

仿生磷脂聚合物及纳米银双功能涂层的 构建及防污抗菌性能

魏佳峰¹, 刘星星^{2*}, 贾康乐², 苏秋萍², 李欢玲², 余龙飞^{2*}

(1. 广东工业大学 轻工化工学院, 广东 广州 510006; 2. 广东省科学院化工研究所, 广东 广州 510665)

摘要: 以多巴胺甲基丙烯酸酰胺 (DMA) 和 2-甲基丙烯酰氧乙基磷酸胆碱 (MPC) 为单体, 通过自由基聚合制备了两性离子共聚物 (PMPCD), 再以多巴胺盐酸盐 (DA) 为锚固剂将 PMPCD 接枝到基材表面, 形成了防污涂层。最后, 聚多巴胺 (PDA) 将银离子原位还原成纳米银 (AgNPs), 实现了 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的防污-杀菌双功能。采用 FTIR、¹HNMR、SEM、XPS 对 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层进行了表征, 测试了其黏附力和水接触角。通过抗蛋白质、抗血小板吸附、溶血和细胞毒性实验考察了 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的生物相容性。结果表明, PDA/PMPCD-AgNPs 涂层具有优异的亲水性 (平均水接触角 25.0°~34.0°)、抗菌性和生物相容性; PDA/PMPCD-AgNPs 涂层对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌率分别高达 98% 及 95% 以上; 抗蛋白质吸附率 >90%, 同时能减少血小板的吸附和活化, 并展现出较低的溶血率及优异的细胞活性。

关键词: 两性离子聚合物; 纳米银; 表面改性; 防污性能; 抗菌性能; 生物工程

中图分类号: R318.08 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2025) 04-0828-09

Construction of dual-functional coating of biomimetic phospholipid polymer and silver nanoparticles and its antifouling and antibacterial properties

WEI Jiafeng¹, LIU Xingxing^{2*}, JIA Kangle², SU Qiuping²,
LI Huanling², YU Longfei^{2*}

(1. School of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, Guangdong, China; 2. Guangdong Academy of Sciences, Institute of Chemical Engineering, Guangzhou 510665, Guangdong, China)

Abstract: Zwitterionic copolymer (PMPCD) was synthesized from free radical copolymerization of dopamine methacrylamide (DMA) and 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC), and grafted onto substrate surface with dopamine (DA) as anchor agent to form an antifouling coating. Dual-functional PDA/PMPCD-AgNPs coating with antifouling and antibacterial properties was then obtained from *in situ* reduction of silver ions to silver nanoparticles (AgNPs) by polydopamine (PDA), and characterized by FTIR, ¹HNMR, SEM and XPS, with its adhesion and water contact angle analyzed. The biocompatibility of PDA/PMPCD-AgNPs coating was further evaluated by anti-protein, anti-platelet adsorption, hemolysis and cytotoxicity tests. The results showed that the PDA/PMPCD-AgNPs coating exhibited excellent hydrophilicity (average water contact angle 25.0°~34.0°), antibacterial property and biocompatibility. The antibacterial rates of PDA/PMPCD-AgNPs coating on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were 98% and 95%, respectively. Meanwhile, the coating displayed an anti-protein adsorption rate > 90%, reduced platelet adsorption and activation, and low hemolysis rate as well as excellent cell activity.

收稿日期: 2024-02-05; 定用日期: 2024-03-29; DOI: 10.13550/j.jxhg.20240129

基金项目: 揭阳市 (扬帆计划) 引进创新创业团队和领军人才项目 (2022yfgh007); 2023 年汕头市精细化工企业引进科技领军人才团队及进口替代技术攻关专项资金项目 (230905135015574)

作者简介: 魏佳峰 (1998—), 男, 硕士生, E-mail: weijj923@163.com。联系人: 刘星星 (1991—), 女, 博士, E-mail: liuwx83@mail.sysu.edu.cn; 余龙飞 (1983—), 男, 高级工程师, E-mail: zsufl@163.com。

Key words: zwitterionic polymers; silver nanoparticles; surface modification; antifouling properties; antibacterial properties; biological engineering

医用导管相关感染是临床上亟待解决的难题之一,导管表面微生物黏附和生物膜形成是引发导管相关感染的主要原因^[1-2]。医用导管表面生物膜一旦形成并引起感染,抗生素治疗的作用将极其有限^[3]。因此,对生物材料表面进行改性处理,引入具有抗菌黏附化合物(如聚乙二醇、两性离子聚合物等)和/或杀菌功能的化合物(如季铵盐、壳聚糖和纳米银等),可抑制生物膜在材料表面的形成,增加材料表面的抗菌能力,是预防生物材料相关感染的重要途径之一^[4-5]。

聚合物亲水涂层是构建抗菌黏附型表面的常用策略^[6-7]。两性离子聚合物,如聚(2-甲基丙烯酰氧乙基磷酸胆碱)(PMPC),具有优异的亲水性、抗污性能和生物相容性,已广泛用于医疗器械的表面改性^[8-9]。但两性离子聚合物涂层只能抑制大部分细菌黏附,不能完全抑制生物膜的形成,而且,两性离子聚合物涂层差的稳定性仍是一个需要面对的挑战^[10-11]。因此,将生物防污功能与杀菌功能结合起来,建立防污-杀菌双功能的稳定涂层备受关注。目前,常用的抗菌剂有纳米银(AgNPs)、金属离子、季铵盐和抗菌肽等^[12-14]。其中,AgNPs具有广谱杀菌活性,在预防细菌感染方面显示良好的潜力,但单一的AgNPs涂层很容易被死细菌的碎片污染^[15-16]。因此,如何将具有防污特性和抗菌特性的功能成分整合在一起,发挥协同增效作用,使材料表面兼具优异的防污、抗菌性能和良好的生物相容性,这逐渐成为医用抗菌涂层研究的热点之一。多巴胺盐酸盐(DA)仿生黏附是一种简便高效的普适性表面修饰策略^[17-18]。

本文拟结合两性离子的抗生物污染特性和AgNPs的杀菌活性,以DA为锚固剂,将多巴胺甲基丙烯酰胺(DMA)和2-甲基丙烯酰氧乙基磷酸胆碱(MPC)合成的两性离子共聚物P(MPC-co-DMA)(PMPCD)与DA一起共沉积,来制备稳定的防污亲水涂层;随后,通过聚合多巴胺(PDA)将Ag⁺原位还原为AgNPs,以期通过简单易行、可操作性强的浸泡法开发一种具有生物防污和抗菌协同功效的双功能涂层,为预防医用导管相关感染提供新思路。

