

pH 敏感的聚(L-谷氨酸)-交联聚丙烯酸水凝胶的合成与性能研究*

高晓晔^{1,2} 贺超良¹ 庄秀丽¹ 赵长稳^{1,2} 肖春生^{1,2} 陈学思^{1**}

(¹中国科学院长春应用化学研究所生态环境高分子材料重点实验室 长春 130022)

(²中国科学院研究生院 北京 100049)

摘 要 通过在聚 L-谷氨酸侧链部分接枝甲基丙烯酸 2-羟乙酯得到含有双键的聚(L-谷氨酸), 将其与丙烯酸共聚得到由聚(L-谷氨酸)侧链接枝并交联聚丙烯酸的 pH 敏感水凝胶. 研究水凝胶在不同 pH 的缓冲溶液中的溶胀性、溶胀动力学, 并通过 SEM 观察水凝胶的微观结构. 结果表明, 水凝胶在低 pH 环境下的溶胀率明显低于高 pH 环境中的溶胀率, 不同组分的样品在 pH = 6.6 的介质中的溶胀率可达 pH = 3.0 的介质中的溶胀率的 5 倍以上, 显示出敏锐的 pH 敏感响应能力. 水凝胶的组分对溶胀速率变化趋势及达到溶胀平衡所需的时间影响不大, 各组分水凝胶样品都会首先经历 1 个 20 min 的快速的过程, 然后溶胀速率逐渐减小, 在 120 min 左右达到溶胀平衡. 水凝胶的组成对其平衡溶胀率具有显著影响, 当聚(L-谷氨酸)与聚丙烯酸质量相同时, 水凝胶的溶胀率最低, 在 pH = 8.3 的中性介质中为 38.8.

关键词 智能水凝胶, 聚(L-谷氨酸), 聚丙烯酸, pH 响应性, 溶胀动力学

水凝胶是亲水的聚合物三维网络, 由于聚合物链间的物理交联或化学交联作用而能保持一定的形状和水含量. 水凝胶具有良好的生物相容性、水渗透性、机械性、表面特性等性能, 而且通过人工合成可得到不同微观结构和性能的水凝胶材料, 这些性质使水凝胶在生物医学领域具有广泛的应用前景^[1~5]. 由于水凝胶中大分子主链或侧链上含有可电离、极性或疏水性基团, 对外界环境如溶剂组分、温度、pH 值、电场、光、磁场等的变化能产生可逆的、不连续(或连续)的体积或相变化, 因此通过控制高分子凝胶网络的微观结构与形态, 可以使其对外界刺激作出响应, 表现出智能的特性^[6~11]. 含有羧基或氨基等官能团的水凝胶因其在不同 pH 环境中能够发生可逆的离子化-去离子化过程, 进而影响水凝胶的亲水性和溶胀性, 从而实现对环境 pH 的响应能力, 在药物控制释放、生物传感器、组织工程等方面具有重要的应用价值^[12~15]. 目前, 研究较多的含有羧基的 pH 敏感水凝胶包括聚丙烯酸(PAA)水凝胶和聚(L-谷氨酸)(PGA)水凝胶^[16,17]. PGA 是天然氨基酸谷氨酸的均聚物, 研究表明其具有良好的生物相容

性和生物降解性能^[18,19]. PGA 的羧基与聚丙烯酸的羧基的 pK_a 相近, 具有相似的 pH 响应范围. 相比于不能生物降解的 PAA 水凝胶, 由 PGA 与 PAA 组成的复合水凝胶可以在不影响 pH 响应能力的条件下, 通过引入 PGA 改善水凝胶的生物相容性, 并可调节水凝胶的生物降解性能.

