothermal phase diagram for crystalline polymer-solvent-nonsolvent ternary system^[15]

来决定^[16-17]。在浇铸液体浸入到凝固浴后, 结晶性聚合物的分相机制有 3 种情况, 不同的分相机制将形成具有不同形貌的支架。第 1 种是发生液液分相, 表现为瞬时分相, 形成具有致密皮层和柱状、指状大孔结构以及海绵状(胞腔状)结构; 第 2 种是发生液固分相, 表现为延时分相, 结构中不致密的皮层, 出现等尺寸、紧密相连的球形颗粒, 海绵状结构不是很明显; 第 3 种是液液分相和液固分相同时发生, 也表现为延时分相, 呈现均匀多孔的海

绵状结构, 海绵状孔是开放孔, 并相互贯通。PCL 是一种半结晶性聚合物, PCL/丙酮-冰醋酸/水三元体系的分相行为同样包括液液分相和液固分相, 三元体系的溶剂组成、PCL 浓度和添加剂 CS 的含量等将影响传质速度, 导致不同的分相机制, 继而影响 PCL 支架的微观结构。

2.2 溶剂组成对 PCL 多孔支架形貌的影响

图 3 为使用不同配比的丙酮/冰醋酸混合溶剂所制备的支架的 SEM 图。如图 3 所示, 随着混合

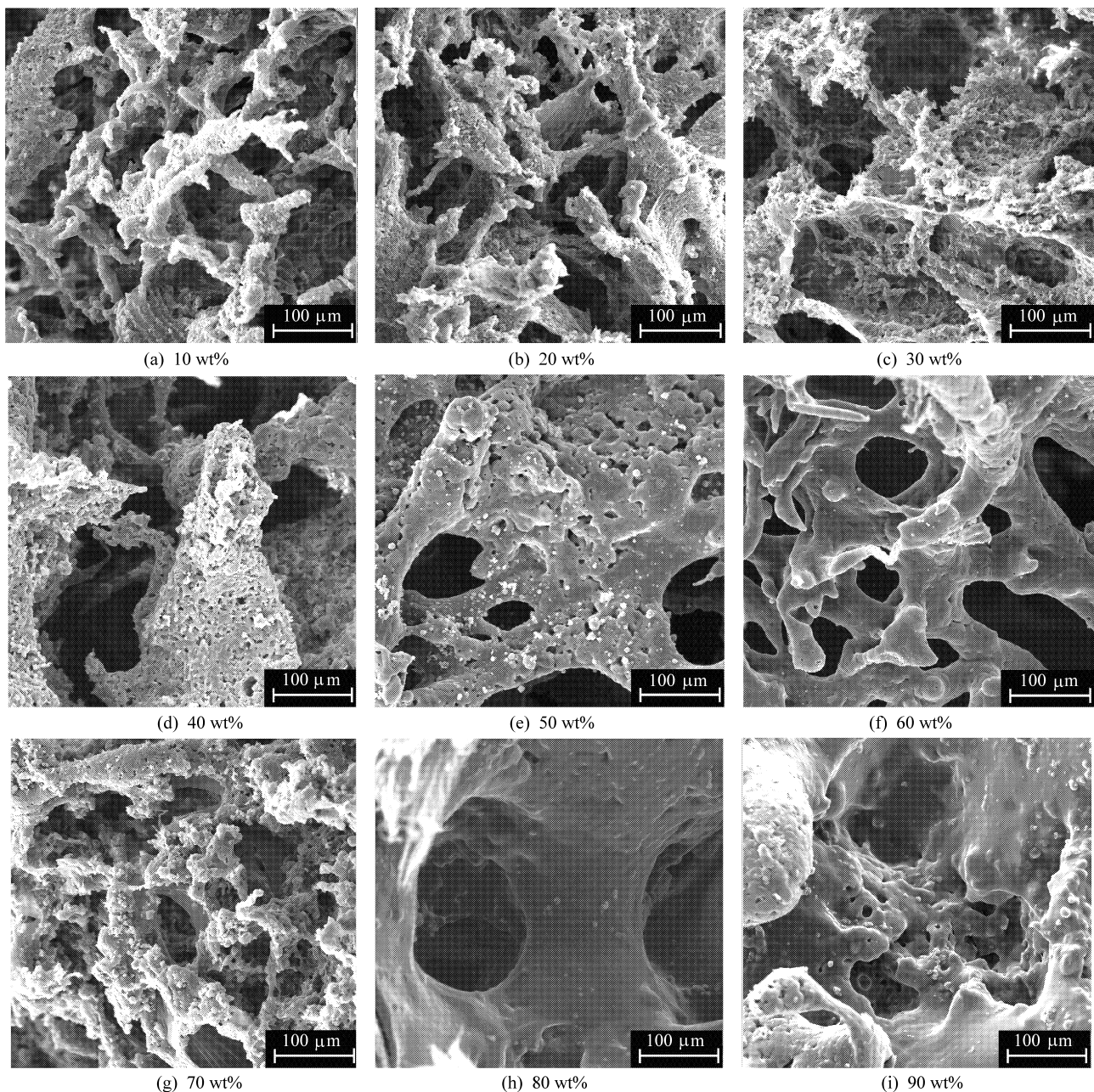


图 3 混合溶剂中不同丙酮含量所制备的多孔支架的扫描电镜图

Fig. 3 SEM of scaffolds fabricated in mixed solvent with different acetone contents (PCL 10 wt%, CS 20 wt%)