1 实验部分

1.1 试剂、材料与仪器

MPC(质量分数≥95.0%)、无水四硼酸钠(质量分数≥99%)、NaHCO₃(质量分数≥99.5%),上海麦克林生化科技股份有限公司;Tris-HCl缓冲溶

液(0.05 mol/L, pH=8.5)、牛血清白蛋白(BSA,质量分数≥96%)、甲基丙烯酸酐(质量分数≥94%)、偶氮二异丁腈(质量分数≥98%),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;DA(质量分数≥98%),上海笛柏生物科技有限公司;AgNO₃(质量分数≥99.8%),国药集团化学试剂有限公司;牛血清纤维蛋白原(BFG,质量分数≥93%),上海源叶生物科技有限公司;磷酸盐缓冲液(PBS, pH=7.2~7.4),上海吉至科技有限公司;四氢呋喃、NaOH、浓盐酸(质量分数36%)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、无水乙醇、丙酮,分析纯,广东广试试剂科技有限公司;戊二醛固定液(质量分数2.5%),北京沃凯生物科技有限公司;PET聚酯膜,上海恩布里实业有限公司;PC板材、PVC板材、PP板材,江苏革方新材料公司;实验用水为去离子水,自制。

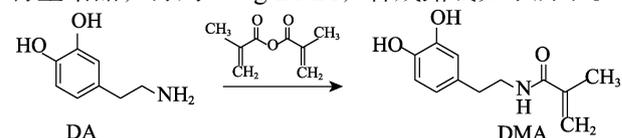
微量蛋白BCA定量试剂盒,北京聚合美生物科技有限公司;细菌细胞活力/毒性检测试剂盒,美国EVERBRIGHT公司。

Nicolet iS10型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR)、K-Alpha+型X射线光电子能谱仪(XPS)、Multiskan FC型酶标仪,美国Thermo Fisher Scientific公司;AVANCE NEO 400 MHz型核磁共振波谱仪(NMR),德国Bruker公司;Zeiss AURIGA型场发射扫描电子显微镜(SEM),德国Carl Zeiss公司;DSA100S型光学接触角测量仪,德国KRÜSS公司;Ti-U型倒置荧光显微镜,日本Nikon公司;WS-2005型涂层附着自动划痕仪,兰州中科凯华科技开发有限公司。

1.2 方法

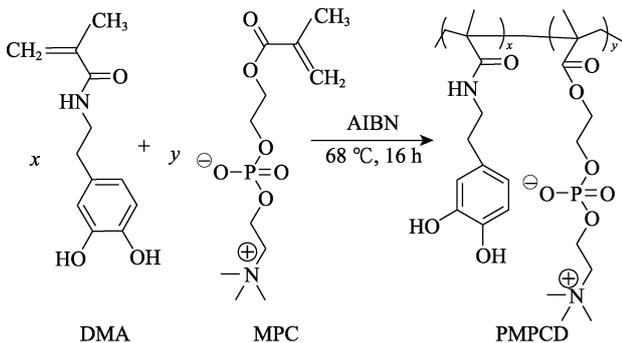
1.2.1 DMA的合成

DMA的合成参照文献^[19]的方法。首先,在磁力搅拌下,将10.0 g(0.05 mol)无水四硼酸钠和4.0 g(0.05 mol)NaHCO₃溶于100 mL去离子水中;随后,在N₂氛围下加入5.0 g(0.03 mol)DA;再将4.7 mL甲基丙烯酸酐在25 mL四氢呋喃中稀释后缓慢滴加到上述溶液中;滴加完毕后,用1 mol/L NaOH溶液将上述反应溶液的pH调节至8.5,继续搅拌反应16 h后,用1 mol/L盐酸将反应溶液pH调节至<2,用乙酸乙酯萃取3次,再用无水MgSO₄进行干燥;接着,将乙酸乙酯萃取液浓缩、沉淀、抽滤得到DMA粗产物;最后,利用乙酸乙酯对粗产物进行重结晶,得到3.7 g DMA,合成路线如下所示。



1.2.2 共聚物 PMPCD 的制备

通过自由基聚合制备共聚物 PMPCD。以 16 mg (0.1 mmol) 偶氮二异丁腈 (AIBN) 为引发剂、0.80 g (2.7 mmol) MPC 和 0.20 g (0.1 mmol) DMA 为单体、20 mL DMF 为溶剂, 通过冷冻-抽气-融化 3 次循环, 将反应体系置换成 N_2 氛围, 在 68 °C 下反应 16 h。反应结束后, 将反应液经过透析 (截留相对分子质量 7000)、在 -45 °C 下冷冻干燥 48 h 后得到白色固体 PMPCD, 质量 0.81 g。经 GPC 测定, 重均相对分子质量 (M_w) = 2.5×10^5 , 分散系数 $M_w/M_n = 1.3$, 其中, M_n 为数均相对分子质量。合成路线如下所示。



1.2.3 双功能涂层的制备

以尺寸为 1 cm × 1 cm × 0.025 cm 的 PVC 材料为研究对象。首先, 将 PVC 材料依次用去离子水、丙酮和无水乙醇超声清洗 30 min, N_2 吹干后备用。然后, 将 PVC 分别浸没于 DA (质量浓度 2 g/L) 和 PMPCD (质量浓度 2 g/L) 的 Tris-HCl 缓冲溶液 (pH=8.5、0.05 mol/L) 中, 并置于摇床 (37 °C) 沉积 24 h 后, 将 PVC 取出, 用去离子水充分清洗, 干燥后得到 PDA/PMPCD 涂层改性 PVC; 将 PVC 分别浸没于 PMPCD (质量浓度 2 g/L) 的 Tris-HCl 缓冲溶液 (pH=8.5、0.05 mol/L) 中, 在同样条件下经过沉积、清洗、干燥后得到 PMPCD 涂层改性 PVC。然后, 将 PDA/PMPCD 涂层改性 PVC 浸泡在 $AgNO_3$ 溶液 (质量浓度 0.1 g/L) 中, 置于摇床 (37 °C) 中沉积 24 h 后, 用去离子水冲洗表面, 待自然干燥后, 得到 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层。制备流程示意图如图 1 所示。

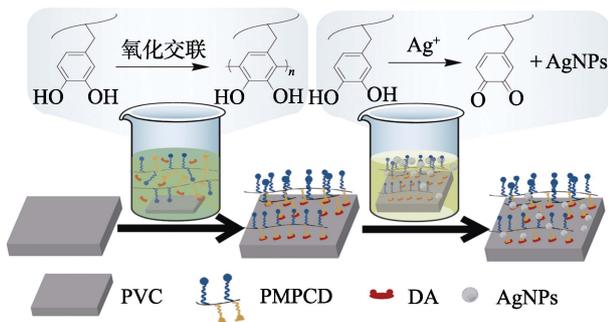


图 1 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的制备示意图

Fig. 1 Schematic diagram of preparation of PDA/PMPCD-AgNPs coating

1.3 表征方法和性能测试

FTIR 测试: 将样品与 KBr 按质量比 1 : 100 混合压片, 测试波数范围 4000~520 cm^{-1} , 扫描 16 次。

1H NMR 测试: 将样品溶于 D_2O 中, 射频 400 MHz。

XPS 测试: 激发源 Al K_{α} 射线, 14.6 kV/16 mA。

SEM 测试: 加速电压 10 kV。黏附力测试: 加荷范围 0.01~10 N。水接触角测试: 使用光学接触角测量仪, 液滴 5.0 μL 。

1.4 抗菌性能测试

采用革兰氏阴性菌大肠杆菌 (*E. coli*) 和革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 作为代表测试涂层的抗菌性能。

