

doi:10.3969/j.issn.1001-3539.2017.06.005

氨基修饰聚醚醚酮表面及其成骨细胞相容性*

刘吕花,郑延延,董军

(川北医学院基础医学院,四川南充 637000)

摘要:首先采用硼氢化钠将聚醚醚酮(PEEK)表面的羰基还原为羟基,获得羟基化预处理的PEEK,再用3-氨基丙基三乙氧基硅烷与其进行反应,将氨基($-\text{NH}_2$)引入至PEEK表面以改善其细胞相容性。用X射线光电子能谱和力学性能测试对表面化学处理的PEEK进行表征,同时,用MC3T3-E1成骨细胞评价表面氨基修饰的PEEK的细胞相容性。结果表明,硼氢化钠成功地将PEEK表面的羰基还原为羟基, $-\text{NH}_2$ 成功地引入至PEEK表面;表面化学处理前后PEEK的拉伸及弯曲强度未发生明显变化;和未修饰的PEEK表面相比, $-\text{NH}_2$ 修饰的PEEK表面能显著促进成骨细胞的粘附、铺展及增殖。

关键词:聚醚醚酮;表面改性;生物活性;氨基;成骨细胞

中图分类号: R318.08 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3539(2017)06-0024-05

Surface Osteoblast Compatibility of Amino-modified Polyetheretherketone

Liu Lyuhua, Zheng Yanyan, Dong Jun

(School of Basic Medical Sciences, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China)

Abstract: Polyetheretherketone (PEEK) surface activation of carbonyl being reduced to hydroxyl was done with sodium borohydride. And then treatment of the hydroxylation-pretreated PEEK samples with a substituted 3-aminopropyltriethoxysilane solution endowed PEEK surface with amino ($-\text{NH}_2$) to enhance the cytocompatibility of PEEK surface. X-ray photoelectron spectroscopy and mechanical properties tests were employed to characterize the surface chemical modified PEEK samples. Meanwhile, MC3T3-E1 osteoblast was used to evaluate in vitro biocompatibility of amino-modified PEEK surface. The results show that the carbonyl groups on PEEK surface are successfully reduced to hydroxyl groups by sodium borohydride and $-\text{NH}_2$ is successfully introduced on PEEK surface. Surface modifications do not affect the tensile strength and flexural strength of PEEK. MC3T3-E1 osteoblast adhesion, spreading and proliferation on amino-modified PEEK surface are remarkably improved compared to intact PEEK.

Keywords: polyetheretherketone ; surface modification ; bioactivity ; amino ; osteoblast

特种工程塑料聚醚醚酮(PEEK)由于其拉伸弹性模量(3~4 GPa)与皮质骨的拉伸弹性模量(6~23 GPa)接近,可透过X射线,CT或MRI扫描时不产生伪影,并具有易加工、耐疲劳、耐磨损、耐腐蚀、耐消毒灭菌等优异性能^[1-2],有望替代医用钛及其合金用作硬组织(骨和牙齿)植入体。近年来,PEEK受到材料学研究者 and 骨科学研究者越来越高的重视,并且被美国食品药品监督管理局(FDA)批准作为植入级的生物材料。但PEEK本身是一种生物惰性材料,其表面不利于成骨细胞粘附,这在一定程度上限制了其在生物医用领域的应用。因此对其进行表面改性成为目前相关学者的研究重点之一。

PEEK是由苯环通过酮键和醚键在对位连接而成,其共振稳定的化学结构使轨道电子离域于整条分子链之中,因而PEEK具有极强的化学稳定性。但O. Noiset等^[3]发现其分子链上二苯甲酮中

的羰基在强还原剂的作用下可被还原为羟基,通过此羟基可进一步对PEEK表面进行化学修饰。B. Yameen等^[4]利用此羟基将聚改性多苯乙烯,聚单甲氧基封端的低聚乙二醇甲基丙烯酸和聚N-异丙基丙烯酰胺接枝聚合于PEEK表面,改善了其表面的选择性静电作用、抗菌作用和温度敏感特性。有研究表明:在材料表面引入某些化学基团[如羧基($-\text{COOH}$)^[5-6]、羟基($-\text{OH}$)^[7]、氨基($-\text{NH}_2$)^[8]、磺酸基($-\text{SO}_3\text{H}$)^[9]等]可促进细胞的粘附、铺展与增殖。在这些基团中, $-\text{NH}_2$ 修饰的表面更能刺激细胞成骨分化,因而,笔者利用末端带氨基的硅烷偶联剂与PEEK上被还原后生成的羟基反应,以期在PEEK

* 川北医学院博士基金项目(CBY16-QD-02),川北医学院科研发展计划项目(CBY16-A-ZD02)

联系人:郑延延,博士,讲师,主要从事生物医用材料研究

收稿日期:2017-02-23

表面引入—NH₂,改善其表面的细胞相容性。

1 实验部分

1.1 主要原料

PEEK 板材: Victrex 450G, 江苏君华特种工程塑料制品有限公司;

氢化钙: 成都市科龙试剂厂;

甲苯、二甲基亚砜 (DMSO): 广州市金华大化学试剂有限公司;

硼氢化钠 (NaBH₄): 国药集团化学试剂有限公司;

3-氨基丙基三乙氧基硅烷 (APTES): 成都贝斯特试剂有限公司。

1.2 主要设备及仪器

X 射线光电子能谱 (XPS) 仪: XSAM800 型, 英国 Kratos 有限公司;

万能材料试验机: SANS-CMT4503 型, 深圳 SANS 公司;

扫描电子显微镜 (SEM): JSM-6300 型, 日本 Hitachi 公司。

1.3 原料预处理

将 PEEK 板材切割成 10 mm×10 mm×2 mm 的试样, 使用前在丙酮中回流 48 h, 丙酮清洗 2 次, 60℃ 真空干燥 3 h, 获得表面纯净的 PEEK 试样 (标记为 P-PEEK); 甲苯、DMSO 均用氢化钙回流, 使用前蒸出。

1.4 PEEK 表面羟基化

采用文献 [3] 报道的方法将 PEEK 表面的羰基还原为羟基, 反应过程如图 1 所示。

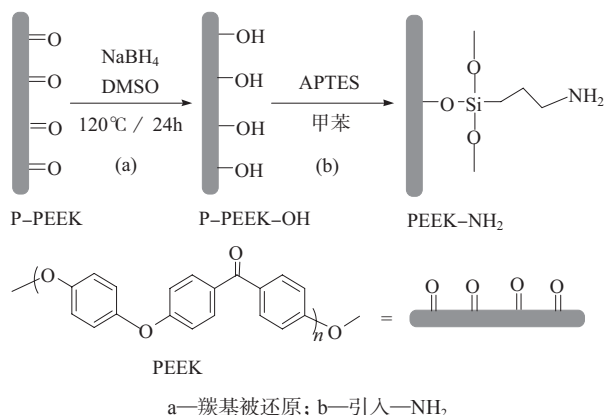


图1 PEEK 表面羰基被还原和引入—NH₂ 的反应流程图

在干燥的带有回流冷凝装置的三口圆底烧瓶中加入 70 mL DMSO 和 140 mg NaBH₄, 加热至 120℃, 待 NaBH₄ 完全溶解, 将 P-PEEK 浸入溶液中。氮气保护下 120℃ 反应一定时间后, 依次用甲醇、蒸

馏水、0.5 mol/L HCl、蒸馏水和无水乙醇超声清洗试样, 清洗时间分别为 15, 10, 10, 10, 10 min。再在 60℃ 下真空干燥 3 h 后保存于干燥器中备用。羟基化 24, 48 h 的试样分别标记为 P-PEEK-OH24 和 P-PEEK-OH48。

1.5 氨基修饰 PEEK 表面

在干燥的带有回流冷凝装置的圆底烧瓶中加入体积浓度为 5% 的 APTES 无水甲苯溶液。将 P-PEEK-OH24 试样浸入溶液中, 60℃ 氮气保护下反应 16 h (反应过程如图 1 所示), 然后依次用甲苯、甲醇、蒸馏水分别超声清洗 20 min。110℃ 真空干燥 0.5 h 后保存于干燥器中备用。表面氨基修饰的 PEEK, 标记为 PEEK-NH₂。

