

doi:10.3969/j.issn.1001-3539.2022.05.001

杂萘联苯聚芳醚酮的表面化学改性及成骨活性

柳承德¹, 张杨阳¹, 程习彤¹, 蹇锡高²

(1. 大连理工大学化工学院高分子材料系, 辽宁大连 116024; 2. 大连理工大学辽宁省高性能树脂工程技术研究中心, 辽宁大连 116024)

摘要: 为了解决生物骨植入材料杂萘联苯聚芳醚酮 (PPEK) 生物活性较差的问题, 采用化学方法对 PPEK 进行改性, 得到了羟基化改性 PPEK 和磺化改性 PPEK。通过溶液旋涂的方法把两种改性聚合物涂覆在 PPEK 薄片表面, 分别得到表面羟基化的 PPEK 样品 (PPEK-OH) 和表面磺化的 PPEK 样品 (PPEK-SO₃H)。用 X 射线光电子能谱和接触角测试仪表征了改性前后 PPEK 表面的元素组成和亲疏水性, 同时, 用耗散型石英晶体微天平对 PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 表面的蛋白吸附行为进行表征。结果表明, PPEK-OH 样品和 PPEK-SO₃H 样品表面人体纤连蛋白吸附密度分别增加了 20.5% 和 33.8%。用 MC3T3-E1 成骨细胞评价 PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 的细胞相容性和成骨分化活性, 结果表明, 与未改性 PPEK 相比, PPEK-OH 样品和 PPEK-SO₃H 样品表面的细胞贴附与成骨活性得到显著改善。

关键词: 杂萘联苯聚芳醚酮; 表面改性; 蛋白吸附; 亲水性; 成骨活性

中图分类号: R318.08 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3539(2022)05-0001-07

Surface Chemical Modification of Poly(phthalazinone ether ketone) and Osteogenic Activity

Liu Chengde¹, Zhang Yangyang¹, Cheng Xitong¹, Jian Xigao²

(1. Department of Polymer Science and Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China;

2. Liaoning High Performance Resin Engineering Research Center, Dalian 116024, China)

Abstract : To solve the problem that the biological bone implant material poly(phthalazinone ether ketone) (PPEK) has the poor bioactivity, chemical modification approaches were used in PPEK to obtain hydroxylated PPEK and sulphonated PPEK. The two modified polymers were coated on the surface of PPEK flakes by solution spin coating to obtain surface hydroxylated PPEK samples (PPEK-OH) and surface sulphonated PPEK samples (PPEK-SO₃H), respectively. The elemental composition and hydrophobicity of the unmodified and modified PPEK surface were characterized by X-ray photoelectron spectroscopy and contact angle tester. The protein adsorption density of the PPEK-OH and PPEK-SO₃H surfaces were also characterized by quartz crystal microbalance with dissipative (QCM-D). The results show that the adsorption density of human fibronectin on the surfaces of PPEK-OH and PPEK-SO₃H samples increase by 20.5% and 33.8%, respectively. The cytocompatibility and osteogenic differentiation activity of PPEK-OH and PPEK-SO₃H were evaluated using MC3T3-E1 osteoblasts. The results show that the cytosolic adhesion and osteogenic activity on the surface of PPEK-OH and PPEK-SO₃H samples are significantly improved compared to unmodified PPEK.

Keywords : poly(phthalazinone ether ketone); surface modification; protein adsorption; hydrophilicity; osteogenic activity

骨植入材料作为生物医用材料的一个重要分支, 在骨修复、填充骨缺损和其他骨科手术中发挥着重要作用。聚醚醚酮 (PEEK) 是一种高性能工程塑料, 由于其具有与人骨匹配的力学性能和化学稳定性等优点, 已经广泛应用在骨植入材料领域^[1-4]。然而 PEEK 作为一种结晶性聚合物, 溶解性很差, 因

此在成型加工方面受到一定的限制。本课题组开发的杂萘联苯聚芳醚酮 (PPEK) 是一种新型聚芳醚酮热塑性树脂, 通过引入扭曲非共平面的分子结构, 赋予了聚合物良好的溶解性和更高的耐热性能。与 PEEK 相比, PPEK 不仅加工性能更加优异, 并且其成本仅为 PEEK 的一半, 因此其在生物材料领域的

基金项目: 国家自然科学基金项目 (U1837205), 中央高校基本科研业务费项目 (DUT20ZD203)

通信作者: 蹇锡高, 中国工程院院士, 博士生导师, 主要从事耐高温高性能高分子材料及其应用新技术的研究

收稿日期: 2022-03-09

引用格式: 柳承德, 张杨阳, 程习彤, 等. 杂萘联苯聚芳醚酮的表面化学改性及成骨活性 [J]. 工程塑料应用, 2022, 50(5):1-7.

