

·研究简报·

血液相容材料的合成研究

Ⅶ. 磺铵两性离子单体在聚醚氨酯表面的臭氧活化接枝*

艾 飞 袁幼菱 吴一多 周 静 沈 健 林思聪**

(南京大学表面和界面化学工程技术研究中心 南京 210093)

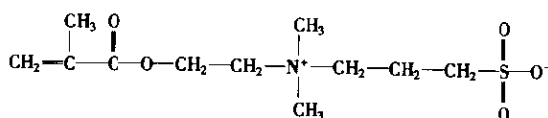
关键词 表面接枝, 臭氧活化接枝, 磺铵两性离子单体, 不凝血生物材料

生物相容性,特别是血液相容性是生物医用材料极其重要的性能^[1].提高不凝血性一直是生物材料研究与发展(R/D)的主要内容之一,半个多世纪来,不凝血材料的R/D已取得了很大的发展^[2].但还不能满足心血管植入物(Cardiovascular implants)及心血管医物(Cardiovascular devices)对不凝血性的需要.Ratner^[3]在最近一次的血液相容性问题研讨会上再次强调了不凝血材料研究的紧迫性.会议的报告也反映了该领域的研究现状,并提出了今后要研究的问题等.目前不凝血性较好的材料仅有聚磷酰胆碱^[1,4]、肝素化材料^[5,6]和聚乙二醇^[7,8].具有磺铵两性离子结构的聚合物是一类新的抗血小板粘附高分子材料.表面接枝是发展不凝血材料的好途径,既可以提高材料表面的不凝血性,又能保留材料原有的物理力学性能.多嵌段聚醚氨酯具有较好的生物相容性,良好的物理力学性能,是一类比较好的生物医用材料^[9].但未经处理的聚醚氨酯表面不凝血性还不够好,在它的表面接枝不凝血的高分子结构将是提高其不凝血性的有效方法.因此,本文用臭氧活化法,在聚氨酯表面接枝两性离子单体 *N,N*-二甲基 *N*-(2-甲基丙烯酰氧乙基) *N*-(3-磺丙基)铵[*N,N'*-Dimethyl-*N*-methacryloyloxyethyl-*N*-(3-sulfopropyl)-Ammonium(DMMSA)],并对这种新材料的抗血小板粘附性进行了研究.

1 试剂

4,4'-二苯基甲烷二异氰酸酯(MDI),进口,工业级,减压蒸馏;聚四氢呋喃(PTMG),进口,工业级,80℃真空无水处理;1,4-丁二醇(BDO),上海化学试剂站中心化工厂,减压蒸馏;*N,N*-二甲基甲

酰胺(DMF),AR,上海试剂一厂综合经营公司,减压蒸馏;六水合硫酸亚铁铵,AR,上海试剂四厂;二甲亚砜(DMSO),AR,天津市化学试剂一厂,干燥后减压蒸馏;甲基异丁酮(MIBK),AR,上海化学试剂厂,干燥后常压蒸馏;戊二醛 25%水溶液,生化试剂,中国医药(集团)上海化学试剂公司,直接使用;DMMSA,AR,Raschig公司,德国,结构如结构式1所示.



Scheme 1 The structure of DMMSA

2 聚醚氨酯膜的合成

聚醚氨酯(PU)的合成参照文献[10,11]方法,MDI:PTMG:BDO的摩尔比为3:1:2.溶液成膜后在索氏提取器中用甲醇抽提10h以上.

3 聚醚氨酯的臭氧活化和表面过氧化物浓度的测定

臭氧活化装置同前^[12],条件为电压200V, O_2 流速60 mL/min, O_3 发生量为 2.45×10^{-4} mol/min,温度30℃.

