

聚三亚甲基碳酸酯/聚己内酯三维网络聚合物的制备及其酶解性能比较

张金哲 朱晓琳 张 巍 李 森 郭 晶 杨立群*

(辽宁省计划生育科学研究院,国家卫健委生殖健康与遗传医学重点实验室,沈阳 110031)

摘 要 以双(三羟甲基)丙烷与氯甲酸乙酯为原料制备双六元环状碳酸酯(BTB),并以其为交联剂制备聚三亚甲基碳酸酯/聚己内酯(PTMC/PCL)三维网络聚合物,考察 BTB 的交联效果;以疏棉状嗜热丝孢菌脂肪酶为降解介质,研究 PTMC/PCL 三维网络聚合物的体外酶解性能。结果表明:BTB 可有效促使 PTMC 或 PCL 发生交联反应,得到性能良好的三维网络聚合物,且 PCL 三维网络聚合物的酶解明显快于 PTMC 三维网络聚合物。

关键词 聚三亚甲基碳酸酯,聚己内酯,交联,三维网络聚合物,酶解

Preparation and enzymatic degradation in vitro of poly(trimethylene carbonate)/poly(ϵ -caprolactone)3D network

Zhang Jinzhe Zhu Xiaolin Zhang Wei Li Miao Guo Jing Yang Liquan

(Liaoning Research Institute of Family Planning, China Medical University Key Laboratory of Reproductive Health and Medical Genetics, National Health Commission, Shenyang 110031)

Abstract Bis(trimethylene carbonate) was synthesized from di(trimethylolpropane) and ethyl chloroformate to be used as crosslinker to form stable polymeric networks. The enzymatic degradation behavior of the obtained networks was investigated in lipase from *Thermomyces lanuginosus* at 37°C. The results showed that BTB had high reactivity and efficiency to crosslink poly(trimethylene carbonate) and poly(ϵ -caprolactone) and formed stable networks. Due to the preferred cleavage of ester bonds, the enzymatic degradation rate of poly(ϵ -caprolactone) networks was much faster than that of poly(trimethylene carbonate) networks in lipase.

Key words poly(trimethylene carbonate), poly(ϵ -caprolactone), crosslinking, 3D network polymer, enzymatic degradation

可生物降解聚合物因具有良好的生物降解性、优异的生物相容性而备受关注^[1-2]。目前,可生物降解聚合物可用于制备人体可植入医药装置^[3-4]、药物缓控释体系^[5-6]、神经导管^[7-8]以及三维组织工程支架^[9-10]等生物医药制品。在众多的可生物降解聚合物材料中,本课题组更为关注聚三亚甲基碳酸酯(PTMC)及聚己内酯(PCL)的性能改进及其应用。PTMC 是重要的脂肪族聚碳酸酯之一,其玻璃化温度较低(-15℃),在体内能够表现出很好的弹性,同时还具有良好的生物相容性及生物降解性^[11-12],并且在降解过程中不会产生酸性降解产物^[13-14],能够避免无菌炎性反应的发生;PCL 则具有较高的药物

渗透性、良好的生物相容性以及优异的力学性能^[15-16]。尽管两者在生物降解医药领域具有较大的应用前景,但性能仍存在一些不足,限制了它们在临床上的广泛应用。目前,研究人员大多以共聚或共混方式为手段对 PTMC/PCL 的性能进行修饰与改进^[17-18],而关于 PTMC/PCL 交联改性的报道相对较少。

本研究设计了一种双六元环状碳酸酯(BTB),并以其为交联剂,通过与三亚甲基碳酸酯/己内酯(TMC/CL)的开环反应制备 PTMC/PCL 三维网络聚合物,对其交联效果进行考察,并以脂肪酶为介质对 PTMC/PCL 三维网络聚合物的体外酶解性能进