1.6 测试与表征

XPS 测试: 激发源为 Al K_α, 起飞角为 20°, 以沾污碳 C1s=284.8 eV 为能量参考。

拉伸强度按 GB/T 16421-1996 测试, 拉伸速率 5 mm/min。

弯曲强度按 GB/T 16419-1996 测试, 试验速率 1 mm/min。

体外细胞相容性评价: 采用小鼠成骨细胞 MC3T3-E1 评价细胞在 PEEK 材料表面的粘附铺展行为及增殖活性。在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 试样表面, 以 3 种细胞浓度 (1.1×10⁵ 个/孔、2.4×10⁴ 个/孔、2.5×10⁴ 个/孔) 进行接种。在 24 孔板中培养 4 h 后, 取 1.1×10⁵ 个/孔细胞浓度的 PEEK 试样用磷酸缓冲液 (PBS) 冲洗以去除表面未粘附的细胞, 用含噻唑蓝 (MTT) 的最低必需培养基 (α-MEM) 培养液检测细胞的粘附情况; 取 2.4×10⁴ 个/孔细胞浓度的 PEEK 试样依次用 PBS 冲洗, 4% 戊二醛固定, 梯度乙醇脱水, 干燥后喷金, 用 SEM 观察细胞在材料表面的铺展情况; 将 2.5×10⁴ 个/孔细胞浓度的 PEEK 试样分别在培养 1, 3, 5 d 后, 用含 MTT 的 α-MEM 培养液检测细胞的增殖活性。

1.7 统计学分析

数据表示为平均值 ± 标准偏差, 使用 Student's 双尾 t-test 检测两个样品组之间有无显著性差异。每组变量至少包含 3 个有效值, P<0.05 视为和 P-PEEK 相比有统计学差异。

2 结果与讨论

2.1 PEEK 表面羟基化预处理分析

P-PEEK 表面的 XPS 全谱图如图 2 所示。P-PEEK-OH24 和 P-PEEK-OH48 表面的 XPS 全

谱图(未列出)类似于P-PEEK。表1为PEEK表面各元素相对含量的变化情况。由图2和表1可以看出,PEEK表面羰基被还原后,其表面的元素种类没有变化,但各元素相对含量却不同,说明表面化学环境发生了变化。

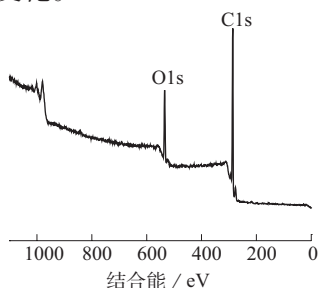


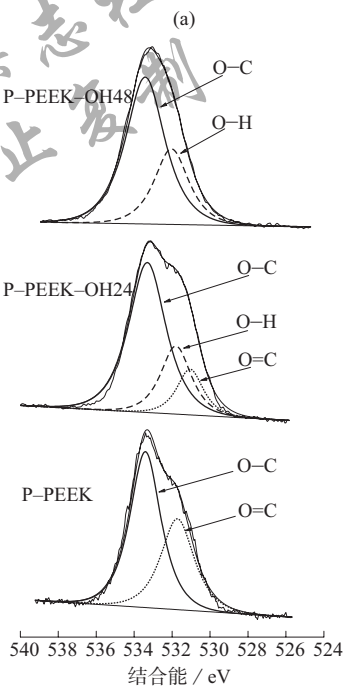
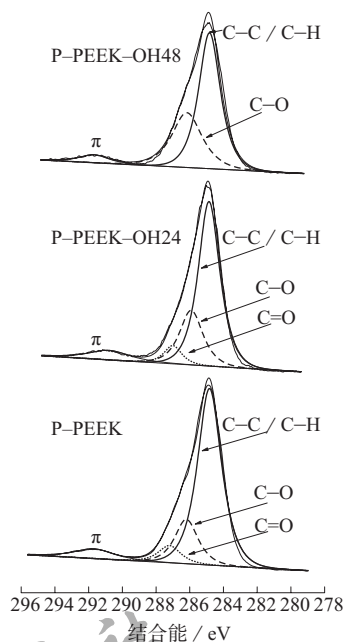
图2 P-PEEK的XPS全谱图

表1 各PEEK试样表面不同元素的相对含量及O/C比率

试样	元素相对含量/%				O/C比率
	C	O	N	Si	
P-PEEK	85.73	14.27			0.166
P-PEEK-OH24	83.04	16.96			0.204
P-PEEK-OH48	82.25	17.75			0.216
PEEK-NH ₂	68.58	19.75	5.17	6.5	0.288

图3是PEEK表面羟基化预处理前后的XPS高分辨C1s和O1s谱图,表2为羟基化预处理前后PEEK试样表面各成键的相对含量。从图3的C1s谱图可以看出,P-PEEK和P-PEEK-OH24在287.2 eV处有C=O峰,且P-PEEK的C=O峰面积明显比P-PEEK-OH24的大,说明后者的C=O相对含量比前者低(表2);在P-PEEK-OH48的C1s谱图中,287.2 eV处的峰完全消失,说明在XPS检测的深度范围内(0~10 nm),不存在C=O。这是因为随反应的进行,PEEK表面的C=O逐步被还原,当反应时间达到48 h时,C=O完全被还原。O1s谱图同样证实了这一结论,O1s谱图中位于531.5 eV处的峰归属于P-PEEK和P-PEEK-OH24表面的O=C,前者在此处的峰面积比后者的大,同时在532.2 eV处出现一个新的O—H峰;当反应时间为48 h时,P-PEEK-OH48的O1s谱图中O=C峰完全消失,这说明O=C组分随反应进行逐渐被还原,相对含量逐渐降低(表2),最终XPS检测深度范围内的O=C完全被还原为O—H。

在反应过程中,由于DMSO的溶蚀作用,溶液中有PEEK碎屑,但当反应进行到24 h时,碎屑比较少,且此时PEEK表面已有足够的—OH可进行后续反应。考虑到时间成本等因素,因此,选用P-PEEK-OH24与APTES反应对PEEK表面进行—NH₂修饰。



a—C1s谱图; b—O1s谱图

图3 P-PEEK, P-PEEK-OH24和P-PEEK-OH48的C1s与O1s谱图

表2 羟基化预处理前后PEEK试样表面各成键的相对含量/%

谱图	结合能/eV	成键	试样		
			P-PEEK	P-PEEK-OH24	P-PEEK-OH48
C1s谱图	284.8	C—C/C—H	70.11	64.20	61.12
	286.0	C—O	17.11	22.93	34.08
	287.2	C=O	6.42	5.82	0
	291.6	π	6.36	7.05	4.80
O1s谱图	531.5	O=C	38.5	13.55	0
	532.2	O—H	0	23.47	31
	533.5	O—C	61.5	62.98	69

2.2 PEEK 表面氨基修饰分析

PEEK-NH₂ 的 XPS 全谱图如图 4 所示。图 5 为 PEEK-NH₂ 的 XPS C1s, N1s 和 Si2p 谱图。

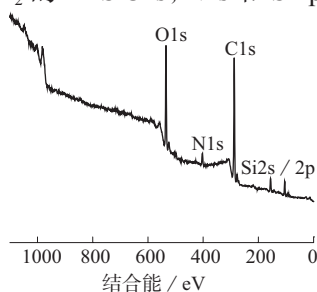
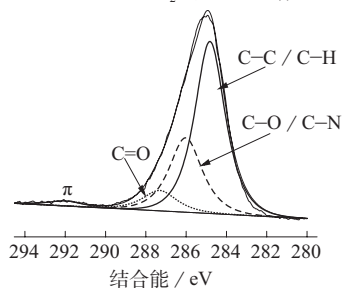
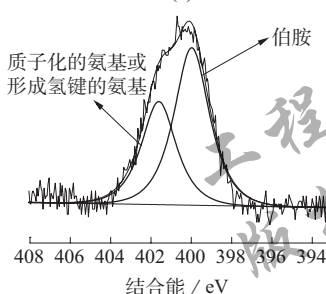


