

·实验研究·

壳聚糖接枝改性 PET 人工韧带的表面结构与特性研究 *

孙鹏霄 张东宪 侯 巍 郭海涛 王 星 韩一生[△]

(第四军医大学西京医院骨科 陕西 西安 710032)

摘要 目的: 对聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)人工韧带材料表面接枝壳聚糖长链分子, 对改性 PET 人工韧带的表面结构与特性进行分析, 以期对较好生物相容性的 PET 人工韧带材料的设计和研发奠定一定的理论基础和技术支持。方法: 首先采用化学接枝法在聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)织物表面接枝丙烯酸(PET-AAc), 再与壳聚糖分子发生酰胺化反应实现 PET 表面的壳聚糖接枝(PET-CHI)。借助接触角、x 射线光电子能谱(XPS)、傅立叶红外光谱(FTIR)、热失重(TG)和扫描电镜(SEM)等对 PET 改性效果进行分析表征。结果: 壳聚糖长链分子成功接枝到 PET 表面, 壳聚糖在 PET 表面的接枝厚度为 2.25 μm , 接枝量为 9.66 wt%。结论: 接枝改性后 PET 表面亲水性有较大提高, 浸润性得到改善。

关键词: 人工韧带; 聚对苯二甲酸乙二醇酯; 化学接枝; 壳聚糖; 酰胺化

中图分类号: R318.08, R68 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2012)07-1257-04

Structure and Properties of PET Fabric Modified by Chitosan Surface Grafting*

SUN Peng-xiao, ZHANG Dong-xian, HOU Wei, GUO Hai-tao, WANG Xing, HAN Yi-sheng[△]

(Department of Orthopedics, Xijing Hospital, The Fourth Military Medical University, Shaanxi Xi'an, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To improve the hydrophilicity of PET fabric texture in order to increase its histocompatibility. Evaluate the effects of surface modified PET fabric texture. **Methods:** Acrylic acid was grafted on the surface of polyethylene terephthalate fabric (PET-AAc) by chemical grafting method firstly, then chitosan could be grafted on the PET surface (PET-CHI) successfully by the amidization reaction between PET-AAc and chitosan. The modification effect of PET was analyzed and characterized by contact angles, X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR), Thermal-gravimetric analyzer (TGA) and Scanning electric microscope (SEM). **Results:** Chitosan long-chain molecule was successfully grafted on the surface of PET, the grafting thickness and grafting mass fraction of chitosan was 2.25 μm and 9.66wt%, respectively. **Conclusions:** The hydrophilicity was highly increased and wetting property was also improved by grafting macromolecule acute radicals. Effect was restricted to the surface, mechanical property remained well.

Key words: Artificial ligaments; Polyethylene terephthalate; Chemical grafting; Chitosan; Amidization

Chinese Library Classification (CLC): R318.08, R68 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)07-1257-04

前言

韧带损伤作为一种临床常见疾病严重影响人们的健康, 又因为韧带组织自愈性极差, 患者多需手术治疗。聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)具有优良的力学、电气性能、化学稳定性和对人体体液高抗渗透性等特性, 被广泛应用于医学领域, 诸如人工韧带、人工血管和医用缝合线等^[1-3]。PET 的化学结构式为:

由于 PET 分子结构对称, 分子链紧密敛集、结晶度及取向度高, 因此其表面亲水性、细胞黏附性、组织相容性也较差, 可引起慢性炎症反应等并发症^[4-5]。为此国内外学者采用湿法化学法、酶处理法、紫外光辐照法、离子束照射法和低温等离子体处理法等对 PET 进行表面改性^[6-11]。由于 PET 结构中无高极性基

团, 因而接枝改性较困难^[12]。国内外学者采用丙烯酸(AAc)和甲基丙烯酸(MAA)和聚乙二醇(PEG)等进行接枝改性, 但效果尚不甚理想^[13-15]。

本文以 PET 织物为研究对象, 通过化学接枝法先在 PET 织物表面接枝丙烯酸(PET-AAc), 然后 PET-AAc 再与壳聚糖长链分子发生酰胺化反应实现 PET 表面的壳聚糖接枝(PET-CHI), 借助壳聚糖的生物活性, 提高 PET 材料的亲水性, 以便改善其生物相容性。壳聚糖的化学结构式为:

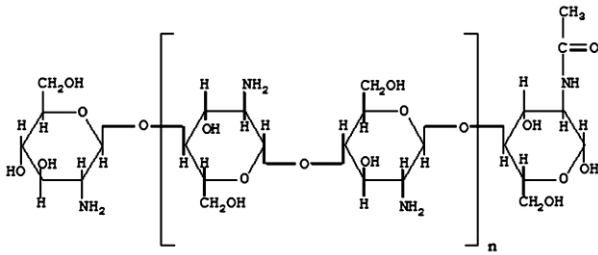
它是唯一的天然碱性多糖, 生物相容性、细胞黏附性好, 且有一定促细胞分化增殖作用^[16-17]。同时借助接触角、x 射线光电子能谱(XPS)、傅立叶红外光谱(FTIR)、热失重分析(TGA)和扫描电镜(SEM)等对 PET 织物的改性效果进行了分析表征, 以期

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81071457)

作者简介: 孙鹏霄(1981-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向: 人工关节 / 人工韧带置换, E-mail: xdr.x@163.com

[△]通讯作者: 韩一生, E-mail: xdrhans@fmmu.edu.cn

(收稿日期: 2011-11-18 接受日期: 2012-12-13)



为较好生物相容性的 PET 人工韧带材料的设计和研发奠定一定的理论基础和技术支持。

1 材料与方法

1.1 实验原材料

PET 织物 浙江海宁威灵顿新材料有限公司 ;水溶性壳聚糖 纯度 $\geq 98.0\%$ (BR) 和光纯药工业株式会社 ;1-(3- 二甲氨基丙基)-3- 乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl) 纯度 $\geq 98.0\%$ (AT) , 西格玛奥德里奇公司 ;N- 羟基琥珀酰亚胺 (NHS) , 纯度 $\geq 97.0\%$,西格玛奥德里奇公司 ;丙烯酸(AAc) ,分析纯 ,天津福晨化学试剂厂 ;过硫酸铵(APS) ,分析纯 ,天津科茂化学试剂有限公司 ;偶氮二异丁腈(AIBN) ,化学纯 ,上海山浦化工有限公司 ;36%乙酸 ,分析纯 ,天津市红岩化学试剂厂 ;无水乙醇 ,西安福晨化学试剂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 PET 织物表面接枝壳聚糖长链分子 (a) PET 织物表面接枝丙烯酸(AAc): PET 织物在无水乙醇中浸泡 24 小时(常温) ,用去离子水超声清洗 20 分钟 ,在 80°C 真空干燥 24 小时 ;将 PET 放入 10% (w/v)的过硫酸铵(APS)水溶液中 , $80^{\circ}\text{C}/\text{N}_2$ 下反应 2.5 小时取出 ,去离子水超声清洗 ;再将 PET 放入 5% (v/v)的 AAc 水溶液中 ,通 N_2 后加入 $0.8\text{wt}\%$ (相对于 AAc 量)的偶氮二异丁腈(AIBN) , $50^{\circ}\text{C}/\text{N}_2$ 下反应 6 小时取出 ,再用去离子水中超声清洗后真空干燥备用。(b) PET-AAc 与壳聚糖的酰胺化反应: 将经①处理后的 PET 织物加入到 0.1% (wt)的 1-(3- 二甲氨基丙基)-3- 乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC) 和 N- 羟基琥珀酰亚胺 (NHS)的混合溶液中(EDC:NHS=5:1) ,冰浴(4°C)活化羧基 4 小时。最后将样品置于溶有 $2\text{wt}\%$ 壳聚糖的乙酸(0.1mol/L)溶液中 ,冰浴(4°C)反应 24 小时 ,再室温静置 24 小时 ,而后将反应产物经多次抽滤、清洗后真空干燥备用。

