

基于含苯硼酸三嵌段共聚物的糖响应性水凝胶*

杨 挺 邓鑫星 杜福胜 李子臣**

(北京分子科学国家实验室 高分子化学与物理教育部重点实验室 北京大学化学与分子工程学院 北京 100871)

摘 要 设计合成了一类新型结构的聚环氧乙烷(PEO)大分子链转移剂,调控 3-丙烯酰胺基苯硼酸(AAPBA)的可逆加成断裂-链转移(RAFT)自由基聚合,合成得到 3 种 PAAPBA 链段长度不同的 PAAPBA-*b*-PEO-*b*-PAABPA3 嵌段共聚物. 研究了 3 种聚合物在生理 pH 值下的凝胶化行为,证明凝胶的形成与 PAABPA 的长度有关,当该链段较长时,由于 PAABPA 链段疏水性太强,不能形成稳定的水凝胶. 详细研究了聚合物浓度、温度、葡萄糖浓度对凝胶流变行为的影响,证明共聚物浓度越高,形成的凝胶的强度更大,性质上更接近于固体,浓度较高条件下形成的凝胶的转变温度较高. 凝胶表现出葡萄糖敏感性,当高葡萄糖存在时,随时间延长,凝胶会发生崩解直至最后溶解. 凝胶亲水微区能包载蛋白质 FITC-BSA,加入葡萄糖后,FITC-BSA 的释放加快.

关键词 苯硼酸,聚乙二醇,嵌段共聚物,糖响应,水凝胶

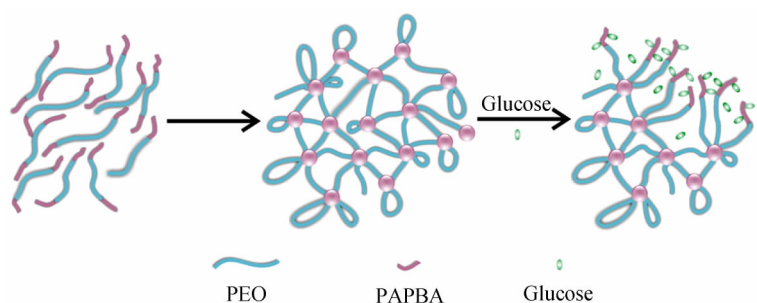
水凝胶是水溶性高分子交联形成的内部含有大量水的三维高分子网络,作为药物载体体系和组织工程支架材料生物医学领域获得广泛应用^[1-4]. 水凝胶可通过化学交联或物理交联而形成,化学交联制备的水凝胶稳定性好,力学强度大;而通过非共价键相互作用形成的水凝胶能够在温和的条件下与要包载的蛋白药物分子一起形成凝胶,不会破坏蛋白分子的活性. 动态共价化学是构筑刺激响应性水凝胶的有效方法^[5,6],这类凝胶随外界的刺激响应,如温度^[7]、pH^[8]、光^[9]、还原条件^[10]以及生物分子^[11],能发生可逆的溶胶-凝胶转变,因而具有更广泛的应用. 葡萄糖响应的水凝胶是最近受到广泛关注的刺激响应性水凝胶,研究目的在于期望发展可用于治疗糖尿病的胰岛素载体体系. 由于含苯硼酸基团(PBA)的聚合物能够与二醇通过动态共价化学键键连,同时提高该基团的水溶性,最近基于含 PBA 聚合物的分子聚集体及水凝胶体系得到关注^[12,13]. Kataoka 等最早报道了基于 PBA 水凝胶体系的葡萄糖传感器^[14],随后有很多的相关报道,目的是提高对葡萄糖的快速响应,典型的体系为葡萄糖响应的微凝胶^[15-18],聚合物胶束^[19-22]