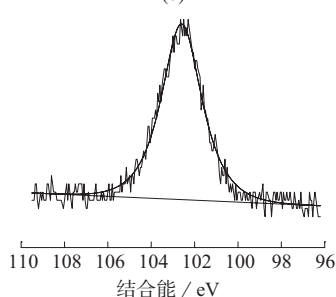
图 4 PEEK-NH₂ 的 XPS 全谱图



(a)



(b)



(c)

a—C1s 谱图; b—N1s 谱图; c—Si2p 谱图

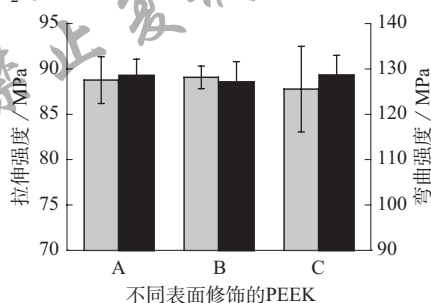
图 5 PEEK-NH₂ 的 C1s, N1s 和 Si2p 谱图

图 4 中出现了 APTES 的特征 Si2p 和 Si2s 峰, 图 5c 中 Si2p 在 102.5 eV 处呈现硅羟基缩合产生的 Si—O—Si 特征单峰^[6], 说明有机硅烷成功地引入至 PEEK 表面。此外, PEEK-NH₂ 的 XPS 全谱图中出现了 N 元素, 且高分辨 N1s 谱图在 399.9 eV 处出现伯胺峰 (401.6 eV 为质子化或形成氢键的氮)^[10], 说明—NH₂ 成功地引入至 PEEK 表面。PEEK-NH₂ 的

C1s 谱图和 P-PEEK-OH24 相比, 所出峰的位置及峰的个数没有发生变化, 只是前者在 286.2 eV 处的峰为 C—O 和 C—N 重叠峰^[11]; 287.2 eV 处的 C=O 组分峰没有消失, 说明 PEEK 表面形成的硅烷化膜的厚度在 XPS 的检测深度范围内。就 O/C 比率来看, PEEK-NH₂ 的 O/C 比率较 P-PEEK-OH24 高 (表 1), 可能是因为 APTES 水解后的 O/C 比率 (1.0) 比理论上纯 PEEK 中 O/C 比率 (0.158) 高得多。这也间接说明 PEEK 表面的化学状态发生了变化。

2.3 氨基表面修饰对 PEEK 力学性能的影响

在改善 PEEK 生物活性的同时, 保持其优异的力学性能极其重要。因为临床使用中 PEEK 不仅需要与骨组织进行良好的骨结合, 而且有时需要用在承力部位。采用静态力学分析评价了氨基表面化学修饰对 PEEK 力学性能的影响, 其结果如图 6 所示。由图 6 可以看出, 拉伸强度及弯曲强度均未发生显著性变化 ($P>0.05$)。说明 PEEK 表面羟基化预处理及—NH₂ 修饰均未影响其优异的力学性能。



A—P-PEEK; B—P-PEEK-OH24; C—PEEK-NH₂

图 6 PEEK 表面修饰前后的拉伸强度及弯曲强度

2.4 体外细胞相容性评价

粘附是细胞与材料相互作用的第 1 阶段, 粘附的好坏直接影响细胞在材料表面的增殖与分化能力^[12]。MTT 检测是一种评价细胞存活和生长的常用手段。MTT 可间接反映活细胞数量, 一定范围内, 测得的光学密度值和活细胞数量呈正比。图 7 为 MTT 法测得的成骨细胞 MC3T3-E1 在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面培养 4 h 的粘附结果。

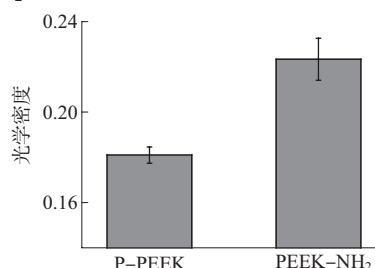


图 7 MC3T3-E1 在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面 4 h 的粘附分析结果

从图7可以看出, P-PEEK 试样的光学密度值比 PEEK-NH₂ 试样低 ($P<0.05$), 说明与 P-PEEK 相比, PEEK-NH₂ 具有较好的成骨细胞粘附能力。

细胞铺展是细胞开始指数增长前的一个必要阶段, 也同样影响着细胞的增殖与分化^[13]。采用 SEM 来观察成骨细胞 MC3T3-E1 在各试样表面培养 4 h 的细胞铺展情况, 结果如图 8 所示。从图 8 可以看出, 未改性的 PEEK 表面细胞数目较少, 形状为球形, 伸出的伪足也较少 (图 8a); PEEK-NH₂ 表面细胞数目增多, 大多呈扁平形貌, 铺展状况较好, 伸出的伪足也较多 (图 8b)。这说明-NH₂ 对成骨细胞的粘附与铺展均起到了非常有利的作用, 这为后续成骨细胞的增殖提供了良好的条件。

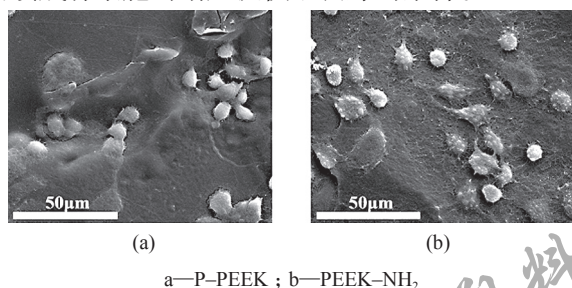


图 8 MC3T3-E1 在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面 4 h 的铺展情况

图 9 示出成骨细胞 MC3T3-E1 分别在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面的增殖活性测试结果。由图 9 可以看出, 在培养 1, 3, 5 d 后, PEEK-NH₂ 的光学密度值均明显高于 P-PEEK, 表明成骨细胞在 PEEK-NH₂ 上的增殖速率均显著高于其在 P-PEEK 上的增殖速率 ($P<0.05$), 这表明-NH₂ 对成骨细胞的增殖确实起到了很大的促进作用。虽然 PEEK-NH₂ 体外表现出较好的成骨细胞相容性, 但其植入体内后是否能在植入体周围有更多的新骨生成, 使植入体与骨组织形成更牢固的骨整合, 还需进一步的研究来确证。

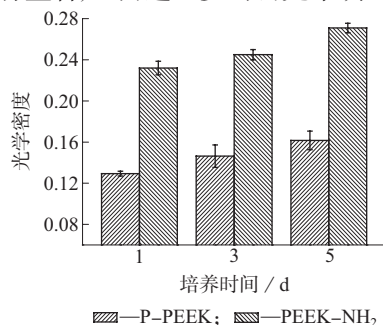


图 9 MC3T3-E1 在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面 1, 3, 5 d 的增殖分析结果

3 结论

(1) 采用 NaBH₄ 成功地将 PEEK 表面的羰基还原为羟基; 用 APTES 与羟基化预处理的 PEEK 反

应, 成功的将-NH₂ 引入至 PEEK 表面。

(2) 力学性能测试结果表明表面化学修饰未影响 PEEK 的优异力学性能。体外细胞相容性实验结果显示-NH₂ 显著改善了 PEEK 表面成骨细胞 MC3T3-E1 的粘附、铺展与增殖。

