

聚丙交酯 - 乙交酯降解研究进展 *

田虹^{1△} 樊瑜波²

(1 北京理工大学生命科学与技术学院 北京 100081; 2 北京航空航天大学生物与医学工程学院 北京 100191)

摘要 本文从分子量、孔径大小和孔径率、力学性能等方面介绍了研究聚丙交酯 - 乙交酯降解行为的方法,综述了聚丙交酯 - 乙交酯的化学水解机理和酶催化水解机理,影响聚丙交酯 - 乙交酯降解速率的内外因素,并比较了聚丙交酯 - 乙交酯体内外降解的异同,对未来聚丙交酯 - 乙交酯降解研究的方向提出了展望。

关键词 聚丙交酯 - 乙交酯 降解

中图分类号 R318,TQ46 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2011) 01-169-03

Advancement of degradation of poly(lactide-co-glycolic acid)*

TIAN Hong^{1△}, FAN Yu-bo²

(1 School of Life Science & Technology, Beijing Institute of Technology, 100081, Beijing, China;

2 School of Biology Science & Medical Engineering, Beijing University of Aeronautics & Astronautics, 100191, Beijing, China)

ABSTRACT: The method of measuring PLGA degradation is introduced from molecular weight, porous size, porous ratio and mechanical properties. It is reviewed that chemical hydrolysis mechanism and enzymatic hydrolysis mechanism of PLGA, the internal and external factors effect on the degradation rate of PLGA. Furthermore, it is compared the differences and similarities of PLGA degradation in vitro and in vivo. The way of PLGA degradation research is proposed.

Key words: PLGA; degradation

Chinese Library Classification(CLC): R318, TQ46 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273 (2011) 01-169-03

聚丙交酯 - 乙交酯 (poly(lactide-co-glycolic acid), PLGA) 是乳酸(lactide)和乙醇酸(glycolic acid)的共聚物,是目前研究较为深入的组织工程生物材料,主要应用于骨组织工程和药物缓释系统^[1-3]。其中,乳酸含量高的 PLGA 主要用来制作骨外科的移植体或是装置(骨小板、螺丝钉、钉销等),因为它们能在体内维持很长一段时间,而乙醇酸高含量的 PLGA 通常被用于药物缓释系统,特别是无定形态的复合物,因为它们比半结晶形态的复合物有更长时间的释放。本文主要就 PLGA 的降解规律综述如下。

1 PLGA 降解研究方法

1.1 分子量的变化

分子量的变化是从微观上把握 PLGA 的降解特征,往往比直接测量质量损失更能说明 PLGA 降解特性变化的原因。目前一般用黏度法测试分子量的变化。将 PLGA 溶于六氟异丙醇(HFIP), 25℃ 下用乌氏黏度计测定得到材料的特性黏度(η), 由 Mark-Houwink 方程: $[\eta] = 9.9 \times 10^{-4} M_n^{0.66}$, 计算得到 M_n (黏均分子量), 以时间为横坐标, $\ln(M_0/M_t \%)$ 为纵坐标做图, 可以得到 $\ln(M_0/M_t \%)$ 与时间 t 的函数关系, 从而得到 PLGA 的降解动力学方程。PLGA 的分子量还可采用凝胶渗透色谱仪测定。可以用氯仿为流动相, 在柱温 30℃ 下, 采用示差折光

检测器, 标样为已知分子量的系列聚苯乙烯, 用 GPC 专用软件绘制标准曲线, 并处理数据, 计算分子量和分子量分布。Duan T. Birnbaum 和 Lisa Brannon-peppas 认为, PLGA 在体外降解时, 不管其形态如何, 平均分子量的变化都遵循先快后慢的规律^[4]。

1.2 孔径大小和孔径率变化

随着 PLGA 的降解, 它的孔径大小和孔径率都会发生相应的变化^[5-6], 可以用密度法计算 PLGA 多孔支架的孔隙率或者用扫描电子显微镜观察。PLGA 降解到一定程度, 形状发生一定变形, 直到塌陷, PLGA 的各种物理性能也会发生相应变化。