本文使用甲基丙烯酸 2-羟乙酯(HEMA)对 PGA 的侧链羧基进行修饰, 得到部分 HEMA 修饰的聚(L-谷氨酸)(PGH), 将其与丙烯酸(AA)共聚, 制备了化学交联的聚(L-谷氨酸)-聚丙烯酸(PGA-PAA)水凝胶, 研究了其 pH 响应性、溶胀动力学, 以及水凝胶组成对溶胀行为的影响, 并观察了水凝胶的微观形貌.

1 实验部分

1.1 实验材料与纯化

PGA 由本实验室制备^[19]; HEMA 与丙烯酸(AA)购自北京化工厂, 减压蒸馏以去除阻聚剂; 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl), 4-二甲氨基吡啶(DMAP), 四甲基乙二胺(TEMED)购自上海吉尔生化公司; 其他溶剂

* 庆祝卓仁禧院士 80 华诞专稿; 2011-04-18 收稿, 2011-05-12 修稿; 国家自然科学基金(基金号 50973108, 51003103, 50733003)、科技部国际合作与交流专项(项目号 2010DFB50890)和吉林省科技发展计划(项目号 201101082)资助项目; ** 通讯联系人, E-mail:

xschen@ciac.jl.cn

doi:10.3724/SP.J.1105.2011.10118

及材料购自北京化工厂;所有材料及试剂均为分析纯.

$^1\text{H-NMR}$ 采用 Bruker AM-300 核磁共振仪, SEM 采用 Micrion FEI PHILIPS 场发射扫描电子显微镜.

1.2 部分 HEMA 修饰的聚(L-谷氨酸)(PGH)的合成

在装有磁力搅拌子的安培瓶中,将 1.0 g PGA 和 0.15 mL HEMA 溶于 30 mL 二甲基亚砜(DMSO),然后加入 0.2 g EDC·HCl 和 20 mg DMAP,室温搅拌 48 h,反应产物在乙醚中沉淀,过滤,并用乙醚反复洗涤沉降物,40℃ 真空干燥 24 h 后得到白色固体.产率为 91.7%. PGA 和 PGH 分别以氘代三氟乙酸和重水为溶剂进行 $^1\text{H-NMR}$ 测试以确定结构. PGH 的合成路线如图 1(a)所示.

1.3 pH 敏感 PGH-PAA 水凝胶的合成

水凝胶的投料比如表 1 所示.总质量为 0.1 g

的 PGH 和 AA 溶于 5 mL 磷酸盐缓冲(PBS)溶液(0.1 mol/L, pH = 7.4)中,加入引发剂过硫酸铵(APS),通氩气鼓泡 30 min 之后快速加入一定量 TEMED 并摇匀,静置反应 24 h.所用 AA、APS 及 TEMED 的物质的量比为 AA: APS: TEMED = 20: 1: 1.5.将所得水凝胶样品浸入去离子水中 3 天,每 12 h 至少换水一次,以去除未反应的单体、APS 及 TEMED.然后冷冻干燥,得到干燥的水凝胶样品.水凝胶合成路线如图 1(b)所示.水凝胶的形貌通过 SEM 观察.

Table 1 Feeding ratio of hydrogel samples and initiator

Sample ID	PGH (g)	AA (g)	APS (mg)	TEMED (mg)
Gel 3/7	0.03	0.07	5.5	4.3
Gel 4/6	0.04	0.06	4.7	3.6
Gel 5/5	0.05	0.05	3.9	3.0
Gel 6/4	0.06	0.04	3.1	2.4
Gel 7/3	0.07	0.03	2.4	1.9