将 PVC 样品 (1 cm × 1 cm × 0.025 cm) 经过紫外消毒后, 放入 24 孔板内, 将 1 mL 细菌悬浮液 (*E. coli* 或 *S. aureus*) 分别以 1×10^6 CFU/mL 的密度移入到每个孔中, 在 37 °C 恒温培养箱培养 24 h 后, 将样品从细菌悬液中取出, 用 PBS 轻轻清洗样品表面 3 次, 去除未黏附的细菌, 制备得到的样品备用, 分别通过平板抑菌法和 SEM 观察并评价涂层的抗菌能力。

平板抑菌法: 利用涡旋振荡将附着在样品上的细菌分离到 PBS 中, 经 PBS 适当稀释后, 在 LB 琼脂平板上 37 °C 孵育 24 h, 采用平板计数法进行 CFU 计数。以未经修饰的 PVC 基材为空白组, 分别含 PDA/PMPCD 涂层、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的 PVC 基材为样品组。根据式 (1) 计算涂层抑菌率 (%) :

$$B/\% = \left(1 - \frac{n_1}{n_0} \right) \times 100 \quad (1)$$

式中: B 为涂层抑菌率, %; n_1 为实验样品平均菌落数, 个; n_0 为空白样品平均菌落数, 个。

细菌形态观察: 将样品用戊二醛固定液 (质量分数 2.5%) 在 4 °C 下固定 16 h, 分别用 30%、50%、70%、80%、90%、100% 梯度体积分数的乙醇水溶液脱水, 然后在 -45 °C 下真空冷冻干燥 48 h, 溅射铂后进行 SEM 观察。

1.5 生物相容性测试

1.5.1 抗蛋白质吸附实验

采用质量浓度 0.5 g/L BFG 的 PBS 和质量浓度 2.0 g/L BSA 的 PBS 对 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的抗蛋白质吸附能力进行测试。将样品在 PBS 中平衡 16 h 后, 置入 24 孔板中, 在每个样品孔内分别加入 1 mL 蛋白液 (BFG 或 BSA), 放入恒温摇床 (37 °C、200 r/min) 中孵育 16 h。移除蛋白液后, 使用 PBS 清洗样品表面, 清除表面未黏附的蛋白质。随后, 加入 1 mL 质量分数为 1% 的 SDS 的 PBS 溶液, 置于摇床 (37 °C、200 r/min) 3 h 后, 进行 30 min 超

声清洗, 利用微量 BCA 蛋白定量法检测计算 SDS 溶液的蛋白质含量 (质量浓度), 得到样品表面蛋白质吸附量, 进而计算涂层抗蛋白质吸附率。以未经修饰的 PVC 基材为空白组, 含 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的 PVC 基材为样品组。根据式 (2) 计算涂层的抗蛋白质吸附率:

$$D/\% = \left(1 - \frac{q_1}{q_0}\right) \times 100 \quad (2)$$

式中: D 为抗蛋白质吸附率, %; q_1 为样品组平均蛋白质吸附量, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; q_0 为空白组平均蛋白质吸附量, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。

1.5.2 抗血小板吸附实验

使用 PBS 浸泡 PVC 样品平衡 16 h 后, 将样品移入 24 孔板中, 加入 0.5 mL 富血小板血浆 (PRP), 置于摇床 (37 °C、200 r/min) 孵育 3 h 后取出, 经 PBS 清洗后用戊二醛固定液 (质量分数 2.5%) 固定 16 h, 再经 PBS 清洗后, 分别用 30%、50%、70%、80%、90%、100% 梯度体积分数的乙醇水溶液进行脱水, 通过 SEM 观察表面附着的小血小板形貌和数量。

1.5.3 溶血实验

将全血和 PBS 按体积比 1 : 9 混合, 在 200 r/min 下离心 15 min, 移除上清液, 重复 3 次后得到红细胞悬浮液; 然后, 用 PBS 将红细胞悬浮液稀释至体积分数为 10%, 得到体积分数 10% 的红细胞悬浮液备用。将经过 1 mL PBS 溶液平衡 16 h 后的 PVC 样品移入 1.5 mL 离心管, 加入 500 μL 体积分数 10% 红细胞悬浮液和 500 μL PBS 作为样品组, 将不含样品的 50 μL 红细胞悬浮液和 500 μL 去离子水混合溶液作为阳性组, 不含样品的 500 μL 体积分数 10% 红细胞悬浮液和 500 μL PBS 的混合溶液作为阴性组。将上述离心管置于摇床 (37 °C、200 r/min) 孵育 1.5 h, 随后在 3000 r/min 下离心 5 min, 取各组上清液 (100 μL) 转移至 96 孔板上, 在酶标仪上记录 540 nm 处的吸光度。根据式 (3) 计算溶血率:

$$H/\% = \frac{A_t - A_{nc}}{A_{pc} - A_{nc}} \times 100 \quad (3)$$

式中: H 为溶血率, %; A_t 、 A_{pc} 、 A_{nc} 分别为样品组、阳性组、阴性组平均吸光度。

1.5.4 细胞毒性实验

将样品置于 24 孔板中, 紫外消毒后, 将 L929 细胞以 5×10^4 个/孔的密度接种在样品表面。在 37 °C 含体积分数 5% CO_2 的恒温箱中孵育 24 h 后, 采用 CCK-8 法测定细胞活力^[20]。