表面过氧化物浓度的测定是把臭氧活化的膜于室温真空脱气1h后,放进100 mL的碘瓶中,加入20 mL DMF-异丙醇溶液(体积比1:1),避光放置1h,加入0.3 g KI和6 mL冰醋酸,塞紧,摇匀,避光放置20 min.用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 标准溶液滴定,并按下式(1)计算膜表面过氧化物的浓度 G (mol/cm²):

$$G = \frac{V \times C}{A \times 1000} \quad (1)$$

式中 V 为滴定所用去的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的体积 (mL), C 为 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的浓度 (mol/L), A 为膜的表面积 (cm^2).

如图 1 所示,在臭氧活化过程中,开始时膜表面过氧化物浓度增加很快,30 min 后增加的速度明显变慢,30 min 和 40 min 的过氧化物浓度变化不大,所以在本文研究中选择了 30 min 作为活化时间.

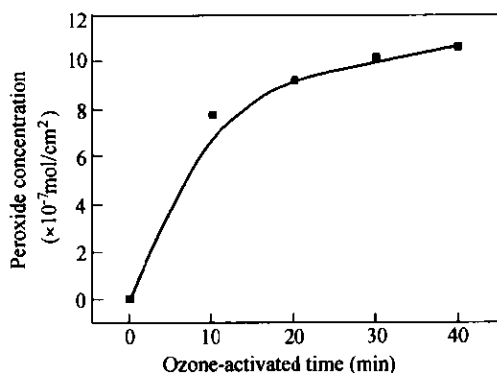
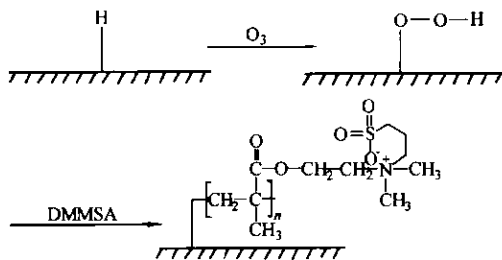


Fig.1 Effect of ozone-activated time on the concentration of the peroxide groups on PU surface

4 表面接枝

把臭氧活化后的聚醚氨酯膜在室温下真空脱气 1 h,加入一定浓度的 DMMSA 溶液,反复抽空/充氮 4 次,用微型注射器注入硫酸亚铁铵水溶液,使体系中 Fe^{2+} 的浓度为 $6 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$,加入 Fe^{2+} 是为了防止均聚物的产生^[13];抽空/充氮 4 次,最后在负压下封管.把聚合管置于恒温箱中,一定时间后取出.接枝膜用 50 ~ 60℃ 热水漂洗至干燥后恒重.

DMMSA 在聚醚氨酯(PU)膜表面接枝的示意图见反应式 2.



Scheme 2 Schematic illustration of surface graft polymerization

5 接枝膜的表征

5.1 XPS 接枝前后膜的 XPS (VG Scientific LTD, ESCALAB MK2)结果如图 2 所示,168.23 eV 峰

是 DMMSA 的 S 原子 2p 电子结合能,未接枝的膜表面没有 168.23 eV 的峰,而接枝后的膜表面,有 168.23 eV 的峰,表明确实有 S 原子存在,膜表面确实有 DMMSA 接枝上了.

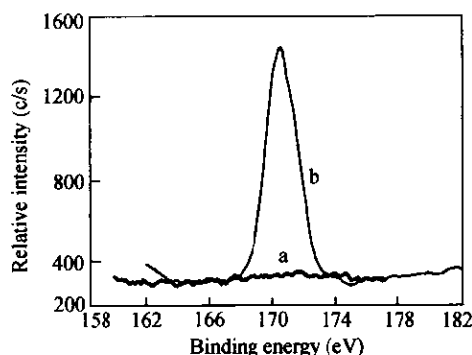


Fig.2 XPS spectra of PU film (a) and DMMSA grafted PU film (b)

