

含多巴胺的贻贝仿生聚氨酯*

孙培育 田立颖 郑 震 王新灵**

(国家金属基复合材料重点实验室 上海交通大学化学化工学院 上海 200240)

摘 要 将具有神奇黏附效果的贻贝黏附蛋白中的功能元——儿茶酚(catechol)与具有结构可设计、简单易得、低成本的聚氨酯相结合,制备新型高性能的贻贝仿生聚氨酯黏附材料.首先,通过异氰酸酯化学合成了含羧基的聚氨酯,接着通过碳二亚胺化学将含有儿茶酚功能团的多巴胺(dopamine)和含羧基的聚氨酯相结合制备了含多巴胺的聚氨酯.经过傅立叶转换红外光谱(FTIR)、核磁共振(NMR)和紫外-可见分光光度计(UV-Vis)等分析测试研究结果表明,多巴胺确实已被引入到聚氨酯中;同时,通过测试搭接剪切强度研究了其粘接性能,结果表明含多巴胺的聚氨酯相对于含羧基的聚氨酯的粘接性能得到大幅提高,其对金属基材的粘接强度提高了 30% 左右,达到 5.2 MPa,可以与贻贝黏附蛋白相媲美.

关键词 贻贝仿生, 黏附蛋白, 多巴胺, 聚氨酯

海洋生物贻贝(mussel)的超强黏附能力令人惊叹,它们通过分泌超强黏液将自己黏附在礁石或者轮船底部,就算是在巨浪的冲刷下仍能紧紧地附着底材.不仅如此,它们几乎可以将自己极其牢固地黏附在各种表面上,甚至都能将自己牢固地黏附到极难黏附的特氟纶(teflon)表面上^[1].研究表明,贻贝分泌的超强黏液即贻贝黏附蛋白(MAPs),基本上都含有二羟基苯丙氨酸(又称多巴, DOPA)^[2-8],且含量可高达 20 mol% ~ 30 mol%^[7,8].DOPA 在贻贝黏附蛋白中有着相当重要的作用,其残基儿茶酚(catechol)的高亲合力和化学多功能性使得贻贝黏液可实现从金属到有机物等不同材料表面的黏附;含儿茶酚官能团的多巴胺(dopamine)等衍生物同样具有类似性能^[9].贻贝黏附蛋白的超强黏合性能,使其在生物医药、国防和海洋工程等领域有着不可限量的潜在用途.

贻贝黏附蛋白的神奇效果引起了众多研究人员的极大兴趣.人们已经通过传统的提取方法和基因重组技术制备了贻贝黏附材料. BioPolymers 公司通过传统的提取方法成功地提取了贻贝黏附蛋白,并研制成“Cell-Tak”超强黏合剂^[10,11];后来, Hwang 等^[12,13]通过基因重组技术也得到的重组贻贝黏附蛋白,并与具有“Cell-Tak”类似的黏附特性.然而,10000 只贻贝仅能提取 1 g 超强度黏液,“Cell-Tak”价格十分昂贵;而重组贻贝黏附蛋白相关调控机制尚不清楚,重组费用也很惊人.因此,传统的提取方法和现代的基因重组技术得到的贻

贝黏附蛋白尚不能满足大量的需求.

近年来,科学家开始将视线转移到了贻贝仿生高分子上,期望通过将贻贝黏附蛋白功能元(catechol)与合成高分子相结合,运用高分子仿生的方法复制出天然贻贝黏附蛋白的神奇效力. Yu 和 Deming 等^[14]通过环内酸酐的开环聚合法制备了多巴和赖氨酸的无规共聚多肽,其性能几乎可以与贻贝黏附蛋白媲美.但是由于聚肽的合成比较受限,得到高分子量的聚肽并不容易,而且价格昂贵,不适合大规模生产. Messersmith 等^[15-18]将多巴/多巴胺等含有儿茶酚功能团的化合物接枝到普通的人工合成高分子,制备了一系列含多巴/多巴胺的高分子(包括 PEG, PEO-PPO-PEO, PEI, HA 等),取得了非常优秀的成果.