2 结果与讨论

2.1 PMPCD 的表征

图 2 为 PMPCD 的 FTIR 和 ^1H NMR 谱图。

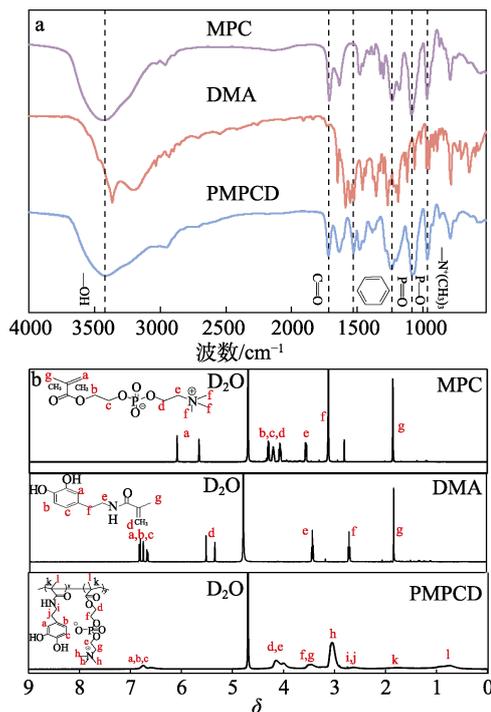


图 2 MPC、DMA 和 PMPCD 的 FTIR (a) 及 ^1H NMR (b) 谱图

Fig. 2 FTIR (a) and ^1H NMR (b) spectra of MPC, DMA and PMPCD

从图 2a 可以看出, 两性离子共聚物 PMPCD 出现了 MPC 的特征吸收峰, 分别为 967 cm^{-1} [$-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$]、 1082 cm^{-1} ($-\text{OPOCH}_2-$)、 1238 cm^{-1} ($-\text{POCH}_2-$) 和 1722 cm^{-1} (羰基), 同时也出现了 DMA 的特征吸收峰, 分别为 1722 cm^{-1} (羰基)、 3410 cm^{-1} ($-\text{O}-\text{H}$ 或 $-\text{N}-\text{H}-$) 和 1580 cm^{-1} (苯环), 表明 PMPCD 已成功合成。

从图 2b 可以看出, δ 6.57~6.91 的宽峰对应单体 DMA 中苯环上的 H 质子信号峰, δ 4.22、4.10、3.58 和 3.13 分别对应单体 MPC 上亚甲基及 $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ 的 H 质子信号峰, 进一步佐证 PMPCD 的成功合成。通过分析 ^1H NMR 谱图 MPC 片段中 $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ 的甲基 H 特征峰与 DMA 片段的苯环 H 质子特征峰的积分面积比, 得出 PMPCD 中 MPC 片段与 DMA 的实际物质的量比为 3.4 : 1.0, 这与投料单体 MPC 和 DMA 的物质的量比 (3.5 : 1.0) 基本一致。

2.2 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的表征

2.2.1 SEM 分析

基于多巴胺仿生黏附策略, DA 可通过 $\pi-\pi$ 堆积、阳离子- π 相互作用、疏水相互作用和双齿氢键对有机界面进行黏附^[18,21], 并且多巴胺不仅可通过氧化自聚形成 PDA^[22], 还与 PMPCD 中的邻苯二酚基团进行交联, 使 PMPCD 锚定在基底表面^[23-24], 形成 PDA/PMPCD 涂层。同时, 邻苯二酚基团可与 Ag^+ 络合, 且在不添加任何化学还原剂的情况下, 将

Ag⁺还原为 AgNPs, 构建杀菌涂层^[25]。图 3 为 PVC、PDA/PMPCD 涂层、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的 SEM 图。

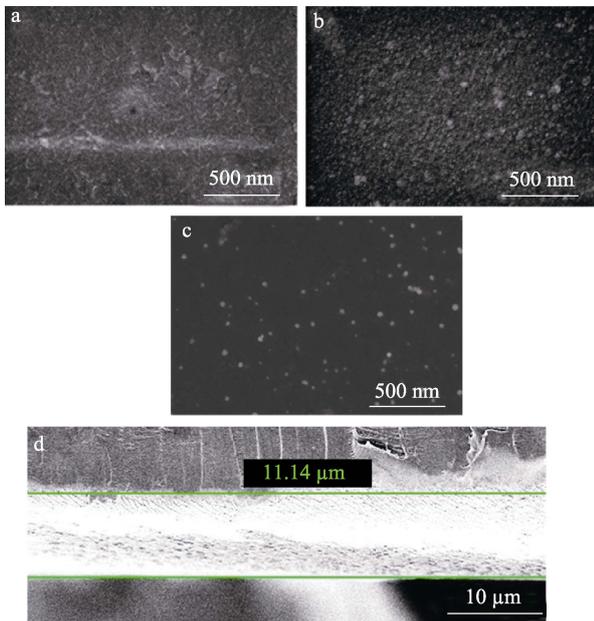


图 3 PVC (a)、PDA/PMPCD 涂层 (b)、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层 (c) 的 SEM 图及 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的截面 SEM 图 (d)

Fig. 3 SEM images of PVC (a), PDA/PMPCD coating (b), PDA/PMPCD-AgNPs coating (c), as well as cross-section SEM image of PDA/PMPCD-AgNPs coating (d)

从图 3 可以看出, 未改性的 PVC 表面相对比较平整 (图 3a), 经过两性离子共聚物 PMPCD 修饰后的 PVC 表面变得相对粗糙 (图 3b), 这主要是由 PDA 在表面的沉积和不均匀堆积造成的。进一步在 PDA/PMPCD 涂层表面进行 AgNPs 涂层修饰后, 能在表面观察到均匀分散的 AgNPs (图 3c), 粒径约为 50 nm, 分布密度约为 14 个/ μm^2 , 可见少量团聚现象, 证明纳米银涂层的成功制备。同时通过 SEM 对涂层的截面进行观察, 测得 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的厚度为 11.14 μm 。

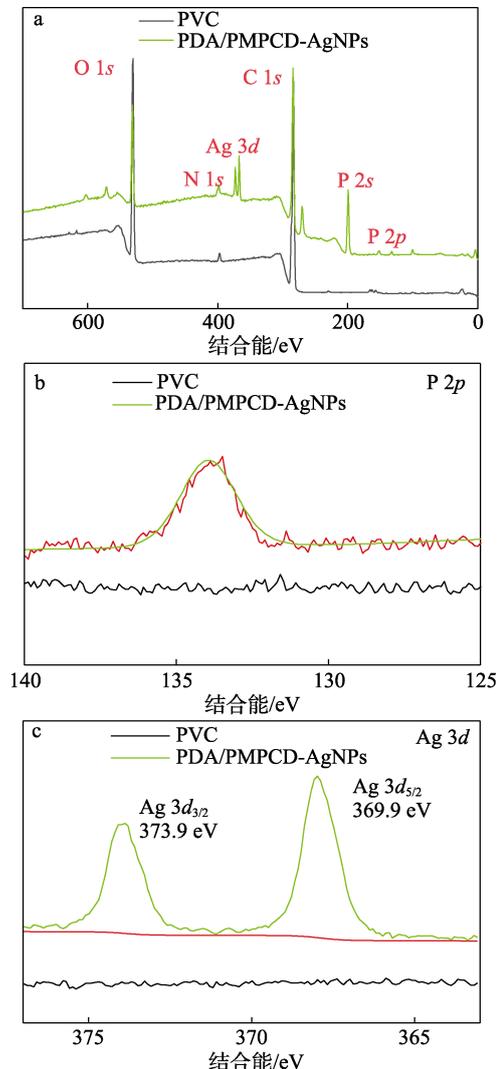
2.2.2 XPS 分析

图 4 为 PDA、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的 XPS 谱图。表 1 为各元素质量分数。

从表 1 可以看出, 与 PDA 相比, PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的表面元素 N、P、Ag 质量分数增加, 其中, N、P 来自 PMPCD, Ag 来自 AgNPs, 证明 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的成功制备。