5.2 ATR-FTIR 接枝前后膜的全反射红外图谱(ATR-FTIR) (Nicolet Avatar 380 FTIR)如图 3 所示.

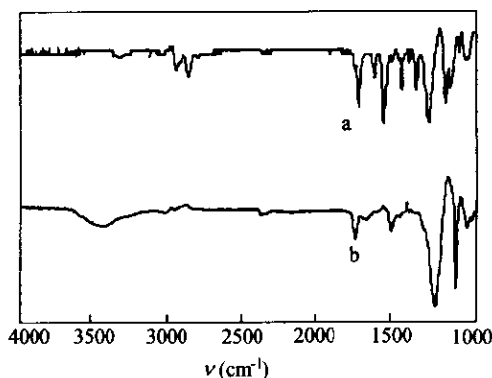


Fig.3 ATR-FTIR spectra of PU film (a) and DMMSA grafted PU film (b)

a 谱中 1701.72 cm^{-1} 处的吸收带是氨基甲酸酯中 $\text{C}=\text{O}$ 的吸收峰, 3300.00 cm^{-1} 左右的一个较宽的峰和 1532.87 cm^{-1} 是氨基甲酸酯结构中 $\text{N}-\text{H}$ 的振动吸收峰, 2943.53 cm^{-1} 是 $\text{C}-\text{H}$ 的伸缩振动峰, 2855.49 cm^{-1} 是 $-\text{CH}_2-$ 的对称和不对称伸缩振动峰, 1110.65 cm^{-1} 是 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 的吸收峰; $-\text{NCO}$ 在 2250.00 cm^{-1} 的吸收峰消失了,表明聚合反应进行完全.和 a 谱相比,b 谱中的峰少了很多,出现了 DMMSA 的一些特征峰, 1180.18 cm^{-1} 和 1037.68 cm^{-1} 是磺酸盐的 $\text{S}=\text{O}$ 的伸缩振动峰, 965.12 cm^{-1} 是铵盐 $\text{N}-\text{C}$ 的伸缩振动峰, 1723.80 cm^{-1} 是 DMMSA 上酯 $\text{C}=\text{O}$ 的吸收峰,这也表明在 PU 膜上发生了 DMMSA 的接枝反应.

6 接枝条件的影响

对 PU 膜表面的接枝率的影响因素进行了研究,主要影响因素有单体浓度、接枝聚合温度及接枝聚合时间.接枝率按下列式(2)计算:

接枝率 = $\frac{W_1 - W_0}{A}$ (2)

式中 W_0 是接枝前的膜重(g), W_1 是接枝后的膜重(g), A 是膜的表面积(cm^2).接枝前后膜都经恒重,接枝率的称量采取 4 片膜同时称重的方法,以减少误差.

6.1 单体浓度对接枝率的影响 在不同的 DMMSA 单体浓度 ($W\% = 1\%、3\%、5\%、8\%$ 和 10%)下接枝 DMMSA,聚合温度为 37°C ,接枝聚合反应时间为 24 h,接枝率测定结果见图 4.由图 4 可以发现,在实验范围内接枝率随单体浓度的上升而提高.

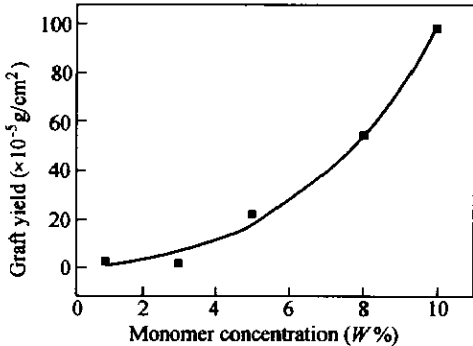


Fig.4 Effect of DMMSA concentratron on graft yield

6.2 接枝聚合时间对接枝率的影响 在不同接枝聚合时间(2、4、8、16 和 24 h)下进行接枝,单体浓度 5%,聚合温度 37°C ,接枝率测定结果见图 5.由图 5 可知,在反应初期反应速度较快,接枝率随时间的延长而迅速增加,随着反应进行,到 8 h 以后接枝率的增加趋向平缓.

