

doi:10.3969/j.issn.2095-0411.2019.01.011

## 采用活性自由基聚合制备抗菌聚合物

周 超,周俊涛,胥加腾,邓林红

(常州大学 生物医学工程与健康科学研究院,江苏 常州 213164)

**摘要:**季铵盐类聚合物抗菌剂(PQACs)相比较于传统的纳米金属离子抗菌剂和天然抗菌剂,不仅没有生物毒性,而且具有抗菌效果更长效更广谱的特点。因此为了制备出具有强杀菌效果的 PQACs,通过采用辅助活化还原原子转移自由基聚合(SARA ATRP)方法制备(3-丙烯酰胺丙基)三甲基氯化铵(AMPTMA)和聚乙二醇(PEG)的季铵盐类共聚合物抗菌剂。通过核磁共振( $^1\text{H}$  NMR)、红外光谱(FT-IR)、凝胶渗透色谱(GPC)分别对其进行结构表征;并初步探讨了不同浓度同种聚合物抗菌剂以及同种浓度不同抗菌剂对于大肠杆菌以及金黄色葡萄球菌的抗菌性能,测试结果表明,在大肠杆菌的抗菌和金黄色葡萄球菌抗菌性能测试中,聚合物抗菌剂的抗菌性能都随着所测浓度的增加而提高;且抗菌聚合物分子质量越大抗菌性能越好;最后,采用 MTT 法对抗菌剂进行细胞毒性测试,结果表明抗菌剂的细胞毒性会随着其浓度的增加而加大。

**关键词:**辅助活化还原原子转移自由基聚合;季铵盐类抗菌聚合物;抗菌性能;细胞毒性;分子质量

中图分类号:TB 34

文献标志码:A

文章编号:2095-0411(2019)01-0071-09

## Preparing Antibacterial Polymer by Living Radical Polymerization

ZHOU Chao, ZHOU Juntao, XU Jiateng, DENG Linhong

(Institute of Biomedical Engineering and Health Sciences, Changzhou University, Changzhou 213164, China)

**Abstract:** Quaternary ammonium polymer antibacterial agents (PQACs) are not only biocompatible, but also have longer and broader spectrum of antibacterial property, compared to the traditional metallic ions nano particles and natural antibacterial agents. Therefore, in order to prepare PQACs with a strong bactericidal property, this article described the synthesis of a series of quaternary ammoniums based on supplemental activator and reducing agent atom transfer radical polymerization (SARA ATRP) to prepare (3-acrylamidopropyl)trimethylammonium chloride (AMPTMA)-polyethylene glycol (PEG) copolymers as antibacterial agents. The structure of synthesis antibacterial polyamers were characterized by  $^1\text{H}$  NMR, FT-IR, and gel permeation chromatography (GPC). Furthermore, the an-

收稿日期:2018-06-11。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(11532003,31670950)。

作者简介:周超(1986—),男,江苏常州人,博士,助理研究员。E-mail: zhouchao@cczu.edu.cn

引用本文:周超,周俊涛,胥加腾,等.采用活性自由基聚合制备抗菌聚合物[J].常州大学学报(自然科学版),2019,31(1):71-79.

tibacterial properties about different concentrations of the polymers for *E.coli* and *Staphylococcus aureus* were discussed. The higher antibacterial efficiency of the polymer antibacterial with the increase of the measured polymer concentration, the larger the antibacterial polymer molecular weight, the better the antibacterial property. Finally, the MTT assay shows the cytotoxicity of the antibacterial agent increased with its concentration increased.

**Key words:** supplemental activator and reducing agent atom transfer radical polymerization; quaternary ammonium antibacterial agents; antibacterial properties; cytotoxicity; molecular weight

近些年来,抗生素的大量滥用促使耐药性细菌的滋生繁殖,甚至一些超级细菌的出现,这些后果使得治疗的难度以及治疗成本大为增加,严重危害人类的生命健康。尤其是医院成为重要的传染源之一,各种医疗器械表面如手术设备,医疗导管之类等极容易沾染细菌,直接威胁病人的生命健康<sup>[1]</sup>。传统的抗菌剂如天然抗菌剂(壳聚糖),纳米金属离子(纳米银)等由于其成本低廉已经大规模商业化生产,但是传统天然抗菌剂不具有广谱得的杀菌性,而且纳米金属离子对正常细胞的毒性较大,限制了这类抗菌剂的进一步应用<sup>[2]</sup>。因此,抗菌聚合物具有较好的生物相容性和杀菌的广谱型越来越受到重视。

在目前的众多的抗菌聚合物中,季铵盐类抗菌聚合物是研究最为广泛的<sup>[3-4]</sup>。季铵盐类抗菌聚合物杀菌分为以下几个步骤:①带正电荷的季铵盐抗菌剂,通过静电作用吸附到带负电荷的微生物表面;②在亲脂性长烷基取代链的作用下,穿透细胞壁;③通过静电引力与磷脂双分子层及其他负电物质相结合;④破化细胞膜;⑤引起细胞内如DNA, RNA,  $K^+$ 等物质释放;⑥微生物死亡<sup>[5-6]</sup>。由于季铵盐类抗菌聚合物具有较好的水溶性、杀菌效果好,近年来成为研究热点<sup>[7]</sup>。本论文采用辅助活化还原原子转移自由基聚合(SARA ATRP)的方法,以二硫代溴代异丁酰溴为双官能团引发剂制备(3-丙烯酰胺丙基)三甲基氯化铵(AMPTMA)聚合物和AMPTMA-聚乙二醇(PEG)共聚物,选择此类引发剂主要是由于双硫键可以被还原成巯基官能团,在后续工作中可以将末端带有巯基官能团的聚合物接枝到基材表面。SARA ATRP方法具有催化剂用量少,反应条件温和,能在水相中反应,少量氧气对反应不影响等特点<sup>[8-9]</sup>。