从图 4 可以看出, PDA/PMPCD-AgNPs 涂层具有 P 2s (190.0 eV)、P 2p (133.0 eV) 和 Ag 3d (70.0 eV) 的特征峰 (图 4a), 分别为 PMPCD 和 AgNPs 的特征信号, 表明 PMPCD 和 AgNPs 成功对 PVC 表面进行了改性; PDA/PMPCD-AgNPs 涂层存在典型的 P 峰

(图 4b); Ag 3d_{3/2} (373.9 eV) 和 Ag 3d_{5/2} (369.9 eV) 的结合能之间的差值 (4.0 eV) 接近 6.0 eV (图 4c), 证明 Ag⁺被成功还原为 AgNPs^[26]。进一步证实了 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的成功构建。



a—XPS 全谱; b—P 2p 高分辨 XPS 谱图; c—Ag 3d 高分辨 XPS 谱图

图 4 PDA、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的 XPS 谱图
Fig. 4 XPS spectra of PDA, PDA/PMPCD-AgNPs coatings

表 1 PDA、PDA/PMPCD-AgNPs 表面元素的质量分数
Table 1 Mass fraction of elements on the surface of PVC and PDA/PMPCD-AgNPs

样品	质量分数/%				
	C	N	O	P	Ag
PDA	72.40	0.33	7.62	—	—
PDA/PMPCD-AgNPs	67.69	3.67	16.77	2.18	1.09

注: “—”代表 XPS 检测不到该元素信号。

2.3 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的性能分析

2.3.1 涂层黏附力分析

图 5 为 PDA/PMPCD 涂层、PMPCD 涂层微划痕轨迹光学图像。图 6 为 PDA/PMPCD 涂层、PMPCD 涂层的临界载荷。

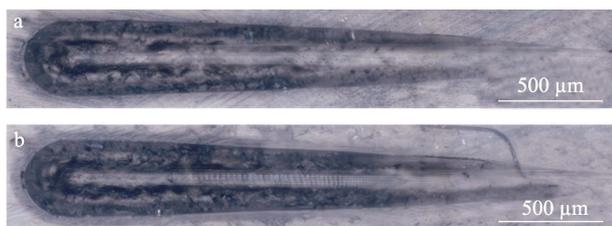


图5 PDA/PMPCD (a)、PMPCD 涂层 (b) 微划痕轨迹光学图像

Fig. 5 Optical images of microscratch trajectories of PDA/PMPCD (a) and PMPCD (b) coatings

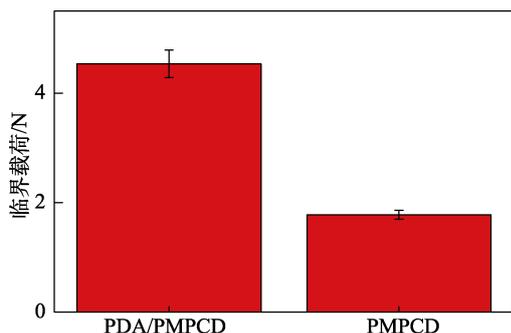


图6 PDA/PMPCD、PMPCD 涂层的临界载荷

Fig. 6 Critical loads of PDA/PMPCD and PMPCD coatings

从图5、6可以看出, PDA/PMPCD 涂层具有较高的黏附强度, 临界载荷为 4.5 N。相比之下, 仅由 PMPCD 构成的涂层显示出较低的黏附强度(临界载荷为 1.8 N)。这是因为, DA 与 PMPCD 均具有邻苯二酚基团, 在弱碱性有氧环境下能通过氧化形成共价键, 以交联的形式固定在基底 PVC 表面, 再通过其他的非共价键作用(氢键、阳离子- π 作用等), 增强 PMPCD 在基底表面的黏附。因此, DA 作为锚定配体可将 PMPCD 直接锚定在基底上。

2.3.2 水接触角分析

水接触角是表征材料表面浸润性的重要手段, 涂层表面润湿性变化可为表面化学组成和形貌变化提供佐证, 且材料的亲疏水性与生物相容性又有着密切的关系^[27]。将 1 cm×1 cm×0.025 cm 的 PP、PC、PVC 和 PET 基材浸泡于质量浓度为 2 g/L 的 DA 的 Tris-HCl 缓冲溶液 (pH=8.5、0.05 mol/L) 中, 制得 PDA 涂层, 再分别制备 PDA/PMPCD 和 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层, 其表面的水接触角变化情况见图 7。

从图 7 可以看出, 空白的 PP、PC、PVC 和 PET 表面呈疏水性, 含有 PDA 涂层的基底表面水接触角有减小趋势, 而 PDA/PMPCD 涂层与 PDA 涂层相比, 粗糙度减小^[18], 但经过 PDA/PMPCD 修饰的表面的水接触角更小, 与未修饰的基底相比, 均下降了 30°左右。这是因为, PMPCD 中含磷酸胆碱亲水基团, 可以改善基材表面的水合能力及亲水性。此外, 经

过 AgNPs 的进一步修饰后, AgNPs 不仅保持了涂层原本的亲水性, 还使表面的水接触角进一步降低。PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的平均水接触角在 25.0°~34.0°之间, 这是因为, AgNPs 的纳米结构增加了涂层表面的粗糙度, 表明基于多巴胺仿生策略构建的 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层具有适用性, 能有效改善多种基材表面的亲水性。

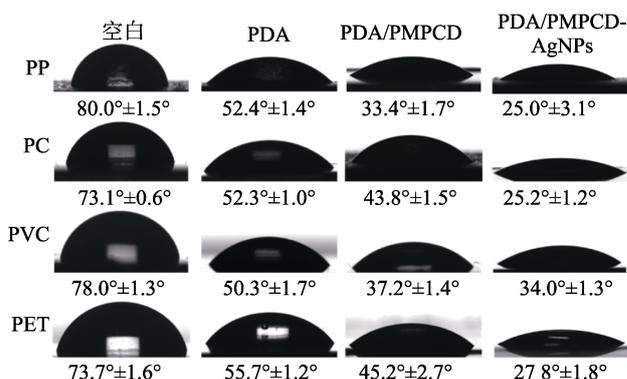


图7 不同基材表面亲水改性前后的水接触角

Fig. 7 Changes in water contact angle before and after modification of different substrate surfaces

为了探究 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层在的耐久性, 将含有 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的 PVC 基底浸泡于 PBS (pH=7.2~7.4) 中, 10 d 后测得其表面水接触角为 35.8°±2.2°, 与未浸泡的样品表面水接触角相差较小。表明 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层具有良好的耐久性。

