

聚乙烯亚胺-肝素涂层改性聚氯乙烯与表征

李亮,魏端丽,曹南南,汪洋

武汉工程大学材料科学与工程学院,湖北 武汉 430074

摘要:为了改善医用聚氯乙烯材料的生物相容性和抗凝血性,采用新型肝素涂层技术对医用聚氯乙烯材料表面进行改性,研究了涂层中肝素的稳定性.利用聚乙烯亚胺-肝素结合的方法,将肝素涂层固定在医用聚氯乙烯材料表面.使用傅里叶红外光谱仪对其进行测试,绘制肝素钠和聚乙烯亚胺-肝素复合物的标准浓度曲线,通过分光光度法测定了医用聚氯乙烯材料表面肝素的含量,并计算肝素的脱落率.实验表明,在聚氯乙烯表面肝素与聚乙烯亚胺通过阴阳离子相互作用而结合,而且在聚氯乙烯面的肝素含量为 $944.1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$,浸泡在生理盐水中700 h后,肝素的释放速率先快后慢,最终趋于稳定,其表面肝素脱落率仅为0.78%.这说明聚乙烯亚胺-肝素涂层改性的聚氯乙烯材料具有良好的肝素稳定性与极低的脱落率.

关键词:抗凝血;脱落率;肝素

中图分类号:TM 344.1

文献标识码:A

doi:10.3969/j.issn.1674-2869.2014.05.008

0 引言

1953年人体心脏手术首次用到体外循环技术,后来心肺复苏、脏器移植治疗等方面都用到了该项技术^[1].然而,此项技术中存在着术后发生系统性炎症反应综合症、败血症等问题.这些现象主要是由体外循环管道的血液不相容性所引起的^[2-3].为了解决这个问题,大量的研究工作主要集中在改性材料,使其具有一定的抗凝血性和生物相容性.今年的研究表明:术后的全身炎症反应可以通过改善材料的血液相容性减轻,而防止血栓的形成可以通过提高材料的抗凝血性解决.肝素分子具有较好的抗凝血作用和血液相容性,是理想的生物型药品^[4-5].在材料改性方面有着重要的作用.肝素可以有效减少血栓的形成^[6-7],避开了直接向血液中注入肝素分子所带来的病变,手术的安全性得到了提高,具有实际意义.

通过聚乙烯亚胺-肝素涂层的方法对医用聚氯乙烯(PVC)管道进行了材料的改性处理.利用红外光谱检测技术判定了该方法的可行性,绘制了标准浓度肝素钠溶液的工作曲线和标准浓度聚乙烯亚胺-肝素(PEI-H)复合物的工作曲线,用双光束紫外可见分光光度计结合甲苯胺蓝的方法测定了新型材料的肝素分子脱落率,评价了此类涂层材料表面肝素分子的稳定性.

1 实验部分

1.1 聚乙烯亚胺-肝素结合

在无水乙醇(42.5 mL)中加入一定量质量分数为15%的聚乙烯亚胺(数均分子量约为7万)水溶液,少量戊二醛和1,1,2-三氟三氯乙烷1.25 mL;将医用聚氯乙烯管道均剪成15 cm长,一端封闭,另一端注入上述聚乙烯亚胺乙醇溶液,37℃水浴30 min后倒出余液,常温下干燥;待管道内壁彻底干燥后,向管道中注入1%(pH=1)肝素水溶液,37℃水浴30 min后倒出余液,真空常温下干燥后备用;依此步骤重复3次,得到改良PVC材料,干燥备用.

1.2 涂层管道内表面复合物相关测试

1.2.1 红外光谱测试 将结合涂层的PVC管道完全浸泡在无水乙醇中,使得含有涂层的PVC管道涂层完全洗脱,并且全部溶解,再取一定量纯的肝素钠溶解,分别取两种溶液利用红外光谱仪进行红外扫描光谱分析.