通过核磁共振( $^1H$  NMR),红外光谱(FT-IR),凝胶渗透色谱(GPC)分别对其进行结构表征;并初步探讨了不同浓度同种聚合物抗菌剂以及同种浓度不同抗菌剂对于大肠杆菌以及金黄色葡萄球菌的抗菌性能。

## 1 原料及实验

### 1.1 原料

N, N, N', N'', N'''-五甲基二乙烯基三胺(PMDETA, 99%), 溴化铜( $CuBr_2$ , 99%), (3-丙烯酰胺丙基)三甲基氯化铵(AMPTMA, 75%), 二水合乙二胺四乙酸二钠(99%), 2-溴异丁酰溴(BiBB, 99%), 4-二甲氨基吡啶(4-DMAP, 99%)和三乙胺(TEA, 99%)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;聚乙二醇酯(PEGMA, 分子质量 300, 99%)和聚乙二醇(PEG, 分子质量 4000, 99%)购自 Sigma-Aldrich; MH 培养基购自美国索莱宝公司, 胰蛋白胍购自赛默飞世尔科技, 酵母粉购自 OXOID, 琼脂粉购自上海润捷化学试剂有限公司, DEME 高糖购自赛默飞世尔科技, 胰蛋白酶购自赛默飞世尔科技。乙醇( $C_2H_5OH$ ), 氯化钠( $NaCl$ ), 氯化钾( $KCl$ ), 氢氧化钠( $NaOH$ ), 碳酸氢钠( $NaHCO_3$ )磷酸氢二钠( $Na_2HPO_4$ ), 磷酸二氢钾( $KH_2PO_4$ ), 二氯甲烷( $CH_2Cl_2$ ), 四氢呋喃(THF), N, N-二甲基甲酰胺(DMF), 无水甲醇( $CH_3OH$ ), 分析纯, 均购自国药集团化学试剂有限公司并直接使用。金属铜( $Cu(0)$ ),

$d=1\text{ mm}$ , Alfa Aesar)用盐酸洗涤,随后用甲醇冲洗。

## 1.2 仪器设备

冷冻干燥机(2.5L, Freezone 公司), pH 计(PB-10, Sartorius 公司), 倒置式显微镜(Primo Vert 德国-卡尔蔡司), 超净工作台(VS-1300L-U, AIRTECH 公司), 核磁共振波谱仪(AVANCE II 500M, 德国布鲁克), 傅里叶红外光谱仪(Nicolet A vatar 370, Thermo Fisher)凝胶渗透色谱机器(Waters e2695, Waters Corporation), 凝胶渗透色谱柱(Waters ultra hydrogel 250 500 1000, Waters Corporation)

## 1.3 引发剂的合成

### 1.3.1 双官能度引发剂(EDBr)的合成

将 175 mL 四氢呋喃(THF)加入到烧瓶中,并加入二羟基乙基二硫化物(BHEDS)7.96 mL (0.065 mol)、三乙胺(TEA)18.01 mL 和 1.6 g 4-二甲氨基吡啶(4-DMAP)。在冰水浴条件下,16.07 mL (0.13 mol) 2-溴异丁酰溴(BiBB)稀释在 25 mL THF 中,通过恒压滴液漏斗缓慢滴入上述溶液中,随着反应进行不断有白色晶体析出,后在室温下继续反应 18 h。反应结束后取下烧瓶进行过滤,对滤液旋转蒸发除去溶剂,并将形成悬浮液在冰箱保存数小时,然后在室温下保存 3 d。形成的杂质结晶通过过滤除去后,在真空烘箱中抽真空除去还存在的少量的 THF,得到黄色油状物双官能度引发剂 EDBr ( $^1\text{H NMR}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ :  $-\text{CH}_3$  1.95,  $-\text{O}-\text{CH}_2-$  1.09,  $-\text{CH}_2-\text{S}$  4.45)。

### 1.3.2 大分子引发剂 PEG4kBr 的合成

将 175 mL 四氢呋喃(THF)加入到烧瓶中,并加入聚乙二醇(PEG4000)5.0 g (1.25 mmol)、三乙胺(TEA)0.17 mL 和 1.6 g 4-二甲氨基吡啶(4-DMAP)。在冰水浴环境下,取 0.31 mL (2.5 mmol) 2-溴异丁酰溴(BiBB),稀释在 25 mL THF 中,并通过恒压滴液漏斗缓慢滴入上述溶液中,随着反应进行不断有白色晶体析出,后在室温下继续反应 18 h。反应结束后取下烧瓶进行过滤,对滤液进行旋蒸除去溶剂,剩余聚合物溶液在过量的乙醚中沉淀,过滤,常温真空干燥,最终得到白色粉末( $^1\text{H NMR}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ :  $-\text{CH}_3$  1.94,  $-\text{O}-\text{CH}_2-$  3.65)。

