

• 研究论文 •

聚丙烯表面的生物相容性修饰: 表面氨基放大还原胺化接枝磷酸胆碱

官永宽^{*a,b} WINNIK, Françoise M.^b

(^a 西北大学化学系 西安 710069)

(^b 加拿大蒙特利尔大学化学系药学院 加拿大 H3C 3J7)

摘要 在氨气中对聚丙烯薄膜表面进行等离子处理, 获得了不同浓度的表面氨基. 表面氨基的数量经 1,6-己二异氰酸酯键合三(2-氨基乙基)胺可成倍增加. 用还原胺化法将磷酸胆碱醛共价接枝到表面氨基上获得了磷酸胆碱改性的聚丙烯薄膜. X 射线光电子能谱(XPS)测定结果表明, 接枝磷酸胆碱基团的表面覆盖率可达 20%~40%. 衰减全反射傅立叶变换红外(ATR-FTIR)和动态接触角测定结果也都说明磷酸胆碱基团被成功地接枝于聚丙烯表面. 还原胺化法结合等离子处理及表面氨基放大技术, 有望成为获取新型生物材料的一种有效途径.

关键词 磷酸胆碱; 还原胺化; 表面氨基放大; 生物相容性; 聚丙烯膜

Surface Amino Amplification and Graft with Phosphorylcholine by Reductive Amination

GONG, Yong-Kuan^{*a,b} WINNIK, Françoise M.^b

(^a Department of Chemistry, Northwest University, Xi'an 710069, China)

(^b Department of Chemistry and Faculty of Pharmacy, University of Montreal, CP6128 Succursale Centre Ville, Montréal QC H3C 3J7, Canada)

Abstract Polypropylene film surface was grafted with amino groups by using a radio-frequency glowing discharge system fed with ammonia. The number of the surface amino groups was amplified by bonding tris-(2-aminoethyl)amine through the linker of 1,6-diisocyanatohexane. Phosphorylcholine (PC) bearing aldehyde functionality was covalently bonded with the surface amino group by reductive amination. Surface composition was determined by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). The grafted PC groups can cover 20%~40% of the surface. The success of the modifications was also supported by attenuated-total-reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) and dynamic contact angle measurements. These methods of surface amino amplification and the subsequent coupling of PC-containing aldehyde molecules are promising ways of obtaining novel biomaterials.

Keywords phosphorylcholine; reductive amination; surface amino amplification; biocompatibility; polypropylene film

磷酸胆碱(磷酸胆碱)是组成细胞膜的基本单元(如卵磷脂分子等)的亲水端基(头部), 在外层细胞膜中占重要地位, 它直接影响生体细胞如何与外界发生作用. 磷

酰胆碱基团因包含季铵基和磷(酰)酸根而同时带有正、负两种电荷, 因而具有很强的结合水的能力. 通过模仿细胞外磷脂双层膜的构造, 富含磷酸胆碱基团的材料在

* E-mail: gongyk@nwu.edu.cn

Received June 25, 2004; revised October 3, 2004; accepted December 2, 2004.

陕西省教育厅专项科研基金(No. 04JK146)资助项目.

生物体内将其伪装成周围的天然成分,使其具有优良的生物相容性^[1-5],表面不易吸附蛋白质^[6-9]、血小板^[5,10],阻止血栓形成^[11-13],从而可消除表面污垢引起的许多问题.使用磷酸胆碱来增强高分子材料对蛋白质的耐受性已有报道^[14-19],其焦点为制备含磷酸胆碱的高分子或其掺合物.

由于表面组成对材料在体内的效应起决定作用,许多研究者选用高分子材料表面共价键合磷酸胆碱基团的方法来获得生物相容性.这类研究包括含磷酸胆碱单体(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine, MPC)的表面聚合反应^[20-24],含磷酸胆碱叠氮基苯的光化学反应^[18,25],及使用磷酸胆碱的其它衍生物^[26].虽然表面聚合反应改性可望达到满意的效果,但 MPC 单体很难制备、且无商品可用.所以,研究新的改性方法不仅具有学术意义,更为重要的是其巨大的应用前景.

等离子处理已成功用于高分子引入表面氨基^[27-29],表面氨基可与醛类等反应来实现表面修饰.本文报道聚丙烯表面氨基的放大技术及应用还原胺化法^[30,31]将含乙醛基磷酸胆碱接枝到聚丙烯表面的方法.有关改性后聚丙烯膜生物相容性的研究结果将另行报道.

