

·研究简报·

DOPA 在聚乙烯微孔膜上的自聚合及肝素固定化^{*}

朱利平 徐又一^{**} 奚振宇 朱宝库

(浙江大学高分子科学研究所 大分子合成与功能构造教育部重点实验室 杭州 310027)

摘 要 在溶液条件下,左旋 3,4-二羟基苯丙氨酸(L-DOPA,或 L-多巴)能在固体材料表面自发聚合,形成强力附着于材料表面的 poly(DOPA)层.基于 L-DOPA 的这一特性,对聚乙烯(PE)微孔膜进行了表面改性,得到了 PE/poly(DOPA)复合膜,并进一步通过 poly(DOPA)层上的反应性基团将肝素共价固载在 PE 微孔膜上.X 光电子能谱(XPS)分析结果证实了 poly(DOPA)和肝素的固定,接触角测量数据表明膜的亲水性得到了显著提高.

关键词 多巴, 聚乙烯微孔膜, 自聚合, 肝素固定

聚乙烯(PE)是一种具有优异物理、化学和机械性能的高分子材料,在生物医用领域应用广泛,可用于制造采血袋、注射筒、人工器官、各种医用导管等. PE 微孔膜在生物医用分离过程中有着重要的应用前景.然而,PE 本身具有较强的疏水性,血液相容性不佳,这在很大程度上限制了其在医用领域的进一步推广应用.肝素是一种常用的抗凝血药物,表面肝素化可有效提高 PE 材料的血液相容性.为了保持其生物活性,肝素的固定通常是通过预先“锚固”在材料表面的间隔臂(spacer)进行,而间隔臂常常需要通过高能粒子束辐照^[1]、等离子体处理^[2]、UV 接枝^[3]等方法进行固定,其过程繁琐,且影响材料的本体性能.

最近的仿生学研究发现,在水溶液条件下,左旋 3,4-二羟基苯丙氨酸(L-DOPA,或 L-多巴)及其儿茶酚衍生物能自发聚合,形成强力附着于岩石、金属、聚合物、木材等材料表面的复合层,这一现象为固体材料的表面改性提供了一条新的途径^[4~6].本文旨在提供一种简单便利的 PE 微孔膜表面改性的方法,通过 L-DOPA 在 PE 微孔膜表面的自聚合,形成稳定附着于膜表面的 poly(DOPA)层,再通过 poly(DOPA)层上的活性基团将肝素共价固定在 PE 微孔膜上.

1 原料、试剂与实验方法

PE 平板微孔膜,拉伸法制备,平均孔径 0.5 μm 多巴(L-DOPA),Sigma-Aldrich;三羟甲基氨基甲烷(Tris HCl)和肝素,国药集团试剂有限公司.

其它试剂为分析纯,所有试剂使用前均未进行纯化.

以 Tris-盐酸缓冲溶液(0.01 mol/L, pH 8.5)与乙醇的混合液($V/V = 1/1$)为溶剂,配制 2.0 g/L 的 L-DOPA 溶液.预先将 PE 微孔膜在乙醇中充分浸润,取出后将其置于 L-DOPA 溶液中,在 30℃ 恒温水浴中振荡反应 24 h,然后将膜取出,在乙醇和水中交替振荡清洗 24 天,所得的改性 PE 微孔膜用于表征或进一步表面肝素化.

以磷酸缓冲液(1/30 mol/L, pH 7.4)为溶剂,配制 2 g/L 的肝素溶液.将 L-DOPA 改性的 PE 膜置于肝素溶液中,4℃ 下振荡反应 24 h.反应完成后,将膜用乙醇和水充分振荡清洗,以除去物理吸附的肝素,膜晾干后进行表征.

2 结果

在水溶液条件下,L-DOPA 容易被氧化成多巴醌,L-DOPA 和多巴醌之间发生反歧化反应,导致其交联聚合(如图 1 上).事实上,L-DOPA 的氧化是其在材料表面交联,形成聚合物层的首要步骤.多巴在氧化、反歧化、交联的过程中,也与固体材料表面建立起共价和非共价的相互作用,从而使 poly(DOPA)层紧密地附着在材料表面^[7]. L-DOPA 在 PE 微孔膜上自聚合形成的 poly(DOPA)层含有丰富的儿茶酚基团,这种基团容易被氧化成醌基,醌基能与肝素分子链中活泼的 $-\text{NH}_2$ (或 $-\text{NH}-$) 形成共价键^[4],从而将肝素稳定地固载在 PE 微孔膜上,其过程如图 1 所示.