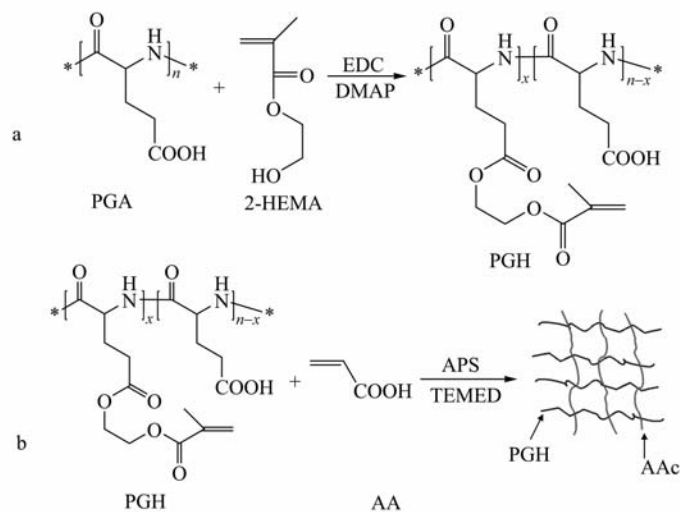


Fig. 1 Synthesis route of PGH and PGA-PAA hydrogels

1.4 水凝胶的 pH 敏感性测试

将一定质量的水凝胶样品浸入不同 pH 的缓冲溶液中 24 h,使之达到溶胀平衡,之后用滤纸吸干水凝胶表面的水分后称重.在溶胀过程中更换缓冲溶液一次以保持溶液的 pH 不变.水凝胶的溶胀率 SR 通过公式(1)计算得出:

$$\text{SR} = (W_s - W_0) / W_0 \quad (1)$$

其中 W_s 是溶胀水凝胶的重量,而 W_0 是水凝胶的干重.

1.5 水凝胶溶胀动力学测试

将一定质量的水凝胶样品浸入 pH = 7.4 的 PBS 中,温度恒定为 37℃.特定时间取出水凝胶样品,用滤纸迅速吸干水凝胶表面水分后称重.在溶胀过程中更换缓冲溶液一次以保持溶液的 pH 不变.特定时间(t)的水凝胶的溶胀率 SR_t 通过公式(2)计算得出:

$$\text{SR}_t = (W_{st} - W_0) / W_0 \quad (2)$$

其中 W_{st} 是 t 时刻溶胀水凝胶的重量,而 W_0 是水凝胶的干重.

2 结果与讨论

2.1 PGH 的合成

PGA 与 PGH 的¹H-NMR 谱图及各个峰的归属如图 2 所示. PGH 的¹H-NMR 谱图中,除了 PGA

的特征峰,还存在 HEMA 上质子的特征峰,表明成功得到了 HEMA 修饰的 PGA. 通过 PGH 核磁图中峰 1 和峰 5 的积分面积对比计算,PGH 中 HEMA 的修饰率约为 14%.

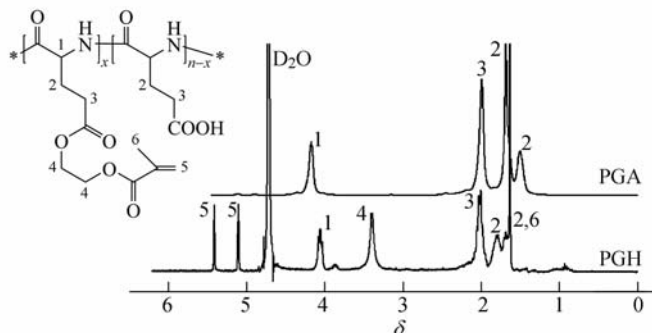


Fig. 2 ¹H-NMR spectra of PGA and PGH

2.2 水凝胶的 pH 敏感性

图 3 是 5 组水凝胶样品在不同 pH 的缓冲溶液中的平衡溶胀率. 与预期的一致,水凝胶溶胀率在 pH 小于 4 和 pH 大于 6.5 的缓冲溶液中没有发生明显变化,而在 pH 介于 4 ~ 6.5 之间的时候,各水凝胶样品的溶胀率均有明显变化,增幅可达 100% 以上. 例如,样品 Gel 5/5 在 pH 3.8 的缓冲溶液中溶胀率为 12.97,而在 pH = 6.6 的缓冲溶液中溶胀率可达到 39.61. 这是因为 PGA 和 PAA 的 pK_a 都在 4.5 左右,当 pH < 4 时,PGA 与 PAA 侧链的羧基均质子化,亲水性较低,水凝胶的溶胀率不会随着 pH 的升高而发生明显变化. 而随着 pH 从 4.0 的升高,PGA 和 PAA 的羧基逐渐离子化,使得水凝胶的亲水性增加,而且带负电荷的羧酸盐彼此之间会产生静电排斥作用,导致