参考文献

- [1] Korn P, Elschner C, Schulz M C, et al. MRI and dental implantology: Two which do not exclude each other[J]. *Biomaterials*, 2015, 53:634-645.
- [2] 刘吕花, 郑延延, 张丽芳, 等. 硬组织植入生物活性聚醚醚酮复合材料[J]. *化学进展*, 2017, 29(4):450-458.
Liu Lyuhua, Zheng Yanyan, Zhang Lifang, et al. Bioactive polyetheretherketone implant composites for hard tissue[J]. *Progress in Chemistry*, 2017, 29(4):450-458.
- [3] Noiset O, Henneuse C, Schneider Y J, et al. Surface reduction of poly(aryl ether ether ketone) film: UV spectrophotometric, H-3 radiochemical, and X-ray photoelectron spectroscopic assays of the hydroxyl functions[J]. *Macromolecules*, 1997, 30:540-548.
- [4] Yameen B, Alvarez M, Azzaroni O, et al. Tailoring of poly(ether ether ketone) surface properties via surface-initiated atom transfer radical polymerization[J]. *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 2009, 25(11):6214-6220.
- [5] Zheng Yanyan, Xiong Chengdong, Zhang Lifang. Dose-dependent enhancement of osteoblast cell adhesion, spreading and proliferation on plasma-carboxylated poly(etheretherketone) surface[J]. *Materials Letters*, 2016, 164:60-63.
- [6] Zheng Yanyan, Xiong Chengdong, Wang Zhecun, et al. Enhanced osteoblast cells adhesion, spreading, and proliferation to surface-carboxylated poly(etheretherketone)[J]. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers: Biomedical Applications*, 2015, 30(3):302-318.
- [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] Liu Wentao, Cai Qing, Zhang Feng, et al. Dose-dependent enhancement of bone marrow stromal cells adhesion, spreading and osteogenic differentiation on atmospheric plasma-treated poly(l-lactic acid) nanofibers[J]. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 2013, 28(5):453-467.
- [9] Zhao Ying, Wong H M, Wang Wenhao, et al. Cytocompatibility, osseointegration, and bioactivity of three-dimensional porous and nanostructured network on polyetheretherketone[J]. *Biomaterials*, 2013, 34:9264-9277.
- [10] Zhao Zhongkai, He Yongyong, Yang Haifang, et al. Aminosilane nano-adhesive layer for nanoelectric circuits with porous ultra-low dielectric film[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2013, 5(13):6097-6107.

(下转第 55 页)

谱图(未列出)类似于P-PEEK。表1为PEEK表面各元素相对含量的变化情况。由图2和表1可以看出,PEEK表面羰基被还原后,其表面的元素种类没有变化,但各元素相对含量却不同,说明表面化学环境发生了变化。

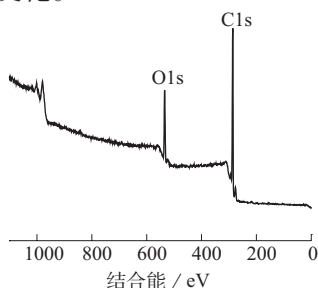


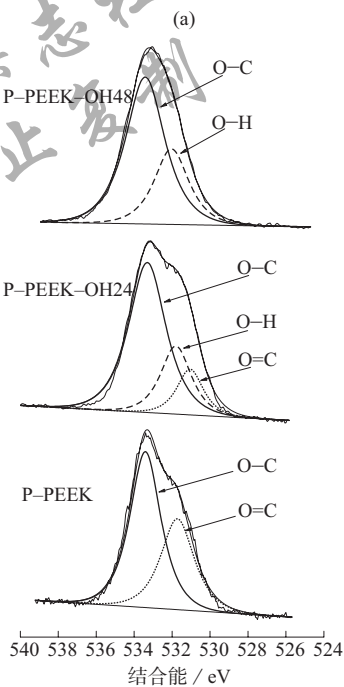
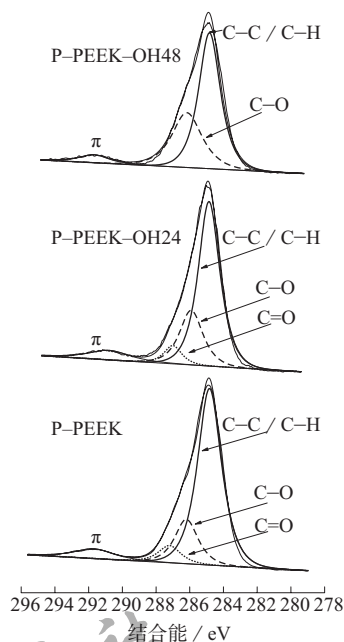
图2 P-PEEK的XPS全谱图

表1 各PEEK试样表面不同元素的相对含量及O/C比率

试样	元素相对含量/%				O/C比率
	C	O	N	Si	
P-PEEK	85.73	14.27			0.166
P-PEEK-OH24	83.04	16.96			0.204
P-PEEK-OH48	82.25	17.75			0.216
PEEK-NH ₂	68.58	19.75	5.17	6.5	0.288

图3是PEEK表面羟基化预处理前后的XPS高分辨C1s和O1s谱图,表2为羟基化预处理前后PEEK试样表面各成键的相对含量。从图3的C1s谱图可以看出,P-PEEK和P-PEEK-OH24在287.2 eV处有C=O峰,且P-PEEK的C=O峰面积明显比P-PEEK-OH24的大,说明后者的C=O相对含量比前者低(表2);在P-PEEK-OH48的C1s谱图中,287.2 eV处的峰完全消失,说明在XPS检测的深度范围内(0~10 nm),不存在C=O。这是因为随反应的进行,PEEK表面的C=O逐步被还原,当反应时间达到48 h时,C=O完全被还原。O1s谱图同样证实了这一结论,O1s谱图中位于531.5 eV处的峰归属于P-PEEK和P-PEEK-OH24表面的O=C,前者在此处的峰面积比后者的大,同时在532.2 eV处出现一个新的O—H峰;当反应时间为48 h时,P-PEEK-OH48的O1s谱图中O=C峰完全消失,这说明O=C组分随反应进行逐渐被还原,相对含量逐渐降低(表2),最终XPS检测深度范围内的O=C完全被还原为O—H。

在反应过程中,由于DMSO的溶蚀作用,溶液中有PEEK碎屑,但当反应进行到24 h时,碎屑比较少,且此时PEEK表面已有足够的—OH可进行后续反应。考虑到时间成本等因素,因此,选用P-PEEK-OH24与APTES反应对PEEK表面进行—NH₂修饰。



a—C1s谱图; b—O1s谱图

图3 P-PEEK, P-PEEK-OH24和P-PEEK-OH48的C1s与O1s谱图

表2 羟基化预处理前后PEEK试样表面各成键的相对含量/%

谱图	结合能/eV	成键	试样		
			P-PEEK	P-PEEK-OH24	P-PEEK-OH48
C1s谱图	284.8	C—C/C—H	70.11	64.20	61.12
	286.0	C—O	17.11	22.93	34.08
	287.2	C=O	6.42	5.82	0
	291.6	π	6.36	7.05	4.80
O1s谱图	531.5	O=C	38.5	13.55	0
	532.2	O—H	0	23.47	31
	533.5	O—C	61.5	62.98	69

2.2 PEEK 表面氨基修饰分析

PEEK-NH₂ 的 XPS 全谱图如图 4 所示。图 5 为 PEEK-NH₂ 的 XPS C1s, N1s 和 Si2p 谱图。

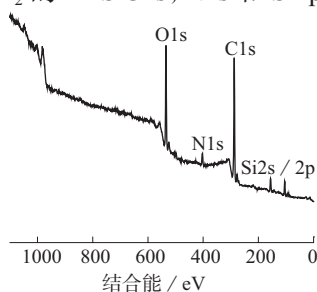
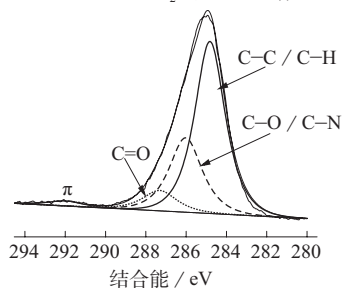
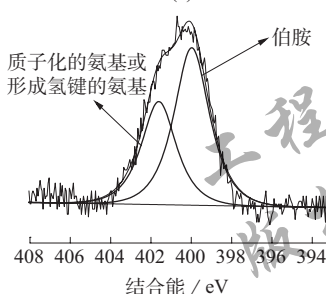