^{*} 2008-08-05 收稿,2008-10-21 修稿;国家自然科学基金(基金号 50803054)和国家重点基础研究发展计划(973 计划,项目号 2007C13623402)资助项目;^{**} 通讯联系人,E-mail: jopl-yyxu@zju.edu.cn

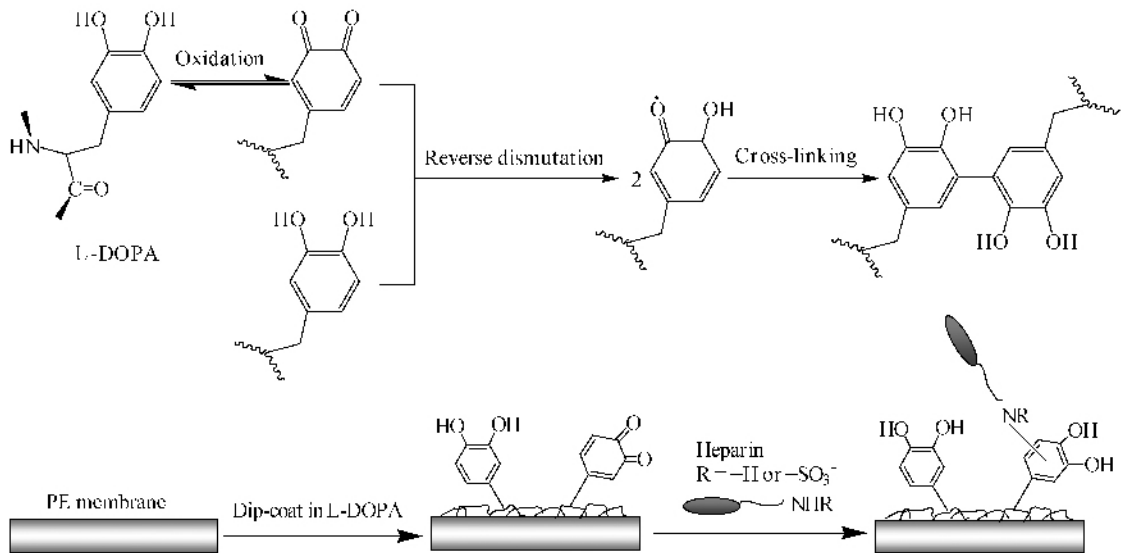


Fig. 1 The scheme for the L-DOPA cross-linking on PE membranes and subsequent heparin immobilization

采用 X-射线光电子能谱 (XPS, PHI 5000C ESCA)对表面改性前、后 PE 微孔膜的表面组成进行分析,其全谱见图 2.从图 2 可以看出,相对于 PE 原膜,DOPA 自聚合表面改性后的 PE/poly(DOPA)复合膜的谱图中新出现了 O1s 和 N1s 峰,这来源于 poly(DOPA)层中的元素 O 和 N.肝素固定后所得到的 PE/poly(DOPA)-Hep 膜表面的 O 元素含量进一步增加,且新出现了 S2p₃ 峰,这表明肝素确实已稳定存在于 PE/poly(DOPA)复合膜上.对 C1s 和 O1s 峰进行了进一步的分峰,其结果见图 3,PE 原膜的 C1s 仅有 $\text{C}-\text{C}$ 峰,而 poly(DOPA)复合后的 C1s 峰出现了 $\text{C}-\text{N}$ 、 $\text{C}=\text{O}$ 、 COOH 的分峰,肝素固定后还出现了 $-\text{C}-\text{O}-$ 峰.原膜没有出现 O1s 峰,DOPA 表面改性后出现了 $\text{C}-\text{OH}$ 和 $\text{C}=\text{O}$ 峰,肝素固定后的 PE/poly(DOPA)-Hep 膜还存在 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 的分峰.以上这些结果表明 poly(DOPA)和肝素真实地存在于改性后的 PE 膜表面.由于其水溶性,物理吸附在膜上的肝素容易通过清洗的方法去除,因此有理由相信,肝素已被共价固载在 PE/poly(DOPA)复合膜上.