1.2.2 分析与表征 采用美国热电公司的 K-Alpha 型 X 射线光电子能谱仪(XPS)探测 PET 表面改性处理前后的元素组成和电子结合能变化、条件 ;采用德国 Burkert 公司的 Tensor 27 型红外光谱仪分析体系中基团的变化 ,分辨率为 4cm^{-1} ,扫描次数为 16 次 ;采用美国 TA 公司 Q-50 型 TGA 对样品进行热分析 ,温度范围 $50\text{--}650^{\circ}\text{C}$,升温速率 $10.0^{\circ}\text{C}/\text{min}$, N_2 氛围 ,样品质量 10mg 左右 ;采用日本电子公司生产的 JMS-6700F 扫描电子显微镜对织物表面形貌进行分析 ;采用日本 Olympus 公司 BX-51 显微镜拍摄壳聚糖接枝改性前后 PET 纤维对水和乙二醇的接触角。

1.3 统计学处理

所有数据采用 SPSS 15.0 统计软件进行处理 ,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示 ,组间均数比较采用 t 检验 , $P \leq 0.05$ 或 ≤ 0.01 为显著性

差异。

2 结果与分析

2.1 接触角分析

采用显微镜拍摄测量壳聚糖接枝改性前后 PET 纤维对水和乙二醇的接触角。

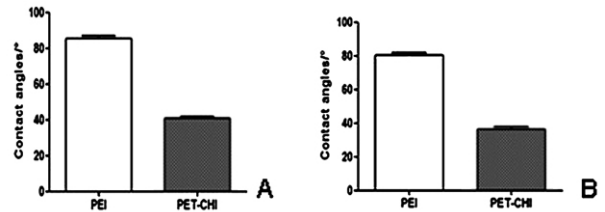


图 1 改性前后 PET 与水的接触角(a)和 PET 与乙二醇的接触角(b)
Figure 1 Contact angles of PET before and after modified both for water and for glycol

改性前 pet 纤维水接触角为 85.37 ± 1.53 ,改性后水接触角为 40.62 ± 1.46 ,改性后与改性前水接触角比较分析有显著统计学差异 ($\#P < 0.01$ $n=6$)。改性前 pet 纤维乙醇接触角为 80.47 ± 1.43 ,改性后 pet 纤维乙醇接触角为 36.47 ± 1.47 ,改性后与改性前乙醇接触角比较分析有显著统计学差异 ($\#\#P < 0.01$ $n=6$)。

2.2 XPS 分析

采用 XPS 对改性前后样品进行表面成份分析 ,探测 PET 表面处理前后的元素组成和电子结合能变化。图 2 结果显示 ,未经表面处理的 PET 表面元素只存在碳和氧。经壳聚糖改性后 ,PET 表面 C1s 和 O1s 峰明显降低 ,与之相对应的是 N1s 峰的出现。

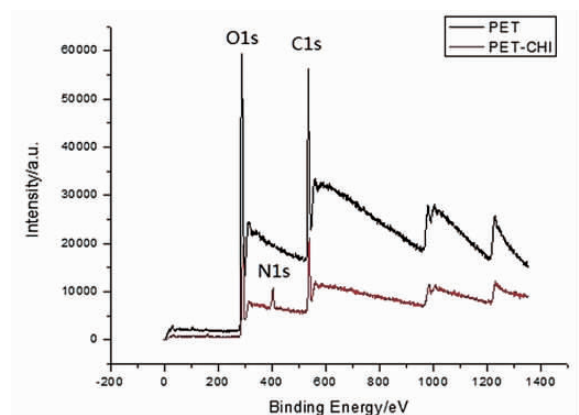


图 2 壳聚糖接枝改性 PET 前后的 XPS 全扫描测量谱图
Figure 2 XPS Spectra of PET before and after modified by chitosan

