

• 研究论文 •

预辐射聚丙烯膜接枝甲基丙烯酸
聚乙二醇酯及其性能研究

陈捷

(上海大学射线应用研究所 上海 201800)

卢永畅

(韩国原子力研究所放射线应用室 韩国大田市儒城)

摘要 采用预辐射接枝法对预辐射的聚丙烯 (PP) 膜接枝不同分子量的甲基丙烯酸聚乙二醇酯 (PEGMA)。分别研究了不同接枝溶液体系对接枝率的影响; 通过全反射傅里叶红外光谱 (FTIR-ATR) 和水接触角等的测定, 观察了接枝前后 PP 膜表面性能的变化; 还分别测定了接枝前后 PP 膜对血液蛋白的吸附、血小板的吸附以及样品表面血栓量等, 以比较接枝前后样品的血液相容性。

关键词 辐射接枝, 聚丙烯, 甲基丙烯酸聚乙二醇酯, γ 射线, 血液相容性

合成材料与血液接触时, 由于材料对血液蛋白的吸附而引起血栓, 这是许多合成材料无法用于人体直接与血液接触的主要原因^[1,2]。对材料表面进行接枝改性是改善材料生物相容性的一种较为有效的方法^[3,4]。据报道, 一些亲水性聚合物对血液具有较低的吸附性, 其表面血液影响甚小^[5~8]。因此, 许多学者采用接枝法将亲水性单体接枝于聚合物表面, 以改善基材的生物相容性和血液相容性。对聚合物接枝共聚的方法很多^[9~13], 其中辐射接枝法是最为常用的方法之一。本文研究了 3 种不同分子量的甲基丙烯酸聚乙二醇酯 (PEGMA) 接枝后的聚丙烯 (PP) 膜的理化性能及血液相容性, 并且与对照样品的性能进行了比较。另外, 还比较了 THF/MeOH 和 MeOH/H₂O 两种不同溶剂对接枝反应及接枝后样品性能的影响。

1 实验方法

1.1 材料及试剂

PP 膜 (厚度为 200 μ m, 韩国 Hanjing Chemical Co), 预辐照前切成 2cm $\times$ 5cm, 用甲醇为溶剂, 在超声波清洗器中洗涤两次, 每次 1h, 然后真空干燥并称重, 备用。PEGMA, 3 种不同分子量的单体均由日本油脂公司生产, 使用前未经任何纯化处理。其它试剂均为分析纯, 使用前未经任何纯化处理。实验所用的 3 种 PEGMA 如表 1 所示。

Tab.1 PEGMA structure

Abbreviation	Ethylene oxide No.	Molecular weight
PEO90	2	163~173
PEO200	4~5	261~283
PEO350	7~9	378~468

国家自然科学基金和韩国科技基金的资助
收稿日期: 初稿 1999-02-09, 修回 1999-04-06

1.2 接枝反应

将 PP 膜置于剂量率为 4.56kGy/h 的 ^{60}Co γ 射线场内, 在有空气的条件下进行辐照, 剂量分别为 10、20、30、40、60kGy(如果没有专门注明, 本实验所用的剂量为 20kGy)。样品辐照后立即放入 $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的低温箱内保存备用, 样品在两星期内用完^[14,15]。接枝反应在自制的带活塞的玻璃反应器中进行。定量倒入溶剂及其它添加剂, 然后加入所需量的单体, 鼓氮气 10 min, 加入样品后再鼓氮气 10 min, 关上活塞后迅速将反应器置于恒温水浴中进行接枝。反应结束后, 立即把样品取出并用双重蒸馏水加热浸泡洗涤, 以除去样品表面的均聚物。然后真空干燥, 恒重后通过下列方程计算接枝率

$$G(\%) = \frac{W_g - W_0}{W_0} \times 100$$

式中, G 为接枝率, W_0 和 W_g 分别为接枝前后聚丙烯纤维样品的重量。

实验采用全反射傅里叶红外光谱 (FTIR-ATR) 测定了接枝前后 PP 膜的表面特性。另外, 通过水接触角的测定, 比较了接枝前后样品表面亲水性的变化。

1.3 水接触角的测定

在室温条件下, 将 $3\mu\text{L}$ 双重蒸馏水滴于样品表面, 采用光学接触角测定仪 (Erma, 日本产) 测定接触角。为了避免误差, 读数在滴完水滴后 3min 内完成, 每个样品重复测 5 次, 最后取中间值。