1.2.2 肝素标准曲线的制定 配制一系列浓度的标准肝素钠溶液,磷酸盐缓冲液(pH=7.4)为溶剂;分别向不同浓度的肝素钠溶液中加入0.2%NaCl的质量浓度为0.005%的甲苯胺蓝(TB)溶液,充分振摇10 min使其反应形成配合物.最后分别加入正己烷,超声5 min,使配合物分

收稿日期:2014-03-13

基金项目:湖北省自然科学基金(2012FFA021)

作者简介:李亮(1978-),男,湖北黄石人,教授,博士.研究方向:功能复合材料制备与应用.

离到有机层,分离在水相中的为未络合的甲苯胺蓝,分离,取下层水相于 630 nm 处测其吸光度;重复 3 次取平均值。

1.2.3 肝素结合表面肝素含量的测定 肝素结合表面肝素含量的测定分为两个部分:第一,在 221 nm 处测定管道表面涂层的 PEI-H 复合物的吸光度,涂层表面 PEI-H 复合物的含量,通过比较标准浓度 PEI-H 复合物工作曲线计算得到。第二,取一定量的聚乙烯亚胺与过量肝素反应,游离肝素含量利用甲苯胺蓝法测得,PEI-H 复合物中的肝素含量为反应前溶液中游离肝素的量与反应后溶液中游离肝素的量的差值。通过上述两步法计算即可得到表面肝素的含量。

1.3 肝素释放速率的测量

常温下,制备 PEI-H 复合物的浸提液。用双光束紫外可见分光光度计结合甲苯胺蓝法测定其在不同浸泡时间取样的吸光度,通过计算得到游离肝素的量,其与表面肝素含量的比值,即为肝素分子的释放速率。

2 结果与讨论

2.1 聚乙烯亚胺-肝素结合涂层 PVC 管道表面肝素的红外光谱表征

由于肝素量较少,难以直接表征医用 PVC 管道表面肝素的存在。在实验中将固定在 PVC 表面的肝素涂层用乙醇洗脱,再对洗脱液进行红外光谱测试。图 1 为纯肝素和聚乙烯亚胺-肝素复合物的红外光谱图。由图 1 可见,纯肝素与用乙醇洗脱的肝素涂层的红外光谱图很类似。这表明在我们的实验中,肝素涂层已经被成功的涂布在聚氯乙烯表面。这是因为肝素分子中含有许多带有负电荷的官能团,而聚乙烯亚胺在水中以聚合阳离子存在。因此通过阴阳离子相互作用,肝素分子能与聚乙烯亚胺相结合,从而被固定在医用聚氯乙烯材料表面。

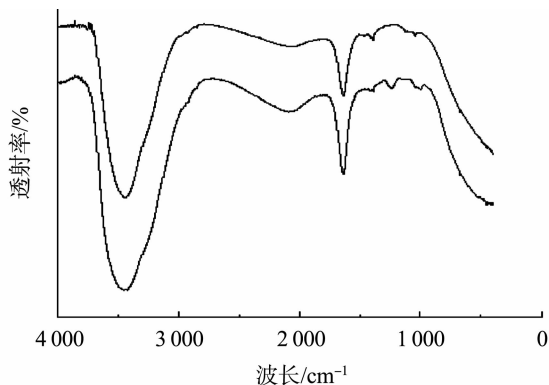


图 1 纯肝素和聚乙烯亚胺-肝素复合物的红外光谱图

Fig. 1 FT-IR of GSN and PEI-H

2.2 游离肝素钠浓度标准工作曲线

由于甲苯胺蓝在 631 nm 处有最大吸收峰,对甲苯胺蓝在 631 nm 处吸光度前、后差值进行比较,三次测试光度值后平均数值分别为 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.5, 0.9, 1.0, 0.9, 以所测吸光度值为纵坐标,肝素钠质量浓度为 0, 2, 4, 8, 10, 16, 20 mg/L 为横坐标,绘制标准曲线。见图 2。