凝胶网络张开,使凝胶的溶胀率明显提高. 然而,当 pH 升高到 6.0 以上时,PGA 与 PAA 侧链羧基的大部分都已电离,因而随着 pH 的继续升高,水凝胶的溶胀率不会发生显著变化.

图 4 是不同组分的水凝胶在 pH 8.3 的缓冲溶液中的平衡溶胀率. 从图中可以发现一个有趣的现象,当水凝胶中谷氨酸与丙烯酸质量为 1:1 的时候溶胀率最低,无论丙烯酸还是谷氨酸占主要成分的时候水凝胶的溶胀率都会增加. 当谷氨酸占总质量的 50% 时,平衡溶胀率为 38.8,而当谷氨酸占总质量的 40% 和 30% 时,平衡溶胀率分别达到 44.1 和 66.3. 另一方面,当谷氨酸占总质量的 60% 和 70% 时,平衡溶胀率可达 63.1 和 121.4. 由于水凝胶溶胀率随着水凝胶交联密度的升高而降低^[20,21],本实验中,当水凝胶中 PGA 的含量小于 50% 时,由于 PAA 的亲水性高于 PGA,而且随着水凝胶中起交联剂作用的 PGA 含量的

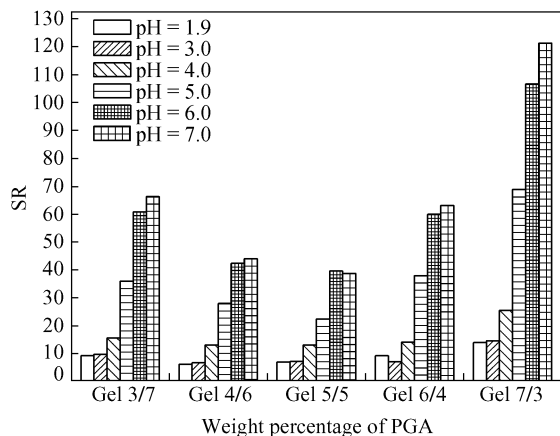


Fig. 3 Swelling ratio (SR) of hydrogel samples in buffers with different pH values

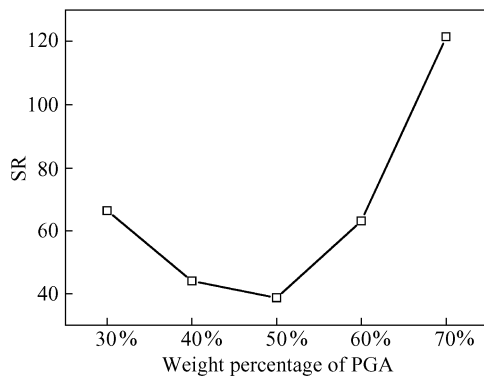


Fig. 4 SR of hydrogel samples in the buffer of pH 8.3

减少,水凝胶的交联度相应下降,两个因素都会导致水凝胶的溶胀率随着丙烯酸含量的增加而增加.另一方面,当 PGA 成为主要成分的时候,由于水凝胶合成时采用 HEMA 修饰的聚(L-谷氨酸)与丙烯酸单体进行共聚,我们认为 HEMA 修饰的聚(L-谷氨酸)含量过高时,由于其位阻效应以及丙烯酸共聚单体含量的减少,水凝胶中产生只有单端连接在 PGA 侧链的聚丙烯酸链段增多,而能起到交联作用的两端都与 PGA 相连的聚丙烯酸链段减少,从而导致水凝胶的交联效率降低,使得水凝胶的溶胀率升高.