我们的目标是将具有神奇黏附效果的贻贝黏附蛋白功能元(儿茶酚)和具有结构可设计的、韧性的、易制备的、低成本的聚合物结合,制备新型高性能黏附材料.由于 PEG 等聚合物本身黏附力不高、内聚能低,得到的含多巴/多巴胺的该类高分子的黏合力并不理想,达不到天然贻贝黏附蛋白或多巴/赖氨酸无规共聚多肽的粘接性能,而且结构可设计性不强.而聚氨酯材料具有内聚能较高、黏附力较强,且具有结构可设计,性能可调节等优点;同时,聚氨酯材料在粘合剂和涂层方面的应用也非常广泛.因此,聚氨酯是较为理想的基体高分子候选对象.本文尝试将多巴胺引入到聚氨酯中,制备新型聚氨酯功能材料,期望能仿生出贻

* 庆祝杨士林先生 90 华诞专稿; 2009-03-10 收稿, 2009-04-05 修稿; ** 通讯联系人, E-mail: xlwang@sjtu.edu.cn

贝黏附蛋白的神奇效力. 聚氨酯仿生贻贝黏附蛋白方面的工作还鲜见报道, 本文着重合成含多巴胺的聚氨酯及其粘接性能的研究.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

异佛尔酮二异氰酸酯(IPDI)由拜耳公司提供; 聚丙二醇 1000(PPG1000)由杜邦公司提供; 二羟甲基丙酸(DMPA)、多巴胺盐酸盐(Dopamine-HCl)和 1-乙基-(3-二甲氨基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC-HCl)购自于阿拉丁试剂有限公司; 二丁基二月桂酸锡(DBTL)、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)、三乙胺(Et_3N)、甲苯、二丁胺、异丙醇购自于国药集团化学试剂有限公司.

聚合物的结构与组成采用傅立叶变换红外光谱(FTIR)、核磁共振(NMR)和紫外-可见分光光度计(UV-Vis)进行分析. FTIR 是在 Equinox 55 型傅立叶变换红外-拉曼光谱仪(德国 Bruker 公司)上, 采用 KBr 压片、点样涂膜测试, 扫描范围为 $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$. $^1\text{H-NMR}$ 是在 Varian Mercury plus-400 型核磁共振仪上, 以 $\text{DMSO}-d_6$ 为溶剂、TMS 为内标测得. UV-Vis 是在 SP-1901 UV 型紫外-可见分光光度计上, 以 DMF 为溶剂测得.