1.3 力学性能的变化

随着 PLGA 的体外降解, 它的质量发生损耗, 分子量变小, 孔径大小和孔径率都会发生较大变化, 尤其到了降解后期, PLGA 会发生塌陷, 势必引起力学性能的变化。PLGA 材料植入动物体内降解时, 细胞活动也会对它的力学性能产生影响。成骨细胞接种到 PLGA 支架 24 小时后, 细胞就开始贴壁, 培养第 6 天, 大量细胞即附着于材料边缘并沿材料壁生长并且开始重叠, 成骨细胞分泌旺盛, 钙盐沉淀形成钙结节^[7]。对培养形成的钙结节进行能谱分析发现钙结节中钙的含量最多, 其次为磷, 此外还有氧、碳、钠和镁等元素。随着钙结节在 PLGA 多孔支架上的沉积和 PLGA 支架的降解, PLGA 的力学性能也可能会发

* 基金项目 国家自然科学基金资助项目 (10672015)

作者简介 田虹 (1982), 男, 工学硕士, 助理实验师, 主要研究方向: 骨组织工程与生物材料。

电话: 010-68914504, E-mail: tianhong1982@21cn.com

△ 通讯作者 田虹, E-mail: tianhong1982@21cn.com

(收稿日期: 2010-09-01 接受日期: 2010-09-23)

生不同于其在体外单纯水解时发生的变化。

通常研究 PLGA 的生物力学性能包括以下几方面:压缩强度、弯曲强度、剪切强度、抗拉强度、断裂伸长率等。可以利用力学传感器将 PLGA 的力学变化转换成其它信号传给力学测试机,进行量化计算。

2 PLGA 的降解机理

PLGA 的降解机理分为化学水解和酶催化水解^[8]。PLGA 不论在体内还是体外降解,都首先表现为加溶,整体结构被破坏,体积变小,强度降低,质量完整性下降和质量损失,这是宏观上的表现。微观上 PLGA 大分子主链中的酯键被水解断开,分子量下降,交联度降低,侧链发生断裂,当分子量小到可溶于水时,材料就会逐渐被破坏,直到完全降解。

酶一般认为在 PLGA 的后期降解中发挥作用,酯酶促进聚酯分解,水解酶加快 PLGA 水解的过程。另外,自由基特别是氢氧自由基近年来引起人们的关注,它们具有高活性,聚集在 PLGA 的表面和附近会导致材料的损伤和降解^[9]。

PLGA 的降解产物是乳酸和乙醇酸,具有很好的水溶性,比它们的聚合物酸性大,如果内部的降解产物不易扩散到外部环境中,会引起材料内部 pH 值局部降低,引发“自催化效应”,使 PLGA 内部降解快于表面。

3 影响 PLGA 降解速率的因素

3.1 影响 PLGA 降解速率的内部因素

3.1.1 PLGA 中 PLA 与 PGA 的相对含量比例 通过改变共聚物中乳酸和乙醇酸的比率,可以有效地改变它的结晶结构、疏水—亲水性和生物力学性能,并控制其降解速率。而且 PLGA 中 PGA 的组分含量越大,下降速率越快。Lichun Lu 等^[10]研究 PLGA85:15 和 50:50 两种支架泡沫材料在体内和体外的降解发现,PLGA85:15 的降解半衰期是 PLGA50:50 的三倍。原因可能是 PGA 是亲水性的,降解速率快,它在 PLGA 共聚物中占的比例越大,起的主导作用也越大。

3.1.2 PLGA 的分子量 由于酯键的随意水解分离,聚酯一般是分子量减少,然后才出现重量下降。可以说 PLGA 与水或其它降解介质一接触,分子量就开始发生变化,一段时间后由于水解产生低聚物的扩散作用引起 PLGA 重量的改变。

3.1.3 结晶性和无定形 PLGA 由 PLA 和 PGA 共聚而成,但结晶性对它们的降解速度影响不同。P (l-LA) 具有结晶性,其降解比无定形的 P (dl-LA) 慢,但结晶性的 PGA 却会因为强亲水性而使降解速度加快。通过共聚的方法可以改变 PLGA 的结晶性和亲水性,以达到调节材料降解速率的目的。例如,PLGA 在乙交酯单元含量为 25%-75% 时为无定形状态,含量为 50% 时降解速度最快。

3.1.4 孔径大小和孔径率 一定范围内,孔径越大,孔径率越丰富,越有利于材料与外部环境的物质和能量的交换,能够加快材料的降解速率。另外,PLGA 与细胞在体外混合培养或将 PLGA 植入动物体内时,孔径大小和孔径率通过影响细胞与材料之间的作用来影响材料的降解速率。经研究发现聚合物要为细胞和材料之间相互作用提供足够的表面积,为细胞外基质提供充分的空间,材料的孔径率至少要达到 90% 以上。类骨组织