## 1.4 抗菌聚合物的制备

### 1.4.1 聚(3-丙稀酰胺丙基)三甲基氯化铵的合成

引发剂 EDBr 0.036 g (0.08 mmol)加入到 Schlenk 管,并加入(3-丙稀酰胺丙基)三甲基氯化铵(AMPTMA) 3.97 mL (0.016 mol)溶于 6 mL  $V(\text{甲醇})/V(\text{水})=1/1$  的混合溶剂中,  $\text{CuBr}_2$  0.0054 g (0.024 mmol),  $\text{N, N, N', N'', N'''}\text{-五甲基二乙烯基三胺(PMDETA)}$  5  $\mu\text{L}$  (0.024 mmol)。先通  $\text{N}_2$  5 min,加入  $\text{CH}_3\text{OH}$  浸泡过的 Cu 丝后,继续通  $\text{N}_2$  5 min。用封口膜封好管口后在 50  $^\circ\text{C}$ , 940 r/min 转速搅拌下反应 24 h,反应液的颜色有蓝色逐渐变成澄清透明。反应完毕后,将 Schlenk 管中的溶液转移至透析袋(分子质量)中进行透析数天,期间开始每隔 1 h 换水(并加入 3 g 二水合乙二胺四乙酸二钠),后间隔时间可延长。透析结束后,将透析袋中液体转移至 50 mL 塑料离心管。然后先放入  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱进行冷冻,后放入冷冻干燥机进行冻干 3 d。结束后得到絮状物聚(3-丙稀酰胺丙基)三甲基氯化铵。主要反应方程式如图 1。

### 1.4.2 聚(3-丙稀酰胺丙基)三甲基氯化铵-聚乙二醇共聚物(poly(AMPTMA)-co-PEG)的制备

引发剂 EDBr 0.036 g (0.08 mmol)加入到 Schlenk 管,并加入(3-丙稀酰胺丙基)三甲基氯化铵(AMPTMA),和聚乙二醇酯(PEGMA)按一定物质的量比溶于 6 mL  $V(\text{甲醇})/V(\text{水})=1/1$  的混合溶剂中,  $\text{CuBr}_2$  0.0054 g (0.024 mmol),  $\text{N, N, N', N'', N'''}\text{-五甲基二乙烯基三胺(PMDETA)}$  5  $\mu\text{L}$

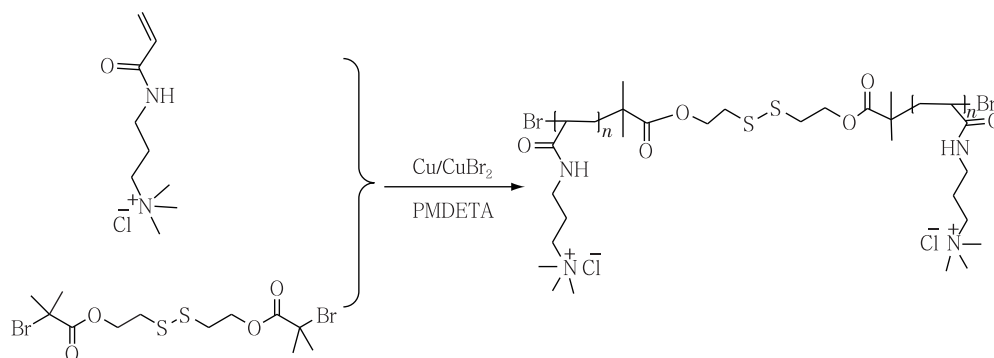


图 1 Poly(AMPTMA)的合成

(0.024 mmol)。先通  $N_2$  5 min, 加入  $CH_3OH$  浸泡过的铜丝, 继续通  $N_2$  5 min。用封口膜封好管口后在  $50\text{ }^\circ\text{C}$ , 940 r/min 转速搅拌下反应 24 h, 反应液的颜色有蓝色逐渐变成澄清透明。反应完毕后, 将 Schlenk 管中的溶液转移至透析袋中进行透析数天, 期间开始每隔 1 h 换水(并加入 3 g 二水合乙二胺四乙酸二钠), 后间隔时间可延长。透析结束后, 将透析袋中液体转移至 50 mL 塑料离心管。然后先放入  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱进行冷冻, 后放入冷冻干燥机进行冻干 3 d。结束后得到絮状物 Poly(AMPTMA)-co-PEGMA。反应方程式如图 2。