1 实验部分

1.1 材料及试剂

厚度为 50 μm 双向拉伸聚丙烯膜(3M 公司, BOPP, 文中简化为 PP)用作该表面改性的基材.乙醛基磷酸胆碱由 *L*- α -甘油磷酸胆碱按文献方法制备^[30,31].高碘酸钠、硼氢氰化钠、三(2-氨基乙基)胺、1,6-己二异氰酸酯均为 Aldrich 公司试剂.甲醇、正己烷和丙酮为无水试剂,使用前用 4 \AA 分子筛处理.

1.2 氨等离子体处理

聚丙烯膜用无线电频率(13.56 MHz)等离子体处理设备,在输入功率 20 W,氨气压力 0.040 kPa 下处理一定时间(5~240 s),得到表面氨基化试样(PP-NH₂).

1.3 表面氨基放大

将等离子体处理后的聚丙烯膜浸泡于 1,6-己二异氰酸酯中 1 h,分别用无水正己烷和丙酮淋洗,然后浸泡于体积分数为 8% 三(2-氨基乙基)胺的丙酮溶液中.在室温下反应 6 h 后,分别用无水丙酮和甲醇淋洗,得到表面氨基放大试样(PP-NH-3N).

1.4 表面还原胺化接枝磷酸胆碱

将溶液中的还原胺化方法^[30,31]做适当调整,进行表面还原胺化接枝磷酸胆碱.具体步骤如下,将含表面氨基的聚丙烯膜浸泡于乙醛基磷酸胆碱的甲醇溶液中,在

室温下反应 3 h.在 0 $^{\circ}\text{C}$ 下滴加硼氢氰化钠的甲醇溶液,加完后在室温下反应 20 h,使产生的席夫碱被还原成胺.经水洗后真空干燥,得到稳定的共价接枝产物(PP-NH-PC 或 PP-NH-3NPC).

1.5 表面分析

表面元素组成用 ESCALAB 3MkII (V. G. Scientific Co., UK) X 射线光电子能谱仪测定.结合能校正以 C1s (285.0 eV) 为基准.表面化学键的变化用 Bio-Rad FTS-3000 型衰减全反射傅立叶变换红外仪(ATR-FTIR)来判断.表面亲水性能用动态接触角测定仪(DCAT 11, Dataphysics Instruments GmbH)测定倒退角来衡量.

2 结果与讨论

2.1 表面氨基导入

用低压氨等离子体处理高分子材料,已经成为获得表面共价接枝氨基的有效手段.最近的研究结果表明,该方法引入的含氮基团主要为伯胺^[28].这种表面处理引入的伯胺量可粗略地用含氮量来估算.X 射线光电子能谱测定结果显示,延长等离子体处理时间可获得高达 17% 的含氮量.为得到更高的含氮/胺试样,该研究用真空紫外照射氨-聚丙烯膜,获得了含氮量为 22.6% 的样品.分别用含氮量为 0%, 9.0%, 11.4%, 14.6%, 17.0% 和 22.6% 的试样进行表面氨基的放大、接枝乙醛基磷酸胆碱及相应的表面检测实验.

2.2 表面氨基放大及接枝乙醛基磷酸胆碱

虽然低压氨等离子体处理聚丙烯膜,容易获得含氮量为 10%~15% 的修饰表面,但并不是所有的含氮基团都以伯胺形式存在.很显然,表面的氨基(伯胺)含量低于含氮基团的总含量(含氮量).而且,为了降低表面能,部分表面氨基会被疏水烷基链所覆盖^[32].这些因素会导致表面伯胺与醛基磷酸胆碱进行还原胺化接枝的效率降低.图 1 所示为还原胺化接枝反应后聚丙烯膜表面磷元素含量与反应前膜表面氮元素含量的关系.与均相反应^[30,31]相比,聚丙烯表面还原胺化接枝反应的效率极低.为了探讨其原因,对反应后表面的氮含量进行了测量.如图 2 所示,反应后氮含量降低到反应前的 1%~20%.表面含氮量的显著降低可能与反应(甲醇)溶液促进表面氨基被疏水烷基链所覆盖有关.