溶剂中丙酮含量的增加, 支架从不规则疏松多孔的结构逐渐转化为致密的结构, 当丙酮的含量为 50 wt%~60 wt%时, 出现了大孔相互贯通的三维网络状结构(图 3(e)、3(f))。PCL 浇铸液与非溶剂水接触后, 水通过传质进入浇铸液中使 PCL 分相, 分相速率受传质速率的影响^[18], 传质速率快, 到达同样的分相点需时少, 分相速率则快。Frommer 等^[19]研究表明, 溶剂与非溶剂间良好的相容性有利于快速传质, 极性相近的溶剂相容性越好。因此, 随着丙酮用量的增大, 混合溶剂的极性减小, 造成混合溶剂和非溶剂水之间的传质速率变慢, 则分相速率变慢, 固化时间延长, 分相后的初始稀相孔有较长的时间长大和兼并, 因而孔径增大。此外, 当丙酮含量进一步提高至 80 wt%~90 wt%时, CS 溶解时间推迟, 并滞后于 PCL 的分相过程, 因此失去了致孔作用, 相分离过程从液固分相和液液分相并存的延时分相过程转变为液液分相的瞬时分相过程, AB 进入双节线区内, 最终形成了致密的皮层结构(图 3(h)、3(i))。

2.3 CS 含量对 PCL 多孔形貌的影响

图 4 是不同 CS 含量所制备支架的形貌图。由图 4(a)可见, 未添加 CS 时, 支架呈现孤立的闭孔结构, 此形貌为 PCL 经过浓相成核生长过程造成的。当添加了 CS 后, 支架呈现相互贯通的多孔结构, 这是由于 CS 可溶于醋酸水溶液中, 水溶性大分子 CS 的加入使得体系具有液固分相的优势^[14], 分相速率从瞬时分相变化为延时分相, 从而生成多孔且相互贯通的海绵状结构^[20]; 并且随着 CS 含量的增加, 延迟时间增长^[13]。按照结晶性聚合物的分相机制, 如果延时时间越长, 那么结晶化而形成的球粒状结构应该更加明显。然而由于 CS 分子的溶解和扩散影响了结晶性聚合物分子的规整排列, 最终导致支架中具有结晶特征的球粒状结构减小; 同时, CS 分子的溶胀、溶解和凝胶化过程, 与 PCL 的固液分相过程同时进行, 从而使支架内部产生丰富的小孔。此外, Strathmann 等^[21]认为由于应力引起的裂缝会导致大孔的形成, 因此最终形成了多级孔径的三维多孔结构。