6.3 接枝温度影响 在不同聚合反应温度(25°C 、 37°C 和 55°C)下接枝,单体浓度 5%,接枝聚合时间 24 h,接枝率测定结果见图 6.由图 6 可以发现,在 25°C 时接枝率较高,而在较高的温度下接枝率较低. 25°C 接枝的溶液粘度较低;而 55°C 接枝的溶液粘度最大,这可能是随着温度的提高,膜表面链终止增加,以及溶液中单体热自聚增加的缘故.

7 接枝膜性质

7.1 吸水率 测定了在不同单体浓度下接枝膜(聚合温度为 37°C ,接枝聚合反应时间为 24 h)的吸水率.测定方法为将膜浸于蒸馏水中,24 h 后

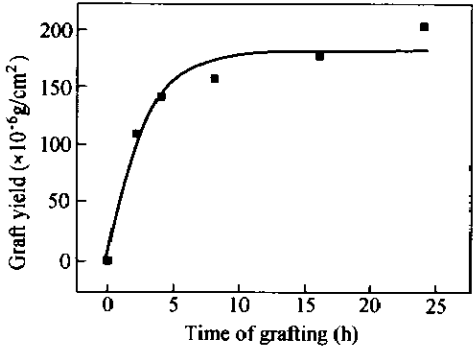


Fig.5 Effect of graft polymerization time on graft yield

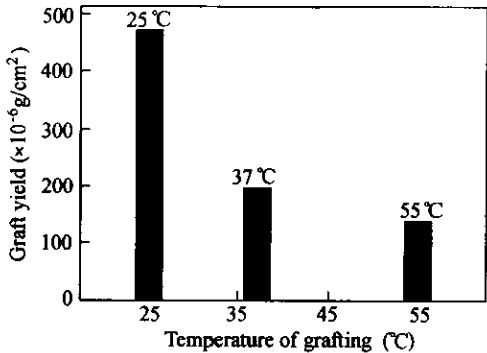


Fig.6 Effect of graft polymerization temperature on graft yield

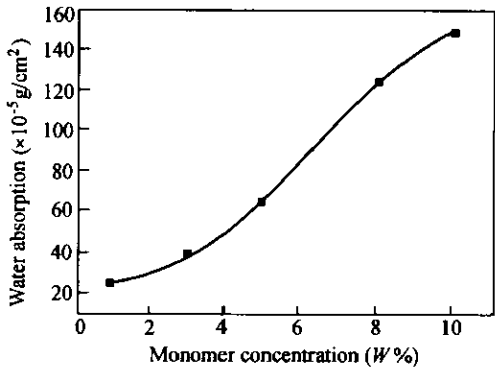


Fig.7 Effect of DMMSA concentration on water absorption of grafted PU film

将其取出并快速拭干称重,其吸水率根据下式(3)计算(每个数据测 4 组,取其平均值):

吸水率 = $\frac{W_2 - W_0}{A}$ (3)

式中 W_2 为吸水后的样品重量(g), W_0 为吸水前的样品重量(g), A 为膜的表面积(cm^2).结果见图 7.由图 7 可以看出吸水率随接枝量的增加而提高,这说明膜的亲水性随接枝率的提高有了显著增加.

7.2 接触角 用接触角仪(美国 RAMHART-100 表面接触角测定仪)测定在不同单体浓度下接枝膜的接触角,聚合温度为 37℃,接枝聚合反应时间为 24 h.测定温度 20℃,二次蒸馏水滴在样品表面(成膜时膜与空气的接触面),取相互距离 5 mm 三点进行测量,取平均值,结果见表 1.

Table 1 Effect of DMMSA concentration on the contact angle of grafted PU film

Monomer conc W(%)	0 ungrafted	1	3	5	8	10
Contact angle(°)(±3)	68	42	34	32	30	25

由表 1 可以看出,与未接枝膜相比接触角有了明显的变化,而且随接枝率的提高接触角逐渐变小,这也说明膜表面的亲水性随接枝率的提高,

也相应的得到了提高,这与上述吸水率的增加是一致的.