水凝胶作为一种吸水材料,它的溶胀性能与

其孔隙率的大小密切相关,其形貌可以通过 SEM 观察.在制样过程中为了保证样品能够反映出其实际的孔径大小,采用了将充分溶胀的水凝胶样品液氮速冻的方法,这样得到的水凝胶样品中的水不会形成较大的结晶而破坏水凝胶的原始形貌.如图 5 所示,所有的水凝胶样品都呈现出多孔的结构,但是孔径大小则各不相同. Gel 5/5 和 Gel 4/6 两组样品的孔隙密度明显较低, Gel 6/4 样品的孔隙率比 Gel 5/5 与 Gel 4/6 有所增加,而 Gel 3/7 和 Gel 7/3 两组样品则具有较大的孔隙率. SEM 结果表明,不同组分的水凝胶形貌特征与各水凝胶的溶胀率变化趋势相吻合.

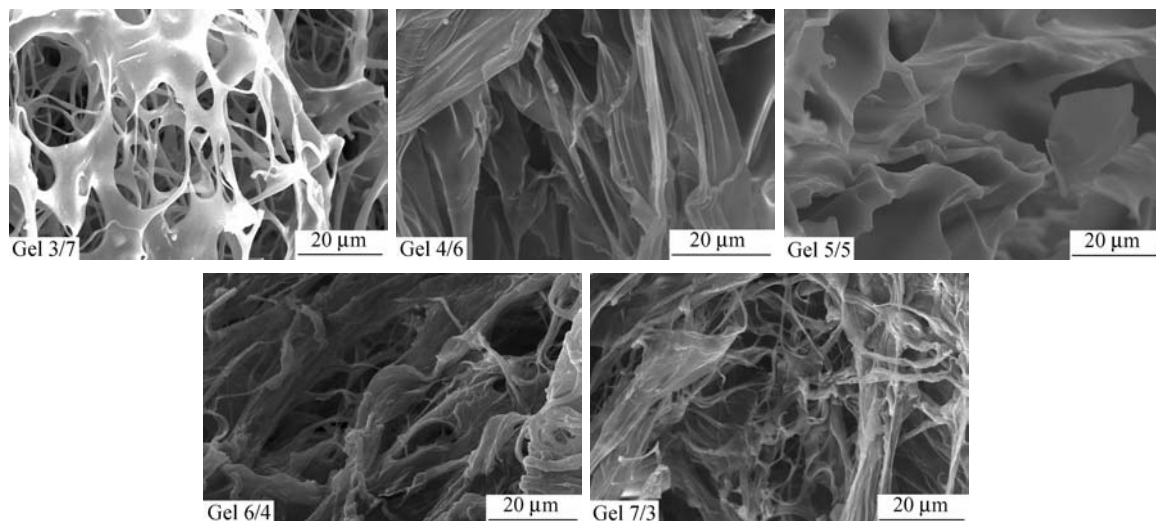


Fig. 5 SEM images of swelled hydrogel samples

2.3 水凝胶在中性溶液中的溶胀动力学

图 6 是 3 个具有代表性的水凝胶样品在 pH 7.4 的 PBS 中的溶胀动力学曲线.结果表明,各水凝胶样品在初期具有较高的溶胀速率,在 20 min 之内就能达到最大溶胀率的 50%.而样品在 60 min 以后的溶胀速率逐渐降低,在 120 min 左右基本达到溶胀平衡.水凝胶样品刚刚浸入溶液中时,凝胶与溶液接触的部分首先吸水溶胀,然后水凝胶的内部才能够接触到溶液,进而溶胀.水凝胶的溶胀是一个水分子从凝胶样品的外部向内部扩散的动态过程.溶胀动力学测试结果同时表明,不同水凝胶样品溶胀速率的变化趋势类似,说明上述不同组分的水凝胶具有相似的溶胀动力学过程.