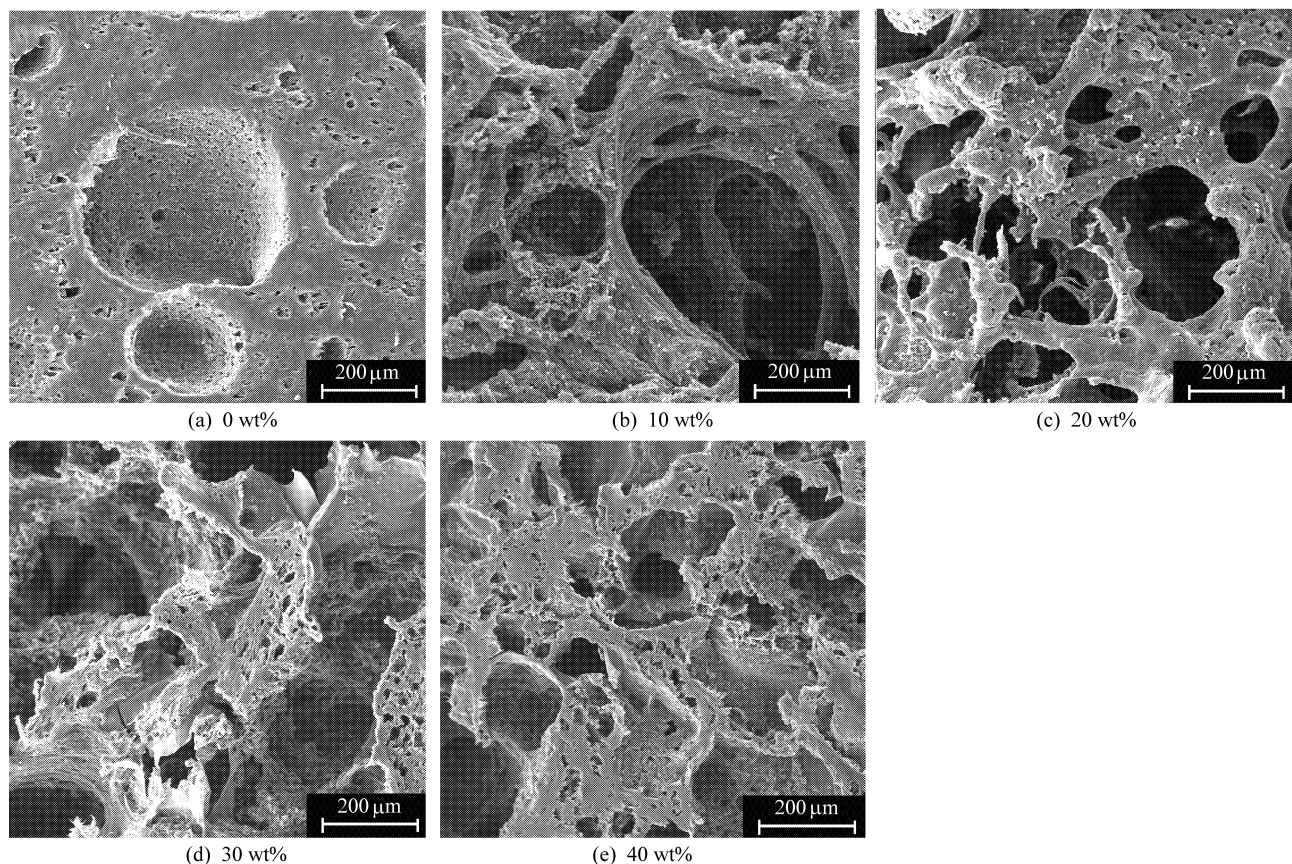


图 4 不同 CS 添加量制备的支架电镜图

Fig. 4 SEM of scaffolds fabricated with different CS amounts (PCL 10 wt%, acetone 50 wt%)