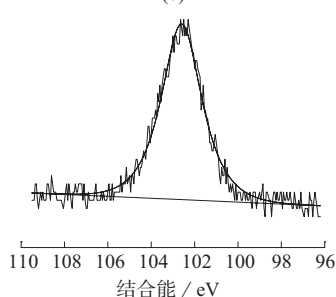
图 4 PEEK-NH₂ 的 XPS 全谱图



(a)



(b)



(c)

a—C1s 谱图; b—N1s 谱图; c—Si2p 谱图

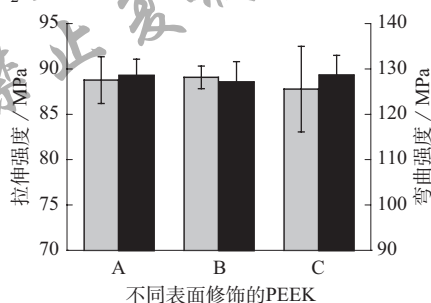
图 5 PEEK-NH₂ 的 C1s, N1s 和 Si2p 谱图

图 4 中出现了 APTES 的特征 Si2p 和 Si2s 峰, 图 5c 中 Si2p 在 102.5 eV 处呈现硅羟基缩合产生的 Si—O—Si 特征单峰^[6], 说明有机硅烷成功地引入至 PEEK 表面。此外, PEEK-NH₂ 的 XPS 全谱图中出现了 N 元素, 且高分辨 N1s 谱图在 399.9 eV 处出现伯胺峰 (401.6 eV 为质子化或形成氢键的氮)^[10], 说明—NH₂ 成功地引入至 PEEK 表面。PEEK-NH₂ 的

C1s 谱图和 P-PEEK-OH24 相比, 所出峰的位置及峰的个数没有发生变化, 只是前者在 286.2 eV 处的峰为 C—O 和 C—N 重叠峰^[11]; 287.2 eV 处的 C=O 组分峰没有消失, 说明 PEEK 表面形成的硅烷化膜的厚度在 XPS 的检测深度范围内。就 O/C 比率来看, PEEK-NH₂ 的 O/C 比率较 P-PEEK-OH24 高 (表 1), 可能是因为 APTES 水解后的 O/C 比率 (1.0) 比理论上纯 PEEK 中 O/C 比率 (0.158) 高得多。这也间接说明 PEEK 表面的化学状态发生了变化。

2.3 氨基表面修饰对 PEEK 力学性能的影响

在改善 PEEK 生物活性的同时, 保持其优异的力学性能极其重要。因为临床使用中 PEEK 不仅需要与骨组织进行良好的骨结合, 而且有时需要用在承力部位。采用静态力学分析评价了氨基表面化学修饰对 PEEK 力学性能的影响, 其结果如图 6 所示。由图 6 可以看出, 拉伸强度及弯曲强度均未发生显著性变化 ($P>0.05$)。说明 PEEK 表面羟基化预处理及—NH₂ 修饰均未影响其优异的力学性能。



不同表面修饰的 PEEK

A—P-PEEK; B—P-PEEK-OH24; C—PEEK-NH₂

图 6 PEEK 表面修饰前后的拉伸强度及弯曲强度

2.4 体外细胞相容性评价

粘附是细胞与材料相互作用的第 1 阶段, 粘附的好坏直接影响细胞在材料表面的增殖与分化能力^[12]。MTT 检测是一种评价细胞存活和生长的常用手段。MTT 可间接反映活细胞数量, 一定范围内, 测得的光学密度值和活细胞数量呈正比。图 7 为 MTT 法测得的成骨细胞 MC3T3-E1 在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面培养 4 h 的粘附结果。

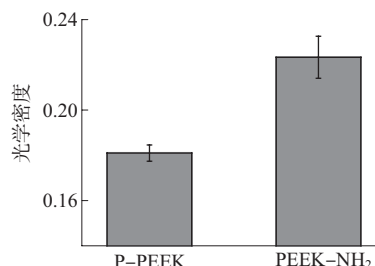


图 7 MC3T3-E1 在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面 4 h 的粘附分析结果

从图7可以看出, P-PEEK 试样的光学密度值比 PEEK-NH₂ 试样低 ($P<0.05$), 说明与 P-PEEK 相比, PEEK-NH₂ 具有较好的成骨细胞粘附能力。

细胞铺展是细胞开始指数增长前的一个必要阶段, 也同样影响着细胞的增殖与分化^[13]。采用 SEM 来观察成骨细胞 MC3T3-E1 在各试样表面培养 4 h 的细胞铺展情况, 结果如图 8 所示。从图 8 可以看出, 未改性的 PEEK 表面细胞数目较少, 形状为球形, 伸出的伪足也较少 (图 8a); PEEK-NH₂ 表面细胞数目增多, 大多呈扁平形貌, 铺展状况较好, 伸出的伪足也较多 (图 8b)。这说明-NH₂ 对成骨细胞的粘附与铺展均起到了非常有利的作用, 这为后续成骨细胞的增殖提供了良好的条件。

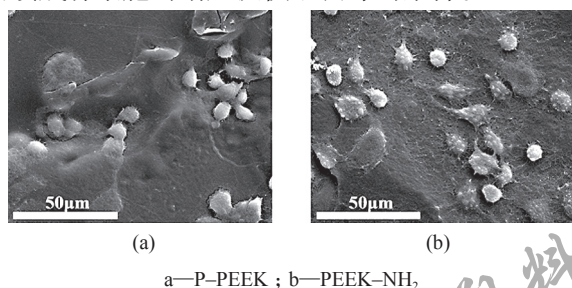


图 8 MC3T3-E1 在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面 4 h 的铺展情况

图 9 示出成骨细胞 MC3T3-E1 分别在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面的增殖活性测试结果。由图 9 可以看出, 在培养 1, 3, 5 d 后, PEEK-NH₂ 的光学密度值均明显高于 P-PEEK, 表明成骨细胞在 PEEK-NH₂ 上的增殖速率均显著高于其在 P-PEEK 上的增殖速率 ($P<0.05$), 这表明-NH₂ 对成骨细胞的增殖确实起到了很大的促进作用。虽然 PEEK-NH₂ 体外表现出较好的成骨细胞相容性, 但其植入体内后是否能在植入体周围有更多的新骨生成, 使植入体与骨组织形成更牢固的骨整合, 还需进一步的研究来确证。

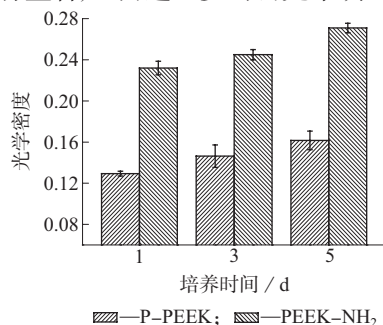


图 9 MC3T3-E1 在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面 1, 3, 5 d 的增殖分析结果

3 结论

(1) 采用 NaBH₄ 成功地将 PEEK 表面的羰基还原为羟基; 用 APTES 与羟基化预处理的 PEEK 反

应, 成功的将-NH₂ 引入至 PEEK 表面。

(2) 力学性能测试结果表明表面化学修饰未影响 PEEK 的优异力学性能。体外细胞相容性实验结果显示-NH₂ 显著改善了 PEEK 表面成骨细胞 MC3T3-E1 的粘附、铺展与增殖。