3 结论

通过对聚(L-谷氨酸)(PGA)接枝甲基丙烯酸 2-羟乙酯合成双键修饰的 PGA,并与丙烯酸共

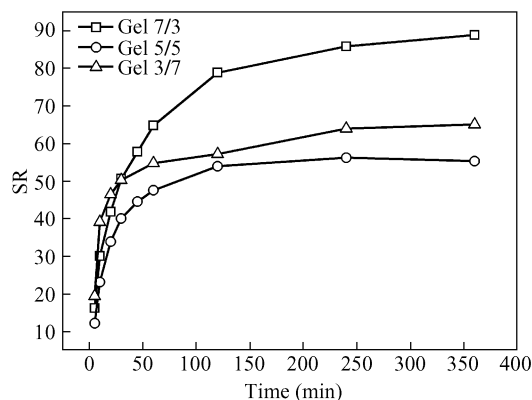


Fig. 6 Swelling kinetics of hydrogel samples in the buffer of pH 7.4

聚得到由 PGA 和聚丙烯酸(PAA)组成的 pH 敏感水凝胶.实验证明,水凝胶在不同 pH 环境中亲水性及溶胀能力有明显变化,在 pH 4.0 ~ 6.5 的范围内,平衡溶胀率随着 pH 的升高而显著增大.

其中质量比为 1:1 的水凝胶具有最低的溶胀率,随着 PGA 或 PAA 成分的增加,水凝胶的溶胀率都会提高.溶胀动力学显示,水凝胶有较快的响应速度.由于水凝胶中的聚(L-谷氨酸)组分可以改

善水凝胶的生物相容性,并能较好的调节水凝胶的生物降解性能,因此,该新型的 PGA - PAA 水凝胶在口服药物控制释放载体领域具有良好的应用前景.

REFERENCES

- 1 Deligkaris K, Tadele T S, Olthuis W, van den Berg A. *Sens Actuators B*, 2010, 147(2): 765 ~ 774
- 2 Xiao C S, Tian H Y, Zhuang X L, Chen X S, Jing X B. *Sci China Ser B: Chem*, 2009, 52(2): 117 ~ 130
- 3 Amin S, Rajabnezhad S, Kohli K. *Sci Res Essay*, 2009, 4(11): 1175 ~ 1183
- 4 Qian Yong(钱勇), Jiang Caiyun(蒋彩云), Gao Qian(高倩). *Chemical Industry Times(化工时代)*, 2011, 1: 1 ~ 6
- 5 Zhao C W, Gao X Y, He P, Xiao C S, Zhuang X L, Chen X S. *Colloid and Polymer Science*, 2011, 289(4): 447 ~ 451
- 6 Qiu Y, Park K. *Adv Drug Deli Rev*, 2001, (53): 321 ~ 339
- 7 Shi W P, Ji Y W, Zhang X G, Shu S J, Wu Z M. *J Pharm Sci*, 2011, 100(3): 886 ~ 895
- 8 Zhu Dongyu(朱东雨), Guo Jianwei(郭建维), Liang Liyan(梁利岩). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2010, (7): 857 ~ 863
- 9 Zheng Yunhua(郑云华), Liu Genqi(刘根起), Cheng Yongqing(程永清). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2009, (9): 922 ~ 928
- 10 Xia J L, Chen J, Tian H Y, Chen X S. *Science China Chemistry*, 2010, 53(3): 502 ~ 507
- 11 Shen Yinghua(申迎华), Zhang Xiangying(张向英), Li Xiaoqin(李晓琴), Wu Liuwang(武六旺), Zhao Yansheng(赵彦生), Guo Jian(郭健). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2009, (9): 917 ~ 921
- 12 Milosavljevic N B, Milasinovic N Z, Popovic I G, Filipovic J M, Krusic M T K. *Polym Int*, 2011, 60(3): 443 ~ 452
- 13 Meng X, Li P, Wei Q, Zhang H X. *Pharm Dev Technol*, 2011, 16(1): 22 ~ 28
- 14 Zhang Z, Chen L, Zhao C W, Bai Y Y, Deng M X, Shan H L, Zhuang X L, Chen X S, Jing X B. *Polymer*, 2011, 52(3): 676 ~ 682
- 15 Zhao C W, Zhuang X L, He P, Xiao C S, He C L, Sun J R, Chen X S, Jing X B. *Polymer*, 2009, 50(18): 4308 ~ 4316
- 16 Ito Y, Ochiai Y, Park Y S, Imanishi Y. *J Am Chem Soc*, 1997, 119: 1619 ~ 1623
- 17 He C L, Zhao C W, Guo X H, Guo Z J, Chen X S, Zhuang X L, Liu S Y, Jing X B. *J Polym Sci, Part A: Polym Chem*, 2008, 46(12): 4140 ~ 4150
- 18 Han YD, Xia JL, He P, Tian HY, Chen Xuesi(陈学思), Jing Xiabin(景遐斌). *Chemical Journal of Chinese Universities(高等学校化学学报)*, 2009, 30(12): 2521 ~ 2524
- 19 He C L, Zhao C W, Chen X S, Guo Z, Zhuang X L, Jing X B. *Macromol Rapid Commun*, 2008, 29(6): 490 ~ 497
- 20 Inomata H, Wada N, Yagi Y, Goto S, Saito S. *Polymer*, 1995, 36(4): 875 ~ 877
- 21 Oh K S, Oh J S, Choi H S, Bae Y C. *Macromolecules*, 1998, 31(21): 7328 ~ 7335