1.4 血小板吸附的测定

在志愿者提供的血液中加入 3.8% 的柠檬酸钠。将此血液在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下以 2300r/min 的速度离心 4min, 最后得到富血小板血浆 (PRP, 血小板数为 2.43×10^5 个/ μL)。将试样切成适当大小, 置于 24 孔的聚苯乙烯测试盒中, 先用生理盐水 / 磷酸缓冲溶液 (PBS, pH7.4) 润湿并洗涤 5 次, 每次 10min。然后使之浸入 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的 PRP 血浆中, 在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下放置 30min 后, 用 PBS 小心洗去未被吸附的血小板细胞。吸附在试样表面的血小板细胞用 10% 的戊二醛 PBS 溶液固定化 (浸泡 10min)。再依次采用 50%、60%、70%、80%、90% 和 100% 的乙醇 (水溶液) 分步浸泡脱水 (每组溶液浸泡 10min)。上述样品在室温下自然干燥后进一步真空干燥。真空喷金镀导电层后用扫描电子显微镜 (SEM, JMS-840A, JEOL Co., Japan) 观察样品表面血小板的吸附情况。

1.5 血栓量的测定

血栓量的测定参照 Imai 和 Nose 法^[8], 即测定人体全血 (含 ACD) 与氯化钙反应后, 在样品表面形成的血栓量。先将试样切成 $1.5\text{cm} \times 1.5\text{cm}$, 用生理盐水 (NaCl , 0.9%) 在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下清洗、浸泡, 用湿滤纸拭去样品表面的水珠。取 0.5 mL 全血 (由韩国红十字会血库提供) 加于试样表面, 滴入 0.05mL 0.1 mol/L 的 CaCl_2 水溶液后迅速用聚四氟乙烯棒搅拌, 使之与血液均匀混合并反应。30min 后在其上面加双重蒸馏水 1mL 以停止反应, 同时洗去未形成血栓的血液。5min 后轻轻吸去水分, 血栓部分用 37% 的福尔马林水溶液浸泡 5min 固定。用水漂洗后, 再用滤纸吸去其表面的水分, 称重后计算血栓量。为了提高实验数的可靠性, 每个样品在同等条件下做 3 组数据, 计算得平均值和误差范围。本实验假设在同等条件下, 在玻璃表面形成的血栓量为 100%, 并以此为标准, 估算聚丙烯样品表面的血栓百分数。

1.6 血液蛋白的吸附测定

先将人血蛋白 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 用 PBS 稀释至 1%。用 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$

的 PBS 将接枝样品和对照样品洗涤 5 次。然后放入 24 孔的聚苯乙烯培养皿中, 倒入上述血液蛋白溶液。在 37°C 下放置 1h 后, 依次用 PBS 和水轻轻洗去未吸附的蛋白。真空干燥后, 用 ESCA 通过测定 N-1s 峰的变化来观察血液蛋白吸附情况。

2 结果与讨论

2.1 溶剂对接枝率的影响

固体聚合物经辐照后可产生自由基, 这些自由基在一定的条件下处于冻结状态, 被称为陷落自由基, 在低温下可长期存放。预辐射接枝就是将聚合物基材经辐照后与单体进行反应。预辐射接枝有时也会产生均聚反应, 但毕竟单体未受辐照, 接枝反应所需的活性自由基主要来自于基材上的陷落自由基和过氧化自由基, 因此比较有利于接枝反应。一般自由基的数量直接影响着接枝率, 而自由基的数量与辐射剂量直接有关, 陷落自由基的成活时间与基材的结晶度很有关系, 辐照产生的自由基在结晶区比较容易成为陷落自由基。本实验所采用的 PP 膜的结晶度约为 48.6%, 应该说预辐射形成陷落自由基的可能性很大。在空气中辐照, 同时也会有部分过氧化物生成。

图 1 为同一辐射剂量下, 不同溶液系统对接枝率的影响。从图 1 可以看出, 同等条件下接枝 PEO200, 在 THF/MeOH(2:1) 溶液中得到的接枝率明显高于在 MeOH/H₂O(1:1) 溶液中得到的接枝率。卢永畅等^[16]曾报道过预辐射聚乙烯膜在 THF 中接枝甲基丙烯酸 β 羟乙酯等的加速效应。他们认为这主要是由于 THF 对聚乙烯具有一定的溶胀性和对单体具有良好的溶解性所致。本实验中所用的 THF/MeOH 对 PEGMA 是较好的溶剂, 对 PP 膜也有一定的溶胀性; 而 MeOH/H₂O 溶液对 PP 膜的溶胀性相对要差, 所以预辐射 PP 膜在 THF/MeOH 溶液中接枝 PEGMA 较为有利。另外, 在同等条件下, 分子量较低的 PEO90 的接枝率明显高于分子量较高的 PEO200 的接枝率。

