

PLGA 组织工程支架的构建及降解行为研究*

罗丙红, 全大萍, 廖凯荣, 卢泽俭
(中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 用本体开环聚合方式合成不同摩尔比的 PLGA ($n(dL\text{-}LA)/n(GA)$ 分别为 85/15, 75/25, 65/35, 55/45) 共聚物。¹H NMR 和溶解试验结果表明, 共聚物中各链段呈无规分布, GA 序列长度在 1.3~1.8 之间。通过溶液浇铸-低热模压-粒子沥滤技术构建了高度多孔的 PLGA 组织工程支架, 考察了它们在 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲溶液中的降解行为。结果表明: 随着水解的进行, PLGA 的特性粘度及构建的多孔支架的压缩强度迅速下降, 共聚物中 GA 组分含量越大, 下降的速率越快, 与之对应的多孔支架的多孔结构形态保持时间也随共聚物中 GA 组分含量增加而下降, 分别为 8 周 ($n(dL\text{-}LA)/n(GA)$ 分别为 85/15 和 75/25)、4 周 ($n(dL\text{-}LA)/n(GA)$ 为 65/35) 和 2 周 ($n(dL\text{-}LA)/n(GA)$ 为 55/45); 但质量损失速率比 $[\eta]$ 下降速率慢得多; 多孔支架的降解速率慢于薄膜的降解速率。

关键词: 组织工程; 聚(dL -丙交酯/乙交酯); 多孔支架; 体外降解

中图分类号: O631.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2003) 02-0046-05

组织工程细胞支架材料是组织工程研究中的一个重点也是难点^[1]。目前研究和应用最多的支架材料主要是具有良好的生物相容性、可降解吸收性及优良的力学性能的聚丙交酯 (PLA)、聚乙交酯 (PGA) 以及它们的共聚物 (PLGA) 等脂肪族聚酯^[2,3]。

有关用 PLGA 构建组织工程支架及其降解行为的研究已有许多报道。Lu 等^[4]采用溶液浇铸-粒子沥滤法制备出 PLGA 多孔泡沫, 研究了两种组成 ($n(dL\text{-}LA)/n(GA)$ 分别为 85/15, 50/50) 和不同孔径的多孔泡沫体外降解规律; Holy 等^[5]研究了 PLGA 75/25 多孔泡沫在不同 pH 值的降解介质中的体外降解规律; 王身国等^[6,7]研究了致孔剂用量和粒径以及共聚物组成等因素对聚(L -丙交酯/乙交酯, $L\text{-}LA/GA$) 共聚物多孔支架孔隙和孔隙率的影响。

上述研究中多孔支架的制备方法均沿用了 Mikos 技术^[2], 但该技术的缺陷是支架材料的厚度不大 (1 000 μm 以内), 支架底面孔洞易封闭, 也难以制备形态结构比较复杂的多孔支架。

本文改进了 Mikos 技术, 在滤除致孔剂之前通过对聚合物/致孔剂复合物进行模压, 可以制备形态结构各异、厚度容易调控的多孔支架; 在此基础上, 研究了用不同化学组成的 PLGA 构建的多孔支架的体外降解行为。

1 实验部分

1.1 材 料

试验中所用 PLGA 共聚物均由辛酸亚锡催化, 单体丙交酯 ($dL\text{-}LA$) 和乙交酯 (GA) 在 160 $^{\circ}\text{C}$ 本体开环共聚合而得。不同组成 $dL\text{-}LA/GA$ 摩尔比 ($n(dL\text{-}LA)/n(GA)$ 分别为 85/15, 75/25, 65/35, 55/45) 的 PLGA 所对应的 $[\eta]$ 分别为 0.941 9, 0.960 3, 1.933 7, 0.440 4 dL/g, 反应时间 24 h。

1.2 支架的构建

薄膜: PLGA 溶解于氯仿中, 聚合物浓度 ρ 为 10%, 浇铸成膜, 试样尺寸 10 mm \times 10 mm \times 0.5 mm, 真空干燥备用。