以及聚合物囊泡^[23-25]. 我们最近报道了利用含聚乙醇醇的嵌段共聚物、环糊精以及含苯硼酸的交联剂复合构筑的葡萄糖响应性水凝胶^[26],但该体系相对复杂. 本文提出利用含苯硼酸基团的 ABA 型两亲性嵌段共聚物构筑葡萄糖响应性物理水凝胶(示意图 1),其中 B 段为水溶性的 PEO 链段,A 段为对葡萄糖有响应性的聚 3-丙烯酰胺基苯硼酸(PAAPBA),在低于其 pK_a 的 pH 值下,该链段疏水,在高 pH 值下,由于苯硼酸单元带负电,该链段变得亲水;有葡萄糖存在时,葡萄糖与苯硼酸的动态共价结合也会导致链段水溶性增加和静电排斥力增强,最终使得链段由疏水变水溶. 因此,在生理 pH 值下,该三嵌段共聚物中 PAAPBA 链段发生疏水聚集,水溶性的 PEO 链段维持亲水区域,嵌段共聚物形成超分子水凝胶. 当向该体系中加入葡萄糖后,葡萄糖与 PAAPBA 链段发生相互作用,导致该链段亲水性增加,凝胶发生溶解. 如果凝胶形成过程中同时加入水溶性蛋白,则可在形成凝胶的过程中包载蛋白,加入葡萄糖后实现糖响应的可控释放,从而得到一类葡萄糖响应的凝胶型药物载体模拟体系.

* 2014-05-26 收稿,2014-06-20 修稿;国家自然科学基金(基金号 50973002)资助项目.

** 通讯联系人,E-mail:zcli@pku.edu.cn

doi:10.11777/j.issn1000-3304.2014.14201



Scheme 1 Glucose-sensitive supramolecular hydrogel from PAAPBA-*b*-PEO-*b*-PAAPBA

1 实验部分

1.1 主要试剂及纯化方法

3-氨基苯硼酸 97%, 北京普瑞东方试剂公司. 三乙胺, 北京化工厂, 加入乙酸酐回流 8 h 后蒸出, 加入氯化钙干燥过夜, 氮气保护下蒸出. 偶氮二异丁腈 (AIBN), 化学纯, 北京化学试剂公司, 甲醇中重结晶. 四氢呋喃, 北京化工厂, 加入金属钠回流 8 h 后蒸出. 二氯甲烷, 北京化工厂, 加入氯化钙回流 8 h 后蒸出. *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF), 北京化工厂, 加入硫酸镁干燥过夜, 过滤后减压蒸出. 3-丙烯酰胺基苯硼酸 (AAPBA) 按文献方法合成^[27]. 双端苄醇的 PEO 按文献方法合成^[28].

1.2 仪器及测试方法

1.2.1 核磁共振仪 (NMR)

400 MHz ¹H-NMR 用 Bruker ARX-400 核磁共振仪测定; 300 MHz ¹H-NMR 用 Varian-300 核磁共振仪测定, 四甲基硅烷 (TMS) 为内标.

1.2.2 紫外-可见分光光度计

使用 Shimadzu 公司 UV-2101PC 紫外-可见分光光度计, 测试温度为 25 °C.

1.2.3 凝胶渗透色谱仪 (gel permeation chromatography, GPC)

使用 Waters 1525 高效液相色谱泵, Waters 2414 示差折光检测仪, Waters Styragel HR 凝胶柱 (孔径: 1×10^3 nm, 1×10^2 nm 和 50 nm), 以 THF 为流动相, 流速为 1 mL/min, 凝胶柱温度恒定为 35 °C. 使用窄分布的聚苯乙烯标样 (PSt) 为参比, 处理软件为 Breeze 3.30 SPA.

1.2.4 流变性质测试 (rheological measurement)

使用 Physica MCR 301 (Anton Paar) 应力控制流变仪进行动态流变实验. 使用 CP25-2 锥板测量系统, 圆板直径为 25 mm, 倾斜锥面与圆板之间的角度为 2°, 圆锥顶端与样品台聚集为 0.053 mm. 上样后, 小心的移除锥板边缘溢出样品, 用低黏度

油覆盖样品边缘以防止测试过程中水分挥发. 测试前, 全部样品在 1 Pa 的应力下, 0.1 Hz 的振荡频率下稳定 15 min. 振荡频率扫描在 1% 的应变下进行, 扫描范围为 100 ~ 0.1 rad/s. 变温测试中, $f = 1$ Hz, 升温或降温速率为 1 K/min.