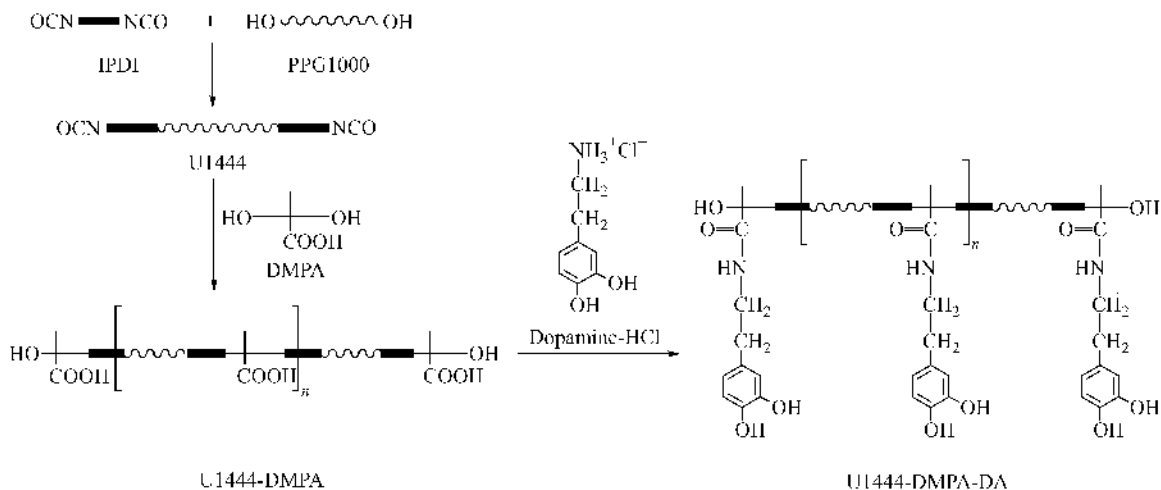


Fig. 1 Synthesis of U1444-DMPA and U1444-DMPA-DA

1.2.1 预聚物的合成 选择聚氨酯合成中常用的二异氰酸酯(IPDI)和聚醚二元醇(PPG1000)进行加成聚合反应, 制备了异氰酸基封端的聚氨酯预聚物. 先将聚醚二元醇在 110°C 条件下, 真空脱气脱水 3 h, 以干燥过的 DMF 作为溶剂, IPDI 和 PPG1000 按照 $\text{—NCO/—OH} = 2/1$ 的摩尔比投料; 在 $50 \sim 60^\circ\text{C}$, N_2 气氛下进行反应 2 ~ 3 h, 羟基反应完毕、 —NCO 含量消耗到理论值时, 即得到聚

聚合物的热性能是在 Q500IR 型热失重分析仪(美国 TA 公司)测定, 氮气气氛, 升温速率 20 K/min . 聚合物分子量及其分布是通过凝胶渗透色谱法(GPC)测试, 在 Perkin-Elmer Series 200 上进行, 标准聚合物是聚苯乙烯, 测试温度为 25°C , 用含 0.01 mol/L 溴化锂的 DMF 作为流动相, 流速为 1.0 mL/min .

聚合物的黏合性能是在 Shimadzu AG-IS 型万能电子拉力机(最大负载为 20 kN), 按照 ASTM D1002-02 标准进行单搭接剪切强度测试, 拉伸速度为 1 mm/min . 其中, 基材为 $12.0 \text{ cm} \times 2.5 \text{ cm}$ 的不锈钢片和聚丙烯板材, 经丙酮超声清洗后晾干; 通过在 100°C 将聚合物熔融后涂布于基材一端, 将另一块同类基材固定其上, 搭接尺寸为 $25.4 \text{ mm} \times 12.7 \text{ mm}$, 通过铜丝控制胶层厚度 0.2 mm , 然后重新放回 100°C 烘箱放置 24 h, 自然冷却至室温放置 12 h 制得测试样品.

1.2 实验过程

首先, 通过二异氰酸酯和聚二元醇合成异氰酸基(—NCO)封端的聚氨酯预聚物; 接着, 用二羟甲基丙酸进行扩链, 制备含羧基的聚氨酯; 最后, 加入盐酸多巴胺反应制备含多巴胺的聚氨酯. 反应流程图见图 1.

氨酯预聚物(U1444)溶液.

1.2.2 含羧基的聚氨酯合成 当上述体系中 —NCO 含量达到理论值时, 将相对过量的二羟甲基丙酸(DMPA, 摩尔数为 PPG1000 的 1.1 倍)和 $0.075 \text{ wt}\%$ 二丁基二月桂酸锡(DBTL)加入聚氨酯预聚物(U1444)溶液中进行扩链, 在 $75 \sim 80^\circ\text{C}$, N_2 气氛下进行反应 3 ~ 4 h, NCO 反应完毕时, 即得到含羧基的聚氨酯(U1444-DMPA)溶液. 所得溶液经

过蒸馏水沉淀 3 次、洗涤数次,干燥后得到含羧基的聚氨酯(U1444-DMPA),产率大于 95%.

1.2.3 含多巴胺的聚氨酯合成 确认上述含羧基的聚氨酯(U1444-DMPA)溶液中异氰酸酯基反应完毕后,将体系冷却到零度,加入碳二亚胺盐酸盐(EDC-HCl)、干燥的多巴胺盐酸盐(Dopamine-HCl)和经除水处理的溶剂 DMF,搅拌 5 min 溶解后,抽真空、充氮气,再注入三乙胺活化,室温反应过夜.所得产物加入盐酸稀溶液沉淀 3 次,洗涤数次,干燥后得到含多巴胺的聚氨酯(U1444-DMPA-DA),产率大于 95%.

