

可降解镁合金表面载药涂层的制备和性能*

李 绮¹ 汤 岩^{1,2} 谭丽丽² 颜廷亭² 张炳春² 杨 柯²

1. 辽宁大学化学学院 沈阳 110036

2. 中国科学院金属研究所 沈阳 110016

摘 要 在可降解 AZ31B 镁合金心血管支架表面成功制备了携带雷帕霉素的聚乳酸-聚三亚甲基碳酸酯 (PLA-PTMC) 共聚物涂层, 评价了涂层的表面形貌、降解性能、血液相容性和药物释放性能。结果表明, PLA-PTMC 共聚物作为载药涂层具有良好的柔韧性, 表面均匀、光滑, 降解周期超过 1 个月, 血液相容性良好。涂层具有缓释雷帕霉素的功能, 释药周期超过 1 个月, 可在内膜增生期内有效抑制支架植入后再狭窄的发生, 满足冠脉支架表面载药层的使用要求。

关键词 有机高分子材料, 药物洗脱支架, 载药涂层, 聚乳酸-聚三亚甲基碳酸酯共聚物

分类号 TB324

文章编号 1005-3093(2009)03-0300-05

Preparation and properties of drug-loaded coating on biodegradable magnesium alloy

LI Qi^{1**} TANG Yan^{1,2} TAN Lili² YAN Tingting² ZHANG Bingchun² YANG Ke²

1.School of Chemistry, Liaoning University, Shenyang 110036

2.Institute of Metal Research, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016

* Supported by Ministry of Education Natural Science Foundation of Liaoning No.2008222 and The Foundations From Chinese Academy of Sciences No.KGCX2-YW-207 and No.O7A7721171.

Manuscript received November 28, 2008; in revised form January 7, 2009.

** To whom correspondence should be addressed, Tel:(024)24909211, E-mail:zyz91@sohu.com

ABSTRACT The sirolimus-releasing PLA-PTMC coating was successfully prepared on the biodegradable AZ31B magnesium alloy coronary stents. The surface morphology, degradability, biocompatibility and drug release characteristic of the coating were also evaluated. The results indicated that PLA-PTMC used as the drug eluting coating showed good flexibility with smooth and uniform surface, the degradation period was over one month, and the biocompatibility was excellent. The drug-loaded coating had releasing function of sirolimus and the releasing time was more than one month, which could effectively inhibit the restenosis during the period of intima hypertrophy. The sirolimus-releasing PLA-PTMC coating showed potential to be used as a new type of coronary stent coating.

KEY WORDS organic polymer materials, drug-eluting coronary stent, drug-loaded coating, polylactic acid-polytrimethylene carbonate copolymers

临床实验表明, 药物洗脱支架 (drug eluting stent, DES) 能将药物直接输送到受损血管部位, 降低血管术后再狭窄的发生, 并具有靶向性治疗的特点, 降低了药物毒副作用, 能够有效治疗心血管疾病, 具有良好的应用前景^[1-3]。目前, 药物洗脱支架植入术已经成为治疗心血管病的主要手段, 金属表面聚合物

携带药物为药物洗脱支架中的一种。由于其药物释放浓度及释放周期可以控制而受到人们的青睐, 药物洗脱支架以聚合物涂层为基础, 因而支架表面涂层聚合物的研究成为其发展和应用的关键^[4-7]。

支架表面涂层用聚合物材料除了应具有良好的血液相容性外, 还应与金属有良好的结合力以及具有稳定的生物性能。作为一种熟知的可生物降解吸收材料, 聚丙交酯 (PLA) 已经广泛地应用于医疗领域^[8]。但是 PLA 的疏水性、脆性大、柔韧性差, 且具有体降解的特性, 在降解过程中其体膨胀行为易导致药物释放初期的暴释现象, 破坏了涂层与基体的结合性能。聚三亚甲基碳酸酯 (PTMC) 也是一种生物可

* 辽宁省教委自然科学基金 No.2008222、中国科学院知识创新工程重要方向项目 No.KGCX2-YW-207 以及中科院金属研究所青年人才领域前沿专项 No.O7A7721171 资助项目。

2008 年 11 月 28 日收到初稿; 2009 年 1 月 7 日收到修改稿。

本文联系人: 李 绮

降解型聚酯类,具有良好的柔韧性、降解性及释药性,而且降解产物没有毒副作用,但是降解比较缓慢.研究表明,当 PLA-PTMC 共聚物中 PLA 的比例不大于 30% 时具有面降解的特性,这样就能够保证聚合物在降解过程中控制药物的释放,避免降解过程中涂层脱落现象的发生^[9-11].为了克服 PLA 和 PTMC 这两种聚合物的缺陷,本文在可吸收镁合金支架研究的基础上,以聚乳酸-聚三亚甲基碳酸酯共聚物(PLA-PTMC 30/70)作为涂层主要成分,以雷帕霉素为治疗性药物,在镁合金支架表面制备出可降解的缓释药物涂层,评价涂层的表面形貌、降解性能、血液相容性和药物释放性能.