1.3 聚合物的合成

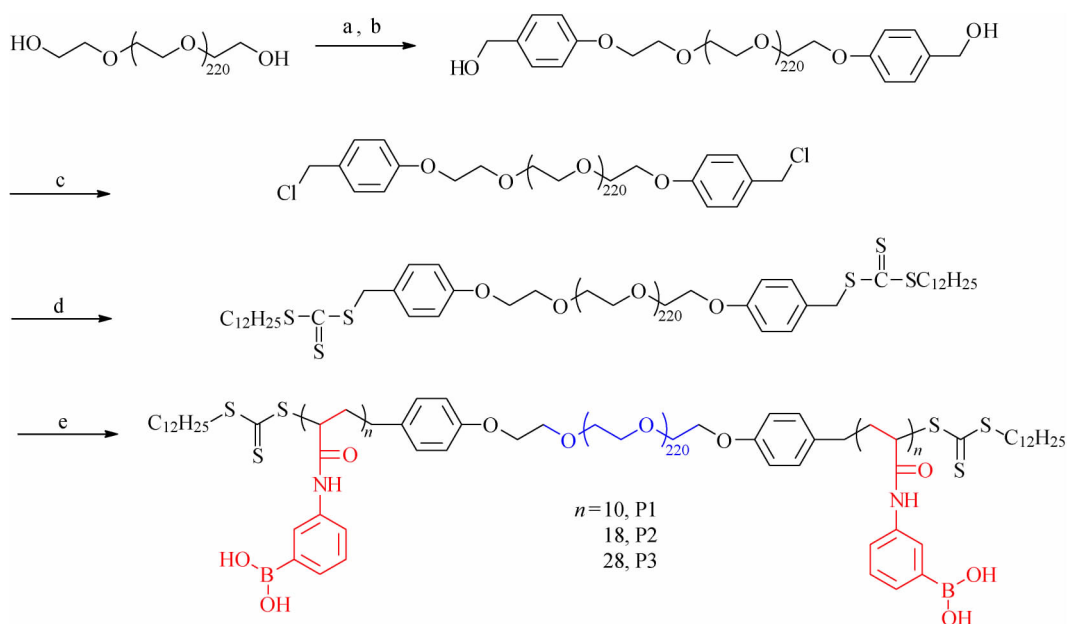
三嵌段共聚物的合成路线如示意图 2 中所示.

1.3.1 高分子 RAFT 试剂的合成

高分子 RAFT 试剂通过两步反应合成得到. 首先将双端为苄醇的 PEO 端基转变为苄氯结构, 具体操作为: 将双端为苄醇的 PEO (5.22 g, 0.522 mmol) 溶于 50 mL 二氯甲烷, 向其中加入 2 滴 DMF, 冰浴中冷却. 向上述溶液中缓慢加入氯化亚砷 (1.31 g, 11.0 mmol), 反应在室温下进行 8 h. 旋转蒸发除去氯化亚砷, 用干燥的二氯甲烷 (2 × 30 mL) 溶解样品并旋转蒸发除尽溶剂, 剩余样品未进一步分离纯化, 直接用于下一步反应. 将上一步反应产物全部溶于 50 mL 二氯甲烷中, 向其中加入 S-十二烷基-三硫代碳酸钠 (3.12 g, 10.4 mmol), 室温反应 24 h. 过滤后将滤液浓缩至 20 mL, 用 200 mL 乙醇-乙醚混合溶剂 (1:9, V/V) 沉淀 3 次. 最后用 120 mL 乙醚沉淀 1 次, 过滤收集产品, 真空干燥后得到淡黄色固体 (4.7 g, 收率 85%).