2 结果与讨论

2.1 聚合物结构分析

通过典型的异氰酸酯化学和碳二亚胺化学,制备了两种功能聚氨酯 U1444-DMPA 和 U1444-DMPA-DA,其中 DA 在 U1444-DMPA-DA 中的理论质量百分数为 10.6%.在预聚物 U1444 制备过程中,其反应控制是通过二丁胺-盐酸滴定法测定—NCO含量来确定反应终点的,即—NCO 消耗到理论值并基本上能维持含量不变.

制备含羧基的聚氨酯由于是通过含有羧酸基团的 DMPA 扩链反应得到,其反应控制不能通过二丁胺-盐酸滴定法监测,本文通过 FTIR 检测—NCO的特征吸收峰 2270 cm^{-1} 附近随反应逐渐减弱并最终消失,来确认 DMPA 的醇羟基与 NCO 反应并将—NCO 消耗完毕,从而确定其反应终点.得到的液体经过沉淀等后处理,最终得到无色

透明聚合物(U1444-DMPA). U1444-DMPA 的红外光谱如图 2 所示,在 $3200 \sim 3600\text{ cm}^{-1}$ 出现吸收峰,这是与—NH—和—OH 相关伸缩振动.其中, 3333 cm^{-1} 是—NCO 与—OH 反应生成—NHCOO—中的一NH—伸缩振动,而肩峰 3448 cm^{-1} 对应的是在分子链末端 DMPA 的有游离态的—OH 伸缩振动吸收峰,这就说明聚合物含有 DMPA 的端醇羟基.图 3 是 U1444-DMPA 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图.其中,图 3 中的插图(a)显示聚合物在 $\delta = 12.6$ 出现化学位移,对应于羧酸上的氢,说明聚合物含有 DMPA 的羧基;同时,图 3 中的插图(b)显示聚合物有 DMPA 的甲基的化学位移($\delta = 0.90$).另外,预聚物 U1444 的理论分子量为 1444 Da ,而通过 GPC 测试可知 U1444-DMPA 的分子量为 $1.62 \times 10^4\text{ Da}$,分子量的增大归功于 DMPA 的扩链.因此,红外、核磁和 GPC 都表明 DMPA 确实进行了扩链反应,得到的透明聚合物为含羧基的聚氨酯.