1 实验方法

1.1 涂层的制备

将经过抛光处理后的 AZ31B 镁合金支架以及尺寸为 10 mm×10 mm×3 mm 的 316L 不锈钢和 AZ31B 镁合金薄片样品分别用丙酮、无水乙醇和去离子水清洗、干燥.将 PLA-PTMC(30/70, 分子量 10 万)按 0.03 g/mL 的比例溶解在氯仿中,将雷帕霉素(含量 98% 以上)按 0.012 g/mL 的比例溶解到上述溶液中.采用浸涂法将支架及薄片浸入该溶液中 30 min 后匀速拉出,自然挥发 0.5 h,根据厚度要求重复浸涂,最后放入真空干燥箱中干燥 24 h,去除溶剂.

1.2 测定物理性能和降解性能

用球囊将制备好的携带 PLA-PTMC 涂层的支架在体外扩张三次,表面喷金后在扫描电子显微镜(Cambridge-S360)上观察其表面形貌.

将携带 PLA-PTMC 的薄片样品浸泡于 pH = 7.4 的模拟血浆中,再放置在 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中.每三天取出,用去离子水清洗,干燥,观察涂层的表面形貌,测量样品质量变化,其失重百分率为 $R = (W_0 - W_t)/W_0 \times 100\%$,其中 W_0 为样品降解前的质量; W_t 为样品降解后的质量.用酸度计(PHS-2C)测量浸提液的 pH 值,并更换新鲜的模拟血浆溶液.

1.3 测定血液相容性

溶血实验 将待测样品以 3 cm²/mL 的比例浸于 7.5 mL 模拟血浆中,以模拟血浆和蒸馏水分别作为阴性、阳性对照,于 37 ℃ 恒温培养箱中保温 30 min.将 150 μL 稀释后的兔血(新鲜兔血 2 mL+20 g/L 草酸钾 0.1 mL+2.5 mL 模拟血浆)分别加入上述溶液中,重新放入 37 ℃ 培养箱中保温 60 min.然后各溶液以 3500 r/min 速度离心 5 min.取上清液,在酶标仪(GF M-2000)上波长为 545 nm 处读数.其溶血率 $Hemolysis(\%) = (D_t - D_{nc})/(D_{pc} - D_{nc}) \times 100$,其中 D_t 为待测样品的吸光度; D_{nc} 为阴性对照样品

的吸光度; D_{pc} 为阳性对照样品的吸光度.

血浆复钙时间 将新采的兔血置于含有 1/10 体积比的 0.109 mol/L 枸橼酸钠抗凝剂的塑料管或硅化玻璃管中,轻轻颠倒混匀,1500 r/min 离心 10 min,收集上层黄色血浆,即为富血小板血浆.采用血凝仪(GF-2000II),测试样品与加入 0.025 mol/L CaCl₂ 溶液的富血小板血浆作用后的凝血时间(Recalcification time-RT).RT 反映材料对内源性凝血系统的抑制而造成的凝血性能.

1.4 药物释放性能测定

将携带雷帕霉素的 PLA-PTMC 样品浸于 37 ℃、pH=7.4 的模拟血浆溶液中,置于 50 r/min 的摇床.每隔 3 天收集作为释放介质的模拟血浆溶液,并以新鲜模拟血浆溶液替换.利用紫外分光光度计(S53)测量收集的模拟血浆中雷帕霉素的吸光度,对照雷帕霉素在模拟血浆中吸光度-浓度标准曲线,得到雷帕霉素的释放曲线.

2 结果与讨论

2.1 形貌特征和降解性能

如图 1 所示,利用球囊扩张后的支架表面,涂层光滑,支架上没有缠连聚合物,涂层分布均匀.在扫描电镜下观察没有交替粘连和堵塞,涂层表面没有裂纹、撕裂、翘起、拉丝和剥离等缺陷,说明 PLA-PTMC 具有良好的柔韧性,与镁合金基体的结合力满足支架的使用要求.

图 2 表明,在模拟血浆中浸泡 2 周之后,基体表面的 PLA-PTMC 涂层并没有起泡、翘起、大块的脱落,而是均匀的缓慢降解.