1.3.2 三嵌段共聚物的合成

三嵌段共聚物通过 AAPBA 在分子 RAFT 试剂调控下的自由基聚合得到, 通过调节单体 AAPBA 的用量得到 3 种 PAAPBA 链段长度不同的嵌段共聚物 (**P1**, **P2**, **P3**). 具体操作为, 分别称取 3 份 AAPBA (**P1**: 0.191 g, 1.0 mmol; **P2**: 0.382 g, 2.0 mmol; **P3**: 0.574 g, 3.0 mmol), 加入到 3 支 25 mL Schlenk 管中, 向 3 支管中分别加入高分子 RAFT 试剂 (0.5 g, 0.048 mmol) 以及

Scheme 2 Synthetic route of PAAPBA-*b*-PEO-*b*-PAAPBA

a) $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$, $\text{N}(\text{Et})_3$, CH_2Cl_2 ; b) $t\text{-BuOK}$, 4-hydroxybenzaldehyde, THF, reflux; c) SOCl_2 , CH_2Cl_2 , DMF, RT, 7 h; d) $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{SCS}_2\text{Na}$, CH_2Cl_2 , 24 h; e) AIBN, AAPBA, $V(\text{DMF})/V(\text{H}_2\text{O}) = 19:1$, 70 °C

AIBN(浓度为 0.84 mg/mL)的 DMF- H_2O 混合溶剂(19:1, V/V),溶液在真空线上进行 3 次冷冻—真空—解冻操作除氧后封管,反应在 70 °C 下进行 20 h. 反应结束后,将三支管中的溶液分别沉淀于 50, 100, 150 mL 乙醚中. 干燥后再将 3 份固体分别溶于 4, 6, 10 mL 甲醇中,再分别沉淀于 100, 150, 200 mL 乙醚中,此步操作共进行 2 次. 真空干燥后,得到 3 种淡黄色聚合物样品,3 种共聚物的收率分别为 88%, 88% 和 85%.

1.3.3 三嵌段共聚物中 PAAPBA 链段的化学转化

分别称取 **P1**(0.10 g, 约 7.2×10^{-3} mmol), **P2**(0.10 g, 约 6.2×10^{-3} mmol) 和 **P3**(0.10 g, 约 5.2×10^{-3} mmol), 加入到 3 支 25 mL Schlenk 管中,向 3 支管中分别加入频哪醇(0.033 g, 0.28 mmol; 0.067 g, 0.57 mmol; 0.1 g, 0.85 mmol), 7 mL DMF 与新烘制的经充分研磨的分子筛. 溶液在真空线上进行 2 次冷冻—真空—通氮气—真空—解冻操作除氧后封管,反应在 105 °C 下进行 16 h. 反应结束后,将 3 份溶液分别沉淀于 80 mL 乙醚中. 干燥后再将固体分别用 8 mL THF 溶解后再次沉淀于 80 mL 乙醚,此步操作共进行 2 次. 真空干燥后将得到的固体样品用于 GPC 表征.

1.4 水凝胶的制备

对于聚合物 **P1**,以浓度为 100 mg/mL 的样品

为例,称取 50 mg 聚合物置于小样品瓶中,加入 0.5 mL 磷酸盐缓冲液(pH = 7.4, 50 mmol),通过离心除去凝胶内部气泡,继续放置 4 h,待用,其他浓度的凝胶制备方法与之相同. 对于聚合物 **P2** 及聚合物 **P3** 样品,以浓度为 100 mg/mL 的样品为例,称取 50 mg 聚合物置于小样品瓶中,加入 Na_2HPO_4 溶液(50 mmol) 405 μL ,放置 4 h 后,加入 NaH_2PO_4 (50 mmol) 溶液 95 μL ,继续放置 4 h,待用.