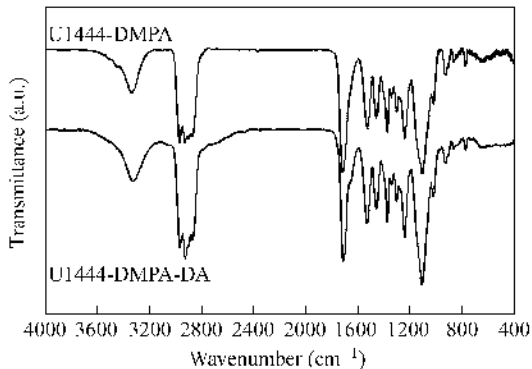


Fig. 2 FTIR spectra of U1444-DMPA and U1444-DMPA-DA

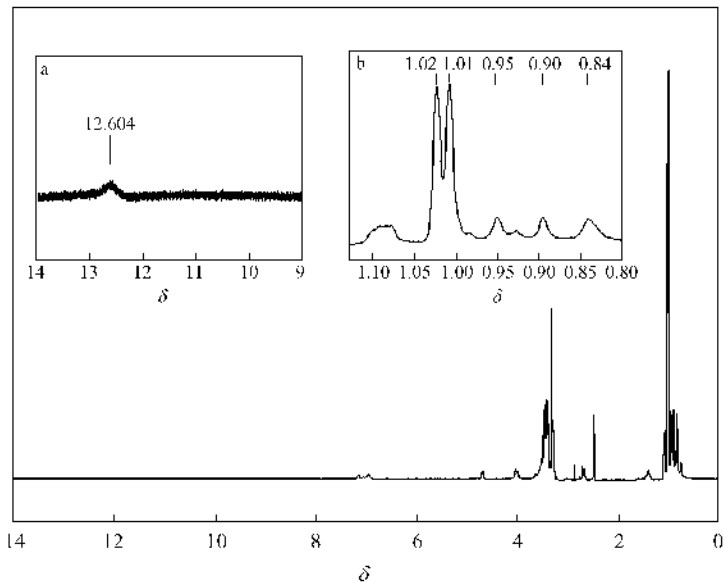


Fig. 3 $^1\text{H-NMR}$ spectra of U1444-DMPA

沉淀得到含多巴胺的聚氨酯(U1444-DMPA-DA)也是无色透明聚合物.图 2 为 U1444-DMPA-DA 与 U1444-DMPA 的红外光谱图.1630 ~ 1750 cm^{-1} 为羰基伸缩振动吸收峰,在 U1444-DMPA 的红外光谱中 1710 cm^{-1} 附近对应的是氨基甲酸酯($-\text{NHCOO}-$)和羧酸($-\text{COOH}$)的羰基伸缩振动吸收峰.对比 U1444-DMPA-DA 与 U1444-DMPA 的红外光谱可发现,U1444-DMPA-DA 新出现了 1656 cm^{-1} 肩峰,这是 DMPA 与 dopamine-HCl 反应生成酰胺键的伸缩振动吸收峰(amide I).图 4 是

U1444-DMPA-DA 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图,对比 U1444-DMPA-DA 和 U1444-DMPA(如图 4 中的插图)也发现 U1444-DMPA-DA 在 $\delta = 6.3 \sim 6.8$ 出现新的化学位移,对应于邻苯二酚官能团上苯环的氢;在 $\delta = 7.4 \sim 8.0$ 出现新的化学位移,对应于羧基和氨基反应生成酰胺上的氢;同时在 $\delta = 8.5 \sim 9.0$ 出现新的化学位移,对应于邻苯二酚官能团上酚羟基的氢.因此,可以确认多巴胺引入到了聚合物中,已制备了含多巴胺的聚氨酯.

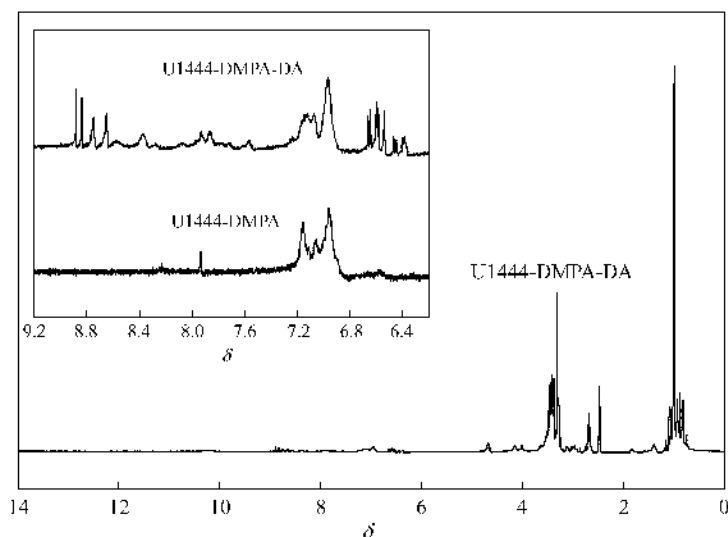


Fig. 4 $^1\text{H-NMR}$ spectra of U1444-DMPA-DA compared with U1444-DMPA

另外,通过紫外可见光吸收谱图(如图 5)中可以看出,U1444-DMPA 确实没有吸收峰,而 U1444-DMPA-DA 在 280 nm 出现吸收峰,这说明聚合物含有邻苯二酚官能团,即多巴胺引入到了聚合物中;同时,根据紫外光谱定量计算出聚合物中多巴胺的含量约为 2.5 wt%.