多孔支架: 将过筛的 NaCl 颗粒 (125~200 μm) 加入到 PLGA 的氯仿溶液中 ($m(\text{NaCl}):m(\text{PLGA})=8:1$), 共混物经超声波分散后, 浇铸成膜, 溶剂挥发 48 h, 残留溶剂真空除去。再经低热模压成直径为 13 mm、厚度为 (4.0 ± 0.5) mm 的圆片。圆片置于 25 $^{\circ}\text{C}$ 蒸馏水中浸泡 72 h, 每 6 h 换一次水, 得多孔泡沫支架, 真空干燥备用。用密度法计算多孔支架的孔隙率为 82% 左右。

1.3 体外降解

称量后的试样完全浸泡在 $(37\pm1.0)^{\circ}\text{C}$ 的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲溶液 ($\text{pH}=7.2$) 中进行水

* 收稿日期: 2002-10-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30270393); 广东省“十五”重点攻关资助项目 (A302020201); 广州市科技攻关资助项目 (20021E1-E0031)

作者简介: 罗丙红 (1975 年生), 女, 博士研究生; 通讯联系人: 全大萍; E-mail: cesqdp@zsu.edu.cn

解,磷酸盐缓冲介质每周更换1次。定期取样测试性能。

1.4 性能测试

试样形貌:用日立 S-520 型扫描电子显微镜观察,观察前经喷金处理。

特性粘度 $[\eta]$:乌氏粘度计测定。溶剂为氯仿,温度 $(25 \pm 0.1)^\circ\text{C}$,根据“一点法”公式计算 PLGA 的 $[\eta]$ 。

$$[\eta] = \frac{[2(\eta_{sp} - \ln \eta_r)]^{1/2}}{c}$$

质量变化:将试样干燥至恒重,准确称量,按式 $\frac{w_t}{w_0} \times 100\%$ 计算质量保留率,式中, w_0 和 w_t 分别为试样降解前后的质量。

压缩强度:仪器为 Hounsfield test equipment (HTE) 材料试验机。测试条件为加载速度 2.00 mm/min , 25°C 下进行,测量湿态试样受力变形达 2 mm 时的压缩强度。

DSC: TA instruments DSC 2910, N_2 气氛 (40 mL/min)。试样质量 $5 \sim 8 \text{ mg}$,升温速率 10°C/min ,扫描范围 $-20 \sim 80^\circ\text{C}$ 。

2 结果与讨论

2.1 PLGA 共聚物组成对共聚物性质及降解速率的影响

所合成的 PLGA 共聚物在氯仿中的溶解性能及一些参数见表 1。从表中可以看出,随着 GA 组分摩尔比的增加,共聚物的玻璃化转变温度 (T_g) 逐渐下降,但在所有组成范围内,未见聚合物结晶。经 $^1\text{H NMR}$ 测定^[8], PLGA 共聚物中 GA 序列长度 (L_c) 在 $1.3 \sim 1.8$ 范围内,表明在本聚合条件下, PLGA 共聚物中 GA 和 LA 序列基本上呈无规分布。因此当 GA 含量达到 45% 的摩尔比时,在加热条件下,共聚物能溶于氯仿溶液中。

表 1 PLGA 共聚物的性能

Tab.1 The properties of the poly (dl-lactide-co-glycolide) copolymers

$\frac{n(\text{dl-LA})}{n(\text{GA})}$	溶解性 (CH_2Cl_2)	$[\eta]$ ($\text{dL} \cdot \text{g}^{-1}$)	T_g $^\circ\text{C}$	L_c
85/15	易溶	0.941 9	55.3	1.33
75/25	易溶	0.960 3	53.2	1.51
65/35	加热溶	1.933 7	51.9	1.85
55/45	加热溶	0.440 4	50.4	—