为增加表面氨基的数量,特设计用 1,6-己二异氰酸酯将三(2-氨基乙基)胺键合于表面氨基上,从而实现表面氨基放大.表面逐步修饰过程如图 3 所示.氨基放大后的各试样在相同条件下进行还原胺化接枝磷酸胆碱,相应的测定结果分别绘于图 1 和图 2 中.由图 1 看出,当表面氮含量低于 15%,经氨基放大后接枝的磷酸胆碱

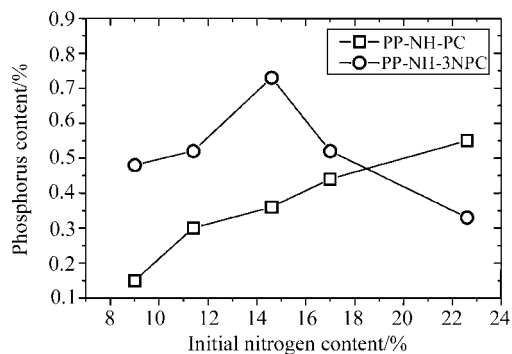


图 1 表面氨基放大对磷酰胆碱接枝率的影响

Figure 1 The effect of surface amino amplification on the graft yield of phosphorylcholine

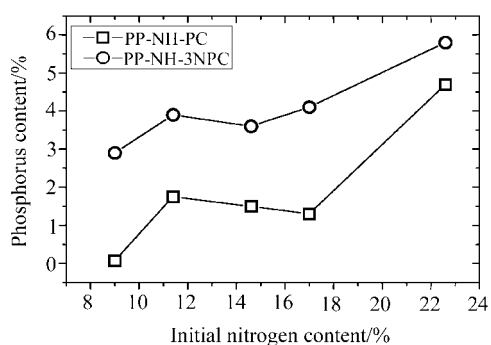


图 2 表面修饰对氮含量的影响

Figure 2 The effect of surface modification on nitrogen content

(磷含量)大致增加了一倍,说明表面氨基放大成功.然而,当表面氮含量高于 15%,经氨基放大后接枝的磷酰胆碱量远低于增加一倍的水平,甚至低于未经氨基放大

的接枝量.由图 2 看出,经表面氨基放大和还原胺化接枝磷酰胆碱后,所有试样的含氮量均显著高出未经氨基放大的对应样品的含氮量,证明用 1,6-己二异氰酸酯将三(2-氨基乙基)胺键合于表面氨基的反应是成功的.表面氨基放大在低含氮(氨基)量时有效,而在高含氮(氨基)量时失效的现象可用图 4 来解释.另外,由图 4 中分子的大小可以得到氨基表面密度的一些信息.依据三(2-氨基乙基)胺中氨基之间的最大距离,结合己二异氰酸酯碳链的柔韧性,推断表面氨基之间的距离小于 10 Å 时,会出现表面氨基放大失效的现象.

表面氨基与 1,6-己二异氰酸酯反应,生成的表面异氰酸酯基团如果未完全与三(2-氨基乙基)胺反应或发生水解等反应,也会导致高含氮量时氨基放大失效.在无水环境及优化的反应条件下,该因素容易被排除.

2.3 磷酰胆碱基团的表面覆盖率

由 XPS 测定的磷元素表面含量计算磷酰胆碱基团的表面覆盖率.假定表面被磷酰胆碱基团完全覆盖,XPS 探测的表面组成为 $C_8O_4N_2P$,这时磷元素的理论百分组成(P_{the})为 1/15.实验测定磷元素百分组成(P_{det})即可计算接枝磷酰胆碱基团的表面覆盖率(θ):

$$\theta = P_{det}/P_{the}$$

按 P_{det} 为 0.70% 计算,磷酰胆碱基团的表面覆盖率为 10.5%.若考虑到 XPS 在 45 度角时的检测深度(0~3 nm)大于磷酰胆碱基团的接枝厚度,合理的 θ 值应在 20%~40% 范围.