可以通过将种子细胞种植在孔径大小范围在 150-710 μm 的材料支架上实现^[11]。

3.1.5 链化程度 PLGA 的链化程度越高,降解初期速率越快,这是因为链化程度高,分子链长,受到水分子攻击点越多,平均分子量损失越大,降解越快。

3.2 影响 PLGA 降解速率的外部因素

3.2.1 pH 值和降解介质的缓冲能力 pH 值是影响 PLGA 降解速率的一个最重要的因素。将 PLGA75:25 的支架材料分别放入 pH 为 5.0、6.4 和 7.4 的水解液中,结果发现,浸在 pH 为 6.4 和 7.4 的水解液中的支架材料经过 25 周形态没有发生变化,而浸在 pH 为 5.0 的水解液中的支架材料经过 18 周后发生塌陷。这说明酸性环境可以加速 PLGA 的降解。降解介质的缓冲能力对 PLGA 的降解速率也有一定影响,体内环境相对稳定,缓冲能力较强,可以快速中和 PLGA 降解产生的酸性物质,酸度变化不大。体外实验时,如果长期不换降解液,可以导致液体变酸,对 PLGA 产生酸促酶解作用,加快降解^[12]。

3.2.2 酶 酶是生物体进行新陈代谢的催化剂,具有高效性、专一性等特点。蛋白激酶 K 优先降解 L-L 酯键,而不是 D-D 酯键^[13]。另外,PLGA 在体外的降解为水解,在体内酶通常是加快了水解过程,或者是自由基附着在 PLGA 表面和附近,对 PLGA 造成损害和降解,有关这方面的作用机制还不太清楚。

3.2.3 细胞的作用 目前对 PLGA 的体外降解规律中并未考虑细胞活性对其降解的影响,Holy^[14]等对一种新型 PLGA (75/25) 支架材料在体外的降解研究发现,成纤维细胞可以引起支架收缩,这些生物反应将强烈影响聚合物的降解模式。

3.2.4 添加剂 PLGA 在部分骨折内固定病人出现无菌性炎症反应,有认为与 PLGA 在体内生物降解产生酸性产物导致体内局部环境 pH 值下降有关。林建华^[15]在 50:50 PLA-PGA 中添加不同体积的碳酸钙和碳酸氢钠,试图代偿降解过程中 pH 值的变化,结果发现碳酸钙可以明显减慢 PLGA 分子量和质量的降解速度,而碳酸氢钠组随着碳酸氢钠体积增加,其降解速度明显高于对照组和碳酸钙组。

3.2.5 灭菌方法 PLGA 在植入动物体内时或者与细胞在体外培养时,必须经过消毒灭菌,否则会感染机体组织或细胞,导致实验失败。秦延武^[16]研究了四种灭菌方法对 PLGA 纤维的降解性和力学特性的影响,这四种灭菌方法分别是:环氧乙烷、紫外线、75%酒精浸泡和 γ 射线照射。研究结果表明,环氧乙烷和酒精浸泡对支架降解性及力学特性的影响均较小,是理想的灭菌方法。

除了以上介绍的影响因素,影响 PLGA 降解速率的内部因素还有形状、尺寸、大小、材料相态和共聚物中乳酸单元的异构特性,外部因素有植入体内的部位、离子强度、温度、植入物的应力状态和宿主动物类型及年龄等。

4 PLGA 体内体外降解的比较

PLGA 体内体外降解既有相同点,也有不同点。很多研究表明 PLGA 在生物体内的降解速率要快于体外。将 80:20 的 PLGA 制作成输尿管支架材料植入大鼠脊柱两侧,并与体外浸泡于流动的尿液中的 PLGA 输尿管支架材料对比发现,PLGA 在 6-7 周可降解为随尿液流动的细小颗粒,体内的降解速率要

略快于体外。原因除了体液对 PLGA 的水解作用外,PLGA 还受到多种生物分子的作用,例如 PLGA 刚植入大鼠体内 2 周时,能观察到植入物与组织界面有炎症细胞浸润,4 周后炎症细胞减少,巨噬细胞和多核巨细胞增多,这些生物分子均可加速 PLGA 的降解。另外,PLGA 支架材料植入动物体内,随着降解酸性产物的增多,材料周围环境 PH 值下降,会引发材料的自催化效应,也能加快降解速率。