2.3 FTIR 分析

采用 FTIR 对壳聚糖(CHI)、纯 PET(PET)和接枝后 PET (PET-CHI)进行表面基团分析。图 3 结果显示 ,未处理的 PET 织物的红外光谱中 , 720cm^{-1} 处附近为 O-C-O 的面外弯曲振动和长碳链的特征吸收峰 , 875cm^{-1} 处为苯环 CH 面外弯曲振动峰 ; 1410cm^{-1} 处为苯环 CH 面内弯曲振动峰 ; 1240cm^{-1} 处为 PET 结构中酯基的伸缩振动吸收峰 ; 1710cm^{-1} 处为苯环的 C=C 振

动和酯键中羰基共振吸收峰。经壳聚糖接枝改性后的 PET 织物材料，于 3400cm^{-1} 出现了一个因氢键缔合的 $-\text{OH}$ 与 $-\text{NH}$ 的伸缩振动吸收峰相互重叠而明显增宽的较强的吸收峰，表明有壳聚糖长链分子接枝于 PET 表面。 1670cm^{-1} 左右处出现的峰为酰胺键的特征吸收峰。此外，在 2920cm^{-1} 和 2880cm^{-1} 处吸收峰增强，归因于壳聚糖中 $\text{C}-\text{H}$ 的两个伸缩振动吸收峰。

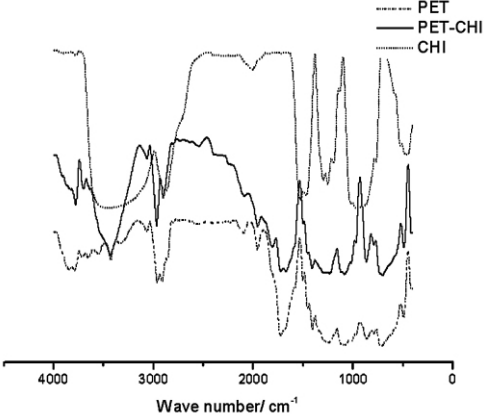


图3 壳聚糖(CHI)、纯 PET(PET)和接枝后 PET(PET-CHI)的 FTIR 谱图
Figure 3 FTIR spectrum of chitosan (CHI), PET(PET), treated PET (PET-CHI)

2.4 TGA 分析

对经壳聚糖接枝改性处理后的 PET 织物用无水乙醇抽提 12h 后烘干制得样品，与未经改性处理的 PET 织物进行 TGA 比较实验。图 4 结果显示，纯 PET 的热失重分为 2 个阶段。第一热分解阶段的温度范围为 $0-225^{\circ}\text{C}$ ，失重为 1%；第二热分解阶段的温度范围为 $225-650^{\circ}\text{C}$ ， 650°C 时失重率达 90.34%。经壳聚糖接枝改性后， 70°C 之前其失重曲线与改性前 PET 基本一致， 70°C 之后重量迅速减小， 650°C 时失重率达 100%。根据 TGA 分析可知，PET 表面的包覆量为 9.66wt%。

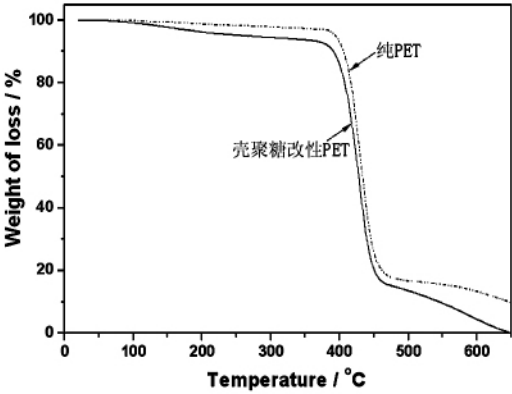


图4 壳聚糖接枝改性 PET 前后的 TGA 曲线
Figure 4 TGA curves of PET before and after modified by chitosan