Liu Chengde, Zhang Yangyang, Cheng Xitong, et al. Surface chemical modification of poly(phthalazinone ether ketone) and osteogenic activity[J]. Engineering Plastics Application, 2022, 50(5):1-7.

应用具有相当的潜力。然而 PPEK 的表面为生物惰性,如何得到具有更好生物活性的 PPEK 仍是需要攻克的问题^[5]。

植入体与体内环境接触后,细胞并不会与植入体材料表面发生直接相互作用。存在于生物体血液或其它体液中的蛋白质将率先到达植入体材料表面并与之发生相互作用。植入物材料的表面理化性质与其表面的蛋白吸附行为直接相关,而吸附在材料表面的蛋白又会进一步引发各种各样的细胞行为和生物化学反应^[6]。通过改变材料表面的性质,改善材料表面对蛋白质的相互作用,从而解决 PPEK 的表面惰性问题具有重大的研究意义。有研究表明,羟基($-\text{OH}$)^[7]、磺酸基($-\text{SO}_3\text{H}$)^[8-9]等化学基团的引入能增加材料表面蛋白质的吸附,并且能促进成骨细胞的分化,改善骨再生性能^[10]。笔者采用强还原剂将 PPEK 分子链中的羰基还原成为羟基,使用硫酸(H_2SO_4)和氯磺酸(HClO_3S)在 PPEK 分子链上引入磺酸基团,并通过溶液涂覆的方法将含有羟基、磺酸基的 PPEK 涂覆于可溶性的 PPEK 表面,形成牢固结合的表面层,期望改善 PPEK 材料的表面惰性以及材料与蛋白质的相互作用,进而改善其表面的成骨活性。

1 实验部分

1.1 主要原料

PPEK : 0539, 大连宝力摩新材料有限公司;

二甲基亚砷(DMSO)(99%)、硼氢化钠(NaBH_4)(98%)及 HClO_3S (99%):阿拉丁试剂(上海)有限公司;

α -最低必需培养基(α -MEM)、胎牛血清(FBS)、链霉素-青霉素:美国 Hyclone 公司;

人体纤连蛋白(Fn)、磷酸盐缓冲溶液(PBS)、96孔细胞培养板(无菌)、6孔细胞培养板(无菌):索莱宝生物科技有限公司;

TRIZOL 试剂、DAPI 染色液、TRITC 染色液:北京酷莱博科技有限公司;

细胞计数试剂盒(CCK-8)、全蛋白提取试剂盒、反转录试剂盒、荧光定量聚合酶链式反应(PCR)试剂盒、聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)、改良的聚氧基丙烯酸正丁酯(BCA)蛋白检测试剂盒、碱性磷酸酶(ALP)蛋白检测试剂盒:生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 主要设备及仪器

傅里叶变换红外光谱(FTIR)仪:IS50型,美国

Thermo Nicolet 公司;

X 射线光电电子能谱(XPS)仪:ESCALAB 250Xi 型,英国 Thermo Fisher Scientific 公司;

接触角测量仪:DSA30S 型,德国 KRUSS 公司;

耗散型石英晶体微天平(QCM-D)分析仪:Q-SENSE ANALYZER 型,瑞典 Biolin Scientific AB 公司;

单光子激光共聚焦显微镜:FV1000 型,日本 Olympus 公司;

酶标仪:Epoch2T 型,美国 Bio Tek 公司;

荧光定量 PCR 仪:LightCycler480II-96well 型,瑞士 Roche 公司。

1.3 PPEK 表面改性

将 PPEK 粉料通过高温模压得到厚度为 1 mm 的 PPEK 薄板,并裁剪成 1 cm × 1 cm 小片,打磨抛光后用丙酮、乙醇、去离子水依次超声清洗 10 min,在真空烘箱中烘干备用。

表面羟基化 PPEK 样品(PPEK-OH)的制备:根据文献[11]报道的方法将 PPEK 主链的羰基还原为羟基。在带有回流冷凝装置的三口烧瓶中加入 200 mL DMSO 和 0.45 g NaBH_4 ,加热至 120℃,待 NaBH_4 完全溶解,将 5 g PPEK 粉料浸入反应溶液中。在氮气保护条件下 120℃反应 24 h,把反应溶液沉降在冰水混合物中,析出絮状的产物。用去离子水洗涤数次后在 80℃鼓风烘箱中烘干备用。用上述烘干的产物配置成 10 mg/mL 的氯仿溶液,旋涂在 1 cm × 1 cm PPEK 片的表面(1000 r/min),每个样品重复旋涂 5 次,最后置于 60℃鼓风烘箱中放置 6 h 烘干溶剂,标记为 PPEK-OH。