基金项目:“十三五”国家重点研发计划(2016YFC1000902);国家自然科学基金(51503093);沈阳市科技攻关项目(F16-205-1-37);辽宁省博士科研启动基金(201501116);辽宁省自然科学基金(20170540491)

作者简介:张金哲(1982-),男,助理研究员,主要从事预防医学研究。

联系人:杨立群(1982-),男,研究员,主要从事生物医用材料研究。

行比较研究。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

TMC(>99.5%), 济南岱罡生物科技有限公司; CL(97%), Sigma-Aldrich; Sn(Oct)₂(95%), Sigma-Aldrich; 疏棉状嗜热丝孢菌脂肪酶(≥ 100000 U/g), Sigma-Aldrich; 双(三羟甲基)丙烷(97%), Sigma-Aldrich。

核磁共振波谱仪(Avance II 600MHz), 瑞士 Bruker 公司; 扫描电子显微镜(SEM, Inspect F50), 美国 FEI 公司。

1.2 交联剂 BTB 的制备

将 22.5g (0.09mol) 双(三羟甲基)丙烷和 57.0g (0.53mol) 氯甲酸乙酯溶解于 600mL 四氢呋喃溶液中, 在冰盐浴条件下, 控制温度至零下; 将 80mL 三乙胺(0.55mol)的四氢呋喃溶液逐滴加入至其中, 控制温度不超过 5℃; 体系在零下反应 30min, 自然升至室温后反应 2h; 反应完毕, 将三乙胺氢氧化物沉淀物过滤除去, 滤液蒸发后加入无水乙醚得到粗产物; 用四氢呋喃重结晶, 得到白色晶体, 即 BTB, 产品产率为 20.0g(74%), 熔点为 103.9℃。

1.3 PTMC/PCL 三维网络聚合物的制备

PTMC/PCL 三维网络聚合物是以 BTB 为交联剂, 在辛酸亚锡的催化作用下, 通过 TMC 或 CL 的本体开环聚合反应制备而得。具体操作步骤如下: 将 TMC 或 CL 与 0.1%(摩尔百分数)BTB 加入到内含聚四氟管材(内径为 3mm)的聚合管中, 同时加入 2×10^{-4} mol/mol 单体辛酸亚锡无水甲苯溶液; 随后对体系进行减压真空操作, 除去加入的甲苯溶液; 置换若干次氮气后, 将聚合管在负压下加热封闭, 并置于已经预热的油浴锅内加热使单体熔化; 待单体全部熔化后, 剧烈振动聚合管使内部的单体、交联剂以及催化剂混合均匀; 将聚合管放置于 130±2℃的油浴锅内进行加热; 反应 24h 后, 将聚合管置于室温冷却, 砸碎, 取出聚四氟管, 将制得的 PTMC/PCL 三维网络聚合物抽出, 剪裁备用。

1.4 PTMC/PCL 三维网络聚合物的溶胀性能测试

PTMC/PCL 三维网络聚合物的交联程度通过其平衡溶胀度进行表征, 交联聚合物的溶胀度(DS)可按公式(1)计算。

$$DS(\%) = \frac{w_w - w_d}{w_d} \times 100\% \quad (1)$$

式中, DS 为溶胀度, %; w_w 为溶胀后的样品质

量, g; w_d 为溶胀样品干燥后的质量, g。

在测试完溶胀度后, 即可按公式(2)计算交联聚合物的凝胶量(GP)。溶胀度以及凝胶量在测试过程中, 每个样品均平行操作 3 次并计算平均值。

$$GP(\%) = \frac{w_d}{w_i} \times 100\% \quad (2)$$

式中, GP 为凝胶量, %; w_i 为样品的初始质量, g。

1.5 PTMC/PCL 三维网络聚合物的体外酶解

将 PTMC/PCL 三维网络聚合物置于 1mL 脂肪酶溶液中, 并置于 37℃空气浴中, 每天振荡 8h, 振幅为 65 次/min; 脂肪酶溶液每天更换一次以保持酶的活性; 定时取出样品, 用蒸馏水反复冲洗, 吸干表面液体, 真空干燥至恒重, 进行失重考察。样品的失重率(ML)根据公式(3)计算。