2.4 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的抗菌性能分析

图 8 为 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的抗菌性能测试结果。

从图 8a 可以看出, 空白 PVC 样品组观察到大量的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌菌落, 而 PDA/PMPCD 涂层和 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层修饰的 PVC 材料细菌的菌落数大幅度减少。从图 8b 可以看出, PDA/PMPCD 涂层对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌率分别为 84.1%±1.3%和 88.2%±1.2%, PDA/PMPCD-AgNPs 涂层对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌率分别提高至 98.3%±0.7% (>98%) 和 95.7%±2.7% (>95%)。表明 PDA/PMPCD 涂层能有效抑制革兰氏阴性菌和阳性菌黏附, 且 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层能进一步提高 PVC 材料表面的抗菌率。从图 8c 可以看出, 在空白 PVC 上分别分布着大量的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌。而经过 PDA/PMPCD 及 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层修饰后的 PVC 表面的细菌分布急剧减少。这是因为, PMPCD 中的 $N^+(CH_3)_3$ 和 PO_4 具有亲水性, 能通过氢键及静电等作用在材料表面形成一层牢固的水合层, 从而有效抵抗细菌

在基底表面的黏附^[28-29]。并且 AgNPs 具有广谱杀菌能力，当细菌附着在涂层表面，AgNPs 能够黏附到细菌的细胞膜上，并渗入到细菌内部，使细菌丧失酶活性，同时破坏细菌的呼吸链，导致细菌死亡，

进一步降低了细菌的黏附数^[30-31]。因此，通过构建 PDA/PMPCD-AgNPs 多功能涂层，利用防污两性离子共聚物 PMPCD 与杀菌剂 AgNPs 的协同作用，可以进一步增强基材表面的抗菌性能。

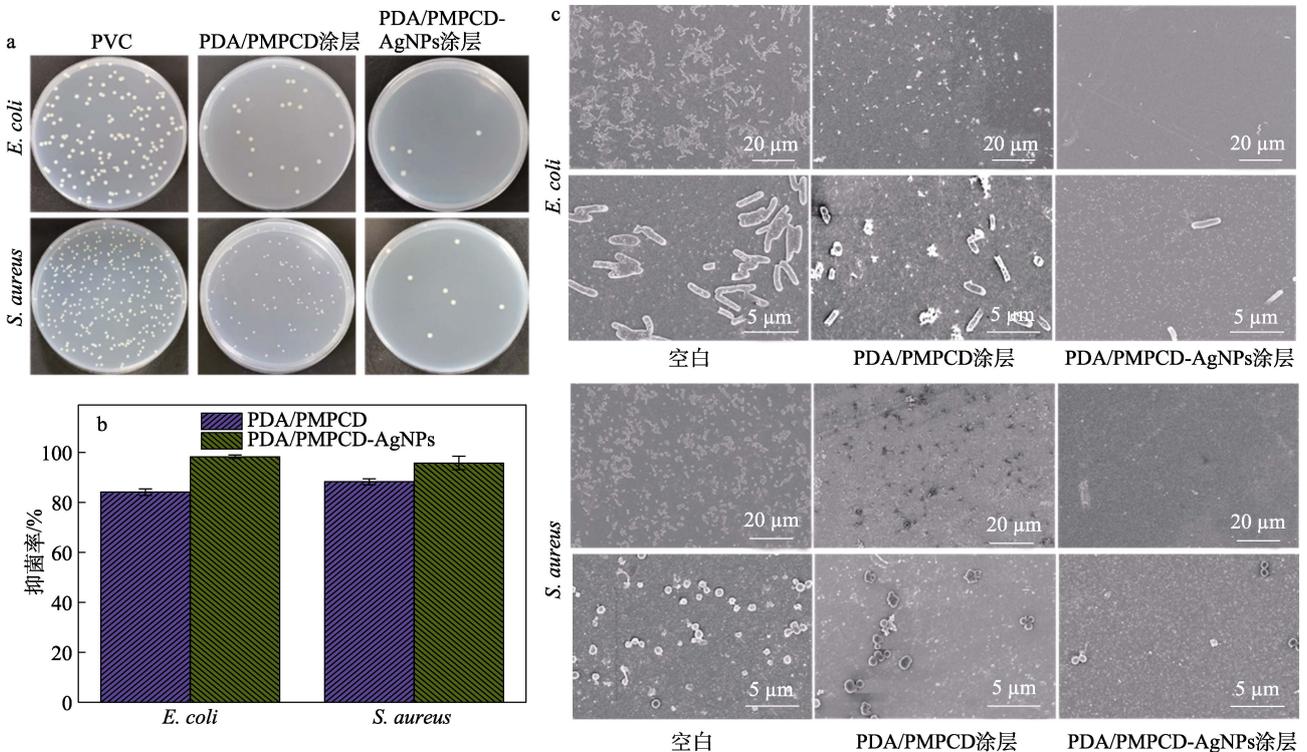


图 8 PVC、PDA/PMPCD 涂层、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层上的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌形成的菌落照片 (a); PDA/PMPCD、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层对不同细菌的抑菌率 (b); PVC、PDA/PMPCD 涂层、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层上的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的 SEM 图 (c)

Fig. 8 Photographs of *E. coli* and *S. aureus* colonies formation on PVC, PVC/PDA/PMPCD coating and PVC/PDA/PMPCD-AgNPs coating (a); Inhibition rate of PDA/PMPCD and PDA/PMPCD-AgNPs coatings on different bacteria (b); SEM images of *E. coli* and *S. aureus* on PVC, PVC/PDA/PMPCD coating and PVC/PDA/PMPCD-AgNPs coating (c)

2.5 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的生物相容性分析

2.5.1 抗蛋白质吸附分析

蛋白质在材料表面的非特异性吸附被认为是引发各种生物污染的第一步，采用微量 BCA 蛋白定量检测法，可以定量检测 BFG 和 BSA 在涂层表面的吸附量，从而分析得到涂层的抗蛋白质吸附率。图 9 为 PVC、PDA/PMPCD、PVC/PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的抗蛋白质吸附结果。

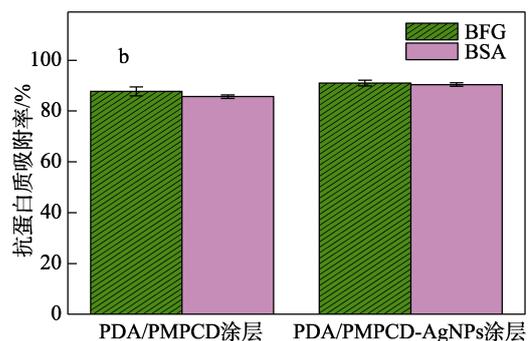
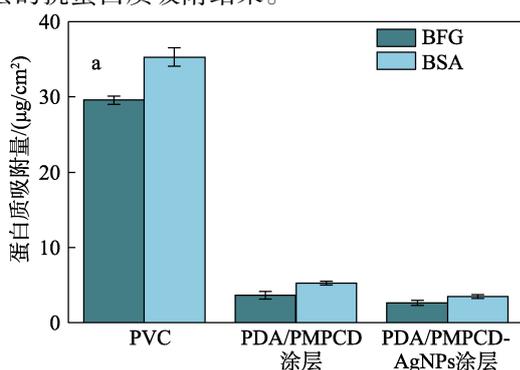