表面磺化 PPEK 样品(PPEK- SO_3H)的制备:根据文献[12]报道的方法对 PPEK 材料进行磺化改性。在带有冷凝回流装置的三口烧瓶中加入 5.0 g 的 PPEK 和 70 mL 的 H_2SO_4 ,剧烈搅拌至聚合物完全溶解。用恒压滴液漏斗缓慢滴加 10 mL 的 HClO_3S ,在 90℃条件下反应 8 h 后,将反应溶液沉降在冰水混合物中,析出絮状的产物。用去离子水洗涤数次后在 80℃鼓风烘箱中烘干备用。用上述烘干的产物配置成 10 mg/mL 的氯仿溶液,旋涂在 1 cm × 1 cm PPEK 片的表面(1000 r/min),每个样品重复旋涂 5 次,最后置于 60℃鼓风烘箱中放置 6 h 烘干溶剂,标记为 PPEK- SO_3H 。

PPEK 两种化学改性(羟基化和磺化)流程如图 1 所示。

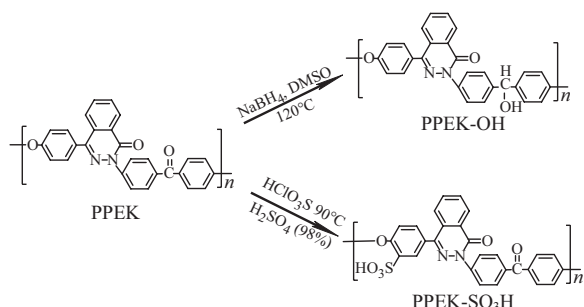


图1 PPEK 的化学改性流程

1.4 细胞相容性和成骨分化活性测定

细胞培养: 用 α -MEM 培养基在细胞培养箱 (37°C , 5% CO_2) 中培养 MC3T3-E1 成骨细胞, 培养基中含 10% 的 FBS 和 1% 的链霉素-青霉素。细胞每三天传代一次, 每天更新一次细胞培养基。

细胞毒性测定: 采用培养细胞所用的培养基在 37°C 条件下对样品分别浸提 24 h。将细胞悬液以每孔 5×10^3 个细胞的密度接种于 96 孔细胞培养板, 培养 4 h。然后, 用不同浓度的浸提液更换培养基。孵育 1, 3 d 后, 每孔加 $10 \mu\text{L}$ 3-(4, 5-二甲基-2-噻唑)-2, 5-二苯基溴化四氮唑 (MTT) 的 PBS 溶液 (5 mg/mL)。在 37°C 孵育 4 h 后, 移出溶液, 加入 $100 \mu\text{L}$ DMSO 溶解甲醛晶体。用酶标仪在 570 nm 波长下测吸光度, 细胞活力与所测吸光度的值呈正比。

细胞增殖: 将细胞悬液以每孔 5×10^3 个细胞的密度接种于 96 孔细胞培养板, 并与样品一起培养。在预定的时间点, 移出样品, 向培养基中加入 $10 \mu\text{L}$ CCK-8 溶液。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度。

细胞贴附: 将 1×10^4 个细胞接种在样品表面, 置于 6 孔细胞培养板中共培养 24 h。经过 4% 多聚甲醛溶液固定 20 min 后, 室温下 TRITC 染色 30 min, DAPI 染色 2 min, 用单光子激光共聚焦显微镜观察样品表面的细胞形态。

ALP 活性测定: 将 1×10^4 个细胞与样品共培养于 6 孔细胞培养板中, 测定 ALP 活性以评估成骨分化的情况。在培养 7, 14 d 后, 取出样品, 用 1% 的 Triton X-100 在 4°C 下裂解细胞。以 14 000 r/min 的速度离心之后, 用改良的 BCA 蛋白检测试剂盒计算上清液总蛋白含量。ALP 活性的测定是通过量化对硝基苯酚来确定的, 对硝基苯酚是磷酸对硝基苯的最终产物, 用 ALP 蛋白检测试剂盒对其进行定量。最后, 对 ALP 活性与总蛋白的相应含量进

行归一化。

实时荧光检测 PCR (RT-PCR) 检测成骨基因相关表达: MC3T3-E1 细胞的成骨基因表达是通过 RT-PCR 测定的。将 1×10^4 个细胞接种在 6 孔细胞培养板中与样品共培养 3, 7, 14 d, 提取细胞的信使核糖核酸 (mRNA)。此后, 在金属浴中将其逆转录为互补脱氧核糖核酸 (cDNA)。所选基因的正向和反向引物见表 1。通过 RT-PCR 进行定量分析成骨相关基因 [包括 ALP, 转录因子 (Runx2) 和 I 型胶原蛋白 (COL-I)] 的表达结果。每个基因的相对 mRNA 表达水平通过循环阈值与管家基因 3-磷酸甘油酯脱氢酶 (GAPDH) 进行归一化确定。