在模拟血浆中浸泡的前 5 周,PLA-PTMC 基本上呈线性降解,累积降解约为 30%,降解周期超过 1 个月(图 3).这表明,可以保证支架植入初期具有良好的力学性能,从而有效地抑制再狭窄的发生.

由图 4 可见,浸泡有 AZ31B 镁合金的模拟血浆在 1 个月内其 pH 值在 9.82-11.1 范围内变化;而浸泡带有 PLA-PTMC 涂层的 AZ31B 镁合金薄片的模拟血浆的 pH 值为 8.5-9.1,比前者要明显降低.早期研究表明,当 pH<7 或 pH>10 时,红细胞会被严重破坏,导致溶血现象,并随着 pH 的增加,溶血率增大^[12].本文在 AZ31B 镁合金支架表面制备 PLA-PTMC 涂层能很好地控制 AZ31B 镁合金在降解过程中引起 pH 值偏高的现象,同时解决了聚合物降解后浸提液呈酸性可能导致 pH 偏低的问题,而且体液的不断流动还可以保持植入部位 pH 值稳定在正常范围内,达到动态的平衡.

2.2 血液相容性和药物释放性能

由表 1 可以看出, AZ31B 镁合金和 AZ31B+

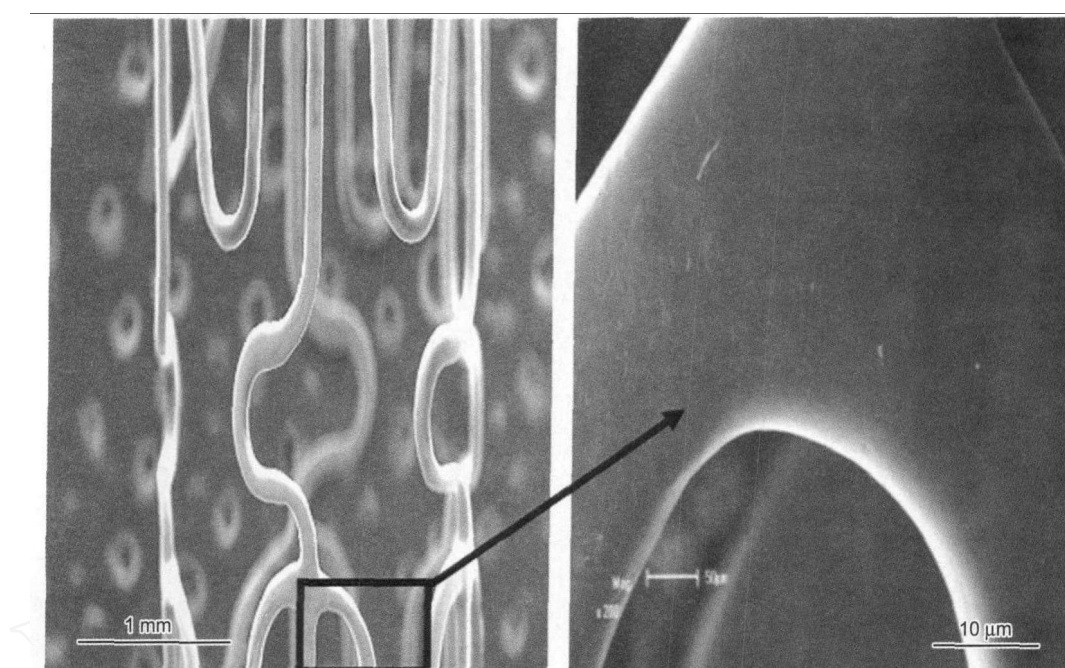


图 1 扩张后涂层支架表面形貌

Fig.1 Surface morphology of expanded AZ31B stent with coating

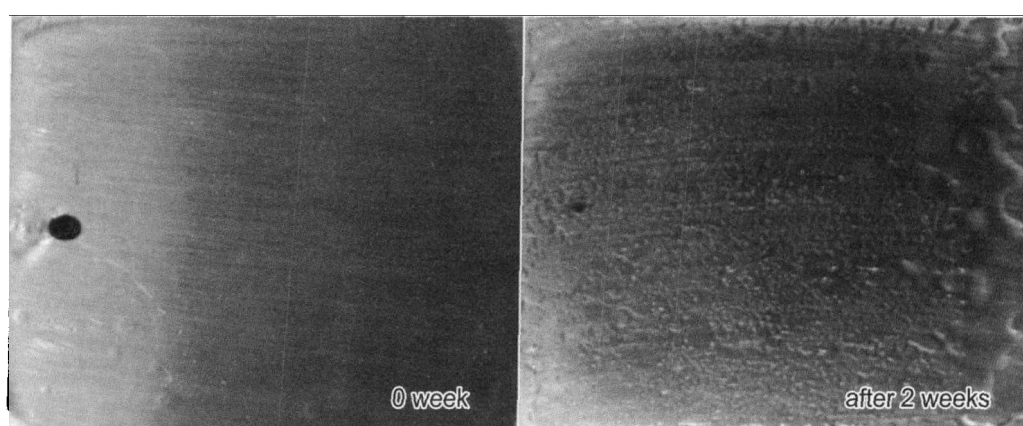


图 2 PLA-PTMC 涂层的体外降解表面形貌

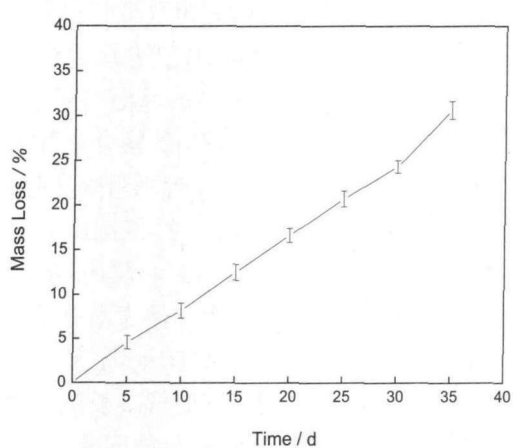
Fig.2 Surface morphology of PLA-PTMC coating after degradation *in vitro*

图 3 PLA-PTMC 涂层的体外降解失重变化曲线

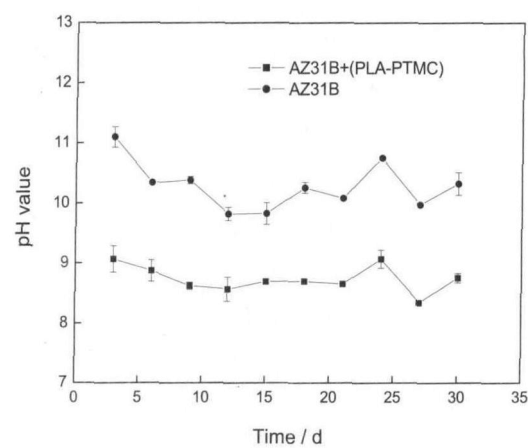