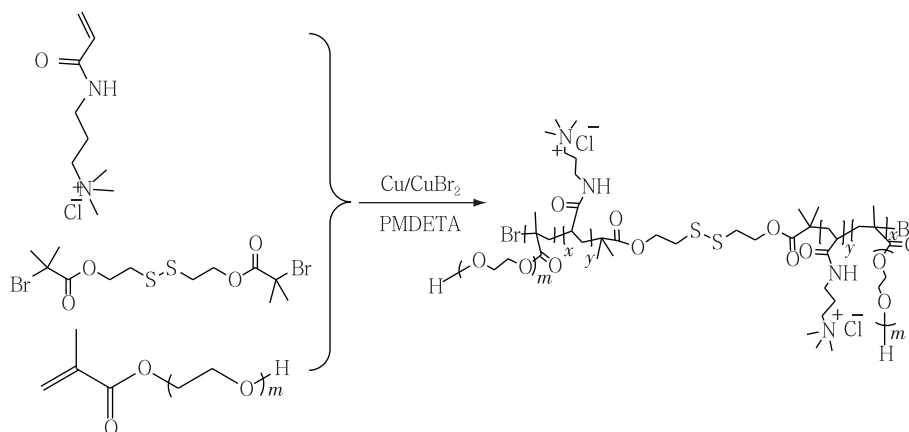


图 2 Poly(AMPTMA)-co-PEGMA 的合成

#### 1.4.3 制备聚(3-丙烯酰胺丙基)三甲基氯化铵-聚乙二醇三嵌段共聚物 Poly(AMPTMA)-b-PEG4000

大分子引发剂 PEG4kBr 0.16 g (0.04 mmol) 加入到 Schlenk 管, 并加入(3-丙烯酰胺丙基)三甲基氯化铵(AMPTMA) 3.97 mL (0.016 mol) 溶于 6 mL  $V(\text{甲醇})/V(\text{水}) = 1/1$  的混合溶剂中,  $CuBr_2$  0.0054 g (0.024 mmol), PMDETA 5  $\mu\text{L}$  (0.024 mmol)。先通  $N_2$  5 min, 加入  $CH_3OH$  浸泡过的 Cu 丝后, 继续通  $N_2$  5 min。用封口膜封好管口后在  $50\text{ }^\circ\text{C}$ , 940 r/min 转速搅拌下反应 24 h, 反应液的颜色有蓝色逐渐变成澄清透明。反应完毕后, 将 Schlenk 管中的溶液转移至透析袋中进行透析数天, 期间开始每隔 1 h 换水(并加入 3 g 二水合乙二胺四乙酸二钠), 后间隔时间可延长。透析结束后, 将透析袋中液体转移至 50 mL 塑料离心管。然后先放入  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱进行冷冻, 后放入冷冻干燥机进行冻干 3 d。结束后得到絮状物 Poly(AMPTMA)-b-PEG4000。主要反应方程式如图 3。

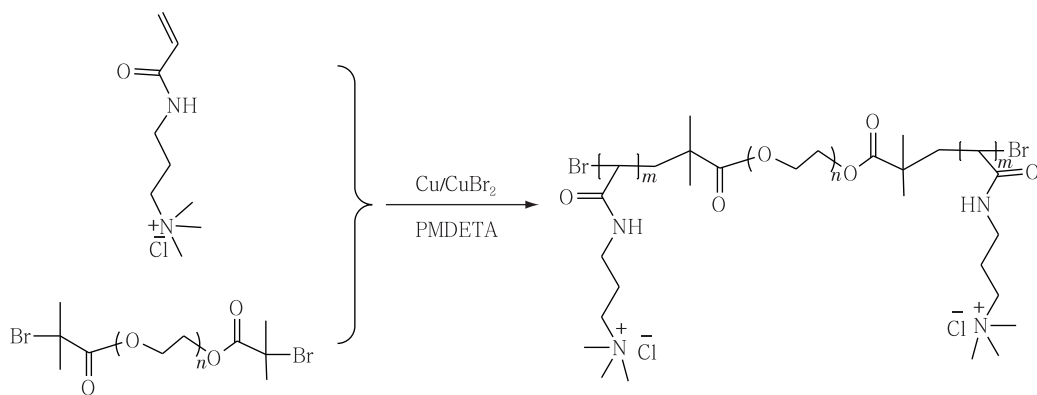


图 3 Poly(AMPTMA)-b-PEG4000 的合成

### 1.5 抗菌性能测试

预先于 96 孔板的每孔中加入无菌 MH 液体培养基 100  $\mu\text{L}$ , 在第 1 行分别加入 800  $\mu\text{g/mL}$  的单体溶液, 采用 2 倍稀释法依次稀释到第 2 行、第 3 行、第 4 行。然后每孔加入 100  $\mu\text{L}$  大肠杆菌悬液, 混匀后(各行抗菌剂质量浓度分别为 200, 100, 50, 25  $\mu\text{g/mL}$ ), 放入 37 $^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱培养 16~18 h, 然后用紫外分光光度计测量 96 孔板上各孔的光学密度(OD)值  $d_{\text{OD}}$ 。

预先于 96 孔板的每孔中加入无菌 LB 液体培养基 100  $\mu\text{L}$ , 在第 1 行分别加入 800  $\mu\text{g/mL}$  的单体溶液, 采用 2 倍稀释法依次稀释到第 2 行、第 3 行、第 4 行。然后每孔加入 100  $\mu\text{L}$  金黄色葡萄球菌悬液, 混匀后(各行抗菌剂质量浓度分别为 200, 100, 50, 25  $\mu\text{g/mL}$ ), 放入 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱培养 16~18 h, 然后用紫外分光光度计测量 96 孔板上各孔的 OD 值。杀菌率公式为

$$\text{杀菌率}(\%) = \frac{d_{\text{OD}} - d'_{\text{OD}}}{d_{\text{OD}}} \quad (1)$$

式中:  $d_{\text{OD}}$  为对照样光学密度;  $d'_{\text{OD}}$  为含不同浓度抗菌剂。

### 1.6 聚合物的细胞毒性测试

取 3~5 代的成骨细胞, 用胰酶将细胞从培养瓶壁上消化下来, 再加入培养液制成细胞悬液。吸取 20  $\mu\text{L}$  细胞悬液加到细胞计数器上, 在倒置显微镜下计数, 计算出细胞密度为  $5 \times 10^5$  个/mL。加入适量新鲜的 DMEM 高糖培养液, 调整细胞悬液浓度为  $3.5 \times 10^4$  个/mL。将细胞接种到 96 孔细胞培养板中, 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  细胞悬液以及 100  $\mu\text{L}$  的单体培养液(孔板 1: 每孔抗菌剂质量浓度为 1 mg/mL; 孔板 2: 每孔抗菌剂质量浓度为 0.5 mg/mL)。在细胞培养箱(37  $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ )中培养 24 h 使细胞贴壁, 然后再加入 20  $\mu\text{L}$  的 MTT 溶液, 培养 4 h 后出现晶体。将孔板中的液体除尽后每孔加入 150  $\mu\text{L}$  的 DMSO, 在恒温振荡器上振荡 10 min 后, 使用紫外分光光度计测量每孔的 OD 值。细胞存活率公式为

$$\text{细胞存活率}(\%) = \frac{d_{\text{OD}} - d'_{\text{OD}}}{d_{\text{OD}}} \quad (2)$$