参考文献

- [1] Korn P, Elschner C, Schulz M C, et al. MRI and dental implantology: Two which do not exclude each other[J]. *Biomaterials*, 2015, 53:634-645.
- [2] 刘吕花, 郑延延, 张丽芳, 等. 硬组织植入生物活性聚醚醚酮复合材料[J]. *化学进展*, 2017, 29(4):450-458.
Liu Lyuhua, Zheng Yanyan, Zhang Lifang, et al. Bioactive polyetheretherketone implant composites for hard tissue[J]. *Progress in Chemistry*, 2017, 29(4):450-458.
- [3] Noiset O, Henneuse C, Schneider Y J, et al. Surface reduction of poly(aryl ether ether ketone) film: UV spectrophotometric, H-3 radiochemical, and X-ray photoelectron spectroscopic assays of the hydroxyl functions[J]. *Macromolecules*, 1997, 30:540-548.
- [4] Yameen B, Alvarez M, Azzaroni O, et al. Tailoring of poly(ether ether ketone) surface properties via surface-initiated atom transfer radical polymerization[J]. *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 2009, 25(11):6214-6220.
- [5] Zheng Yanyan, Xiong Chengdong, Zhang Lifang. Dose-dependent enhancement of osteoblast cell adhesion, spreading and proliferation on plasma-carboxylated poly(etheretherketone) surface[J]. *Materials Letters*, 2016, 164:60-63.
- [6] Zheng Yanyan, Xiong Chengdong, Wang Zhecun, et al. Enhanced osteoblast cells adhesion, spreading, and proliferation to surface-carboxylated poly(etheretherketone)[J]. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers: Biomedical Applications*, 2015, 30(3):302-318.
- [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] Liu Wentao, Cai Qing, Zhang Feng, et al. Dose-dependent enhancement of bone marrow stromal cells adhesion, spreading and osteogenic differentiation on atmospheric plasma-treated poly(l-lactic acid) nanofibers[J]. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 2013, 28(5):453-467.
- [9] Zhao Ying, Wong H M, Wang Wenhao, et al. Cytocompatibility, osseointegration, and bioactivity of three-dimensional porous and nanostructured network on polyetheretherketone[J]. *Biomaterials*, 2013, 34:9264-9277.
- [10] Zhao Zhongkai, He Yongyong, Yang Haifang, et al. Aminosilane nano-adhesive layer for nanoelectric circuits with porous ultra-low dielectric film[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2013, 5(13):6097-6107.

(下转第 55 页)

谱图(未列出)类似于P-PEEK。表1为PEEK表面各元素相对含量的变化情况。由图2和表1可以看出,PEEK表面羰基被还原后,其表面的元素种类没有变化,但各元素相对含量却不同,说明表面化学环境发生了变化。

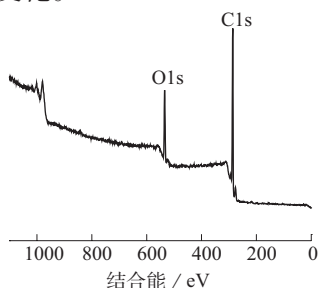


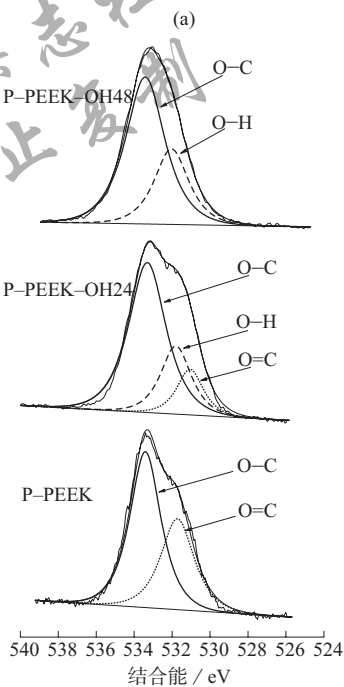
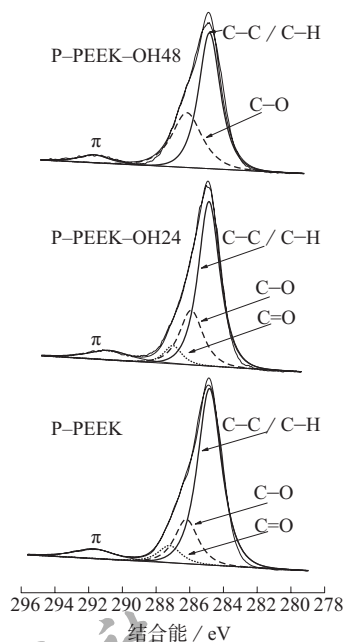
图2 P-PEEK的XPS全谱图

表1 各PEEK试样表面不同元素的相对含量及O/C比率

试样	元素相对含量/%				O/C比率
	C	O	N	Si	
P-PEEK	85.73	14.27			0.166
P-PEEK-OH24	83.04	16.96			0.204
P-PEEK-OH48	82.25	17.75			0.216
PEEK-NH ₂	68.58	19.75	5.17	6.5	0.288

图3是PEEK表面羟基化预处理前后的XPS高分辨C1s和O1s谱图,表2为羟基化预处理前后PEEK试样表面各成键的相对含量。从图3的C1s谱图可以看出,P-PEEK和P-PEEK-OH24在287.2 eV处有C=O峰,且P-PEEK的C=O峰面积明显比P-PEEK-OH24的大,说明后者的C=O相对含量比前者低(表2);在P-PEEK-OH48的C1s谱图中,287.2 eV处的峰完全消失,说明在XPS检测的深度范围内(0~10 nm),不存在C=O。这是因为随反应的进行,PEEK表面的C=O逐步被还原,当反应时间达到48 h时,C=O完全被还原。O1s谱图同样证实了这一结论,O1s谱图中位于531.5 eV处的峰归属于P-PEEK和P-PEEK-OH24表面的O=C,前者在此处的峰面积比后者的大,同时在532.2 eV处出现一个新的O—H峰;当反应时间为48 h时,P-PEEK-OH48的O1s谱图中O=C峰完全消失,这说明O=C组分随反应进行逐渐被还原,相对含量逐渐降低(表2),最终XPS检测深度范围内的O=C完全被还原为O—H。

在反应过程中,由于DMSO的溶蚀作用,溶液中有PEEK碎屑,但当反应进行到24 h时,碎屑比较少,且此时PEEK表面已有足够的—OH可进行后续反应。考虑到时间成本等因素,因此,选用P-PEEK-OH24与APTES反应对PEEK表面进行—NH₂修饰。



a—C1s谱图; b—O1s谱图

图3 P-PEEK, P-PEEK-OH24和P-PEEK-OH48的C1s与O1s谱图

表2 羟基化预处理前后PEEK试样表面各成键的相对含量/%

谱图	结合能/eV	成键	试样		
			P-PEEK	P-PEEK-OH24	P-PEEK-OH48
C1s谱图	284.8	C—C/C—H	70.11	64.20	61.12
	286.0	C—O	17.11	22.93	34.08
	287.2	C=O	6.42	5.82	0
	291.6	π	6.36	7.05	4.80
O1s谱图	531.5	O=C	38.5	13.55	0
	532.2	O—H	0	23.47	31
	533.5	O—C	61.5	62.98	69

2.2 PEEK 表面氨基修饰分析

PEEK-NH₂ 的 XPS 全谱图如图 4 所示。图 5 为 PEEK-NH₂ 的 XPS C1s, N1s 和 Si2p 谱图。

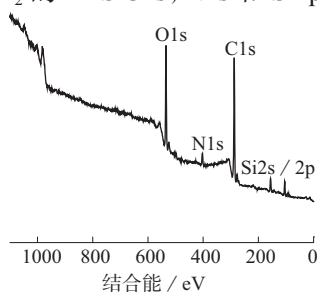
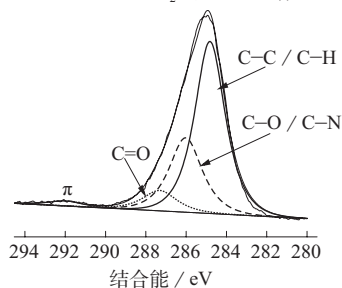
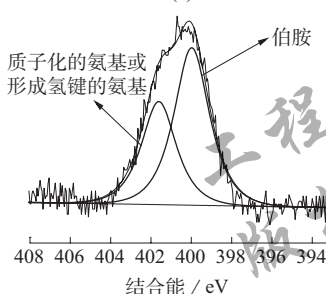