2.5 eSEM 分析

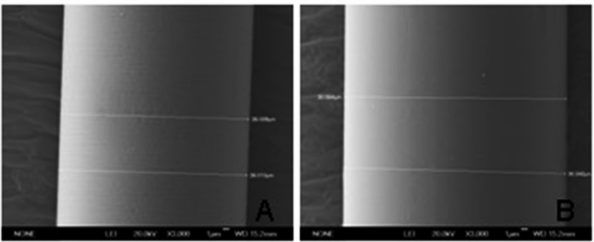


图5 PET 的扫描电镜图. (a) 纯 PET; (b) 改性 PET
Figure 5 SEM morphologies PET. (a) pure PET; (b) treated PET

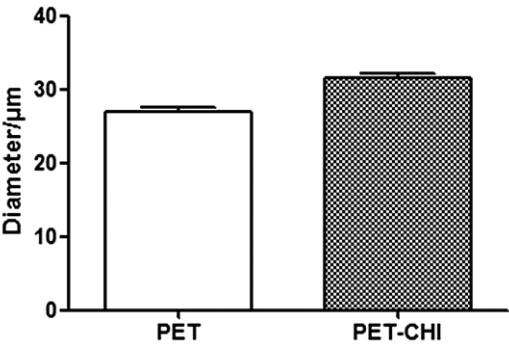


图6 改性前后 PET 直径变化
Figure 6 Diameter of PET before and after modified by chitosan

对接枝改性前后的 PET 表面进行扫描电镜照片($\times 3000$)。图 6 结果显示，纯 PET 纤维的直径约为 $26.986 \pm 0.976\mu\text{m}$ 。经壳聚糖接枝改性后，PET 纤维的直径增加到 $31.546 \pm 0.897\mu\text{m}$ 。改性前与改性后比较分析，纤维直径明显增加，接枝厚度为 $2.250 \pm 0.335\mu\text{m}$ ，有统计学差异($P < 0.05$ $n=6$)。

3 讨论

作为一种严重的常见损伤，关节韧带损伤严重影响患者的生活质量，不当治疗还会导致关节失稳及关节内慢性损伤等严重后果。BPTB (bone - patellar tendon - bone) 自体移植是目前公认的韧带重建的金标准。然而，自 20 世纪 60 年代，人工韧带进入临床应用，为韧带损伤的治疗提供了新的解决方案。短时间内，众多人工韧带产品逐渐广泛应用于临床，但是绝大多数产品不久后即因急性炎症反应、韧带的断裂等严重并发症的出现而被淘汰^[18,19]。随着材料学的进一步发展，人工韧带重新进入临床。LARS 韧带是目前国内应用最广、最优秀的代表。人工韧带具有其自身优势：①不损伤其他部位自身组织，无相应后遗症；②手术简单、创伤小、应用方便；③无需制动，稳定性可靠，术后恢复快；④几无疾病传播风险；⑤材料来源广泛。

Lars 韧带同样采用聚酯材料，本材料虽具有优良的力学特性(弹性、抗蠕变性及抗疲劳性)，但 PET 分子的对称结构和较高的结晶度以及表面极性基团的缺乏，导致其亲水性较差，生物相容性仍不令人满意，其高昂的价格更是让国人不堪重负。通过对材料进行改性改善其生物相容性是当前研究的热点^[20,21]。目前，我国尚无具有自主知识产权的人工韧带产品。一种具有更好的生物相容性的自有韧带产品的研发，具有极大的社会效益和经济效益。