式中:  $d_{\text{OD}}$  为对照样光学密度;  $d'_{\text{OD}}$  为含不同浓度抗菌剂。

2 结果与讨论

2.1 聚合物的结构表征

通过核磁谱图可以看出 Poly(AMPTMA)的核磁氢谱图中(图 4 所示)  $\delta=0.9\sim1.1$  为位于 a 处的  $-\text{CH}_3$ ,  $\delta=1.9\sim2.0$  为位于 c 处的  $-\text{CH}_2-$ ,  $\delta=2.7\sim3.5$  为位于 b, d 处的  $-\text{CH}_2-$ ,  $\delta=3.6\sim3.8$  为位于 e 处的  $-\text{CH}_3$ 。通过调节 AMPTMA 与 PEGMA 单体的投料比分别为 3 : 1, 7 : 1 和 15 : 1, 制备 3 种 Poly(AMPTMA)-co-PEGMA 共聚物(如表 1 所示)。在图 5 中, Poly(AMPTMA)-co-PEGMA 的核磁氢谱图中通过聚合物链 e 处化学位移  $\delta=3.72$ , AMPTMA 的  $-\text{CH}_3$  官能团与 f, g 化学位移为  $\delta=3.7\sim3.8$  处 PEGMA 的  $-\text{CH}_2-$  官能团的积分比得出 Poly(AMPTMA)与 PEGDMA 的比例分别是 8 : 3, 17 : 2 和 15 : 1, 与投料比基本相符。在图 6 中, Poly(AMPTMA)-b-PEG4000 的核磁谱图也证明了 Poly(AMPTMA)-b-PEG4000 三嵌段聚合物制备成功。

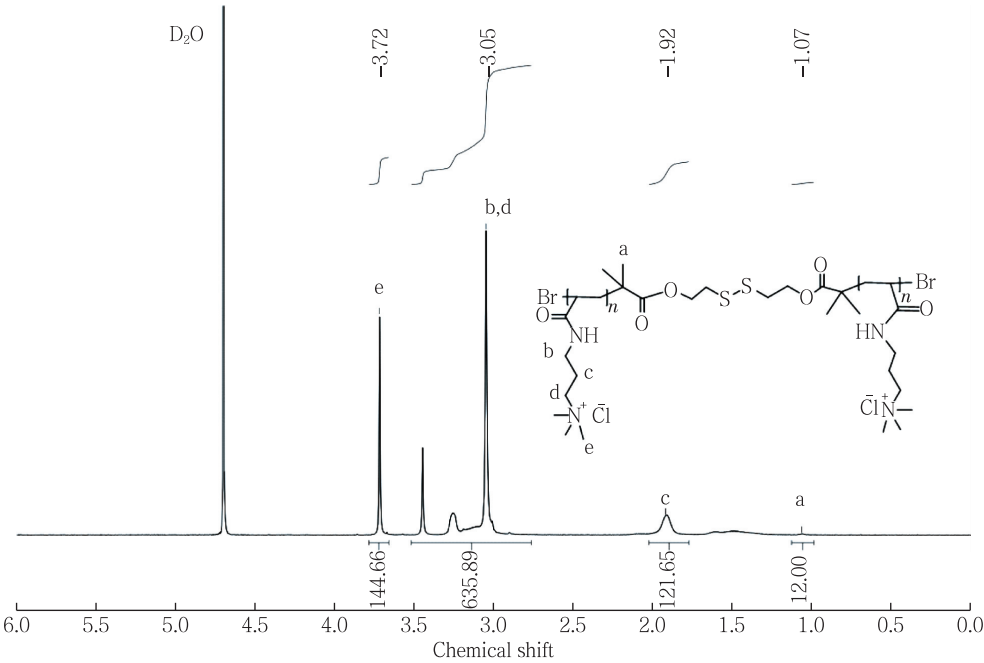


图 4 Poly(AMPTMA)的<sup>1</sup>H NMR 谱图

表 1 抗菌聚合物的表征

抗菌聚合物	$n(\text{AMPTMA})/n(\text{PEGDMA})$		$M_n$	$M_w$	PDI
	投料比	实验计算 <sup>1)</sup>			
Poly(AMPTMA)	—	—	27 000	80 000	3.0
Poly(AMPTMA) <sub>3</sub> -co-PEGMA <sub>1</sub>	3/1	8/3	27 000	122 000	4.4
Poly(AMPTMA) <sub>7</sub> -co-PEGMA <sub>1</sub>	7/1	17/2	23 000	55 000	2.4
Poly(AMPTMA) <sub>15</sub> -co-PEGMA <sub>1</sub>	15/1	15/1	19 000	65 000	3.4
Poly(AMPTMA)-b-PEG4000	—	—	15 000	20 600	1.4