5 结语

PLGA 由于其具有可调控的降解性能和较好的生物相容性在组织工程上得到了广泛的应用,但其降解机理及影响因素的研究仍然处于初步阶段,严重影响了 PLGA 的进一步应用。未来 PLGA 的降解行为研究将更多集中在生物体因素对其在体内体外降解影响的研究、数学建模模拟多因素对 PLGA 降解的影响等方面,这些有待于更深入系统的研究和开发。

参考文献(References)

- [1] Perron Josee K, Naguib Hani E, Daka Joseph, et al. A study on the effect of degradation media on the physical and mechanical properties of porous PLGA 85/15 scaffolds [J]. Journal of Biomedical Materials Research, 2009, 91(2): 876-886
- [2] Habraken W, Wolke J, Mikos A, et al. PLGA microsphere/calcium phosphate cement composites for tissue engineering: In vitro release and degradation characteristics [J]. Journal of Biomaterials Science, 2008, 19(9): 1171-1188
- [3] Jaklenec A, Hinckfuss A, Bilgen B, et al. Sequential release of bioactive IGF-I and TGF- β from PLGA microsphere-based scaffolds[J]. Biomaterials, 2008, 29(10): 1518-1525
- [4] Li Jin, Jiang Guo-qiang, Ding Fu-xin, et al. Effects of molecular weight of blocks on in vitro degradation and drug release performance of PLGA-mPEG microparticle[J]. Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities, 2008, 22(5): 785-790
- [5] Baker C, Southgate Jennifer, Cameron Neil R. The relationship between the mechanical properties and cell behaviour on PLGA and PCL scaffolds for bladder tissue engineering [J]. Biomaterials, 2009, 30(7): 1321-1328
- [6] Zigang Ge, Xian Tian, Boon Chin Heng, et al. Histological evaluation of osteogenesis of 3D-printed poly-lactic-co-glycolic acid (PLGA) scaffolds in a rabbit model [J]. Biomedical Materials, 2009, 4 (2): 17-21
- [7] Messias A, Aragonés A, Rezende Duek, et al. PLGA-hydroxyapatite composite scaffolds for osteoblastic-like cells [J]. Key Engineering Materials, 2009, 396(4): 461-464
- [8] Lin Sun, Zhou Shao-bing, Wang Wei-jia, et al. Preparation and characterization of porous biodegradable microspheres used for controlled protein delivery [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2009, 345(1): 173-181
- [9] Blanco T, Mantalaris Athanasios, Bismarck Alexander, et al. The development of a three-dimensional scaffold for ex vivo biomimicry of human acute myeloid leukaemia [J]. Biomaterials, 2010, 31 (8): 2243-2251
- [10] Lichun Lu, Susan J, Michelle D, et al. In vitro and in vivo degradation of porous poly(DL-lactic-co-glycolic acid) foams[J]. Biomaterials, 2000, 21(4): 1837-1845
- [11] Jung Kyu-park, Junseok Yeom, Eun Ju-oh, et al. Guided bone regeneration by poly(lactic-co-glycolic acid) grafted hyaluronic acid bi-layer films for periodontal barrier applications[J]. Biomaterials, 2009, 5(9): 3394-3403
- [12] Li Jin, Jiang Guo-qiang, Ding Fu-xin, et al. The effect of pH on the polymer degradation and drug release from PLGA-mPEG microparticles[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2008, 109(1): 475-482
- [13] Suming Li, Henri Garreau, Michel Vert, et al. Enzymatic degradation of polylactide stereocopolymers with predominant D-lactyl. Polym Degrad Stab, 2001,71(1): 61-67
- [14] Holy C, Dang S, Shoichet M, et al. In vitro degradation of a novel poly(lactide-co-glycolide)75/25 foam[J]. Biomaterials, 1999, 20(6): 1177-1185
- [15] 林建华. 不同体积碱性盐对 50:50 聚乳酸-聚乙二醇酸体外降解的影响[J]. 福建医科大学学报, 1998, 32(4): 347-352
Lin Jian-hua. The effects of different volume basic salts on degradation in vitro of 50:50 polylactic acid-polyglycolic acid biodegradable implants [J]. Journal of Fujian Medical University, 1998, 3 (4): 347-352(in Chinese)
- [16] 秦延武. 不同灭菌法对组织工程支架降解性和力学特性的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2002, 24(12): 747-749
Qin Yan-wu. Effect of different sterilization techniques on degradation and mechanical properties of tissue engineering scaffolds [J]. Chin J Phys Med Rehabit, 2002, 24(12): 747-749(in Chinese)