本实验首先采用化学接枝法在聚对苯二甲酸乙二醇酯织物表面接枝丙烯酸，再与壳聚糖分子发生酰胺化反应实现 PET

表面的壳聚糖接枝。通过 XPS 检测可以看出,未经表面处理的 PET 表面元素只存在碳和氧。而经壳聚糖改性后, PET 表面 C1s 和 O1s 峰明显降低,与之相对应的是明显的 N1s 峰的出现,提示改性 PET 表面存在壳聚糖长链分子。通过红外光谱分析可知,未处理的 PET 织物的红外光谱中, 720cm^{-1} 处附近为 O-C-O 的面外弯曲振动和长碳链的特征吸收峰, 875cm^{-1} 处为苯环 CH 面外弯曲振动峰, 1410cm^{-1} 处为苯环 CH 面内弯曲振动峰, 1240cm^{-1} 处为 PET 结构中酯基的伸缩振动吸收峰; 1710cm^{-1} 处为苯环的 C=C 振动和酯键中羰基共振吸收峰。经壳聚糖接枝改性后的 PET 织物材料,于 3400cm^{-1} 出现了一个因氢键缔合的 -OH 与 -NH 的伸缩振动吸收峰相互重叠而明显增宽的较强的吸收峰,表明有壳聚糖长链分子接枝于 PET 表面。 1670cm^{-1} 左右处出现的峰为酰胺键的特征吸收峰。此外,在 2920cm^{-1} 和 2880cm^{-1} 处吸收峰增强,归因于壳聚糖中 C-H 的两个伸缩振动吸收峰。由 TGA 检测结果可知,纯 PET 的热失重分为 2 个阶段。第一热分解阶段的温度范围为 $0-225^{\circ}\text{C}$,失重为 1%,归因于样品中吸附水(或羟基)等小分子物质的挥发;第二热分解阶段的温度范围为 $225-650^{\circ}\text{C}$, 650°C 时失重率达 90.34%,该阶段 PET 主链开始裂解和碳化。经壳聚糖接枝改性后 PET 的重量随温度升高而减小, 70°C 之前其失重曲线与改性前 PET 基本一致, 70°C 之后重量迅速减小, 650°C 时失重率达 100%,归因于 PET 表面的壳聚糖在高温下发生氧化或热裂解反应。根据 TGA 分析可以推断出,壳聚糖涂层在 70°C 之前热稳定性良好,表面的包覆量为 9.66wt%。扫描电镜示,纯 PET 纤维的直径约为 $26.986\pm 0.976\mu\text{m}$ 。经壳聚糖接枝改性后, PET 纤维的直径增加到 $31.546\pm 0.897\mu\text{m}$ 。改性前与改性后比较分析,纤维直径明显增加,由此可知,壳聚糖长链分子在 PET 表面的接枝厚度为 $2.250\pm 0.335\mu\text{m}$,有统计学差异 ($P<0.05$, $n=6$)。接枝改性后, PET 与水的接触角(θ_{water})和与乙二醇的接触角(θ_{glycol})均明显减小,说明通过表面改性处理,于 PET 纤维表面引入大分子亲水基团后,其亲水性有较大提高。

此外,由于壳聚糖的生物可降解性,其体内降解引起的人工韧带材料表面的孔隙变化有可能进一步诱导细胞的迁移和长入。另有研究表明,壳聚糖表面带有正电荷,因此其表面涂层具有一定的抑菌作用。本实验为较好生物相容性的 PET 人工韧带材料的设计和研发奠定一定的理论基础和技术支持。

参考文献(References)