SYNTHESIS AND SWELLING BEHAVIOR OF DEGRADABLE pH-SENSITIVE HYDROGELS COMPOSED OF POLY(L-GLUTAMIC ACID) AND POLY(ACRYLIC ACID)

Gao Xiaoye^{1,2}, He Chaoliang¹, ZHUANG Xiuli⁴, ZHAO Changwen^{1,2}, XIAO Chunsheng^{1,2}, CHEN Xuesi¹

(¹ Key Laboratory of Polymer Ecomaterials, Changchun Institute of Applied Chemistry, Changchun 130022)

(² Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190)

Abstract A biodegradable pH-sensitive hydrogel composed of poly(acrylic acid) (PAA) and poly(L-glutamic acid) (PGA) was synthesized. The swelling behavior of the hydrogel samples was studied. PGA is both biodegradable and pH-sensitive, with the pK_a at 4.51. The hydrogels showed different swelling ratios (SR) in buffers at different pH values, indicating the pH-sensitivity. The hydrogels exhibited lower swelling ratios in an acidic medium because of the deprotonation of both PAA and PGA. While in a basic medium (pH 8.3), the highest swelling ratios were 5 to 10 times higher than those in the acidic medium. The SR increased sharply when the pH was increased from 4, which was consistent to the pK_a of PAA and PGA. In neutral medium, the sample with the lowest SR was the one composed of 50% PGA and 50% PAA, of which the SR was only about 30. In contrast, with either more PGA or more PAA, the SR got higher. The SR of the sample with 70% of PAA was 66.3, while the SR of hydrogel composed of 70% PGA was 121.4. The swelling kinetics studies showed that all the hydrogel samples underwent a rapid swelling process in 20 min, followed by gradual decrease of the swelling rate. The samples reached swelling balance at 2 h. Because of the pH-sensitivity of the hydrogels, drugs can be protected at acidic pH, and released at neutral pH. Therefore, the hydrogels may have potential applications as oral drug delivery systems.

Keywords Intelligent hydrogels, Poly(L-glutamic acid), Poly(acrylic acid), pH-sensitive, Swelling kinetics