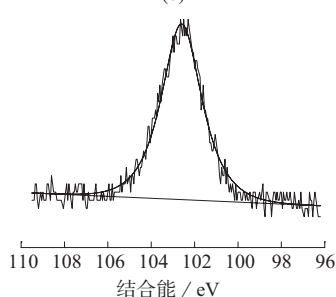
图 4 PEEK-NH₂ 的 XPS 全谱图



(a)



(b)



(c)

a—C1s 谱图; b—N1s 谱图; c—Si2p 谱图

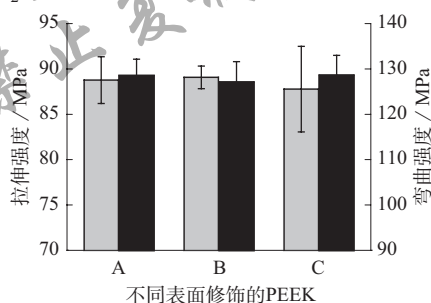
图 5 PEEK-NH₂ 的 C1s, N1s 和 Si2p 谱图

图 4 中出现了 APTES 的特征 Si2p 和 Si2s 峰, 图 5c 中 Si2p 在 102.5 eV 处呈现硅羟基缩合产生的 Si—O—Si 特征单峰^[6], 说明有机硅烷成功地引入至 PEEK 表面。此外, PEEK-NH₂ 的 XPS 全谱图中出现了 N 元素, 且高分辨 N1s 谱图在 399.9 eV 处出现伯胺峰 (401.6 eV 为质子化或形成氢键的氮)^[10], 说明—NH₂ 成功地引入至 PEEK 表面。PEEK-NH₂ 的

C1s 谱图和 P-PEEK-OH24 相比, 所出峰的位置及峰的个数没有发生变化, 只是前者在 286.2 eV 处的峰为 C—O 和 C—N 重叠峰^[11]; 287.2 eV 处的 C=O 组分峰没有消失, 说明 PEEK 表面形成的硅烷化膜的厚度在 XPS 的检测深度范围内。就 O/C 比率来看, PEEK-NH₂ 的 O/C 比率较 P-PEEK-OH24 高 (表 1), 可能是因为 APTES 水解后的 O/C 比率 (1.0) 比理论上纯 PEEK 中 O/C 比率 (0.158) 高得多。这也间接说明 PEEK 表面的化学状态发生了变化。

2.3 氨基表面修饰对 PEEK 力学性能的影响

在改善 PEEK 生物活性的同时, 保持其优异的力学性能极其重要。因为临床使用中 PEEK 不仅需要与骨组织进行良好的骨结合, 而且有时需要用在承力部位。采用静态力学分析评价了氨基表面化学修饰对 PEEK 力学性能的影响, 其结果如图 6 所示。由图 6 可以看出, 拉伸强度及弯曲强度均未发生显著性变化 ($P>0.05$)。说明 PEEK 表面羟基化预处理及—NH₂ 修饰均未影响其优异的力学性能。



不同表面修饰的 PEEK

A—P-PEEK; B—P-PEEK-OH24; C—PEEK-NH₂

图 6 PEEK 表面修饰前后的拉伸强度及弯曲强度

2.4 体外细胞相容性评价

粘附是细胞与材料相互作用的第 1 阶段, 粘附的好坏直接影响细胞在材料表面的增殖与分化能力^[12]。MTT 检测是一种评价细胞存活和生长的常用手段。MTT 可间接反映活细胞数量, 一定范围内, 测得的光学密度值和活细胞数量呈正比。图 7 为 MTT 法测得的成骨细胞 MC3T3-E1 在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面培养 4 h 的粘附结果。

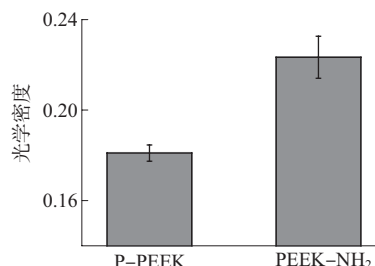


图 7 MC3T3-E1 在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面 4 h 的粘附分析结果

从图7可以看出, P-PEEK 试样的光学密度值比 PEEK-NH₂ 试样低 ($P<0.05$), 说明与 P-PEEK 相比, PEEK-NH₂ 具有较好的成骨细胞粘附能力。

细胞铺展是细胞开始指数增长前的一个必要阶段, 也同样影响着细胞的增殖与分化^[13]。采用 SEM 来观察成骨细胞 MC3T3-E1 在各试样表面培养 4 h 的细胞铺展情况, 结果如图 8 所示。从图 8 可以看出, 未改性的 PEEK 表面细胞数目较少, 形状为球形, 伸出的伪足也较少 (图 8a); PEEK-NH₂ 表面细胞数目增多, 大多呈扁平形貌, 铺展状况较好, 伸出的伪足也较多 (图 8b)。这说明-NH₂ 对成骨细胞的粘附与铺展均起到了非常有利的作用, 这为后续成骨细胞的增殖提供了良好的条件。

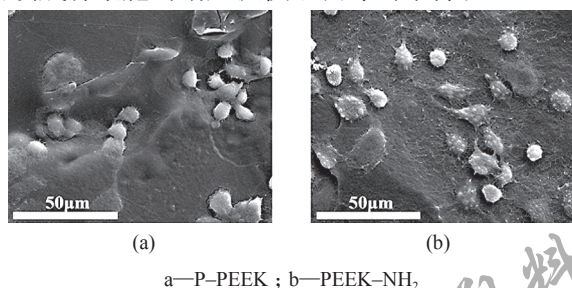


图 8 MC3T3-E1 在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面 4 h 的铺展情况

图 9 示出成骨细胞 MC3T3-E1 分别在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面的增殖活性测试结果。由图 9 可以看出, 在培养 1, 3, 5 d 后, PEEK-NH₂ 的光学密度值均明显高于 P-PEEK, 表明成骨细胞在 PEEK-NH₂ 上的增殖速率均显著高于其在 P-PEEK 上的增殖速率 ($P<0.05$), 这表明-NH₂ 对成骨细胞的增殖确实起到了很大的促进作用。虽然 PEEK-NH₂ 体外表现出较好的成骨细胞相容性, 但其植入体内后是否能在植入体周围有更多的新骨生成, 使植入体与骨组织形成更牢固的骨整合, 还需进一步的研究来确证。

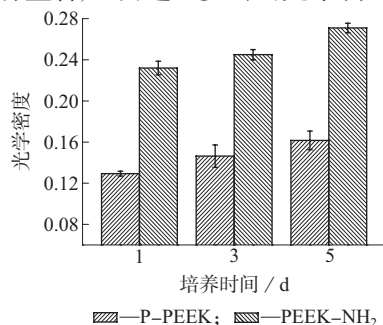


图 9 MC3T3-E1 在 P-PEEK 和 PEEK-NH₂ 表面 1, 3, 5 d 的增殖分析结果

3 结论

(1) 采用 NaBH₄ 成功地将 PEEK 表面的羰基还原为羟基; 用 APTES 与羟基化预处理的 PEEK 反

应, 成功的将-NH₂ 引入至 PEEK 表面。

(2) 力学性能测试结果表明表面化学修饰未影响 PEEK 的优异力学性能。体外细胞相容性实验结果显示-NH₂ 显著改善了 PEEK 表面成骨细胞 MC3T3-E1 的粘附、铺展与增殖。