1)通过核磁积分所得。

图 7 聚合物的红外光谱图中,其中  $3\,426\text{ cm}^{-1}$  左右是 N—H 伸缩振动的特征吸收峰,  $2\,934\text{ cm}^{-1}$  左右是  $-\text{CH}_3$  伸缩振动的特征吸收峰,  $1\,638\text{ cm}^{-1}$  处吸收峰是酰胺中  $\text{O}=\text{C}-\text{N}$  伸缩振动的特征吸收峰



都能证明 AMPTMA 结构单元,从图中 B,C,D 光谱图中,看到在  $1\,727\text{ cm}^{-1}$  左右有明显的特征峰,该处是酯基  $\text{C}=\text{O}$  伸缩振动的特征吸收峰均证明了  $\text{Poly}(\text{AMPTMA})_3\text{-co-PEGMA}_1$ ,  $\text{Poly}(\text{AMPTMA})_7\text{-co-PEGMA}_1$ ,  $\text{Poly}(\text{AMPTMA})_{15}\text{-co-PEGMA}_1$  三者接枝了 PEGMA。

由表 1 的测定结果,可以知道制备的季铵盐类抗菌聚合物的分子质量排序由大到小为:  $\text{Poly}(\text{AMPTMA})_3\text{-co-PEGMA}_1$ ,  $\text{Poly}(\text{AMPTMA})$ ,  $\text{Poly}(\text{AMPTMA})_7\text{-co-PEGMA}_1$ ,  $\text{Poly}(\text{AMPTMA})_{15}\text{-co-PEGMA}_1$ ,  $\text{Poly}(\text{AMPTMA})\text{-b-PEG4000}$ 。通过 GPC 还可以看出虽然 SARA ATRP 是活性自由基聚合,但是分子质量分布比较宽,一方面由于水相反应溶剂极性比较大,另一方面引发剂中含有二硫键导致出现链转移现象。

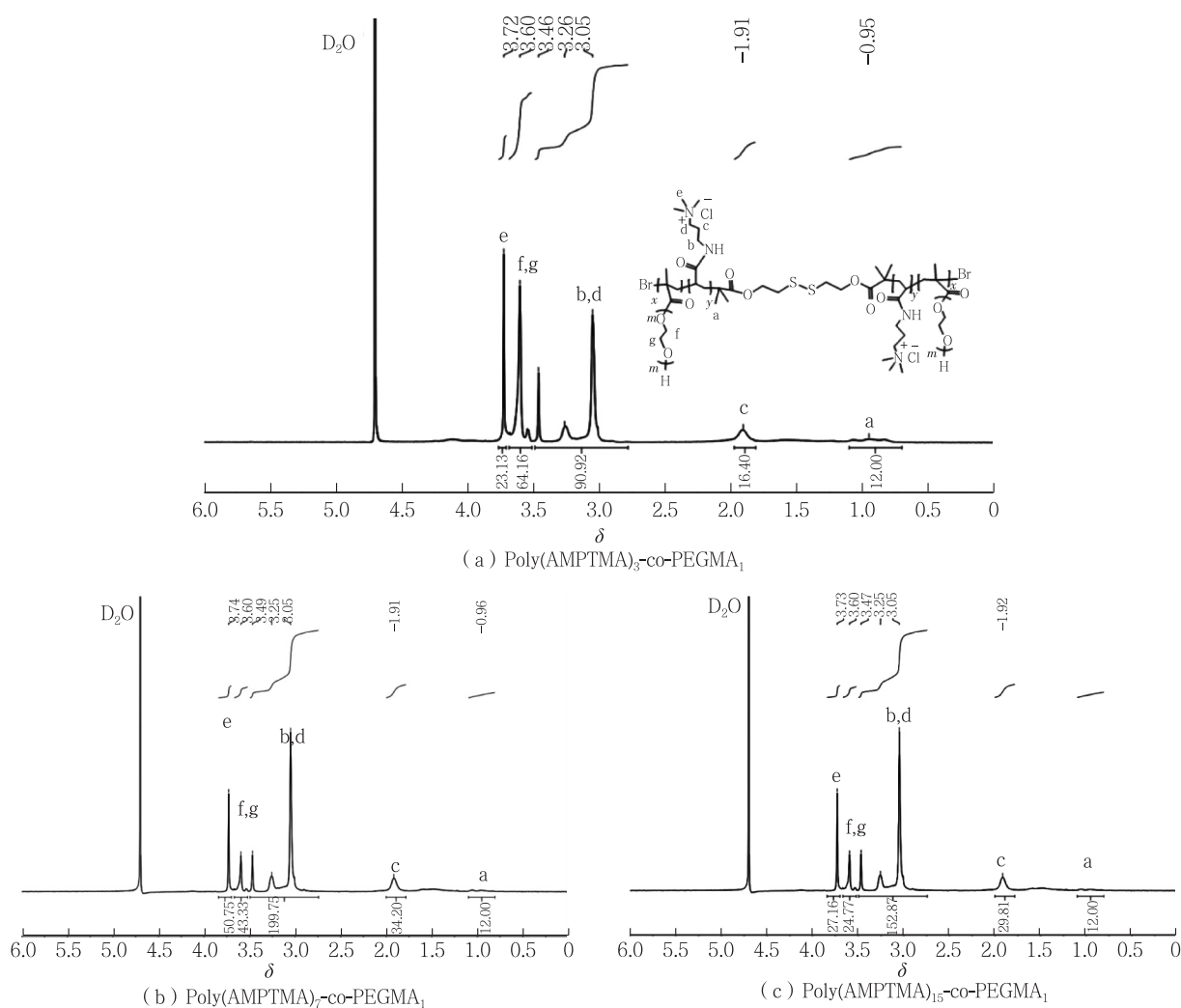


图 5  $\text{Poly}(\text{AMPTMA})\text{-co-PEGMA}$  的  $^1\text{H}$  NMR 谱图

## 2.2 抗菌聚合物抗菌性能

为了研究合成的不同分子质量季铵盐类抗菌聚合物以及不同浓度的相同分子质量抗菌聚合物的抗菌性能,采用分别采用大肠杆菌和金黄色葡萄菌进行测试。

图 8 (a) 中随着抗菌聚合物浓度的升高,其对大肠杆菌的杀菌率逐渐升高。抗菌聚合物的分子质量越大,对大肠杆菌的杀菌率提高。这个结果可能是分子质量大的聚合物,其电荷密度高的原因,依据