2.4 修饰表面的表征

聚丙烯膜在各步修饰前后,除用 XPS 测定 N, O, C

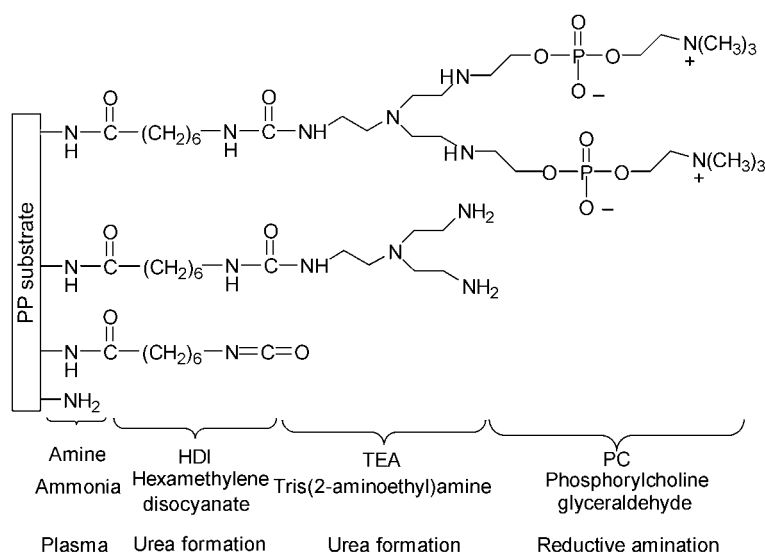


图 3 表面逐步修饰示意图

Figure 3 Scheme of the step-by-step surface modification

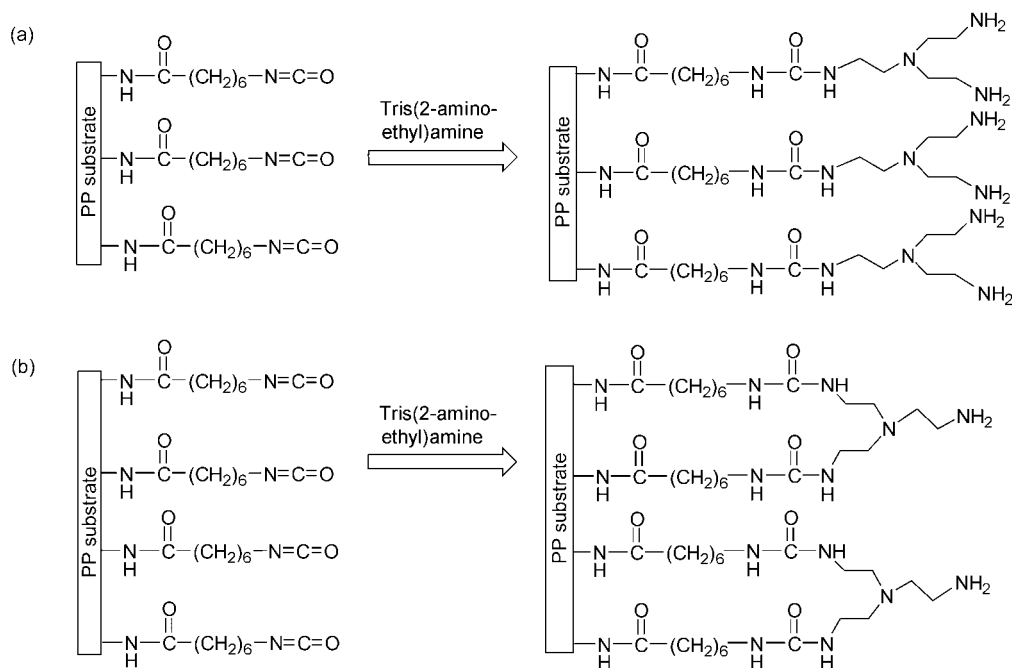


图4 表面氨基放大机理示意图

(a) 低表面密度; (b) 高表面密度

Figure 4 Mechanism of the surface amino amplification with initial surface amino density being (a) low and (b) high