图 9 PVC、PDA/PMPCD 涂层、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的蛋白质吸附量 (a); PDA/PMPCD、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的抗蛋白质吸附率 (b)

Fig. 9 Adsorption capacity of protein on PVC, PDA/PMPCD coating and PDA/PMPCD-AgNPs coating (a); Proteins resistance of PDA/PMPCD and PDA/PMPCD-AgNPs coatings (b)

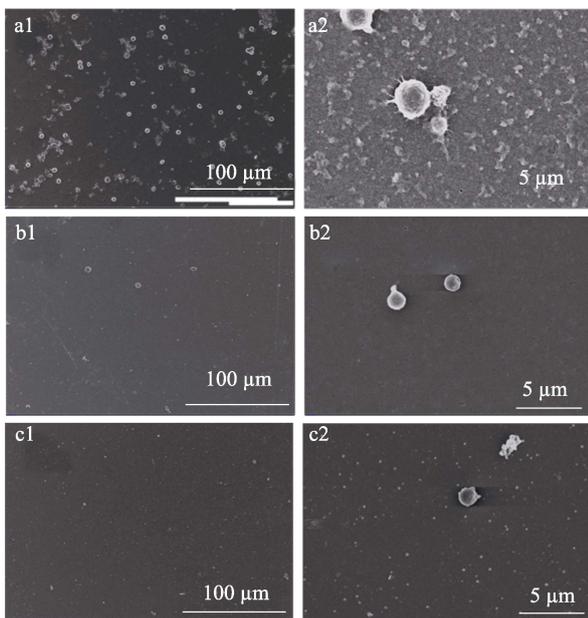
从图 9a 可见，BFG 在 PVC、PDA/PMPCD 涂层和 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层表面的吸附量分别为

(29.6 ± 0.6)、(3.6 ± 0.5)和(2.6 ± 0.3) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, PDA/PMPCD 涂层和 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层能减少 BFG 在其表面上的吸附量; BSA 在 PVC、PDA/PMPCD 涂层和 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的吸附也出现了类似的结果, 对应吸附量分别为(35.3 ± 1.2)、(5.2 ± 0.3)和(3.5 ± 0.3) $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 表明改性后 PVC 涂层均能有效减少蛋白质在其表面上的吸附量。

从图 9b 可以看出, 与空白 PVC 的抗蛋白质吸附率(0)相比, PDA/PMPCD 涂层对 BFG 和 BSA 的抗蛋白吸附率分别为 $87.7\% \pm 1.8\%$ 和 $85.7\% \pm 0.7\%$, PDA/PMPCD-AgNPs 涂层对 BFG 和 BSA 的抗吸附率分别为 $91.0\% \pm 1.1\%$ 和 $90.4\% \pm 0.7\%$ (均 $>90\%$)。表明 PDA/PMPCD 和 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层均具有良好的抗蛋白质吸附性能, 且 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层性能更佳。这是因为, 相比 PDA/PMPCD 涂层, PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的亲水性更好, 这也表明, 基底表面的亲/疏水性对蛋白质吸附过程有较大影响。

2.5.2 抗血小板黏附分析

图 10 为 PVC、PDA/PMPCD 涂层、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层上黏附的血小板的 SEM 图。



a1、a2—PVC; b1、b2—PDA/PMPCD 涂层; c1、c2—PDA/PMPCD-AgNPs 涂层

图 10 PVC、PDA/PMPCD 涂层、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层上黏附的血小板的 SEM 图

Fig. 10 SEM images of adhered platelets on PVC, PDA/PMPCD coating and PDA/PMPCD-AgNPs coating

从图 10 可以看出, 空白 PVC 表面血小板的黏附数量较多, 且血小板呈树凸状延伸和聚集(图 10a1、10a2), 表明黏附在空白 PVC 表面的血小板激活严重; 与空白 PVC 相比, 由于基材表面的亲水

性得到有效改善, PDA/PMPCD 涂层(图 10b1、10b2)和 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层(图 10c1、10c2)表面黏附的血小板数量急剧减少, 且观察到的血小板保持球形状态, 没有形成伪足, 表明血小板活化受到抑制。这是由 PDA/PMPCD 涂层和 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层亲水性所致。结果表明, PDA/PMPCD 涂层和 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层均能有效减少血小板的黏附、抑制血小板的活化。

2.5.3 溶血率分析

生物相容性对生物材料至关重要, 血液相容性是生物材料生物相容性的重要评价指标之一。溶血率通常用于评价生物材料的血液相容性。当生物材料接触血液时, 如果红细胞被溶解, 则会发生溶血, 释放血红蛋白(Hgb)和二磷酸腺苷, 从而使血小板黏附增强, 加速凝血和血栓形成^[32]。图 11 为 PVC、PDA/PMPCD 涂层、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的溶血率。

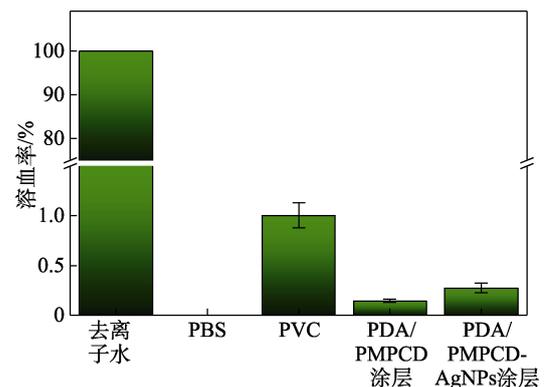


图 11 PVC、PDA/PMPCD 涂层、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的溶血率

Fig. 11 Hemolysis rates of PVC, PDA/PMPCD coating and PDA/PMPCD-AgNPs coating

从图 11 可以看出, PVC、PDA/PMPCD 涂层和 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的溶血率分别为 $1.00\% \pm 0.12\%$ 、 $0.43\% \pm 0.05\%$ 和 $0.82\% \pm 0.16\%$, 均 $<5\%$, 均具有良好的抗血液相容性。

2.5.4 细胞毒性分析

图 12 为 PVC、PDA/PMPCD 涂层、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层对细胞活性的影响。

从图 12 可以看出, PVC 的相对细胞活力为 $83.20\% \pm 0.27\%$, PDA/PMPCD 和 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的相对细胞活力分别为 $88.46\% \pm 1.3\%$ 和 $87.68\% \pm 1.1\%$, PDA/PMPCD 和 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层的相对细胞活力均高于 PVC。这是因为, PMPCD 中 MPC 片段具有优异的生物相容性, 能改善材料表面的生物相容性, 而且, AgNPs 对涂层生物相容性的影响极低。因此, PDA/PMPCD-AgNPs