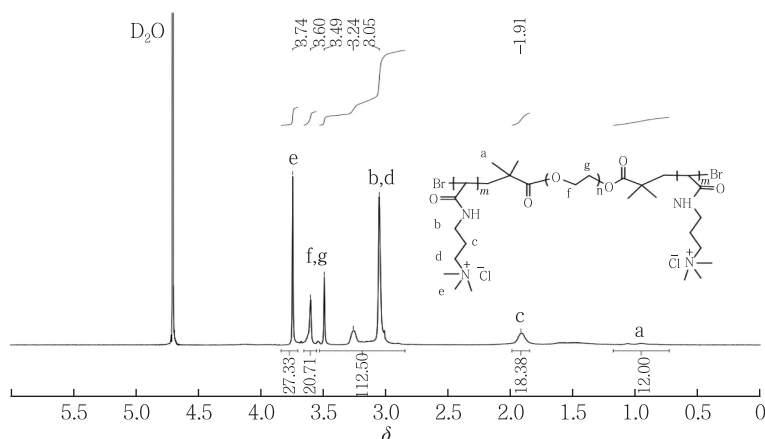


图 6 Poly(AMPTMA)-b-PEG4000 的<sup>1</sup>H NMR 谱图

PQACs 的抗菌机理,从而使得 6 个基本步骤中的第 1 步和第 3 步更容易进行<sup>[10]</sup>。嵌段共聚物 Poly(AMPTMA)-b-PEG4000 中由于 PEG 分子质量较大,因此杀菌效果较低。从图 8 (b)中随着抗菌聚合物浓度的升高,其对金黄色葡萄球菌的杀菌率也逐渐升高。其中 Poly(AMPTMA) 随着质量浓度的升高,杀菌效果显著提高,200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,杀菌效率接近 80%。

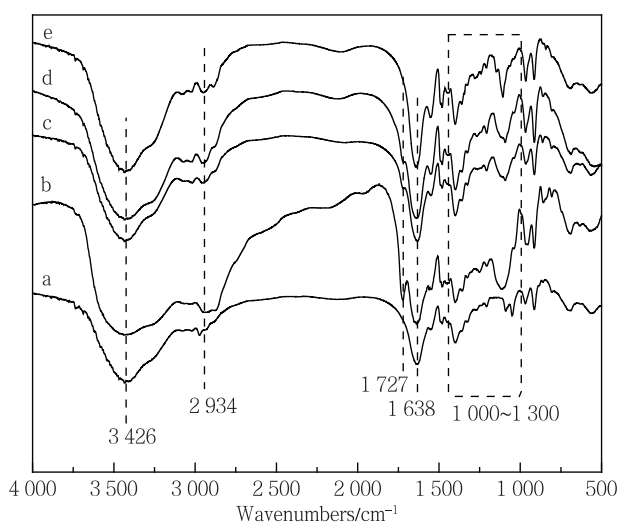
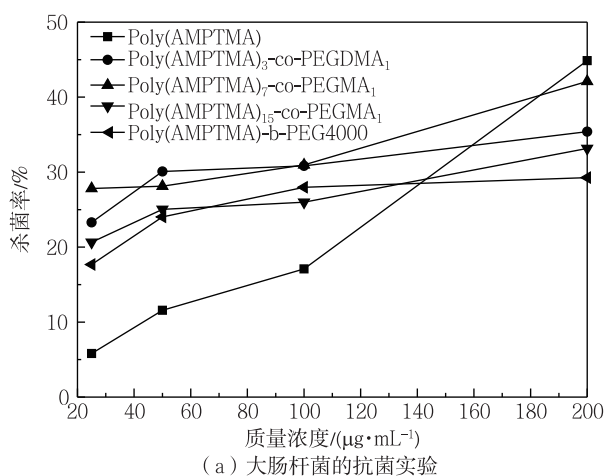