表1 成骨相关基因引物序列^[13]

基因	引物序列
GAPDH	前引物: AAATGGTGAAGGTCGGTGTGAAC
	后引物: CAACAATCTCCACTTTGCCACTG
ALP	前引物: GCAGTATGAATTGAATCGGAACAAC
	后引物: ATGGCCTGGTCCATCTCCAC
COL-I	前引物: GACATGTTCAGCTTTGTGGACCTC
	后引物: GGGACCCCTAGGCCATTGTGTA
RUNx2	前引物: CCCCGTTCCTTCTGCTTCT
	后引物: AAAACACATAACACACAGCCAACCTC

1.5 性能测试与表征

FTIR 测试: 采用全反射的方法对样品表面进行测试, 波数范围是 $400 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$ 。

XPS 测试: 激发源为 Cu K α , 起飞角为 20° , 结合能用烷基碳 C(1s) 峰 (284.8 eV) 进行校正。

水接触角测试: 以去离子水为检测液体, 每次注射 $5 \mu\text{L}$ 在样品表面, 用接触角测量仪测试材料表面的接触角。

QCM-D 测试: 将样品用氯仿配置成 10 mg/mL 的溶液, 旋涂在 QCM-D 金芯片表面 (转速 1000 r/min), 每个芯片重复旋涂五次, 然后在 80°C 真空烘箱中烘干溶剂。QCM-D 测试前先通入 PBS 溶液冲洗至少 10 min, 再通入 $20 \mu\text{g/mL}$ 的 Fn 溶液, 待吸附稳定后分别用 PBS 溶液和 1% 的十二烷基硫酸钠 (SDS) 溶液冲洗, 进液流速为 $100 \mu\text{L/min}$ 。

1.6 统计学分析

数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差, 使用 Student's t-test 检测两个样品组之间有无显著性差异, $P < 0.05$ 视为和 PPEK 相比有统计学差异, 在后续柱状图中用 * 表示。

2 结果与讨论

2.1 PPEK 化学改性分析

图 2 为 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 的

FTIR 谱图。由图 2 可以看出, PPEK 的红外吸收峰与本课题组^[14]之前的研究结果一致, PPEK-OH 在 3400 cm^{-1} 处出现羟基的特征吸收峰, 而 PPEK-SO₃H 在 1500 cm^{-1} 和 1474 cm^{-1} 处出现了芳香取代吸收峰, 结合 1020 cm^{-1} 和 1075 cm^{-1} 处磺酸基的对称和不对称伸缩振动峰, 说明磺酸基已经成功引入到 PPEK 主链上^[14]。

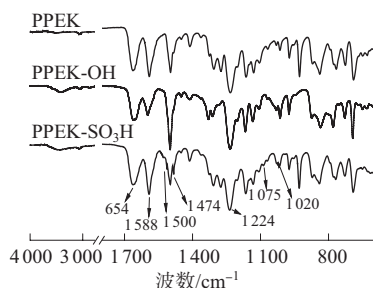


图 2 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 的 FTIR 谱图

图 3 是 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 的 XPS 全谱图。由图 3 可以看到, 对比 PPEK 和 PPEK-OH 样品, PPEK-SO₃H 的表面除了 C, N, O 元素之外还检测到了 S 元素的信号。表 2 为根据 XPS 数据计算出的 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 表面各元素相对含量。表 2 显示, PPEK-SO₃H 表面 S 元素的相对含量为 1.2%。

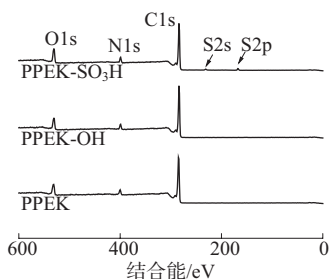


图 3 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 的 XPS 谱图

表 2 不同样品表面各元素相对含量 %

样 品	C1s	N1s	O1s	S2p
PPEK	84.03	6.07	9.90	
PPEK-OH	84.92	5.63	9.45	
PPEK-SO ₃ H	80.12	6.34	12.33	1.21

图 4 是 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 的 XPS 高分辨 O1s 谱图。表 3 为不同试样表面 O1s 谱图中各成键相对含量。由图 4 可以看出 PPEK 的高分辨 O1s 谱图主要归为 529.8 eV 和 531.8 eV 处的 C=O 和 C—O, 伴随着 PPEK 表面的还原反应, 一部分 C=O 转化为 C—O, 在高分辨 O1s 谱图这两处的强度也有相应的变化, 并且在 530.9 eV 出现了归属于 O—H 的峰, 同时表 3 显示 O—H 在 PPEK-OH 的 O1s 谱图中的成键相对含量达到