涂层具有良好的生物相容性，可安全用于生物医学植入物的表面改性。

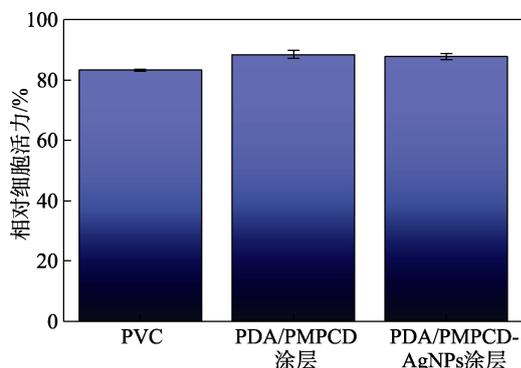


图 12 PVC、PDA/PMPCD 涂层、PDA/PMPCD-AgNPs 涂层对细胞活性的影响

Fig. 12 Effect of PVC, PDA/PMPCD coating and PDA/PMPCD-AgNPs coating on cell viability

3 结论

通过传统自由基聚合，成功制备了 2-甲基丙烯酸酰氧乙基磷酸胆碱及多巴胺的两性离子共聚物 PMPCD。并基于多巴胺的仿生黏附策略，采用简单的沉积法成功地将 PMPCD 及 AgNPs 在 PVC 表面构建了具有协同增效作用的防污及抗菌双功能 PDA/PMPCD-AgNPs 涂层。

(1) DA 通过氢键、静电作用及氧化还原等，将 PMPCD 和 AgNPs 稳定地锚固在基材表面，从而有效改善基材表面的亲水性（平均水接触角 $25.0^\circ \sim 34.0^\circ$ ）。该法具有适用性。

(2) 通过体外生物评价证明，PDA/PMPCD-AgNPs 涂层具有良好的抗菌能力（抑菌率可达 95% 以上）、防污能力（抗蛋白质黏附率可达 90% 以上）及抗血液相容性，且对细胞友好。

(3) PDA/PMPCD-AgNPs 涂层还能有效抑制血小板的黏附及激活，表现出良好的抗凝血性能。

本文提出的防污抗菌双功能涂层为抑制医用导管在临床使用过程中出现的细菌感染提供了具有潜在应用价值的解决方案。

参考文献：

- FAKIH M G, BUFALINO A, STURM L, *et al.* Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic, central-line associated bloodstream infection (CLABSI), and catheter-associated urinary tract infection (CAUTI): The urgent need to refocus on hardwiring prevention efforts[J]. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 2022, 43(1): 26-31.
- RUBI H, MUDEY G, KUNJALWAR R. Catheter-associated urinary tract infection (CAUTI)[J]. *Cureus*, 2022, 14(10): e30385.
- URUÉN C, CHOPO-ESCUIN G, TOMMASSEN J, *et al.* Biofilms as promoters of bacterial antibiotic resistance and tolerance[J]. *Antibiotics*, 2021, 10(1): 3.
- LIANG Y Q, LIANG Y P, ZHANG H L, *et al.* Antibacterial biomaterials for skin wound dressing[J]. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2022, 17(3): 353-384.
- ZOU Y, ZHANG Y X, YU Q, *et al.* Dual-function antibacterial surfaces to resist and kill bacteria: Painting a picture with two brushes simultaneously[J]. *Journal of Materials Science & Technology*, 2021, 70: 24-38.
- ASHA A B, CHEN Y J, NARAIN R. Bioinspired dopamine and zwitterionic polymers for non-fouling surface engineering[J]. *Chemical Society Reviews*, 2021, 50(20): 11668-11683.
- AHMADABADI H Y, YU K, KIZHAKKEDATHU J N. Surface modification approaches for prevention of implant associated infections[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2020, 193: 111116.
- IWASAKI Y. Photoassisted surface modification with zwitterionic phosphorylcholine polymers for the fabrication of ideal biointerfaces[J]. *Langmuir*, 2023, 39(44): 15417-15430.
- SEETASANG S, XU Y. Recent progress and perspectives in applications of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymers in biodevices at small scales[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2022, 10(14): 2323-2337.
- HUANG Z H, CHEN J Z, LI R, *et al.* Mussel adhesion and cell membrane antifouling mimetic strategies for durable fouling-resistant coating[J]. *Progress in Organic Coatings*, 2023, 182: 107636.
- CHU X T, YANG F P, TANG H Y. Recent advance in polymer coatings combating bacterial adhesion and biofilm formation[J]. *Chinese Journal of Chemistry*, 2022, 40(24): 2988-3000.
- KONG Q S, LI G C, ZHANG F J, *et al.* *N*-arylimidazoliums as highly selective biomimetic antimicrobial agents[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2022, 65(16): 11309-11321.
- ZHANG H J, FANG T X, YAO X X, *et al.* Large scale production of catalyst-free poly(ethylene succinate) with intrinsic antibacterial property through the design of hyperthermostable quaternary ammonium monomers[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 440: 135949.
- IMANI S M, LADOUCEUR L, MARSHALL T, *et al.* Antimicrobial nanomaterials and coatings: Current mechanisms and future perspectives to control the spread of viruses including SARS-CoV-2[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(10): 12341-12369.
- MISIRLI G M, SRIDHARAN K, ABRANTES S M P. A review on nanostructured silver as a basic ingredient in medicine: Physicochemical parameters and characterization[J]. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 2021, 12: 440-461.
- HUSAIN S, NANDI A, SIMNANI F Z, *et al.* Emerging trends in advanced translational applications of silver nanoparticles: a progressing dawn of nanotechnology[J]. *Journal of Functional Biomaterials*, 2023, 14(1): 47.
- PANDEY N, SOTO-GARCIA L F, LIAO J, *et al.* Mussel-inspired bioadhesives in healthcare: Design parameters, current trends, and future perspectives[J]. *Biomaterials Science*, 2020, 8(5): 1240-1255.
- GUO Q, CHEN J S, WANG J L, *et al.* Recent progress in synthesis and application of mussel-inspired adhesives[J]. *Nanoscale*, 2020, 12(3): 1307-1324.
- NIU J Q, WANG H H, CHEN J, *et al.* Bio-inspired zwitterionic copolymers for antifouling surface and oil-water separation[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2021, 626: 127016.
- LIN G B, ZHAO C H, LIAO W Q, *et al.* Eco-friendly green synthesis of rubropunctatin functionalized silver nanoparticles and evaluation of antibacterial activity[J]. *Nanomaterials*. 2022; 12(22): 4052.
- ZHANG C, XIANG L, ZHANG J W, *et al.* Revisiting the adhesion mechanism of mussel-inspired chemistry[J]. *Chemical Science*, 2022, 13(6): 1698-1705.
- HU D D, LI Y D, WENG Y X, *et al.* Mussel inspired stable underwater superoleophobic cotton fabric combined with carbon nanotubes for efficient oil/water separation and dye adsorption[J]. *Applied Surface Science*, 2023, 631: 157566.