水接触角是表征材料亲水性和表面润湿性的一种便利方法.采用 OCA20 接触角测量仪 (dataphysics instruments GmbH,德国)对改性前、后 PE 微孔膜的水接触角进行了测定.接触角随水滴滴下时间的动态变化见图 4,从图中可以看出,PE 原膜的初始接触角高达 128°,而 DOPA 改性后,膜的初始接触角从 128°下降到 71°,肝素的固定进一步降低了膜的初始接触角,这表明富含 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 等亲水基团的 poly(DOPA)层的

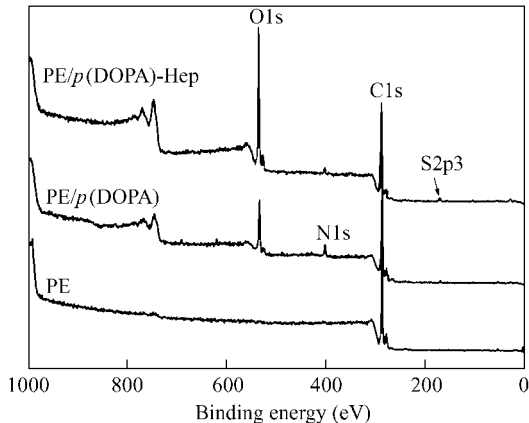


Fig. 2 XPS wide scans for the unmodified and the modified PE microporous membranes

显著提高了 PE 微孔膜的亲水性,而富含 $-\text{OH}$ 和醚键的肝素的固定进一步提高了 PE 膜的亲水性.从图 4 还可以看出,PE 原膜的接触角随时间的变化非常缓慢,而 DOPA 改性后膜的水接触角在 115 s 下降到零,肝素固定后接触角在 60 s 左右即下降至零,即水滴被膜完全吸收,这表明改性不仅发生在膜表面,也深入到了膜孔内部. PE 微孔膜亲水性的提高降低了水透过膜的阻力,从而有利于提高过滤通量,降低透膜压力,且可增强膜抗蛋白质吸附的能力.此外,肝素的固定有利于提高 PE 微孔膜的血液相容性,从而减少其在血液接触应用中的负面效应.

为了考察 poly(DOPA)层和肝素的固定对 PE 微孔膜结构的影响,采用 SIRION-100 扫描电子显微镜 (SEM,FEI 公司,荷兰)对改性前、后膜的表面