7.3 抗血小板粘附性^[14,15] 测定方法是将试样在 37℃的血小板血浆(PRP)中浸泡预定时间(1 h 或 3 h)后,再用生理盐水漂洗 3 次,浸泡入戊二醛溶液(2.5%)中,30 min 后,依次在不同浓度(50%、60%、70%、80%、90%、95%、100%)的乙醇溶液中各浸泡 30 min,以逐级脱水.晾干后喷金,做扫描电镜(JSM-6300 scanning microscope,JOEL),观察材料表面粘附血小板的情况.

表面接枝膜的接枝条件为:单体浓度 10%,聚合温度 37℃,聚合时间 24 h,PU 膜对照样品的血小板粘附结果如图 8 所示.

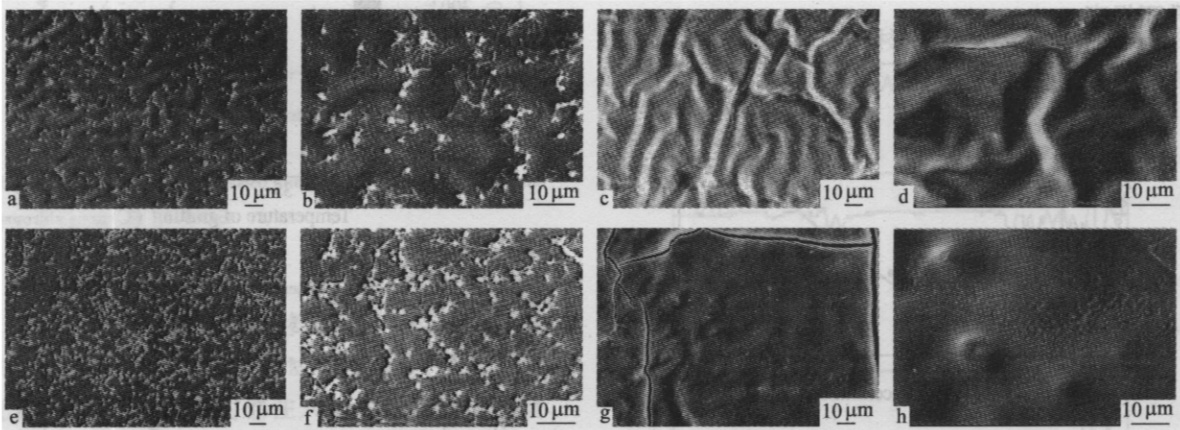


Fig.8 SEM of the platelet adhesion
1 h incubation:a)PU film; b)PU film; c)DMMSA grafted PU film; d)DMMSA grafted PU film
3 h incubation:e)PU film; f)PU film; g)DMMSA grafted PU film; h)DMMSA grafted PU film

从图 8 可以看出,在未处理 PU 膜的表面有很多血小板粘附,而且时间越长粘附的血小板也越多.在 1 h 的未处理 PU 膜表面血小板比较分散,而且变形也较小;随时间的延长,表面血小板数量明显增加,并且变形较大,往往多个血小板粘在一起.而接枝 DMMSA 的膜表面,在长达 3 h 的粘附

实验中都几乎找不到血小板,这与前文的结果一致,再一次证明 DMMSA 链能非常有效的阻止血小板粘附.显然,聚醚氨酯表面接枝 DMMSA 能有效提高聚醚氨酯的不凝血性能,这是很有意义的,有关这方面的进一步工作正在进行中.