参考文献

- [1] Korn P, Elschner C, Schulz M C, et al. MRI and dental implantology: Two which do not exclude each other[J]. *Biomaterials*, 2015, 53:634-645.
- [2] 刘吕花, 郑延延, 张丽芳, 等. 硬组织植入生物活性聚醚醚酮复合材料[J]. *化学进展*, 2017, 29(4):450-458.
Liu Lyuhua, Zheng Yanyan, Zhang Lifang, et al. Bioactive polyetheretherketone implant composites for hard tissue[J]. *Progress in Chemistry*, 2017, 29(4):450-458.
- [3] Noiset O, Henneuse C, Schneider Y J, et al. Surface reduction of poly(aryl ether ether ketone) film: UV spectrophotometric, H-3 radiochemical, and X-ray photoelectron spectroscopic assays of the hydroxyl functions[J]. *Macromolecules*, 1997, 30:540-548.
- [4] Yameen B, Alvarez M, Azzaroni O, et al. Tailoring of poly(ether ether ketone) surface properties via surface-initiated atom transfer radical polymerization[J]. *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 2009, 25(11):6214-6220.
- [5] Zheng Yanyan, Xiong Chengdong, Zhang Lifang. Dose-dependent enhancement of osteoblast cell adhesion, spreading and proliferation on plasma-carboxylated poly(etheretherketone) surface[J]. *Materials Letters*, 2016, 164:60-63.
- [6] Zheng Yanyan, Xiong Chengdong, Wang Zhecun, et al. Enhanced osteoblast cells adhesion, spreading, and proliferation to surface-carboxylated poly(etheretherketone)[J]. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers: Biomedical Applications*, 2015, 30(3):302-318.
- [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] Liu Wentao, Cai Qing, Zhang Feng, et al. Dose-dependent enhancement of bone marrow stromal cells adhesion, spreading and osteogenic differentiation on atmospheric plasma-treated poly(l-lactic acid) nanofibers[J]. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 2013, 28(5):453-467.
- [9] Zhao Ying, Wong H M, Wang Wenhao, et al. Cytocompatibility, osseointegration, and bioactivity of three-dimensional porous and nanostructured network on polyetheretherketone[J]. *Biomaterials*, 2013, 34:9264-9277.
- [10] Zhao Zhongkai, He Yongyong, Yang Haifang, et al. Aminosilane nano-adhesive layer for nanoelectric circuits with porous ultra-low dielectric film[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2013, 5(13):6097-6107.

(下转第 55 页)

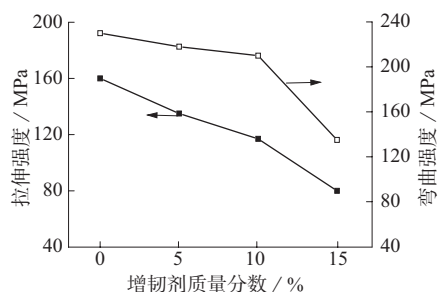


图4 不同增韧剂用量的PA612材料的拉伸与弯曲强度

增韧剂质量分数达到10%时,常温缺口冲击强度达到 10 kJ/m^2 ,较未加增韧剂的提高1倍, -45°C 缺口冲击强度达到 9.6 kJ/m^2 ,已与常温缺口冲击强度相当。但是材料的拉伸与弯曲强度均有所下降,当增韧剂质量分数从0%增加至10%时,拉伸与弯曲强度下降较平缓,增韧剂质量分数达到10%时,材料的拉伸与弯曲强度分别为120 MPa和210 MPa,而后随着增韧剂用量的继续增加,材料的强度尤其是弯曲强度下降趋势明显加快。由于增韧剂对抗静电性能没有影响,因此最终确定增强增韧抗静电PA612材料中增韧剂的质量分数为10%。

3 结论

(1) PA612材料的抗静电性能测试结果表明,石墨烯、碳纳米管在表面电阻方面的渗流阈值明显小于导电炭黑,即石墨烯、碳纳米管作为PA612抗静电剂时,其抗静电效果优于导电炭黑。高用量下,添加碳纳米管的PA612材料表面电阻比添加石墨烯的低一个数量级,但其成本较高,故最终确定质量分数为3%的石墨烯为PA612的抗静电剂。

(2) GF能大幅提高PA612材料的拉伸与弯曲强度,而增韧剂能大幅提高材料的冲击性能,且当增韧剂质量分数不高于10%时,材料的拉伸与弯曲强度下降幅度较小。

(3) 当抗静电剂石墨烯质量分数为3%,GF质量分数为40%,增韧剂EPDM-g-MAH质量分数为10%时,可制得增强增韧抗静电PA612材料,其拉伸强度为120 MPa,弯曲强度为210 MPa,常温缺口冲击强度为 10 kJ/m^2 , -45°C 缺口冲击强度为 9.6 kJ/m^2 ,表面电阻为 $1 \times 10^{11} \Omega$,满足PA612材料在储存、运输和使用过程中的抗静电要求。

参考文献

- [1] 张雄翎,陶华,张广来. 吸水性对尼龙紧固件拉伸强度的影响[J]. 塑料工业,2006,34(1):47-49.
Zhang Xiongling, Tao Hua, Zhang Guanglai. Influence of water absorption on tensile strength of nylon bolt[J]. China Plastics Industry, 2006, 34(1):47-49.
- [2] 谭天伟,苏海佳,杨晶. 生物基材料产业化进展[J]. 中国材料进展,2012,31(2):1-6.
Tan Tianwei, Su Haijia, Yang Jing. Progress in industrialization of biobased materials[J]. Materials China, 2012, 31(2):1-6.
- [3] 季栋,方正,欧阳平凯,等. 生物基聚酰胺研究进展[J]. 生物加工过程,2013,11(2):73-80.
Ji Dong, Fang Zheng, Ouyang Pingkai, et al. Progress in bio-based polyamides[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2013, 11(2):73-80.
- [4] Matsuyama H, Young J F. Chem Mater[M]. Washington: American Chemical Society, 2009:16-19.
- [5] Yan Dong, Zhang Haobin, Jia Yu, et al. Improved electrical conductivity of polyamide 12 / graphene nanocomposites with maleated polyethylene-octene rubber prepared by melt compounding[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2012, 4(9):4740-4745.
- [6] Sun Dong, Jin Li, Chen Yun, et al. Microwave-assisted in situ synthesis of raphene / PEDOT hybria and its application in supercapacitors[J]. ChemPlusChem, 2013, 78(3):227-234.
- [7] Wang Gongkai, Sun Xiang, Lu Fengyuan, et al. Flexible pillared graphene-paper electrodes for high-performance electrochemical supercapacitors[J]. Small, 2012, 8(3):452-459.
- [8] 黄金鹏,翟红波,韦洪屹,等. 抗静电尼龙 610 复合材料的制备和研究[J]. 广州化工,2016(8):106-107.
Huang Jinpeng, Zhai Hongbo, Wei Hongyi, et al. Preparation and research on antistatic PA610 composite[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2016(8):106-107.
- [9] 杨瑞成,羊海棠,彭采宇,等. 逾渗理论及聚合物脆韧转变逾渗模型[J]. 兰州理工大学学报,2005,31(1):26-30.
Yang Ruicheng, Yang Haitang, Peng Caiyu, et al. Percolation theory and percolation model of brittle-ductile transition of polymers[J]. Journal of Lanzhou University of Technology, 2005, 31(1):26-30.
- [10] 杨东波. 混凝土-复合层结构补强力学特性及加固措施优化研究[J]. 工业建筑,2016,46(8):151-154, 181.
Yang Dongbo. Study on reinforcing mechanical properties and reinforcement measures optimization of the concrete-composite layer structure[J]. Industrial Construction, 2016, 46(8):151-154, 181.
- [11] Zheng Yanyan, Xiong Chengdong, Li Xiaoyu, et al. Covalent attachment of cell-adhesive peptide Gly-Arg-Gly-Asp (GRGD) to poly(etheretherketone) surface by tailored silanization layers technique[J]. Applied Surface Science, 2014, 320:93-101.
- [12] Bacakova L, Filova E, Parizek M, et al. Modulation of cell adhesion, proliferation and differentiation on materials designed for body implants[J]. Biotechnology Advances, 2011, 29(6):739-767.
- [13] Zhang Zhenxiang, Sun Junying, Hu Hongjie, et al. Osteoblast-like cell adhesion on porous silicon-incorporated TiO_2 coating prepared by micro-arc oxidation[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials, 2011, 97B:224-234.

(上接第28页)