- [1] 张师民. 聚酯的生产及应用[M]. 北京: 中国石化出版社, 1997:6-28
Zhang Shi-min. Production and application of Polyester [M]. Beijing: China petrochemical press, 1997:6-28
- [2] Uchida E, Ikada Y. Surface structure of poly (ethylene terephthalate) film grafted with poly (meth acrylic acid)[J]. Polymer, 2000, 41(10): 3609-3614
- [3] Wang J, Pan CJ, Huang N, et al, Surface characterization and blood compatibility of poly (ethylene terephthalate) modified by plasma surface grafting [J]. Surface & Coatings Technology, 2005, 196(1-3): 307-311
- [4] 张克惠. 塑料材料学[M]. 西安: 西北工业大学出版社, 2001 :20-23
Zhang Ke-hui. Material science[M]. Xi'an: northwestern polytechnical university press, 2001 :20-23
- [5] 刘建伟, 陈元维, 唐昌伟. 等. PET 膜的接枝改性及其血液相容性研究[J]. 四川大学学报, 2004, 36(1): 41-44
Liu Jian-wei, Chen Yuan-wei, Tang Chang-wei. Study on the Surface Modification and Blood Compatibility of PET [J]. Journal of Sichuan University, 2004, 36(1): 41-44
- [6] Wei C, Thomas JM. Chemical Surface Modification of Poly(ethylene terephthalate)[J]. Macromolecules, 1998, 31(11): 3648-3655
- [7] Iwona K, Barbara LS, Slawomir S. The influence of enzymatic treatment on the surface modification of PET fibers [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2011, 119(6): 3117-3126
- [8] Ita J, Alenka VI, Uros C, et al. Influence of oxygen and nitrogen plasma treatment on polyethylene terephthalate (PET) polymers[J]. Vacuum, 2010, 84(1): 83-85
- [9] Ali EO, Kirill E, Cherno J, et al. Modification of PET surfaces with self-assembled monolayers of organosilane precursors [J]. Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena, 2009, 172 (1-3): 95-103
- [10] Zhou YF, Bai YP, Wei JG. Ultraviolet grafting of styrene and maleic anhydride on polyethylene-terephthalate film [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2006, 102(1): 285-288
- [11] 陈冰, 陈银, 王红卫. 低温氩等离子体表面改性提高 PET 亲水性[J]. 纺织学报, 2007, 28(6): 28-31
Chen Bing, Chen Yin, Wang Hong-wei. Wettability of polyethylene terephthalate (PET) modified by low temperature argon plasma surface treatment[J]. Journal of Textile Research, 2007, 28(6): 28-31
- [12] 张晓林, 马晓光. 丙烯酸微波低温等离子体引发 PET 接枝改性的研究[J]. 纺织学报, 2005, 26(5): 16-19
Zhang Xiao-lin, Ma Xiao-guang. Grafting modification of PET with acrylic acid by microwave low temperature plasma techniques [J]. Journal of Textile Research, 2005, 26(5): 16-19
- [13] 刘晓洪, 刘伟, 殷肖海, 等. 丙烯酸接枝改性 PET 纤维的结构与性能[J]. 合成纤维工业, 2009, 32(6): 11-13
Liu Xiao-hong, Liu Wei, Yin xiao-hai, et al. Structure and properties of PET fiber graft modified with acrylic acid [J]. China Synthetic Fiber Industry, 2009, 32(6): 11-13
- [14] Ginting SI, Hitoshi K, Takashi K. Effect of monomer concentration on characteristics of methacrylic acid-grafted polyethylene film prepared by photografting[J]. European Polymer Journal, 2002, 38(6): 1145-1150
- [15] 潘长江, 王进, 黄楠, 等. 等离子体表面接枝改性聚对苯二甲酸乙二醇酯的血液相容性研究[J]. 功能材料, 2003, 34(4): 468-470
Pan Chang-jiang, Wang Jin, Huang Nan, et al. Study on blood compatibility of polyethylene terephthalate (PET) modified by plasma surface grafting [J]. Journal of Functional Materials, 2003, 34 (4): 468-470
- [16] Miyazaki I, Simizu S, Osada H. The application of the chemical array for biological study[J]. Methods Mol Biol, 2010, 669: 95-107
- [17] Amidi M, Hennink WE. Chitosan-based formulations of drugs, imaging agents and biotherapeutics[J]. Preface. Adv Drug Deliv Rev, 2010, 62(1): 1-2
- [18] Mody BS, Howard L, Harding ML, et al. The ABC crab and polyester prosthetic ligament for ACL - deficient knees [J]. J Bone Joint Surg (Br), 1993, 75 : 818
- [19] Roolker W, Patt TW, Van Dijk CN, et al. The Gore - Tex prosthetic ligament as a salvage procedure on deficient knees [J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2000, 8 (1) : 20
- [20] Petrigliano FA, McAllister DR, Wu BM. Tissue engineering for anterior cruciate ligament reconstruction: a review of current strategies[J]. Arthroscopy, 2006, 22(4): 441-451
- [21] Bernardino S. ACL prosthesis: any promise for the future?[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2010, 18: 797-804