9.2%。在 PPEK-SO₃H 的高分辨 O1s 谱图中除了 C=O 和 C—O 之外, 在 530.7 eV 处出现了归属于 S=O 和 S—O 的信号峰, 同时表 3 显示 S=O 和 S—O 在 PPEK-SO₃H 的 O1s 谱图中的成键相对含量达到 26.2%。

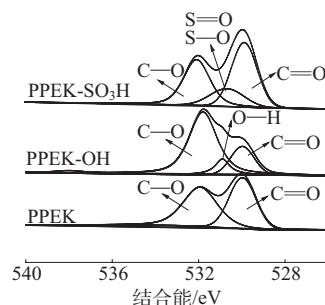


图 4 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 的 XPS 高分辨 O1s 谱图

表 3 不同样品表面 O1s 谱图中各成键相对含量 %

结合能 /eV	成键	PPEK	PPEK-OH	PPEK-SO ₃ H
529.8	C=O	53.1	30.2	39.6
531.8	C—O	46.9	60.6	34.2
530.7	S=O/S—O			26.2
530.9	O—H		9.2	

为了对官能化改性的 PPEK 的表面性能进一步研究, 对三种样品的表面水接触角进行了测试, 结果如图 5 所示。从图 5 可以看出, 对比未改性的 PPEK, PPEK-OH 的表面水接触角从 86° 下降到 79° , PPEK-SO₃H 的表面水接触角下降到了 61° 。FTIR 和 XPS 均证明了 PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 的成功制备, 并且接触角数据表面改性后材料的亲水性变好。

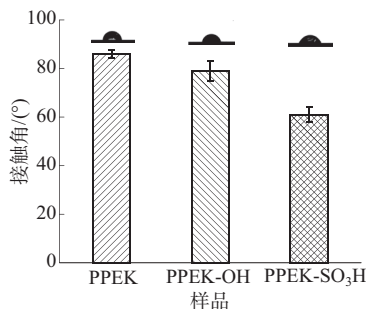


图 5 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 的表面水接触角

2.2 表面蛋白吸附能力评价

植入体材料表面吸附的蛋白是组织细胞与植入体材料之间联系的纽带。通过 QCM-D 测定了不同样品表面的 Fn 吸附密度。根据式 (1)^[9] 计算得到的三种样品表面最大 Fn 吸附密度如图 6 所示。图 6 显示, PPEK 样品表面的 Fn 吸附密度为 302 ng/cm^2 , PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 样品表面的 Fn 吸附密度分别达到 $364, 404\text{ ng/cm}^2$, 相较 PPEK 样品提

高了 20.5% 和 33.8%。

$$\Delta m = -(C/n) \times \Delta f_n \quad (1)$$

式中: Δm ——Fn 吸附密度, ng/cm^2 ;

C ——晶体的质量灵敏度常数, 取 $C=17.7 \text{ ng}/\text{cm}^2$;

n ——频率倍数, 取 $n=3$;

Δf_n ——QCM-D 芯片的频率变化。

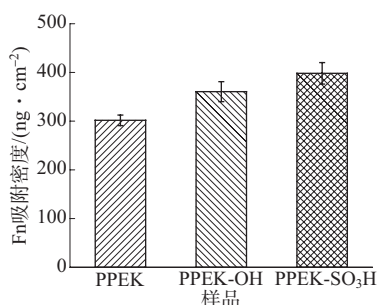


图 6 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 样品表面 Fn 吸附密度

QCM-D 芯片振动频率下降的绝对值与吸附在芯片表面的蛋白质质量呈正比。图 7 分别是三种样品的 QCM-D 芯片的振动频率曲线 (图 7 中纵坐标的标值负号表示频率下降)。由图 7 可以看到, 在蛋白吸附稳定后通入 PBS 溶液, 芯片振动频率曲线均没有明显的变化, 说明其表面吸附的蛋白没有脱落。在通入 SDS 溶液后, 三个样品的芯片振动频率曲线都经历了先下降又上升的过程, 并且最终稳定。然而 PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 样品振动频率相对于通入 PBS 前变化不大, 而未经修饰的 PPEK 样品振动频率相对于通入 PBS 前明显上升。这说明 PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 表面吸附的蛋白与基体材料之间的相互作用更强。