$$ML(\%) = \frac{w_i - w_d}{w_d} \times 100\% \quad (3)$$

式中, ML 为失重率, %。

2 结果与讨论

2.1 PTMC/PCL 三维网络聚合物的合成及溶胀性能研究

本研究以 BTB 为交联剂将线型 PTMC/PCL 分子链段交联起来, 进而形成强壮的弹性体聚合物网络。众所周知, 交联聚合物在溶剂中不能溶解, 但是能发生一定的溶胀。因此, 本研究通过溶胀实验来验证是否形成了交联的三维网络聚合物。结果发现, 溶胀后的样品体积膨胀很多。溶胀行为证明聚合物链段之间形成了三维网络结构, 验证了交联反应的成功。

PTMC/PCL 三维网络聚合物的溶胀性能见表 1。如表 1 所示, PTMC/PCL 三维网络聚合物中的 PTMC 与 PCL 凝胶含量分别为 $91.64 \pm 2.41\%$ (wt, 质量分数, 下同)与 $91.19 \pm 0.07\%$ 。较高的凝胶含量证明了 BTB 良好的交联效果。此外, PTMC 三维网络聚合物与 PCL 三维网络聚合物的溶胀度分别为 $1453 \pm 52\%$ 和 $5901 \pm 286\%$, 与 PTMC 三维网络聚合物相比较, PCL 三维网络聚合物具有更高的溶胀度。这可能与 CL 的结构有关, CL 为七元环酯, 而 TMC 为六元环酯, 将 CL 引入交联结构中会

表 1 PTMC/PCL 三维网络聚合物的溶胀性能

三维网络聚合物	凝胶含量/%	溶胀度/%
PTMC	91.64 ± 2.41	1453 ± 52
PCL	91.19 ± 0.07	5901 ± 286

使含有 CL 链段的相邻两个交联点之间的分子链段变长,空间变大,允许更多的溶剂分子渗入,进而导致了较高的溶胀度。

2.2 PTMC/PCL 三维网络聚合物的体外酶解性能研究

图 1 给出了 PTMC/PCL 三维网络聚合物在体外酶解过程中的失重率及其随降解时间变化的关系曲线。由图可见,PCL 三维网络聚合物在体外酶解 5d 后的失重率为 $64.50 \pm 0.17\%$;而 PTMC 三维网络聚合物在酶解 84d 后的失重率仅为 $29.84 \pm 0.03\%$ 。很明显,PCL 三维网络聚合物的失重速率远大于 PTMC 三维网络聚合物。这是因为酯键比碳酸酯键对酶解更为敏感^[19],导致聚合物链段在酯键位置上优先发生断裂所造成的。因此,PCL 三维网络聚合物比 PTMC 三维网络聚合物更容易在疏棉状嗜热丝孢菌脂肪酶溶液中发生降解。

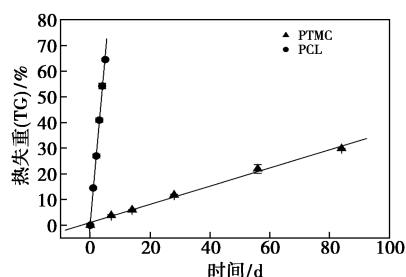


图 1 PTMC/PCL 三维网络聚合物体外失重率与降解时间的函数关系曲线

2.3 样品表面形貌变化观察

图 2 为 PTMC/PCL 三维网络聚合物在经历体外酶解后的表面形貌。由图可见,两组样品在降解后的表面形貌存在较大差别。如图 2(a)所示,PTMC 三维网络聚合物在降解 28d 后,样品表面仅出现凹坑或小孔洞,表面粗糙度有所增加,表明样品发生了程度较轻的降解;而 PCL 三维网络聚合物在酶解 3d 后的样品表面出现大的凹坑,其尺寸及深度比 PTMC 三维网络聚合物的凹坑大很多,说明 PCL 三维网络聚合物已经发生较重程度的降解。该结果