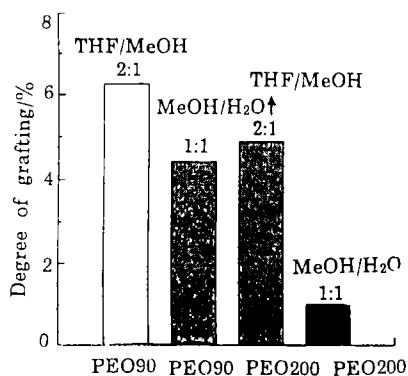


Fig.1 The comparison of grafting yield at different co-solvent system. (Grafting condition: PEGMA concentration: 20% W/W; Temperature: 70°C; Time: 5 h; Dose: 20kGy)

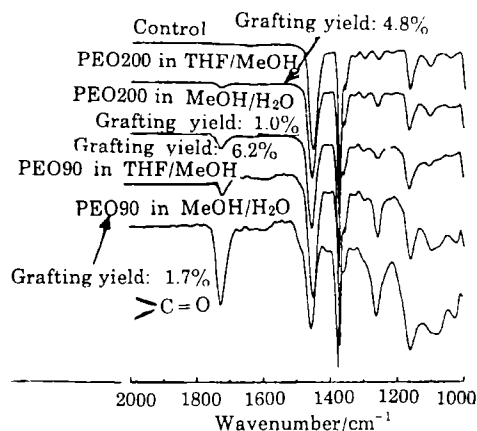


Fig.2 The comparison of carbonyl (>C=O) group on FTIR-ATR spectra of PEGMA grafted PP films from two different cosolvent systems

图 2 为在两种不同溶液中接枝 PEGMA 后样品的 FTIR-ATR 图谱比较。从图 2 可以看出,

在 MeOH/H₂O 溶液中接枝的样品,其羰基($>C=O$)峰与 THF/MeOH 溶液中接枝的样品的羰基峰相比要强得多。从水接触角的变化来看(见图 3),接枝率相同的情况下,在 MeOH/H₂O 溶液中接枝的样品的水接触角下降比较明显。综合图 2 和图 3 的结果,我们认为在 MeOH/H₂O 溶液中进行接枝反应时,由于溶液对 PP 膜的溶胀性很小,在接枝率较小的情况下接枝链向基材内渗透的可能性比较小。同时在 MeOH/H₂O 溶液中,接枝链上的亲水基团羰基受溶剂的影响而向外翻转,于是在 FTIR-ATR 谱图中可看到较明显的羰基峰,并且其水接触角明显降低;而在 THF/MeOH 溶液中进行接枝反应时,一方面该溶液对 PP 膜有一定的溶胀性,部分接枝链有可能向基材内部渗透,另一方面接枝链上的亲水基团受溶剂的影响易于向内翻转,所以在该溶液体系中接枝的样品,即使其接枝率相对较高,但 FTIR-ATR 谱图中的羰基峰仍然不很明显,而且水接触角下降得比较小。

2.2 血液蛋白的吸附

蛋白质是较为复杂的高分子,其分子量从几千到上百万,人工材料与人体接触时,体液或血液中的蛋白质很容易被吸附在材料表面^[17]。一般血栓的形成的第一阶段是由于蛋白质的吸附,所以要改善血液相容性,首先就要考虑减少或避免蛋白质的吸附。本实验通过 ESCA 测定经血液蛋白处理后的样品表面的 N-1s(399.3eV)峰,定性说明 PP 膜接枝 PEGMA 前后对血液蛋白的吸附情况。图 4 为接枝 PEGMA(PEO200)后的 PP 膜和对照样品经血液蛋白处理后的 ESCA 图谱比较。从图 4 可以看出,未经辐照及接枝的 PP 膜,其 N-1s 峰很明显(a)、接枝 PEGMA 后有所减小,当接枝率达 1.15% 时, N-1s 峰基本消失(c),这说明当 PEO200 的接枝率达 1.15% 时,样品表面基本没有蛋白质吸附。

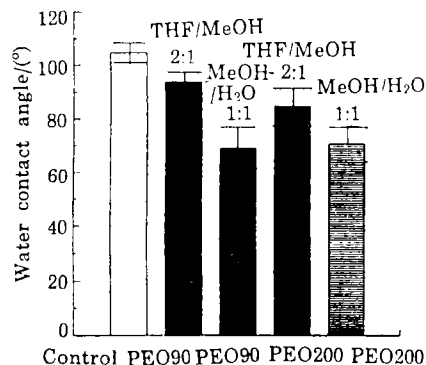


Fig.3 The comparison of water contact angle of PEGMA grafted PP films at different co-solvent system (Grafting yield of PEO90: ~3%, PEO200:~1%)