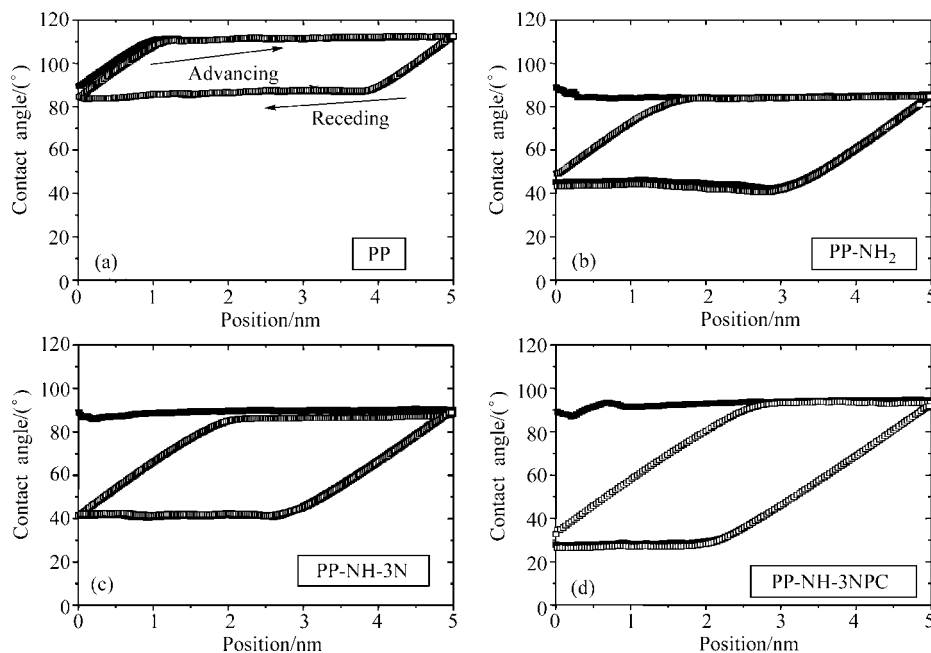


图5 修饰表面在水中的动态接触角

Figure 5 Dynamic contact angles of the modified surfaces in water

和 P 元素的表面含量外, 还用 ATR-FTIR 和动态接触角测定仪对修饰过程进行监控. ATR 表面探测的厚度约为 $0.5 \mu\text{m}$, 而等离子体处理高分子材料表面的深度只有几十纳米^[33], 直接记录的 ATR-FTIR 信号难以分辨出表面修饰的特征吸收峰. 采用扣除聚丙烯吸收的方法, 分别明显地观测到了氨等离子处理后在 1650 cm^{-1} 和 1550 cm^{-1} 吸收, 键合二异氰酸酯后异氰酸基在 2270 cm^{-1}

的强吸收和接枝磷酸胆碱基团后 $\text{P}=\text{O}$ 在 1260 cm^{-1} , $\text{O}=\text{P}-\text{O}^-$ 在 $1040\sim 1100 \text{ cm}^{-1}$ 的伸缩振动吸收^[34].

表面与水的接触角通常被用来衡量材料表面的亲水性能及表面组成. 接触角分为动态和静态两类. 动态接触角包括前进角和后退角, 分别为表面在液体中或液滴在表面上前进和后退时的接触角. 静态接触角是指液体(滴)与表面达平衡时的接触角度, 通常由照相法测定.

由于动态接触角可测定表面滞后现象(Hysteresis, 由前进角与后退角之差来衡量), 提供表面粗糙度、溶胀、渗透和基团重取向等信息^[35,36], 因而适合于研究表面修饰. 图 5 记录了修饰前、后聚丙烯膜在纯水中动态接触角的测定结果.

图 5 表明, 随着表面氨基的引入、放大和接枝磷酸胆碱基团, 其表面亲水性能增强、后退角逐步降低并伴随着表面粗糙度或基团重取向程度的加剧. 这些结果与其表面改性修饰过程相符.

3 结论

聚丙烯薄膜经氨等离子体或真空紫外辐射, 有效地引入了不同浓度的表面氨基. 用还原胺化法成功地将乙醛基磷酸胆碱共价接枝到聚丙烯膜表面, 实现了高分子材料的生物相容性修饰. 提出并证实了表面氨基的数量可通过键合三(2-氨基乙基)胺来放大.

致谢 作者感谢 Nanoquebec 对该研究工作的经费支持; 感谢 M. R. Wertheimer 教授、Nial A. Bullett 博士在等离子处理实验中给予的帮助; 感谢 Sophie Lerouge 博士和 Florina Truica-Marasescu 女士帮助测定 ATR-FTIR.