REFERENCES

1 Ishihara K. Trip,1997,5(12):401~407
2 Lin Sicong(林思聪).Polymer Bulletin(高分子通报),1997,(1):1~14;1997,(2):76~89;1998,(1):1~10
3 Ratner B D.J Biomater Sci Polymer Ed,2000,11(11):1107~1119
4 Ishihara K,Iwasaki Y,Nakabayashi N.Mater Sci Eng C,1998,6:253~259
5 Gott V L,Whiffen J D,Dutton R C.Science,1963,146(3597):1297~1298
6 Leininger R I.Chemtech,1975,5(3):172~176
7 Brash J L.Markromol Chem Suppl,1985,9:69~80

- 8 Andrade J D, Nagaoka S, Cooper S L, Okano T, Kim S W, Asaio J, 1987, 10: 75 ~ 77
- 9 Lelah M D, Pierce J A, Lambrecht L K, Cooper S L. *J Colloid Interface Sci*, 1985, 104(2): 422 ~ 439
- 10 Yang Fuliang(杨福良), Feng Xinde(冯新德). *Gaofenzi Tongxun*(高分子通讯), 1982, (4): 302 ~ 305
- 11 Huang Zuxiu(黄祖秀), Feng Xingde(冯新德). *Kexue Tongbao*(科学通报), 1983, 28(5): 632 ~ 636
- 12 Wang Chenhui(王晨晖), Wang Anfeng(王安峰), Che Bo(车波), Zhou Caihua(周彩华), Su Linli(苏琳丽), Lin Sicong(林思聪), Wang Bingkun(王丙坤). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 1997, (1): 114 ~ 119
- 13 Neill T O. *J Polym Sci Chem Ed*, 1972, 10: 569 ~ 580
- 14 Lee J H, Ju Y M, Kim D M. *Biomaterials*, 2000, 21(7): 683 ~ 691
- 15 Li Y J, Nakaya T, Zhang Z. *J Biomater Appl*, 1997, 12: 167 ~ 191

SYNTHETIC STUDIES ON BLOOD COMPATIBLE MATERIALS

Ⅷ. POLY(ETHER-URETHANE) SURFACE GRAFTED WITH SULFO-AMMONIUM ZWITTERION MONOMER ACTIVATED BY OZONE

AI Fei, YUAN Youling, WU Yiduo, ZHOU Jing, SHEN Jian, LIN Sicong

(*Research Center of Surface & Interface Chemistry and Engineering Technology, Nanjing University, Nanjing 210093*)

Abstract Biocompatibility, particularly blood compatibility is the most important property required for biomedical materials. The improvement of blood compatibility is always an important research task for biomaterial research and development. It is an important way to develop biomaterials by constructing special molecules onto the proper mechanical material surface. Polyetherurethanes are widely used as biomaterials due to their good biocompatibility and mechanical properties. Nevertheless, their blood compatibility is still not adequate for the more demanding applications. The purpose of present study was to synthesis a novel nonthrombogenic biomaterial by modifying the surface of polyetherurethane. Ozone was used to introduce active peroxide groups onto polyetherurethane surface and graft polymerization of *N*, *N*-dimethyl-*N*-methacryloxyethyl-*N*-(3-sulfopropyl) ammonium (DMMSA), a sulfobetaine structure, onto the ozone activated polyetherurethane surface was conducted. The nonthrombogenic properties of grafted film were also studied. The grafted film was characterized by ATR-FTIR, XPS and contact angle measurement. The ATR-FTIR, XPS of the grafted PU film indicated that the graft polymerization did take place, the grafted PU film surface was covered with the DMMSA polymer. The grafting yields in different condition were studied. The grafting yields increased with the increase of the monomer concentration. Water absorption and contact angle showed that the hydrophilicity of the film had been improved greatly, and the hydrophilicity of the film increased with the grafting yield. The blood compatibility of the grafted films was evaluated by platelet adhesion in platelet rich plasma and scanning electron microscopy observation using PU film as the reference. No platelet adhesion was observed for the grafted films incubated for 60 min and 180 min, however, the ungrafted PU film was covered with platelet. The result of platelet adhesion experiment indicated that the PDMSA chains could prevent platelet adhesion. That means this new material is expected to have potential biomedical applications.

Key words Surface graft polymerization, Ozone activated graft polymerization, Sulfo-ammonium zwitterionic monmer, Nonthrombogenic biomaterials