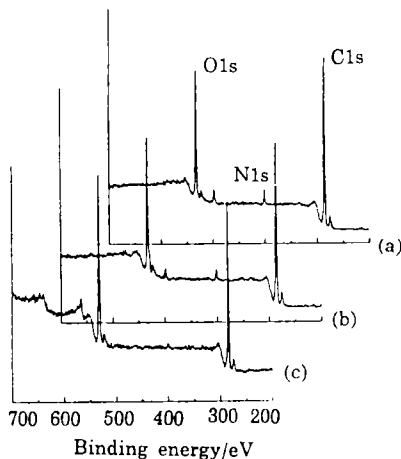


Fig.4 ESCA survey scan spectra of (a) control, (b) 0.69% and (c) 1.15% of PEGMA (PEO200) grafted PP surface after plasma protein adsorption (Grafting yield of PEO90: ~1%)

2.3 血小板的吸附

我们还观察了接枝前后 PP 膜对血小板的吸附情况。就是分别将接枝样品和对照样品与 PRP 反应,然后采用扫描电子显微镜(SEM)观察血小板的吸附情况。图 5 为经 PRP 处理后的样品的扫描电镜图。从图 5 可以看出,经 PEO200 和 PEO350 接枝后的样品,尽管接枝率很低(分别约 0.6% 和 0.2%),但其表面对血小板几乎没有吸附。

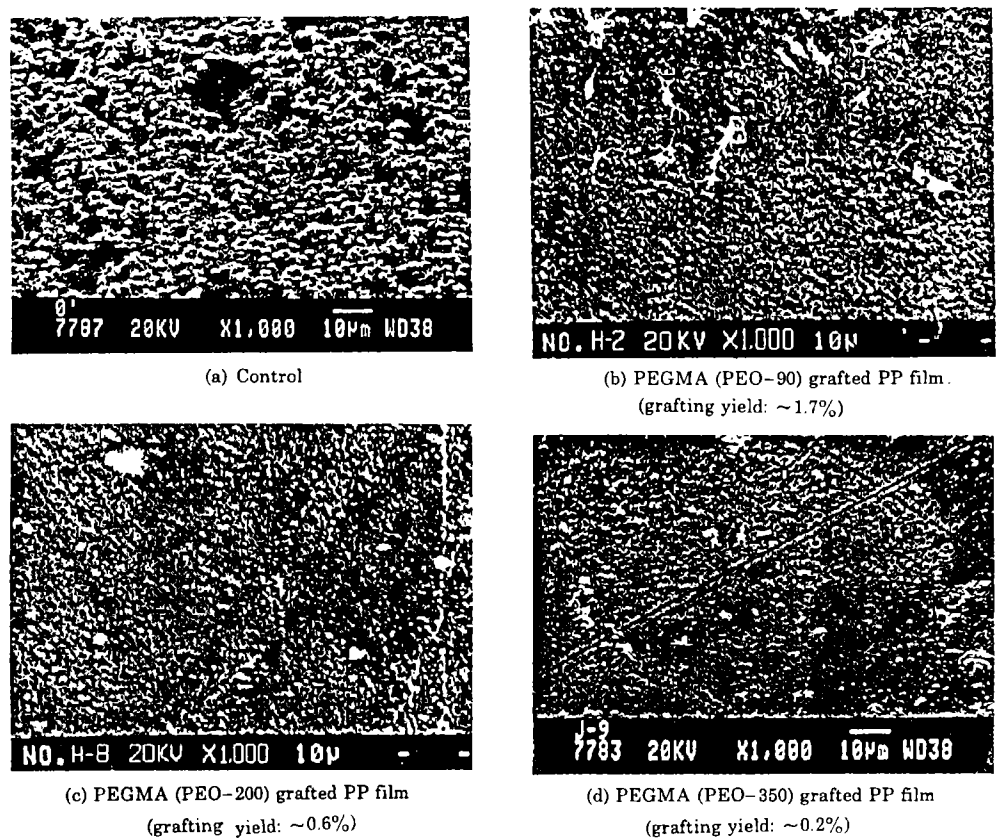


Fig.5 The SEM picture on platelet adhesion of the PP films after contacting with PRP (The sample were grafted in MeOH/H₂O co-solvent system with 10% PEGMA at 70°C for 5 h; Dose: 20kGy)

2.4 样品表面血栓量的测定

除了蛋白质和血小板吸附之外，血栓量有时也是表征材料的血液相容性的一种方法。图 6 是各种接枝样品表面的血栓量与对照样品表面血栓量的比较。从图 6 可以看出，接枝 PEGMA 后的 PP 膜表面的血栓量大大低于对照样品。