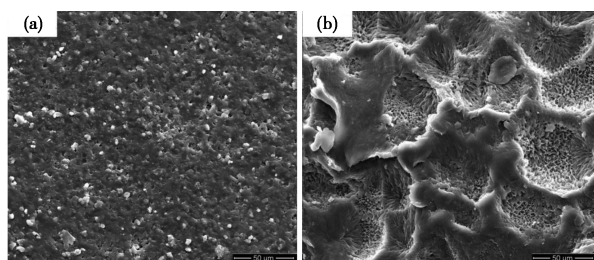


图 2 三维网络聚合物酶解后的 SEM 图

[(a)PTMC 三维网络聚合物,28d;(b)PCL 三维网络聚合物,3d]

与 PTMC/PCL 三维网络聚合物在体外酶解过程中的失重率结果一致。

3 结论

BTB 可以作为良好的交联剂用于 PTMC/PCL 三维网络聚合物的设计与构建。由于酯键对酶解更为敏感,PCL 三维网络聚合物比 PTMC 三维网络聚合物更容易在脂肪酶介质中发生降解。

参考文献

- [1] Lendlein A, Langer R. Biodegradable, elastic shape-memory polymers for potential biomedical applications[J]. Science, 2002,296(5565):1673-1676.
- [2] Langer R, Tirrell D A. Designing materials for biology and medicine[J]. Nature, 2004,42(6982):487-492.
- [3] Bostman O, Pihlajamäki H. Clinical biocompatibility of biodegradable orthopaedic implants for internal fixation; a review [J]. Biomaterials, 2000,21(24):2615-2621.
- [4] Burkhart S S. The evolution of clinical applications of biodegradable implants in arthroscopic surgery[J]. Biomaterials, 2000,21(24):2631-2634.
- [5] Zhang Z, Foks M A, Grijpma DW, et al. PTMC and MPEG-PTMC microparticles for hydrophilic drug delivery[J]. Journal of Controlled Release 2005,101(1-3):392-394.
- [6] Zhang Y, Zhuo R X. Synthesis and drug release behavior of poly(trimethylene carbonate)-poly(ethylene glycol)-poly(trimethylene carbonate) nanoparticles [J]. Biomaterials, 2005,26(14):2089-2094.
- [7] Fabre T, Schappacher M, Bareille R, et al. Study of a (trimethylenecarbonate-co-ε-caprolactone) polymer-Part 2: in vitro cytocompatibility analysis and in vivo ED1 cell response of a new nerve guide[J]. Biomaterials, 2001,22(22):2951-2958.
- [8] Kokai L E, Ghaznavi A M, Marra K G. Incorporation of double-walled microspheres into polymer nerve guides for the sustained delivery of glial cell line-derived neurotrophic factor [J]. Biomaterials, 2010,31(8):2313-2322.
- [9] Bat E, Kothman B H, Higuera GA, et al. Ultraviolet light crosslinking of poly(trimethylene carbonate) for elastomeric tissue engineering scaffolds[J]. Biomaterials, 2010,31(33):8696-8705.
- [10] Song Y, Wennink J W, Kamphuis M M, et al. Dynamic culturing of smooth muscle cells in tubular poly(trimethylene carbonate) scaffolds for vascular tissue engineering[J]. Tissue Engineering Part A, 2011,17(3-4):381-387.
- [11] Yang L, Li J, Zhang W, et al. The degradation of poly(trimethylene carbonate) implants: the role of molecular weight and enzymes[J]. Polymer Degradation and Stability, 2015,122:77-87.

(下转第 114 页)