References

- Hasegawa, T.; Iwasaki, Y.; Ishihara, K. *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, *63*, 333.
- Hayward, J. A.; Chapman, D. *Biomaterials* **1984**, *5*, 135.
- Collier, J. H.; Messersmith, P. B. *Annual Rev. Mater. Res.* **2001**, *31*, 237.
- Morimoto, N.; Iwasaki, Y.; Nakabayashi, N.; Ishihara, K. *Biomaterials* **2002**, *23*, 4881.
- Iwasaki, Y.; Nakabayashi, N.; Ishihara, K. *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *57*, 72.
- Murphy, E. F.; Ju, J. R.; Brewer, J.; Russell, J.; Penfold, J. *Langmuir* **1999**, *15*, 1313.
- Campbell, E. J.; O'Byrne, V.; Stratford, P. W.; Quirk, I.; Vick, T.; Wiles, M. C.; Yianni, Y. P. *ASAIO J.* **1994**, *40*, M853.
- Ishihara, K.; Hasegawa, T.; Watanabe, J.; Iwasaki, Y. *Artif. Organs* **2002**, *26*, 1014.
- Tegoulia, V. A.; Cooper, S. L. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *50*, 291.
- Ishihara, K.; Iwasaki, Y.; Nakabayashi, N. *Mater. Sci. Eng.* **1998**, *C6*, 253.
- Iwasaki, Y.; Uchiyama, S.; Kurita, K.; Morimoto, N.; Nakabayashi, N. *Biomaterials* **2002**, *23*, 3421.
- Vonsegesser, L. K.; Tonz, B.; Leskosek, M.; Turina, M. *Int. J. Artif. Organs* **1994**, *17*, 294.
- Ishihara, K.; Fujita, H.; Yoneyama, T.; Iwasaki, Y. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2000**, *11*, 1183.
- Korematsu, A.; Murakami, T.; Sakuri, I.; Kodama, M.; Nakaya, T. *J. Mater. Chem.* **1999**, *9*, 647.
- Ueda, T.; Oshida, H.; Kurita, K.; Ishihara, K.; Nakabayashi, N. *Polym. J.* **1992**, *24*, 1259.
- Ruiz, L.; Hilborn, J. G.; Le'onard, D.; Mathieu, H. J. *Biomaterials* **1998**, *19*, 987.
- Zhang, S. F.; Rolfe, P.; Wright, G.; Lian, W.; Milling, A. J.; Tanaka, S.; Ishihara, K. *Biomaterials* **1998**, *19*, 691.
- van der Heiden, A. P.; Willems, G. M.; Lindhout, T.; Pijpers, A. P.; Koole, L. H. *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, *40*, 195.
- Oishi, T.; Uchiyama, H.; Onimura, K.; Tsutsumi, H. *Polym. J.* **1998**, *30*, 17.
- Morimoto, N.; Sato, I.; Watanabe, A.; Nakabayashi, N.; Iwasaki, Y.; Ishihara, K. *Kobunshi Ronbunshu* **2002**, *59*, 432.
- Ishihara, K.; Hanyuda, H.; Nakabayashi, N. *Biomaterials* **1995**, *16*, 873.
- Ishihara, K.; Shinozuka, T.; Hanazaki, Y.; Iwasaki, Y.; Nakabayashi, N. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **1999**, *10*, 271.
- Ma, Y.; Tang, Y.; Billingham, N. C.; Armes, S. P.; Lewis, A. L.; Lloyd, A. W.; Salvage, J. P. *Macromolecules* **2003**, *36*, 3475.
- Ishihara, K.; Iwasaki, Y.; Ebihara, S.; Shindo, Y.; Nakabayashi, N. *Colloid Surf. B: Biointerfaces* **2000**, *18*, 325.
- van der Heiden, A. P.; Goebbels, D.; Pijpers, A. P.; Koole, L. H. *J. Biomed. Mater. Res.* **1997**, *37*, 282.
- Liu, J. H.; Jen, H. L.; Chung, Y. C. *J. Appl. Polym. Sci.* **1999**, *74*, 2947.
- Mason, M.; Verduyck, K. P.; Kirker, K. R.; Frisch, R.; Marecak, D. M.; Prestiwich, G. D.; Pitt, W. G. *Biomaterials* **2000**, *21*, 31.
- Markkula, T. K.; Hunt, J. A.; Pu, F. R.; Williams, R. L. *Surf. Interface Anal.* **2002**, *34*, 583.
- Yang, J.; Bei, J.; Wang, S. *Polym. Adv. Technol.* **2002**, *13*, 220.
- Miyazawa, K.; Winnik, F. M. *Macromolecules* **2002**, *35*, 2440.
- Miyazawa, K.; Winnik, F. M. *Macromolecules* **2002**, *35*, 9536.
- Bhat, N. V.; Upadhyay, D. J. *J. Appl. Polym. Sci.* **2002**, *86*, 925.
- Gerenser, L. J. In *Handbook of Thin Film Process Technology*, Eds.: Glocker, D. A.; Shah, S. I., IOP Publishing, Bristol, **1996**.
- Tegoulia, V. A.; Rao, W.; Kalambur, A. T.; Rabolt, J. F.; Cooper, S. L. *Langmuir* **2001**, *17*, 4396.
- Faibish, R. S.; Yoshida, W.; Cohen, Y. *J. Colloid Interf. Sci.* **2002**, *256*, 341.
- Gong, Y. K.; Nakanishi, F.; Abe, K. *Mol. Cryst. Liq. Cryst. A* **1999**, *327*, 123.