共聚物组成对其降解速率的影响见图 1 和图 2。从图 1 看出,不同组成的共聚物在降解的前 4

周,特性粘度迅速下降,其对数与降解时间基本上符合一级降解规律,不同组成的 PLGA ($n(\text{dl-LA})/n(\text{GA})$) 分别为 85/15, 75/25, 65/35 共聚物薄膜的降解速率常数 $k(\text{周}^{-1})$ 分别为 0.43, 0.47 和 0.63,从结果可以看出共聚物中 GA 含量越高,共聚物的降解速率越快。不同组成 PLGA ($n(\text{dl-LA})/n(\text{GA})$) 分别为 85/15, 75/25 和 65/35 粘度下降半衰期分别为 1.4, 1.3 和 1.2 周。

在降解过程中, PLGA 的质量损失与特性粘度下降的速率相比滞后很多,前 2 周所有组成共聚物质量损失小于 5%, 4 周后不同组成共聚物 ($n(\text{dl-LA})/n(\text{GA})$) 分别为 85/15, 75/25 和 65/35 质量损失分别为 10%, 10% 和 13%。表明 PLGA 共聚物的降解符合本体水解的特征。

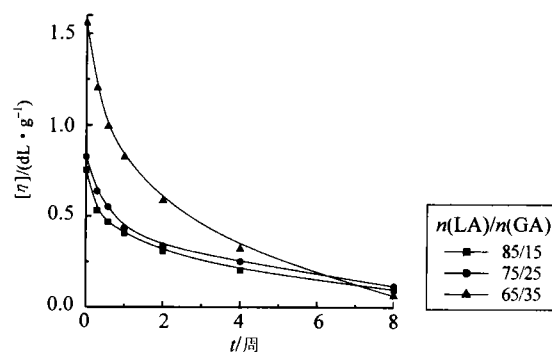


图 1 薄膜的 $[\eta]$ 随降解时间的变化

Fig.1 Variations of $[\eta]$ of PLGA films with degradation time

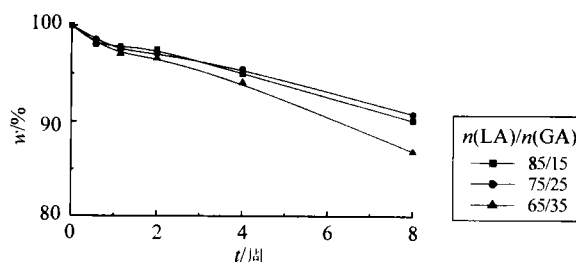


图 2 薄膜的质量随降解时间的变化

Fig.1 Variations of mass retention of PLGA films with degradation time

2.2 PLGA 多孔支架的降解行为

与 Mikos 所用的方法相比,采用溶液浇铸-低热模压-粒子沥滤技术制备的 PLGA 多孔支架,其突出特点是支架材料的形状和尺寸可以由模具自由调节。在致孔剂滤出前,引入模压成形的步骤,可使致孔剂的用量由原来的最大 85% 的质量比增加到 90% 以上,经过模压后,制备的多孔支架仍具有比较好的强度,最高可达 2 MPa 。