Fig.3 Mass loss curve of PLA-PTMC coating *in vitro*

图 4 体外降解过程中浸提液 pH 值的变化

Fig.4 pH changes of the extracted solution with AZ31B degradation *in vitro*

表 1 溶血实验结果
Table 1 Result of hemolytic assay

	Water	Saline	AZ31B	AZ31B+(PLA-PTMC)
Optical density	0.372	0.013	0.352	0.027
Hemolysis/%	+ve control	-ve control	94.45	3.69

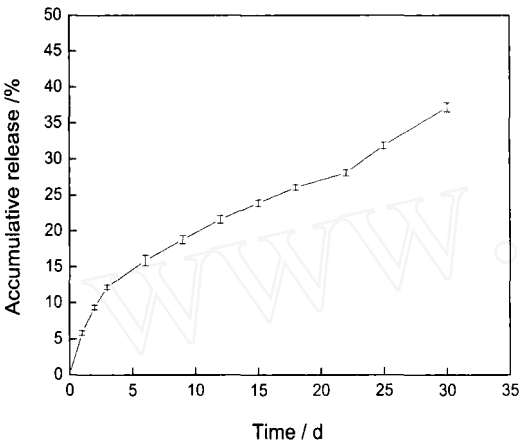


图 5 雷帕霉素从 PLA-PTMC 涂层中累积释放曲线
Fig.5 Cumulative release curve of sirolimus from PLA-PTMC coating

(PLA-PTMC) 的溶血率分别为 94.45% 和 3.69%, 相差极大. 根据 ISO/TR 7405-1984(E) 的评判标准, 若材料的溶血率 <5%, 则说明材料符合医用材料的溶血实验要求; 反之, 则预示试验材料有溶血作用. 以上实验结果表明, AZ31B 镁合金的溶血作用严重; 但是其表面制备有 PLA-PTMC 涂层后, 溶血率大幅下降, 已经小于 5%, 具有良好的抗溶血性能.

经测定, AZ31B+(PLA-PTMC) 和 316L 不锈钢的血浆复钙时间分别为 (75.5±9.5)s 和 (70.9±13.4)s. 316L 不锈钢作为生物医用材料具有良好的血液相容性, 而携带 PLA-PTMC 涂层的 AZ31B 镁合金的凝血时间不低于 316L 不锈钢, 故 PLA-PTMC 聚合物可以满足支架对表面涂层在抗凝血方面的要求.