3 结 论

- 1) 预辐射 PP 膜接枝 PEGMA 时，采用 THF/MeOH 为溶剂与 MeOH/H₂O 为溶剂时相比较，可得到明显的接枝率差异。但就表面性能的变化而言，接枝率较低的后大于前者。
- 2) 与对照样品相比，接枝 PEGMA 后的 PP 膜对蛋白质、血小板的吸附及血栓量的形成明显减小。

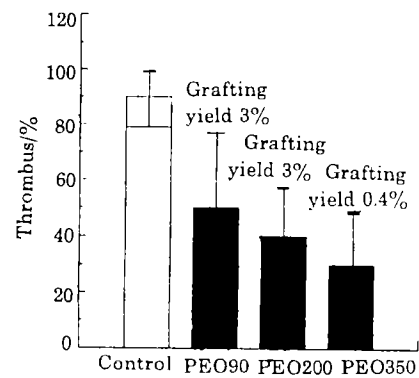


Fig.6 Comparison of thrombus percentage of PEGMA grafted PP films with different PEO repeat units (The samples were grafted in MeOH/H₂O(1:1) with 10% PEGMA at 70°C

3) 采用预辐射接枝法对 PP 膜接枝 PEGMA 可改善 PP 膜的血液相容性。

参 考 文 献

- 1 Ratner B D, Hoffman A S, Schon F J *et al.* Hydrogels in Biomaterials Science (An introduction to materials in medicine), New York: Academic Press, 1996. 60~64
- 2 Andrade J D, Nagaoka S, Cooper S L *et al.* Trans Am Soc Artif Int Organs, 1987, **33**:75~84
- 3 Lee J H, Kopecek J, Andrade J D. J Biomed Mater Res, 1989, **23**:351~368
- 4 Lee J H, Kapeckova P, Kopecek J *et al.* Biomaterials, 1990, **11**:455~464
- 5 Baier R E, Gott V, Furuse A. Trans Am Soc Artif Int Organs, 1970, **16**:50~59
- 6 Ikada Y, Suzuki M, Taniguchi M *et al.* Radiat Phys Chem, 1981, **18**(5-6):1207~1216
- 7 Amiji M, Park K. Biomaterials, 1992, **13**(10):682~692
- 8 Sun Y H, Gombotz W R, Hoffman A S. J Bioact Compat Polym, 1986, **1**:316~334
- 9 Dunkirk S G, Gregg S L, Dinan L W *et al.* J Biomater Appl, 1991, **6**:131~156
- 10 Jeong B J, Lee J H, Lee H B. J Colloid Interfaces Sci, 1996, **178**:757~763
- 11 Hoffman A S. J Appl Polym Sci Appl Polym Symp, 1988, **42**:251~267
- 12 Haddadai-asl V, Burford R P, Garnett J L. Radiat Phys Chem, 1995, **45**(2):191~198
- 13 Wilson J E. J Macromol Sci-Chem, 1977, **A11**(11):2113~2122
- 14 Chen J, Nho Y C, Park J S. Radiat Phys Chem, 1998, **52**(1-6):201~206
- 15 Nho Y C, Chen J, Jin J H. Radiat Phys Chem, 1999, **54**(3):317~322
- 16 Nho Y C, Sugo T, Macuchi K *et al.* Polymer(Korea), 1993, **17**:433~440
- 17 Lee J H, Jeong B J, Lee H B. J Biomed Mat Res, 1997, **34**:105~114

GRAFTING COPOLYMERIZATION AND CHARACTERIZATION OF PEGMA ONTO PREIRRADIATED PP FILMS

CHEN Jie

(Shanghai Applied Radiation Institute, Shanghai University, Shanghai 201800)

NHO Youngchang

(Radiation Application Division, Korea Atomic Energy Research Institute,

Yusong, Taejon, Korea)

ABSTRACT The surface of polypropylene (PP) film is modified by preirradiation grafting of polyethylene glycol methacrylate (PEGMA) with three kind of different molecular weight. The effect of co-solvent system on the degree of grafting and water contact angle were determined, respectively. The Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy in the attenuated total reflectance mode (ATR) was used for the determination of grafted surface. The blood compatibility. Such as protein adsorption, platelet adsorption and thrombus on the grafted surfaces were modified respectively.

KEYWORDS Radiation grafting, Polypropylene, PEGMA, γ -rays, Blood compatibility

This research work is supported by both National Natural Science Foundation of China and the Korea Science and Engineering Foundation