采用上述技术制备的多孔支架孔隙率可达

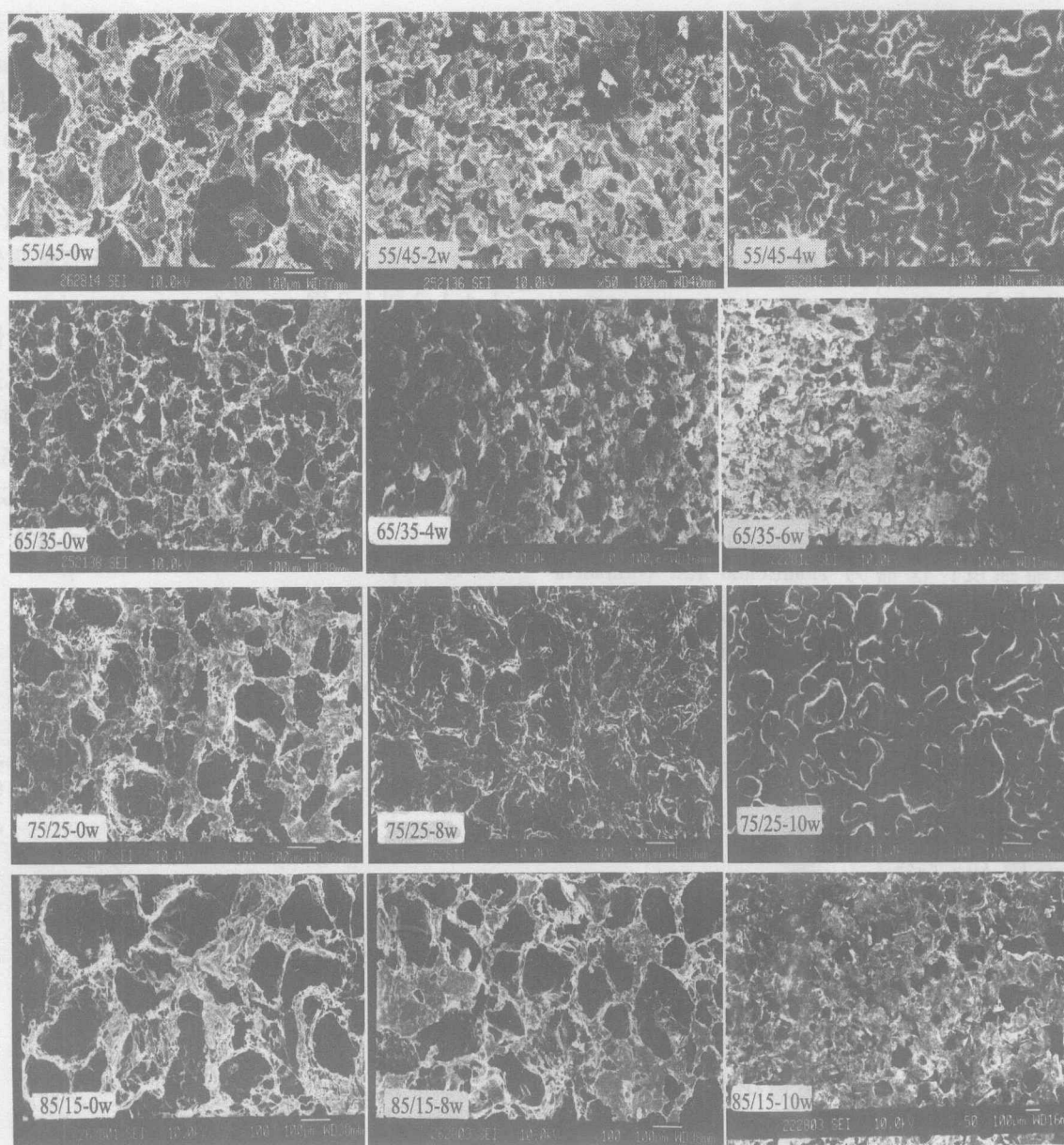


图 3 不同组成的 PLGA 多孔支架在 Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 缓冲溶液中降解不同时间后形貌结构的 SEM 照片

Fig.3 The SEM micrographs of the porous PLGA scaffolds with different compositions after aging in Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 buffered solution for different times

80%以上,其内部结构如图3,不同组成PLGA多孔支架的初始形貌其孔洞相互连通,孔径大小分布均匀。

从图3可见: $n(\text{dl-LA})/n(\text{GA}) = 85/15$ (简称PLGA 85/15,下同)和PLGA 75/25两组支架的形貌在降解的前8周基本保持不变,支架内部孔洞相互连通;但两组支架材料的 $[\eta]$ (图4(a))和压缩强度(图4(c))在降解的前8周均迅速下降。由于PLGA具有本体水解的特征,其质量损失仅为5%左右(图4(b)),因此,多孔支架虽然降解明显,但仍保持较稳定的外形,这对于组织工程中细胞在支架内部的生长繁殖甚为有利。降解10周后,PLGA 85/15的多孔支架孔洞减少,PLGA 75/25的支架材料表面聚

合物已部分融合变形,孔洞消失,材料降解明显。由于支架体积的收缩,压缩强度在一段时间内保持不变,但特性粘度的下降趋于缓慢,质量损失速率加快。

PLGA 65/35在降解的前4周能保持较好的多孔结构,但在该段时间支架材料的 $[\eta]$ 和压缩强度下降明显。6周时支架的孔洞有所减少,由于聚合物降解发生形变,多孔支架的孔壁明显变厚。