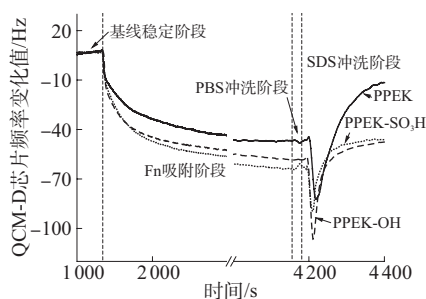


图 7 不同样品表面吸附蛋白后 QCM-D 芯片频率变化

2.3 MC3T3-E1 成骨细胞相容性及成骨活性评价

采用 MTT 法测定样品浸提液的细胞毒性。培养在 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 样品上的 MC3T3-E1 成骨细胞孵育 1, 3 d 后的细胞活力如图 8 所示。由图 8 可以看出, 样品提取物对 MC3T3-E1 成骨细胞没有明显的细胞毒性, 细胞存活率均大于

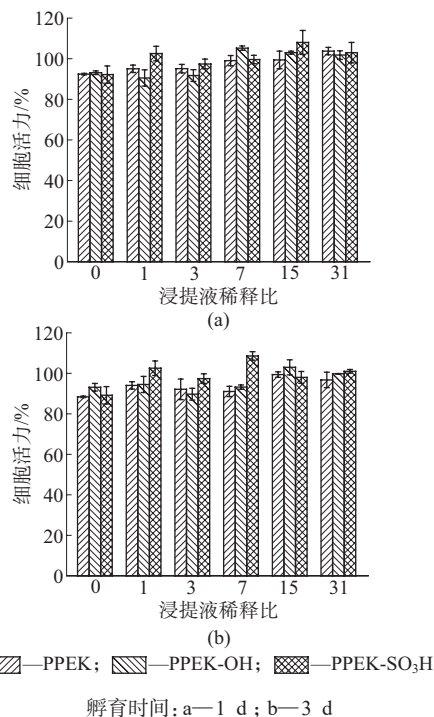


图 8 培养在不同样品上的 MC3T3-E1 成骨细胞的细胞活力

85%。结果表明, 三种样品都不会在浸提液中释放影响细胞生长的物质, 不具有细胞毒性。

通过 CCK-8 法定量分析可以快速、准确地检测细胞在不同样品表面的增殖活性情况, 在固定波长 (450 nm) 处的吸光度与活细胞数量呈正比。图 9 展示了不同培养时间点 MC3T3-E1 成骨细胞在 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 表面的增殖活性结果。从图 9 可以看出, MC3T3-E1 成骨细胞在 PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 表面的增殖情况显著优于其在未改性 PPEK 表面的增殖情况, 并且 PPEK-SO₃H 表面的成骨细胞增殖活性最高。这说明 PPEK-OH 样品表面的羟基和 PPEK-SO₃H 样品表面的磺酸基均促进了 MC3T3-E1 成骨细胞在材料表面的增殖生长, 其中磺酸基的促进效果更好。

良好的生物相容性对细胞的贴附生长至关

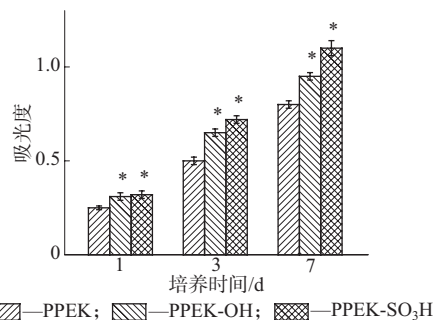


图 9 培养在不同样品表面的 MC3T3-E1 成骨细胞在不同时期的增殖结果 (* 代表有统计学差异, $P < 0.05$)

重要^[15]。通过单光子激光共聚焦显微镜观察 MC3T3-E1 成骨细胞在 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 表面的生长贴附情况,结果如图 10 所示。由图 10 可以看出,细胞在三种样品表面贴附状态良好,细胞核呈球形或椭球型,细胞膜的铺展状态良好。PPEK 样品表面贴附的细胞数量较少, PPEK-SO₃H 样品表面的细胞数量最多,几乎铺满了整个表面。说明 PPEK-SO₃H 样品为成骨细胞的贴附提供了更好的表面微环境,促进了细胞的铺展和生长。