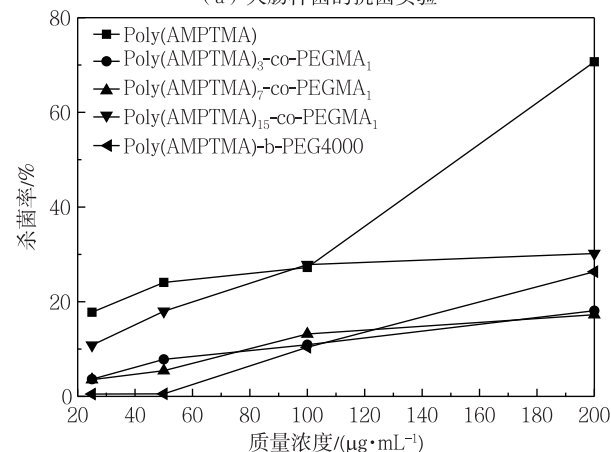
图 7 聚合物红外光谱图

### 2.3 抗菌聚合物的细胞毒性

图 9 是不同抗菌聚合物在不同浓度条件下的生物毒性,可以看到当抗菌剂的质量浓度控制在 1  $\text{mg}/\text{mL}$  时, Poly(AMPTMA), Poly(AMPTMA)<sub>3</sub>-co-PEGMA<sub>1</sub>, Poly(AMPTMA)<sub>7</sub>-co-PEGMA<sub>1</sub>, Poly(AMPTMA)<sub>15</sub>-co-PEGMA<sub>1</sub> 的细胞存活率相差并不是很大,成骨细胞存活率在 60% 左右, Poly(AMPTMA)<sub>7</sub>-co-PEGMA<sub>1</sub> 相较于它们略大;用大分子引发剂 PEG4kBr 合成的 Poly(AMPTMA)-b-PEG4000 在几个抗菌中的细胞毒



(a) 大肠杆菌的抗菌实验



(b) 金黄色葡萄球菌的抗菌测试

图 8 聚合物抗菌测试



性最小,其细胞存活率接近 100%,这是由于 PEG 分子质量大而且具有较好的生物相容性。当抗菌聚合物质量浓度控制在 0.5 mg/mL 时, Poly (AMPTMA), Poly (AMPTMA)<sub>3</sub>-co-PEGMA<sub>1</sub>, Poly (AMPTMA)<sub>15</sub>-co-PEGMA<sub>1</sub> 的细胞存活率相差不是很大,而 Poly (AMPTMA)<sub>7</sub>-co-PEGMA<sub>1</sub> 的细胞存活率得到很大提高,与 Poly (AMPTMA)-b-PEG4000 的差距并不是很大。

### 3 结 论

以 AMPTMA, PEGMA, PEG 等为原料,通过 SARA ATRP 方法,合成 5 种不同分子质量的季铵盐类抗菌聚合物。通过 <sup>1</sup>H NMR, FT-IR 以及 GPC 表征所制备的聚合物结构。并以大肠杆菌、金黄色葡萄球菌为对象进行抗菌测试,结果表明:聚合物的分子质量越大,其抗菌性能越好。通过细胞毒性实验得出,抗菌聚合物中 PEG 分子质量越大,其毒性越低。综合考虑几个抗菌聚合物的抗菌能力和细胞毒性,发现 Poly (AMPTMA)<sub>7</sub>-co-PEGMA<sub>1</sub> 在具有很强的抗菌性能的同时,其细胞毒性很小。

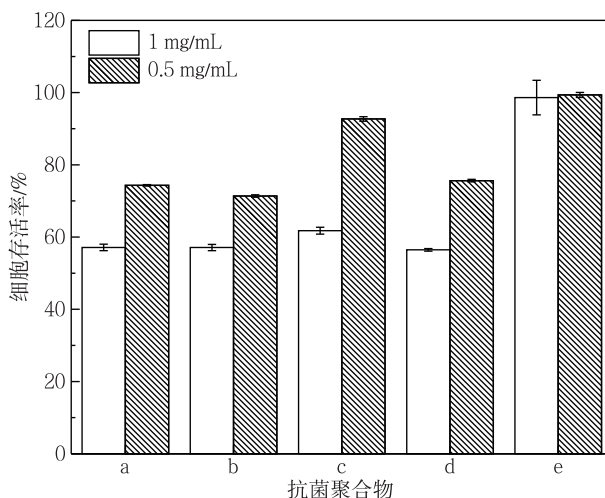


图9 不同质量浓度下抗菌聚合物的细胞存活率

### 参考文献:

- [1]段然,吉虎,孙跃文,等.抗菌聚合物的研究进展[J].工程塑料应用,2016,44(6):128-131.
- [2]周建华,查向华.纳米银/聚合物复合材料的原位法制备技术综述[J].材料导报,2017,10(31):43-50.
- [3]DIZMAN B, ELASRI M O, MATHIAS L J. Novel antibacterial polymers[J].ACS Symposium Series,2009,1002(2): 27-51.
- [4]DENYER S P. Mechanisms of action of antibacterial biocides[J]. International Biodeterioration & Biodegradation. 1995, 36: 227-245.
- [5]左华江,温婉华,吴丁财,等.季铵盐类抗菌聚合物的研究现状[J].化工进展,2013,32(10):2416-2422.
- [6]IKEDA T, HIRAYAMA H, YAMAGUCHI H, et al. Polycationic biocides with pendant active groups: molecular weight dependence of antibacterial activity[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy,1986,30(1):132-136.
- [7]CHEN C Z, BECKETTAN N C, DHURJATI P, et al. Quaternary ammonium functionalized poly(propylene imine) dendrimers as effective antimicrobials: structure-activity studies[J].Biomacromolecules,2000,1(3):473-480.
- [8]JAKUBOWSKI W, MATYJASZEWSKI K. Activators regenerated by electron transfer for atom-transfer radical polymerization of (meth)acrylates and related block copolymers [J].Angewandte Chemie International Edition, 2006, 45 : 4482-4486.
- [9]MAGENAU A J D, STRANDWITZ N C, GENNARO A, et al. Electrochemically mediated atom transfer radical polymerization[J].Science.2011,332,81-84.
- [10]PASUIER N,KEUL H,HEINE E,et al. Amphiphilic branched polymers as antimicrobial agents [J].Macromolecular Bioscience,2008,8(10):903-915.

(责任编辑:殷丽莉)