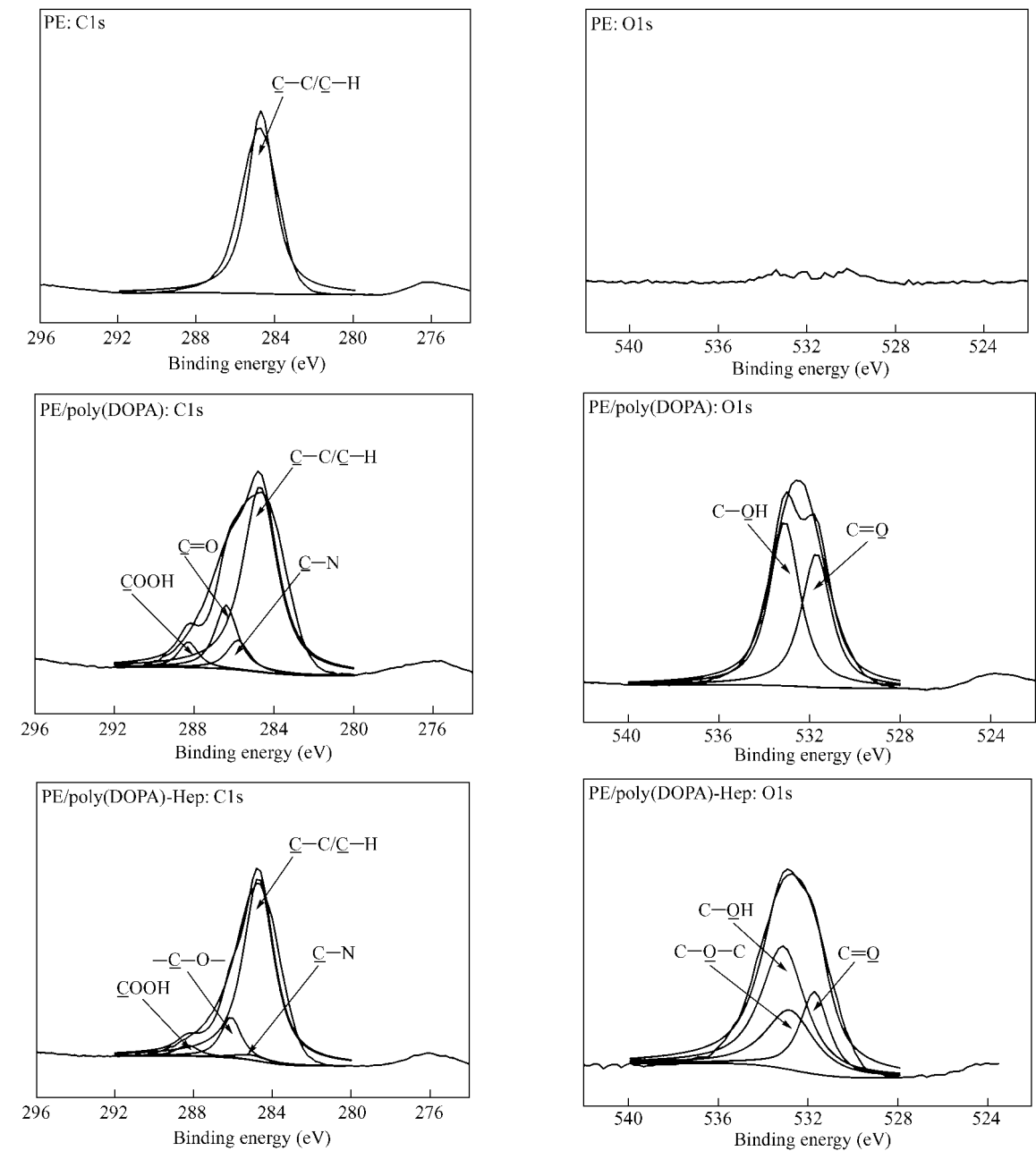


Fig. 3 XPS C1s,O1s core level spectra for the unmodified and the modified PE microporous membranes

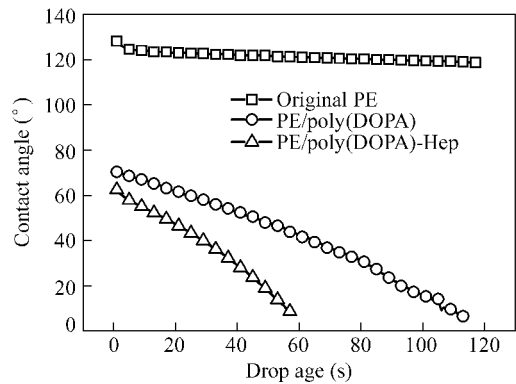


Fig. 4 Attenuation curves of apparent contact angle with drop age for the unmodified and the modified PE microporous membranes

形貌进行了观察,其 SEM 照片见图 5. 从图 5 可以看出,DOPA 改性后 PE 膜表面的孔数量和孔径大小均有明显下降,这显然是由于 poly(DOPA) 复合层对膜表面微孔的覆盖所致. 从图中也可以看出,肝素固定对膜表面形貌的影响不大. 尽管改性后膜表面微孔的数量和孔径有明显下降,但由于其亲水性和抗污染能力显著提高,因而在生物分离中,膜的透过性能也能得到很好的保持(甚至提高),而对溶质的截留率还会明显上升.