2.2 热性能分析

图 6 是含羧基的聚氨酯和含多巴胺的聚氨酯的热失重分析结果.可以看出,两种聚合物都存在两个失重段,主要在 200 ~ 500 $^{\circ}\text{C}$ 之间出现,而在 200 $^{\circ}\text{C}$ 以下两种聚合物基本上都没有失重.两个失重段是由于聚氨酯具有软/硬段结构决定的,第一个失重段是硬段(二异氰酸酯和扩链剂)分解产生的,第二个失重段是软段(聚二元醇)分解产生的^[19].可以发现多巴胺的引入提高了聚合物的热性能,第一段的峰值分解温度由 310 $^{\circ}\text{C}$ 左右提高到了 330 $^{\circ}\text{C}$ 左右,第二段由 355 $^{\circ}\text{C}$ 左右提高到了 373 $^{\circ}\text{C}$ 左右.由于多巴胺含有儿茶酚,其中的邻二酚羟基的交联使得分解温度提高了 20 $^{\circ}\text{C}$ 左右.同

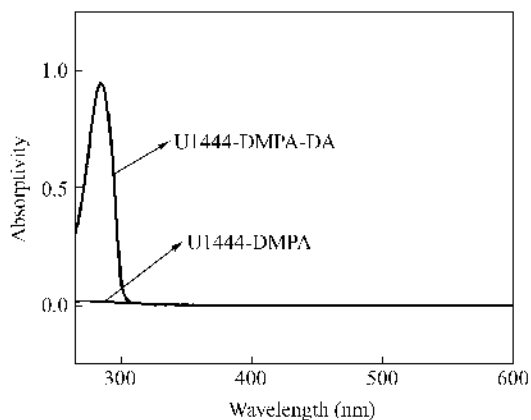


Fig. 5 UV-Vis spectra of U1444-DMPA-DA and U1444-DMPA

时,可以发现含多巴胺的聚氨酯硬/软段的失重比相对含羧基的聚氨酯硬/软段的失重比升高,这也能佐证多巴胺引进到了聚合物中.

2.3 粘接性能分析

通过按照 ASTM D1002 标准的粘接性能测试

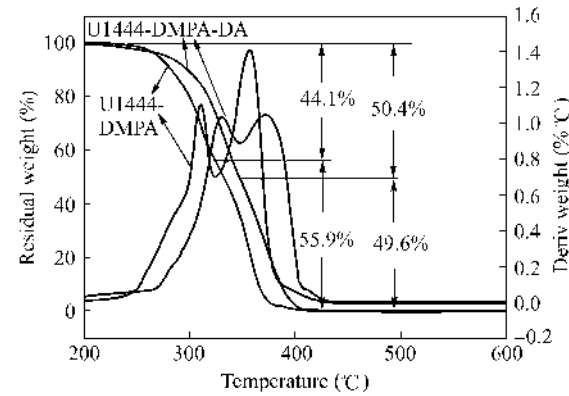


Fig. 6 TGA characterization of U1444-DMPA-DA and U1444-DMPA

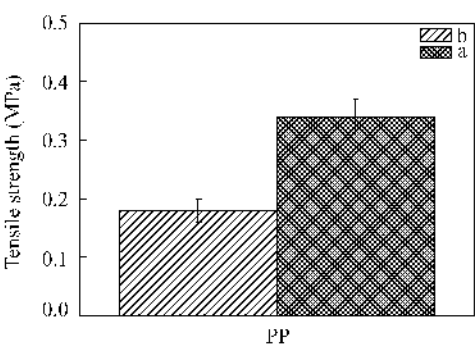
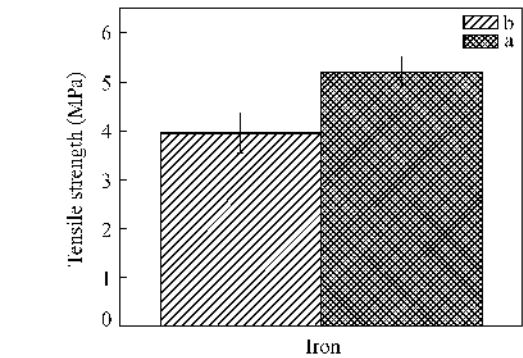