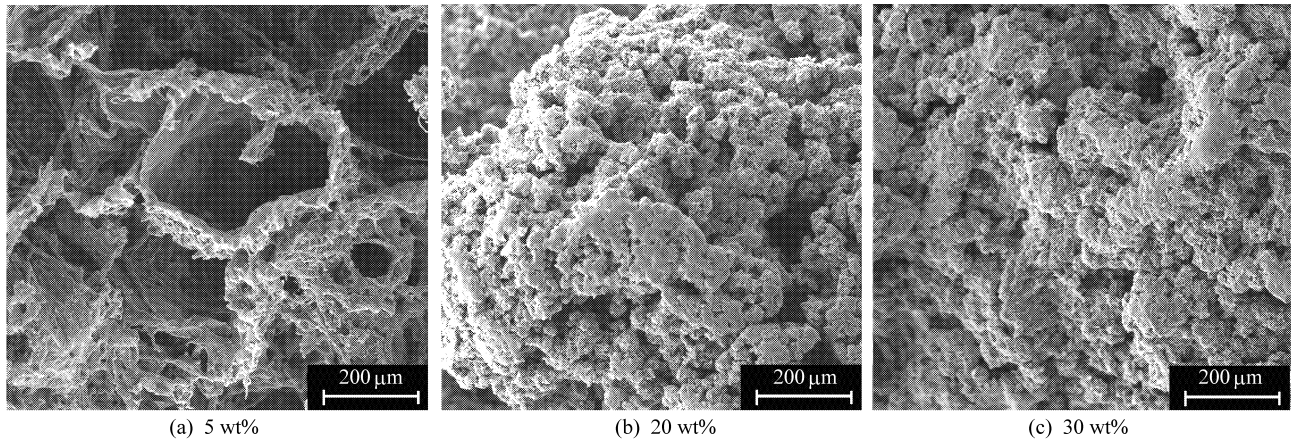


图5 不同 PCL 浓度制备的支架电镜图

Fig. 5 SEM of scaffolds fabricated with different PCL concentrations (CS 20 wt%, acetone 50 wt%)

2.4 PCL 浓度对支架形貌的影响

图5为不同浓度的PCL浇铸液所制备的支架的SEM图。随着PCL浓度的增加,大孔形成的三维网络状结构被破坏,支架中出现了由许多近似球形颗粒团簇堆积形成的小孔,且小孔尺寸小于 $10\ \mu\text{m}$,贯通性差。这是因为当PCL浓度增大时,溶液黏度增大,一方面搅拌剪切力较弱,不足以促进裂缝的形成,所以无法形成大孔结构;另一方面,浇铸液中聚合物浓度高,则浸入凝固液后,初始分相点处聚合物浓度较高,导致分相后聚合物浓相占有较大的比例,所以形成了堆积的结构;同时由于CS的存在,使体系结晶化时间延长,体系发生液固分相,形成球形颗粒紧密相连的结构。

2.5 孔隙率分析

图6为不同制备条件下支架的孔隙率。由图6可见,添加CS后,当丙酮的用量为10 wt%~70 wt%时,孔隙率均大于90%;当丙酮的用量为80 wt%和90 wt%时,孔隙率明显下降,分别为74.5%和72.5%。孔隙率与支架的形貌密切相关,当支架中有相互贯通的大孔时,孔隙率高;当孔的贯通性差时,孔隙率则低。随着PCL浓度的增加,孔隙率下降,其原因是随着PCL浓度的增大,如图5(b)、5(c)所示,形成了球形颗粒紧密堆积的结构。随着CS用量的增加,孔隙率有所下降,其原因是CS凝胶强度随着CS用量的增加而增大,增加了传质阻力,影响了大孔的发展,造成小孔间的贯通性较差,最终造成了PCL三维多孔支架孔隙率的下降。

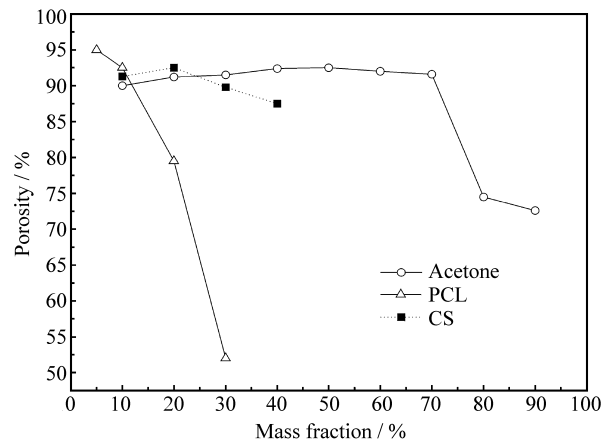


图6 不同制备条件下支架的孔隙率

Fig. 6 Porosity of scaffolds under different fabrication conditions

2.6 抗压性能分析

图7为不同制备条件下支架的弹性模量。如图7可见,当丙酮的用量小于40 wt%时,支架的弹性模量在0.2~0.6 MPa;当丙酮的用量分别为50 wt%、70 wt%、80 wt%、90 wt%时,支架的弹性模量分别为0.79 MPa、1.28 MPa、4.39 MPa、13.01 MPa。支架的抗压强度与其形貌和孔隙率有着密切的关系,当支架呈现松散结构,且纤维上小孔丰富时,孔隙率相对较高,支架的抗压强度相对较低;当支架形成三维网络结构且纤维上的小孔减少时,支架的抗压强度有所增加;当支架呈致密结构时,支架孔隙率低,弹性模量迅速增大。随着PCL浓度的增加,弹性模量增大,当浓度为30 wt%时,支架弹性模量可达11.81 MPa,但是骨