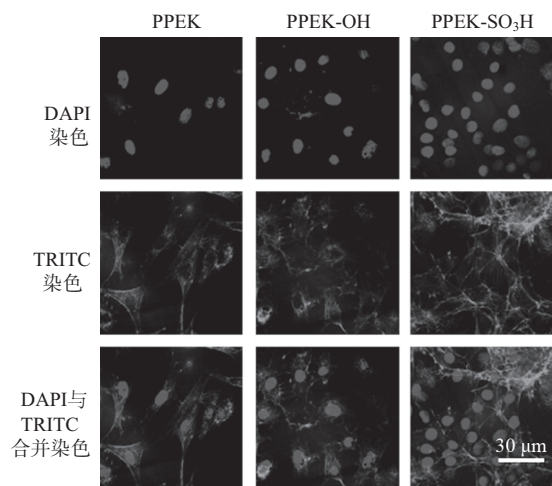


图 10 MC3T3-E1 成骨细胞贴附在不同样品表面的
荧光共聚焦显微镜图像

ALP 活性是衡量骨髓基质干细胞向成骨细胞分化程度和成骨细胞功能状态的重要指标,也是评价机体成骨活性和组织钙化能力的具体指标^[16]。用 MC3T3-E1 成骨细胞的相对 ALP 活性作为衡量成骨活性的指标。图 11 是 MC3T3-E1 成骨细胞在 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 表面生长 7 d 和 14 d 的相对 ALP 活性测试结果。由图 11 可以看出,成骨细胞在 PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 表面生长 7 d 和 14 d 后,都表现出比 PPEK 更高的 ALP 活性,表明化学改性后的 PPEK,尤其是 PPEK-SO₃H 具有明显的促成骨效果。

图 12 是 MC3T3-E1 成骨细胞在 PPEK, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 样品表面生长 3, 7, 14 d 后 ALP, COL-I 和 RUNx2 基因的表达结果。由图 12 可以看出,与未改性的 PPEK 样品相比, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 表面生长的细胞的成骨分化相关基因 ALP, COL-I 和 RUNx2 的表达水平显著提高。以上数据结果表明, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 都可以促进 MC3T3-E1 细胞的成骨分化,其中 PPEK-SO₃H 的效果更好。

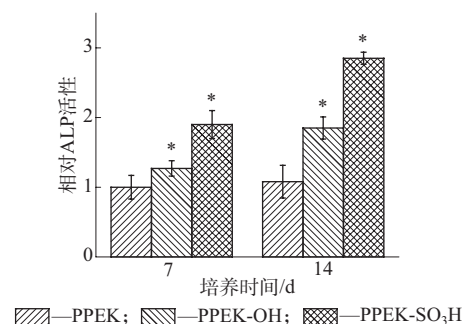


图 11 MC3T3-E1 成骨细胞在不同样品表面培养 7, 14 d 的
相对 ALP 活性 (* 代表有统计学差异, $P < 0.05$)

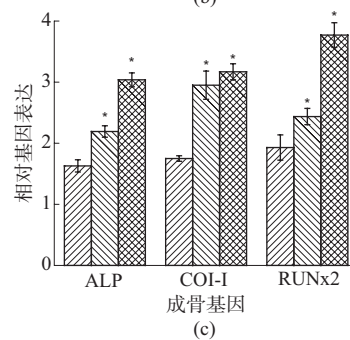
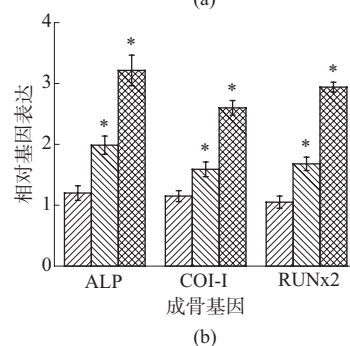
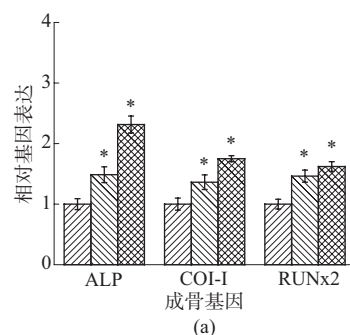


图 12 MC3T3-E1 成骨细胞在不同样品表面培养不同时间的成骨相
关基因表达结果 (* 代表有统计学差异, $P < 0.05$)

培养时间: a—3 d; b—7 d; c—14 d

图 12 MC3T3-E1 成骨细胞在不同样品表面培养不同时间的成骨相
关基因表达结果 (* 代表有统计学差异, $P < 0.05$)

3 结论

(1) 采用化学方法在 PPEK 主链上分别引入了羟基和磺酸基,通过模压和溶液涂覆的方法获得了表面羟基修饰的 PPEK 样品 PPEK-OH 和表面磺酸基修饰的 PPEK 样品 PPEK-SO₃H。研究了不

同 PPEK 样品对 Fn 的吸附作用,发现 PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 表面对 Fn 有较强的相互作用,其中 PPEK-SO₃H 表面吸附量更多也更稳定。

(2) 细胞实验结果表明,与未改性的 PPEK 相比, PPEK-OH 和 PPEK-SO₃H 表面能改善成骨细胞的增殖、贴附与成骨分化活性,并且 PPEK-SO₃H 表面表现出更好的促成骨作用。