Fig. 7 Adhesive shear strength of U1444-DMPA-DA (a) and U1444-DMPA (b)

从实验结果可以看出,多巴胺的引入能使得材料的粘接性能大大提高.由于含多巴胺的聚氨酯中的儿茶酚功能团具有化学多功能性,使得聚合物容易形成交联网络从而增加粘接性能;同时儿茶酚与金属能产生螯合作用^[6,20]而增加聚合物与金属基材的相互作用,最终提高了界面粘合力.总之,多巴胺与聚氨酯的结合,使得性能大大提高,本课题组将对该体系进行深入研究.

3 结论

运用异氰酸酯化学通过 DMPA 与聚氨酯预聚物进行扩链反应制备了含羧基的聚氨酯,之后运用碳二亚胺化学通过羧基与多巴胺盐酸盐的反应制备了含多巴胺的贻贝仿生聚氨酯.利用 FTIR、¹H-NMR、UV-Vis 和 TGA 等测试分析证明多巴胺被引入到了聚氨酯中.热性能研究显示含多巴胺

可知,含多巴胺的聚氨酯能够牢固地粘接铁片.含多巴胺的聚氨酯和含羧基的聚氨酯的剪切粘接强度如图 7 所示,含多巴胺的聚氨酯对基材铁的剪切粘接强度为 5.2 MPa,含羧基的聚氨酯对基材铁的剪切粘接强度为 3.9 MPa,多巴胺的引入使得聚氨酯对高表面能金属基材铁的粘接性能提高 30%左右.同时,多巴胺的引入使得聚氨酯对低表面能聚合物基材聚丙烯的粘接性能由 0.18 MPa 提高到 0.34 MPa.本文制备的贻贝仿生聚氨酯的剪切粘接强度可以与 Deming 等^[14]制备的贻贝仿生聚肽的粘接性能媲美.

的聚氨酯的热性能相对于含羧基的聚氨酯有所提高,在氮气气氛下的热分解温度提高 20℃左右;按照 ASTM-D1002 的测试标准进行的粘接强度测试表明,含多巴胺的聚氨酯相对于含羧基的聚氨酯的粘合性能有大幅提高,对金属基材铁的粘接强度提高了 30%左右.含多巴胺的聚氨酯的剪切粘接强度达到 5.2 MPa,可与价格昂贵的贻贝黏附蛋白或 Deming 等制备的贻贝仿生聚肽媲美.因此,贻贝仿生聚氨酯能将贻贝黏附蛋白的神奇黏附功能与聚氨酯的结构可设计、简单易得、成本较低等优点有效结合,为制备新型高性能的黏附材料提供理论基础.

致 谢 感谢上海交通大学分析测试中心提供的测试支持.