图 5 表明, 雷帕霉素在前 3 天有轻微的暴释, 暴释量仅为 12.2%; 3 天后, 药物基本呈线性释放. 这可能与 PLA-PTMC(30/70) 为面降解而非体降解机制有关, 其 1 个月内药物累积释放量约为 38%. 支架在植入人体后的一个月为内膜增生的活跃期, 容易发生再狭窄. 在本文制备的涂层中的药物释放周期超过 30 天, 因而可在内膜增生期内有效地抑制支架植入后再狭窄的发生.

3 结 论

1. PLA-PTMC 共聚物适合用于支架表面涂层

的制备, 支架扩张后表面涂层没有产生裂纹, 无撕裂、翘起、拉丝等缺陷, 涂层与支架有良好的结合力.

2. 带有 PLA-PTMC 涂层的 AZ31B 镁合金在体外模拟血浆降解均匀, 未出现大块脱落, 浸提液的 pH 值保持在 8.5-9.5 之间, 降低了酸性和强碱性环境对人体的影响.

3. 镁合金表面的 PLA-PTMC 涂层的溶血率小于 5%, 达到生物医用植入材料的要求; PLA-PTMC 的凝血性能与 316L 不锈钢相当, 具备良好的血液相容性.

4. PLA-PTMC 涂层中的雷帕霉素释放没有出现明显暴释现象, 有效释放时间超过 30 d, 满足心血管药物涂层支架的要求.

参 考 文 献

- 1 Robert S. Schwartz, Elazer R. Edelman, Andrew Carter, Nicolas A. Chronos, Preclinical evaluation of drug-eluting stents for peripheral applications, *Circulation*, **110**, 2498(2004)
- 2 Gregg W. Stone, Jeffrey W. Moses, Stephen G. Ellis, Joachim Schofer, Safety and efficacy of sirolimus- and paclitaxel-eluting coronary stents, *New England Journal of Medicine*, **356**, 998(2007)
- 3 S.Lee, S.Park, D.Park, S.Lee, S.Kim, Comparison of six-month Angiographic and three-year outcomes after sirolimus-eluting stent implantation versus brachytherapy for bare metal in-stent restenosis, *The American Journal of Cardiology*, **100**(3), 425(2007)
- 4 Marie C. Morice, Patrick W. Serruys, J. Eduardo Sousa, Jean Fajadet. A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization, *New England Journal of Medicine*, **346**, 1773(2002)
- 5 Jeffrey W. Moses, Martin B. Leon, Jeffrey J. Popma, Peter J. Fitzgerald, Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery, *New England Journal of Medicine*, **349**, 1315(2003)
- 6 Antonio Colombo, Janusz Drzewiecki, Adrian Banning, Eberhard Grube, Randomized study to assess the effectiveness of slow- and moderate-release polymer-based paclitaxel eluting stents for coronary artery lesions, *Circulation*, **108**, 788(2003)
- 7 Gregg W. Stone, Stephen G. Ellis, David A. Cox, James Hermiller, A polymer-based, paclitaxel-eluting stent in patients with coronary artery disease, *New England Journal of Medicine*, **350**, 221(2004)

- 8 Andrea Lucke, Jörg Teßmar, Edith Schnell, Georg Schmeer, Achim Göpferich, Biodegradable poly (D,L-lactic acid)-poly (ethylene glycol)-monomethyl ether diblock copolymers: structures and surface properties relevant to their use as biomaterials, *Biomaterials*, **21**, 2361(2000)
- 9 Hu Jijie, Pei Guoxian, Significance of the application of polylactic acid sustained-release scaffold, *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation*, **9**(46), 178(2005)
- 10 Moon Suk Kim, Hoon Hyun, Byung Soo Kim, Gilson Khang, Hai Bang Lee, Polymeric nano-micelles as drug carrier using polyethylene glycol and polytrimethylene carbonate linear and star-shaped block copolymer, *Current Applied Physics*, **8**, 646(2008)
- 11 Cai Jie, K.J.Zhu, Preparation, characterization and biodegradable characteristics of poly(D,L-lactide-co-1,3-trimethylene carbonate), *Polymer International*, **42**, 373(1997)
- 12 HUANG Jingjing, Study on magnesium-based degradable implant material, Ph.D Dissertation, Institute of Metal Research, Chinese Academy of Sciences, (2008)
(黄晶晶, 可降解镁基植入材料的研究, 博士学位论文, 中国科学院金属研究所 (2008))

www.cnki.net