PLGA 55/45在水解前2周保持较好的孔洞结构,4周收缩致密。相应的 $[\eta]$ 、压缩强度和质量损失也比其它组分要快得多。

上述结果也表明:PLGA的化学组成对多孔支架的形态结构和降解行为都有显著影响。共聚物中

GA 组分含量增加, 共聚物的降解速率增大, 多孔支架的形态结构保持时间缩短。这是因为 PGA 链段比 PLA 链段的亲水性强, 更容易水解^[9]。因此, 可根据使用要求选择合适组成的 PLGA 构建不同性能的多孔支架。

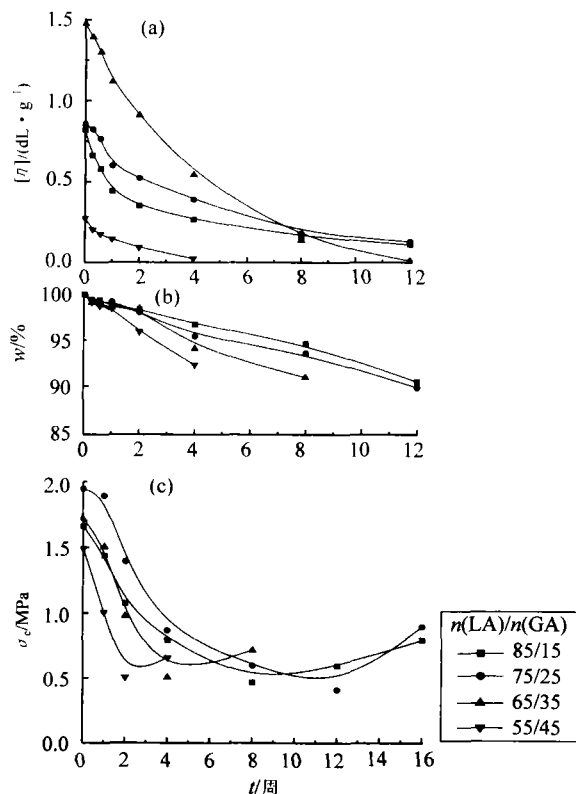


图4 多孔 PLGA 支架的各参数随降解时间的变化

Fig.4 Variations of parameters of porous PLGA scaffolds with degradation time

(a) $[\eta]$; (b) 质量分数; (c) 压缩强度

图4分别为不同组成 PLGA 多孔支架的 $[\eta]$ 、质量分数和压缩强度随降解时间的变化。与薄膜的降解相比, PLGA 多孔支架的 $[\eta]$ 的对数与降解时间也基本上符合一级降解规律, 不同组成 PLGA ($n(dL-LA)/n(GA)$) 分别为 85/15, 75/25, 65/35 和 55/45 多孔支架的降解速率常数 $k/\text{周}^{-1}$ 分别为 0.33, 0.35, 0.49 和 0.63, $[\eta]$ 下降半衰期分别为 2.3, 2.2, 1.9 和 1.0 周。降解 4 周多孔支架的质量分数损失分别为 3.2%, 4.2%, 5.3% 和 7.7%。

从图 4(c) 可观察到, 水解前期 (4 周), 多孔支架的压缩强度衰减快, 后期变化不大, 主要是由于后期伴随支架塌陷收缩, 密度增大, 使其压缩强度变化很小甚至有所增加。

PLGA 共聚物多孔支架的降解规律与薄膜的降解规律一致, 但多孔支架的降解速率要慢于致密薄膜的降解速率。由于 PLGA 的降解属于酸自动催化本体水解, 在降解过程中, 酸性物质积累越多, 自动催化作用越明显, PLGA 降解速率越快。与致密薄膜的形貌相比, 多孔支架多孔形貌结构有利于 PLGA 在降解过程中所产生的低分子量酸性物质的排出, 故其降解速率要慢于致密薄膜的降解速率。

参考文献:

- [1] LANGER R. Tissue engineering[J]. Science, 1993, 260: 920 - 926.
- [2] MIKOS A G, LYMAN M D, FREED L E, et al. Wetting of poly(L-lactic acid) and poly(DL-lactic-co-glycolic acid) foams for tissue culture[J]. Biomaterials, 1994, 15: 55 - 58.
- [3] HOLY C E, CHENG C, DAVIS J E, et al. Optimizing the sterilization of PLGA scaffolds for use in tissue engineering[J]. Biomaterials, 2001, 22: 25 - 31.
- [4] LU L, PETER S J, LYMAN M D, et al. In vitro and in vivo degradation of porous poly(DL-lactic-co-glycolic acid) foams[J]. Biomaterials, 2000, 21: 1837 - 1845.
- [5] HOLY C E, DANG S M, DAVIES J E, et al. In vitro degradation of a novel poly(lactide-co-glycolide) 75/25 foam[J]. Biomaterials, 1999, 20: 1177 - 1185.
- [6] 蔡晴, 贝建中, 王身国, 等. 乙交酯/丙交酯共聚物的体内外降解行为及生物相容性研究[J]. 功能高分子学报, 2000, 13(3): 249 - 254.
- [7] 石桂欣, 王身国, 贝建中. 聚乳酸与聚乳酸-羟基乙酸多孔细胞支架的制备及孔隙的表征[J]. 功能高分子学报, 2001, 14(1): 7 - 11.
- [8] JANUSZ K. Microstructure analysis of poly[(L, L-lactide)-co-(glycolide)] by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy[J]. Polymer, 1996, 37(2): 201 - 203.
- [9] REED A M, GILDING D K. Biodegradable polymers for use in surgery-poly(glycolic)/poly(lactic acid) homo and copolymers. 2. In vitro degradation[J]. Polymer, 1981, 22: 494 - 498.

(下转第 55 页)

The Chemical Constituents of *Heliicteres angustifolia* Linn.

GUO Xin-dong, AN Lin-kun, XI Di, MA Lin, GU Lian-quan

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Six known compounds: cucurbitacin E, tricin, 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone, urslic acid, sitosteryl β -*D*-glucoside and ergosterol were isolated from the roots of *Heliicteres angustifolia* Linn. Their structures were identified by NMR, MS and IR spectroscopic methods and by comparison with the data of literatures.

Key words: *Heliicteres angustifolia* Linn.; cucurbitacin E; tricin

~~~~~  
(上接第 49 页)

## The Fabrication and Degradation of PLGA Scaffolds for Tissue Engineering

LUO Bing-hong, QUAN Da-ping, LIAO Kai-rong, LU Ze-jian

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

**Abstract:** Poly (*dl*-lactide-co-glycolide)s (PLGA) with different compositions were prepared by bulk ring-opening copolymerization of *dl*-lactide and glycolide.  $^1\text{H}$  NMR results and solubility tests indicated that the comonomers were basically randomly distributed in the copolymer chains, and the average sequence length of glycolide was in the range of 1.3 to 1.8, depending on the feed ratio of the comonomers. Tissue engineering scaffolds with high porosity were fabricated using these PLGAs by means of a modified solvent-casting/compression-molding/particulate-leaching technique, and their degradation behaviors in  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ - $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  buffer solution ( $\text{pH} = 7.2$ ) at  $37^\circ\text{C}$  were studied. Both the intrinsic viscosity of PLGA copolymers and the compression strength of the scaffolds decreased very fast and became more significant as the glycolide component in the copolymers increased. The maintainable time of the morphology and structure of the scaffolds also decreased with the increasing of the glycolide component in the copolymers, with 8 weeks for PLGA 85/15 and 75/25, 4 weeks for PLGA 63/35, and 2 weeks for PLGA 55/45 respectively. Compared with the viscosity decreasing rates of the copolymers, the mass decreasing rates were slower. The degradation rates of the scaffolds were lower than those of the corresponding copolymer films.

**Key words:** tissue engineering; poly (*dl*-lactide-co-glycolide); porous scaffold; *in vitro* degradation