参考文献

- [1] 刘吕花,张伟芳,郑延延. 磺酸基修饰聚醚醚酮表面及其成骨活性[J]. 工程塑料应用,2021,49(11):14–20.
Liu Lyuhua, Zhang Weifang, Zheng Yanyan. Sulfonate group-tailored polyetheretherketone surface and its osteogenic activity[J]. Engineering Plastics Application,2021,49(11):14–20.
- [2] 马静,唐斌. 聚醚醚酮在骨移植中的应用[J]. 化学进展,2018,30(11):1 692–1 700.
Ma Jing, Tang Bin. Application of polyetheretherketone in the orthopedic implants[J]. Progress in Chemistry,2018,30(11):1 692–1 700.
- [3] Teng Wan, Jiao Zixue, Guo Min, et al. Gaseous sulfur trioxide induced controllable sulfonation promoting biomineralization and osseointegration of polyetheretherketone implants[J]. Bioactive Materials,2020,5(4):1 004–1 017.
- [4] Torstrick F B, Lin A S P, Potter D, et al. Porous PEEK improves the bone-implant interface compared to plasma-sprayed titanium coating on PEEK[J]. Biomaterials,2018,185:106–116.
- [5] Liu Chengde, Pan Liang, Liu Cheng, et al. Enhancing tissue adhesion and osteoblastic differentiation of MC3T3-E1 cells on poly(aryl ether ketone) by chemically anchored hydroxyapatite nanocomposite hydrogel coating[J]. Macromolecular Bioscience,2021,21(7). DOI:10.1002/mabi.202100078.
- [6] Yang Zhijian, Xi Yue, Bai Jun, et al. Covalent grafting of hyperbranched poly-L-lysine on Ti-based implants achieves dual functions of antibacteria and promoted osteointegration in vivo[J]. Biomaterials,2021,269. DOI:10.1016/j.biomaterials.2020.120534.
- [7] Wang Heying, Lu Tao, Meng Fanhao, et al. Enhanced osteoblast responses to poly ether ether ketone surface modified by water plasma immersion ion implantation[J]. Colloids and Surfaces B:Biointerfaces,2014,117:89–97.
- [8] Zhao Ying, Wong Hoi-Man, Wang Wenhao, et al. Cytocompatibility, osseointegration, and bioactivity of three-dimensional porous and nanostructured network on polyetheretherketone[J]. Biomaterials,2013,34(37):9 264–9 277.
- [9] Araújo A R, da Costa D S, Amorim S, et al. Surfaces mimicking glycosaminoglycans trigger different response of stem cells via distinct fibronectin adsorption and reorganization[J]. ACS Applied Materials & Interfaces,2016,8(42):28 428–28 436.
- [10] Hao Lijing, Li Tianjie, Wang Lin, et al. Mechanistic insights into the adsorption and bioactivity of fibronectin on surfaces with varying chemistries by a combination of experimental strategies and molecular simulations[J]. Bioactive Materials,2021,6(10):3 125–3 135.
- [11] Fristrup C J, Jankova K, Hvilsted S, et al. Hydrophilization of poly(ether ether ketone) films by surface-initiated atom transfer radical polymerization[J]. Polymer Chemistry,2010,1(10):1 696–1 701.
- [12] 邓聪. 电渗析用磺化杂萘联苯聚醚醚酮膜的制备与性能[D]. 大连: 大连理工大学,2020.
Deng Cong. Preparation and properties of sulfonated poly(phthalazinoneether ketone) membranes for electrodialysis[D]. Dalian:Dalian University of Technology,2020.
- [13] Li Yizheng, Liu Chengde, Liu Wentao, et al. Apatite formation induced by chitosan/gelatin hydrogel coating anchored on poly(aryl ether nitrile ketone) substrates to promote osteoblastic differentiation[J]. Macromolecular Bioscience,2021,21(11). DOI:10.1002/mabi.202100262.
- [14] Bao Feng, Zhang Fengfeng, Wang Chenghao, et al. Study of the effects of the structure of phthalazinone's side-group on the properties of the poly(phthalazinone ether ketone)s resins[J]. Polymers,2019,11(5). DOI:10.3390/polym11050803.
- [15] Reversat A, Florian G, Jack M, et al. Cellular locomotion using environmental topography[J]. Nature,2020,582(7 813):582–585.
- [16] Liu Wentao, Liu Chengde, Liu Cheng, et al. Surface chemical modification of poly(phthalazinone ether nitrile ketone) through rhBMP-2 and antimicrobial peptide conjugation for enhanced osteogenic and antibacterial activities in vitro and in vivo[J]. Chemical Engineering Journal,2021,424. DOI:10.1016/j.cej.2021.130321.