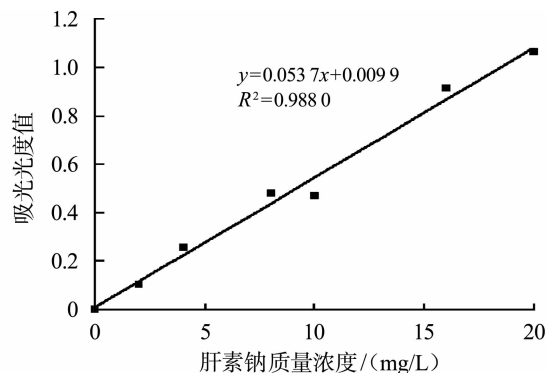


图 2 肝素钠标准曲线

Fig. 2 The standard curve of heparin-sodium

2.3 肝素结合表面肝素含量的测定

2.3.1 标准浓度聚乙烯亚胺-肝素复合物工作曲线 标准聚乙烯亚胺-肝素复合物溶液按照测试标准肝素浓度的方法,3 次测定光度值后平均数值分别为 0, 0.031, 0.103, 0.164, 0.213, 以所测吸光度为纵坐标,聚乙烯亚胺-肝素复合物质量浓度 0, 2, 4, 8, 10 mg/L 为横坐标,绘制标准曲线,见图 3。

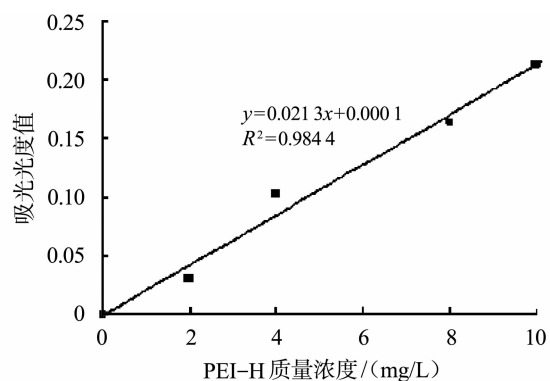


图 3 PEI-H 标准曲线

Fig. 3 The standard curve of PEI-H

用无水乙醇完全洗脱涂层表面的聚乙烯亚胺-肝素复合物,在 211 nm 处测定其吸光度为 2.586,比较标准浓度聚乙烯亚胺-肝素工作曲线,得到涂层表面聚乙烯亚胺-肝素复合物含量为 $1\,069.4\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。

2.3.2 聚乙烯亚胺-肝素复合物中肝素含量的测定 取少量的聚乙烯亚胺与过量肝素发生反

应,通过双光束紫外可见分光光度计结合甲苯胺蓝法测得反应前后溶液中游离肝素含量,其差值为 $125.2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$,即是 PEI-H 复合物中肝素的量.表面肝素的含量由 PEI-H 复合物中肝素含量即可求得,为 $944.1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$.

2.4 肝素释放速率的测定

甲苯胺蓝分光光度法测定结果表明,经过涂层处理的医用 PVC 材料表面肝素含量为 $944.1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$.在生理盐水中浸泡 700 h 后游离肝素的含量很小,PEI-H 涂层的 PVC 表面肝素脱落率仅为 0.78%.见图 4.