REFERENCES

- 1 Dalsin J L, Hu B H, Lee B P, Messersmith P B. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(14): 4253 ~ 4258
- 2 Waite J H, Tanzer M L. *Science*, 1981, 212: 1038 ~ 1040
- 3 Waite J H. *J Biol Chem*, 1983, 258(5): 2911 ~ 2915
- 4 Papov V V, Diamond T V, Biemann K, Waite J H. *J Biol Chem*, 1995, 270(34): 20183 ~ 20192
- 5 Warner S C, Waite J H. *Mar Biol*, 1999, 134: 729 ~ 734
- 6 Lee H, Scherar N F, Messersmith P B. *Proc Natl Acad Sci*, 2006, 103(35): 12999 ~ 13003
- 7 Waite J H, Qin X X. *Biochemistry*, 2001, 40(9): 2887 ~ 2893
- 8 Zhao H, Waite J H. *J Biol Chem*, 2006, 281(36): 26150 ~ 26158
- 9 Lee H, Dellatore S M, Miller W M, Messersmith P B. *Science*, 2007, 318: 426 ~ 430
- 10 Strausberg R L, Link R P. *Trends Biotechnol*, 1990, 8: 53 ~ 57
- 11 Hwang D S, Gim Y, Yoo H J, Cha H J. *Biomaterials*, 2007, 28(24): 3560 ~ 3568
- 12 Hwang D S, Yoo H J, Jun J H, Moon W K, Cha H J. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(6): 3352 ~ 3359
- 13 Hwang D S, Gim Y, Cha H J. *Biotechnol*, 2007, 127(4): 727 ~ 735
- 14 Yu M, Deming T J. *Macromolecules*, 1998, 31(15): 4739 ~ 4745
- 15 Lee B P, Dalsin J L, Messersmith P B. *Biomacromolecules*, 2002, 3(5): 1038 ~ 1047
- 16 Huang K, Lee B, Ingram D, Messersmith P B. *Biomacromolecules*, 2002, 3(2): 397 ~ 406
- 17 Lee B P, Chao C Y, Nunalee F N, Motan E, Shull K R, Messersmith P B. *Macromolecules*, 2006, 39: 1740 ~ 1748
- 18 Lee H, Lee Y, Statz A R, Rho J, Park T G, Messersmith P B. *Adv Mater*, 2008, 20: 1916 ~ 1923
- 19 Jiang Zhi(江治), Yuan Kaijun(袁开军), Li Shufen(李疏芬), Zhou Yunji(周允基). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2006, 26(4): 624 ~ 628
- 20 Yamamoto H, Sakai Y, Ohkawa K. *Biomacromolecules*, 2000, 1(4): 543 ~ 551

DOPAMINE-CONTAINING MUSSEL MIMETIC POLYURETHANE

SUN Peiyu, TIAN Liying, ZHENG Zhen, WANG Xinling

(State Key Laboratory of Metal Matrix Composites (Shanghai Jiao Tong University),

School of Chemistry and Chemical Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240)

Abstract Dopamine-containing polyurethane was prepared by isocyanate chemistry and carbodiimide chemistry. In this polymer, polyurethane backbone was used to take the place of the protein polyamide chain and dopamine was appended to the polyurethane to mimic the strong adhesion of mussel adhesive proteins. It is possible to combine the unique adhesion of marine adhesive proteins with the designability, easy synthesis, and low cost of simple polymers. First, NCO-terminated urethane prepolymer was synthesized from a polyether polyols and isophorone diisocyanate. Then the desired urethane-based prepolymer, together with dimethylol propionic acid was employed to synthesize carboxyl-containing polyurethane. Finally, mussel mimetic polyurethane was prepared using dopamine-HCl and carboxyl-containing polyurethane. The successful incorporation of dopamine with polyurethane was characterized by FTIR, $^1\text{H-NMR}$ and UV-Vis. FTIR showed the appearance of a shoulder peak 1656 cm^{-1} associated with the newly forming chemical bond amide I between —COOH in carboxyl-containing polyurethane and —NH_2 in dopamine-HCl. $^1\text{H-NMR}$ spectrum was also consistent with the structure of dopamine-containing polyurethane. Chemical shifts in $\delta = 7.4 \sim 8.0$, $6.3 \sim 6.7$ and $8.5 \sim 9.0$ are corresponding to hydrogens of newly forming chemical bond amide, aromatic hydrogens and phenolic hydrogens in catechol, respectively. The absorbance peak in UV-vis also implies the absence of catechol groups in the polymer. In the characterization of shear adhesive strength, we found that grafting dopamine to polyurethane by amide linkage greatly enhanced the adhesive strength. For the substrate of Fe, the adhesive strength has been improved by 30%, at about 5.2 MPa, which can be compared with mussel adhesive proteins.

Keywords Mussel mimetic, MAPs, Dopamine, Polyurethane