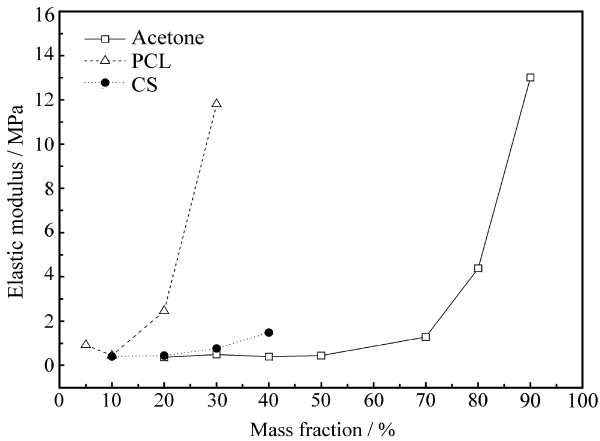


图7 不同制备条件下支架的弹性模量

Fig. 7 Elastic modulus of scaffolds under different fabrication conditions

组织工程要求支架孔隙率大于80%，因此，当PCL浓度不高于10 wt%时方能制得孔隙率满足要求的支架。随着CS用量的增加，弹性模量增大，当CS用量为40 wt%时，支架弹性模量达到1.48 MPa。由于添加不同用量的CS所制得支架的孔隙率均大于80%，且呈三维贯通的多孔结构，因此，通过调节CS用量可制得力学性能可调、满足不同使用要求的骨组织工程支架。

3 结论

(1) PCL/丙酮-冰醋酸/水三元体系中，当溶剂组成中丙酮的含量为50 wt%~60 wt%时，支架呈大孔相互贯通的三维网络状结构。当丙酮含量为10 wt%~70 wt%时，孔隙率均大于90%。当丙酮含量小于40 wt%时，支架的弹性模量为0.2~0.6 MPa。

(2) CS粒子有利于提高支架孔隙率，当CS的用量为10 wt%~40 wt%时，孔隙率均大于80%。随着CS用量的增加，弹性模量增大，当CS的用量为40 wt%时，支架弹性模量达到1.48 MPa。

(3) PCL浓度不高于10 wt%时，支架的孔隙率大于90%；当PCL浓度增加至20 wt%时，支架呈球形颗粒紧密堆积结构，孔隙率较低。

(4) 支架的孔隙率与支架的形貌密切相关，当支架呈松散多孔结构、孔间贯通性较好时，孔隙率则高；当支架形成致密结构、孔间贯通性差时，孔隙率则低。支架的抗压强度与孔隙率有着直接的关系，孔隙率高，则抗压强度低；孔隙率低，则抗压强度大。

(5) 当溶剂组成中丙酮的含量为50 wt%~60 wt%、PCL溶液浓度不高于10 wt%时，通过改变CS用量，可制得孔隙率和力学性能满足骨组织工程要求的相互贯通三维网络状多孔支架材料。

参考文献:

- [1] Langer R, Vacanti J P. Tissue engineering [J]. Science, 1993, 260(5110): 920-926.
- [2] Hollinger J O, Leong K. Poly(alpha-hydroxy acids): Carriers for bone morphogenetic proteins [J]. Biomaterials, 1996, 17(2): 187-194.
- [3] 王海斌, 赫淑倩, 赵冬梅. 羧甲基壳聚糖/纳米羟基磷灰石复合支架材料的制备及生物安全性 [J]. 复合材料学报, 2008, 25(6): 88-92.
- [4] Wang Haibin, He Shuqian, Zhao Dongmei. Preparation and biology security of the porous carboxymethyl chitosan/nano hydroxyapatite scaffold biocomposites [J]. Acta Materiae Compositae Sinica, 2008, 25(6): 88-92.
- [5] Schugens C, Maquet V, Grandfils C, et al. Biodegradable macroporous polylactide implants for cell transplantation I: Preparation of polylactide foams by solid-liquid phase separation [J]. Polymer, 1996, 37(6): 1027-1038.
- [6] 肖秀峰, 黄琼瑜, 刘榕芳. 纳米羟基磷灰石/聚合物多孔复合支架材料 [J]. 复合材料学报, 2008, 25(6): 39-46.
- [7] Xiao Xiufeng, Huang Qiongyu, Liu Rongfang. Nano-hydroxyapatite/polymer composite porous scaffold materials [J]. Acta Materiae Compositae Sinica, 2008, 25(6): 39-46.
- [8] Whang K, Thomas C H, Healy K E, Nuber G. A novel method to fabricate bioabsorbable scaffolds [J]. Polymer, 1995, 36(4): 837-842.
- [9] Whang K, Tsai D C, Nam E K, et al. Ectopic bone formation via rhBMP-2 delivery from porous bioabsorbable polymer scaffolds [J]. J Biomed Mater Res, 1998, 42(4): 491-499.
- [10] Coombes A G A, Heckman J D. Gel casting of resorbable polymers part 1: Processing and applications [J]. Biomaterials, 1992, 13(4): 217-224.
- [11] Nam Y S, Yoon J J, Park T G. A novel fabrication method of macroporous biodegradable polymer scaffolds using gas foaming salt as a porogen additive [J]. J Biomed Mater Res, 2000, 53(1): 1-7.
- [12] Wu Hua, Wan Ying, Cao Xiaoying. Fabrication of chitosan-g-polycaprolactone copolymer scaffolds with gradient porous microstructures [J]. Materials Letters, 2008, 62(17/18): 2733-2736.
- [13] 杨安乐, 孙康, 吴人洁. 聚己内酯的合成改性和应用进展 [J]. 高分子通报, 2000(2): 52-57.
- [14] Yang Anle, Sun Kang, Wu Renjie. Synthesis, modification and applications of poly(epsilon-caprolactone) [J]. Chinese Polymer Bulletin, 2000(2): 52-57.
- [15] 许树文, 吴清基, 梁金茹, 等. 甲壳素纺织品 [M]. 上海: 东

- 华大学出版社, 2002: 21.
- [13] Montembault A, Viton C, Domard A. Physico-chemical studies of the gelation of chitosan in a hydroalcoholic medium [J]. *Biomaterials*, 2005, 26(8): 933-943.
- [14] 陆茵, 陈欢林, 李伯耿. 添加剂对 PVDF 相转化过程及膜孔结构的影响 [J]. *高分子学报*, 2002(5): 656-661.
Lu Yin, Chen Huanlin, Li Bogeng. Influence of additives on phase separation process of PVDF solution and membrane morphology [J]. *Acta Polymerica Sinica*, 2002(5): 656-661.
- [15] VandeWitte P, Dijkstra P J, VandenBerg J W A, et al. Metastable liquid-liquid and solid-liquid phase boundaries in polymer-solvent-nonsolvent systems [J]. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 1997, 35(5): 763-770.
- [16] Young T H, Cheng L P, Lin D J, et al. Mechanisms of PVDF membrane formation by immersion-precipitation in soft (1-octanol) and harsh (water) nonsolvents [J]. *Polymer*, 1999, 40(19): 5315-5323.
- [17] 陆茵, 陈欢林, 李伯耿. 制膜条件对 PVDF 膜形态结构的影响 [J]. *功能高分子学报*, 2002, 15(2): 171-176.
Lu Yin, Chen Huanlin, Li Bogeng. Effects of preparing condition on PVDF membrane morphology [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2002, 15(2): 171-176.
- [18] 陆茵, 张林, 任元龙, 汪继忠. 溶剂对相分离法制备聚偏氟乙烯微孔膜性质的影响 [J]. *功能高分子学报*, 2005, 18(3): 430-433.
Lu Yin, Zhang Lin, Ren Yuanlong, Wang Jizhong. Influence of solvents on the PVDF membrane properties [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2005, 18(3): 430-433.
- [19] Frommer M A, Messalem R M. Mechanism of membrane formation VI: Convective flows and large void formation during membrane precipitation [J]. *Ind Eng Chem Prod Res Dev*, 1973, 12(4): 328-333.
- [20] 左丹英, 徐又一, 曾秋霞, 龚玉洁. 浸没沉淀相转化法制备结晶性聚合物微孔膜的研究进展 [J]. *化学通报*, 2008, 71(5): 336-342.
Zuo Danying, Xu Youyi, Zeng Qiuxia, Gong Yujie. Progress of crystalline polymer membrane prepared by immersion precipitation phase inversion [J]. *Chemistry Online*, 2008, 71(5): 336-342.
- [21] Strathmann H, Kock K, Amar P, Baker R W. Formation mechanism of asymmetric membranes [J]. *Desalination*, 1975, 16(2): 179-203.