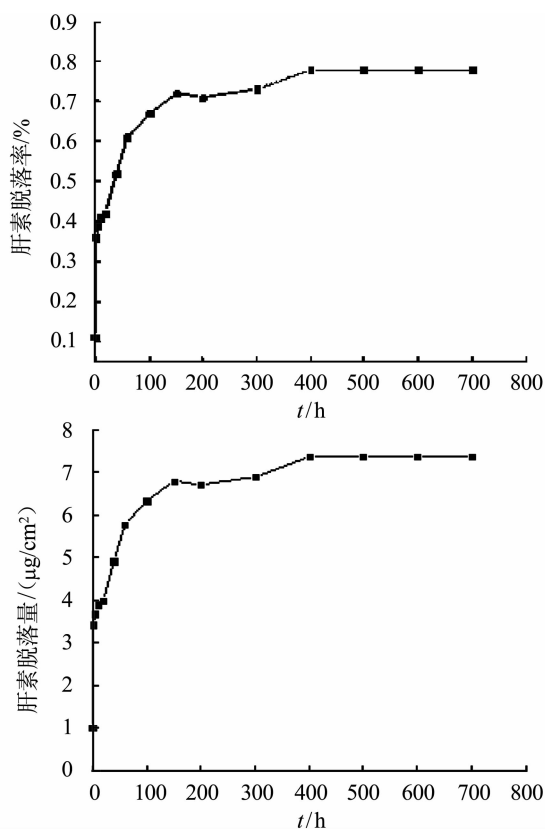


图 4 浸泡时间对肝素稳定性的影响

Fig. 4 Effect of soaking time on stability of heparin

3 结 语

我们先在医用聚氯乙烯材料表面引入阳离子聚乙烯亚胺,再通过其与肝素分子中的负电荷官能团发生阴阳离子相互作用,成功在医用聚氯乙烯表面涂布肝素化层.实验表明经过聚乙烯亚胺-

肝素涂层改性的聚氯乙烯材料在生理盐水中脱落的肝素量很小,有望在外科手术中得到一定应用.

致 谢

此研究受到湖北省自然科学基金资助,特表感谢.

参考文献:

- [1] APOSTOLAKIS E, KOLETIS E, DOUGENIS D. Succinct history of greek cardiac surgery[J]. Journal of Cardiac Surgery, 2008, 23(5): 499-502.
- [2] CREMER J, MARTIN M, REDL H, et al. Systemic inflammatory response syndrome after cardiac operations[J]. The Annals of Thoracic Surgery, 1996, 61(6): 1714-1720.
- [3] 杨军, 曹谊林, 刘伟. 组织工程化皮肤及临床应用研究进展[J]. 国外医学: 生物医学工程分册, 2004, 27(5): 274-277.
YANG J. Research progress in tissue-engineered skin and its clinical application[J]. Foreign Medical Sciences: Biomedical Engineering Fascicle, 2004, 27(5): 274-277.
- [4] KUTAY V, NOYAN T, OZCAN S, et al. Biocompatibility of heparin-coated cardiopulmonary bypass circuits in coronary patients with left ventricular dysfunction is superior to PMEA-coated circuits [J]. Journal of Cardiac Surgery, 2006, 21(6): 572-577.
- [5] RUBENS F D, MESANA T. The inflammatory response to cardiopulmonary bypass: a therapeutic overview[J]. Perfusion, 2004, 19(1): 5-12.
- [6] STEVENS K N J, ALDENHOFF Y B J, VAN DER VEEN F H, et al. Bioengineering of improved biomaterials coatings for extracorporeal circulation requires extended observation of blood-biomaterial Interaction under Flow [J]. Bio Med Research International, 2008: 29464.
- [7] HIOKI I, NISHIKAWA M, ONODA K, et al. A heparin-coated circuit maintains platelet aggregability in response to shear stress in an in vitro model of cardiopulmonary bypass[J]. Thrombosis and Haemostasis-Stuttgart, 1998, 80: 437-442.

Modification of polyvinyl chloride with polyethyleneimine-heparin coating and characterization

LI Liang, WEI Duan-li, CAO Nan-nan, WANG Yang

School of Materials Science and Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430074, China

Abstract: To improve the biological compatibility and antithrombogenicity of polyvinyl chloride (PVC) materials of medical grade, the polyethyleneimine-heparin (PEI-H) coating technique was used to modify the surface of PVC. The stability of heparin coated on the surface of PVC was studied. Fourier transform infrared spectroscopy was carried out to characterize the materials. The concentration of coated heparin was calculated and heparin releasing rate was evaluated by toluidine blue spectrophotometry. The results show that heparin and polyethyleneimine can be interacted with each other via the anion-cation interactions; the heparin concentration on PEI-H-coated PVC surface is $944.1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$; the heparin releasing ratio is only 0.78% after soaked in saline for 700 hours, which indicates that PEI-H-coated PVC materials have good heparin releasing stability and extremely low heparin releasing ratio.

Key words: anticoagulation; expulsion rate; heparin

本文编辑: 龚晓宁