3 结论

在溶液条件下,DOPA 能在 PE 微孔膜表面自发聚合,形成稳定附着于膜上的 poly(DOPA) 层,

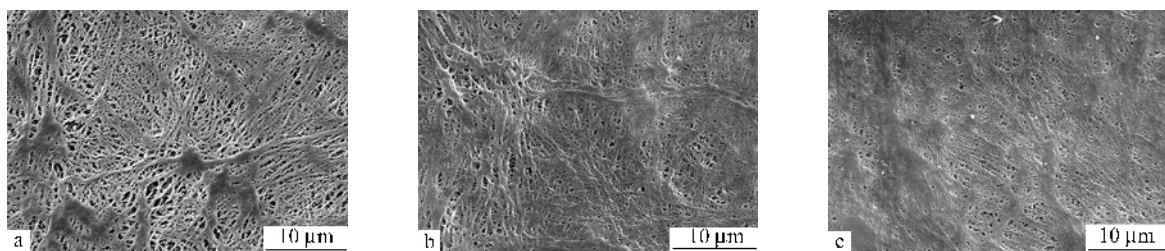


Fig. 5 Surface SEM images for (a) original PE, (b) PE/poly(DOPA) and (c) PE/poly(DOPA)-Heparin microporous membranes

这一复合层为 PE 膜提供了进一步表面肝素化的平台.通过 poly(DOPA)层,肝素被稳定固载于 PE 微孔膜上. DOPA 改性和肝素固定后,PE 膜的亲水性得到显著的提高.这一膜改性方法简单方便,改性性能深入到膜孔内部,不会对膜造成损伤,且改性

效果持久稳定.然而,poly(DOPA)复合层能如此稳定地附着在 PE 膜上的原因;两者之间的结合是共价键、氢键还是范德华力,或者是兼有多种相互作用.肝素固定后的生物活性如何等问题还有待进一步的研究.

REFERENCES

- 1 Nho Y C, Kwon O H. Radiat Phys Chem, 2003, 66: 299 ~ 307
- 2 Li Gang(李刚), Sun Qiushi(孙求实), Hou Xiaohuai(侯晓淮). Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 1997, (5): 589 ~ 591
- 3 Goddard J M, Hotchikiss J H. Prog Polym Sci, 2007, 32: 698 ~ 725
- 4 Lee H, Scherer N F, Messersmith P B. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103: 12999 ~ 13003
- 5 Lee H, Dellatore S M, Miller W M, Messersmith P B. Science, 2007, 318: 426 ~ 430
- 6 Waite J H, Tanzer M L. Science, 1981, 212: 1038 ~ 1040
- 7 van der Leeden M C. Langmuir, 2005, 21: 11373 ~ 11379

SELF-POLYMERIZATION OF DOPA ON POLYETHYLENE POROUS MEMBRANES AND IMMOBILIZATION OF HEPARIN

ZHU Liping, XU Youyi, XI Zhenyu, ZHU Baoku

(Institute of Polymer Science, Key Laboratory of Macromolecule Synthesis and Functionalization, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

Abstract A new and convenient approach for surface immobilization of heparin onto PE porous membranes is reported. 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA), a catecholic amino acid, is an important component of mussel adhesive proteins (MAPs). Based on the strong adhesive behavior of poly(DOPA) on solid surface, hydrophobic PE porous membranes was surface-modified by self-polymerization of L-DOPA in aqueous solution. Subsequently, heparin was immobilized covalently onto PE/poly(DOPA) composite membranes by the coupling between heparin and poly(DOPA) layer. The immobilization of poly(DOPA) and heparin was confirmed by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). The results of water contact angle measurements showed that the hydrophilicity of PE membranes was significantly improved by the introduction of poly(DOPA) and heparin. The effects of poly(DOPA) and heparin on membrane surface morphologies were also investigated by scanning electron microscopy (SEM). Despite the decreased pore amount and pore size on membrane surface after poly(DOPA) and heparin immobilization, the improved hydrophilicity would be beneficial to promote permeability and biocompatibility of PE membranes.

Keywords DOPA (3,4-dihydroxy-L-phenylalanine), Polyethylene microporous membranes, Self-polymerization, Heparin immobilization