1.5 流变方法研究凝胶的葡萄糖响应性

制备 2 份浓度为 100 mg/mL 的 **P1** 凝胶样品,每份凝胶样品为 200 mg,向上述两个凝胶中分别加入 100 g/L 的葡萄糖溶液和 300 g/L 的葡萄糖溶液,超声 20 min 后静置 4 h,溶液完全被凝胶吸收,得到含葡萄糖浓度为 5 g/L 以及 15 g/L, **P1** 浓度为 100 mg/mL 的凝胶样品,并与未加入葡萄糖溶液的凝胶对照.

1.6 水凝胶对 FITC-BSA 的包载和释放

称取 30 mg **P1** 样品,溶于 FITC-BSA(浓度为 10 mg/mL)的缓冲液(pH = 7.4, 50 mmol)中,得到 FITC-BSA 浓度为 10 mg/L, **P1** 浓度为 100 mg/mL 的凝胶,样品平行制备 3 份,静置 4 h. 将包载有 FITC-BSA 的 3 份凝胶分别转移至不含糖,葡萄糖浓度为 10 g/L 和 30 g/L 的 3 份缓冲溶液中,每份缓冲液体积为 10 mL,在指定的时间点分别

从 3 个体系中取出 1 mL 缓冲液用于紫外吸收光谱测定,以 1 mL 新鲜缓冲液补充. 利用荧光光谱测量 FITC-BSA 的释放量,激发波长为 495 nm,测量 580 nm 处的荧光发射强度,并与 FITC-BSA 标准溶液的数值进行对照.

2 结果与讨论

2.1 含苯硼酸三嵌段共聚物的合成及表征

2.1.1 高分子 RAFT 试剂的合成与表征

PEO 两端含三硫代碳酸酯结构的 RAFT 试剂按示意图 1 所示路线合成得到. 第一步为 PEO 端

基苄醇向苄氯的转化,在测定粗产物的核磁共振氢谱时,在核磁管内加入少量三氟乙酸酐,发现苄基亚甲基质子的化学位移全部由 $\delta = 4.6$ 附近向低场移动至 $\delta = 5.2$ 附近,证明端基完全转化为苄氯. 第二步为端基苄氯与三硫代碳酸酯钠盐的反应,最后聚合物以乙醇-乙醚的混合溶剂(9:1, V/V)作为沉淀剂,得到纯度较高的高分子 RAFT 试剂. 图 1 为该聚合物样品的核磁谱图,由苄基质子信号(e)与十二烷基端甲基的质子信号(a)积分比例可估算端基取代的官能度大于 95%.

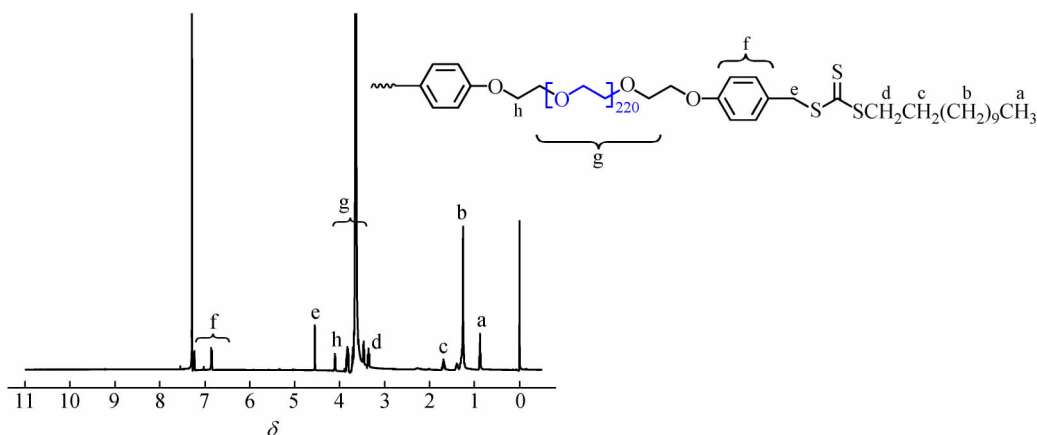


Fig. 1 ^1H -NMR spectrum of the macromolecular RAFT agent in CDCl_3

2.1.2 三嵌段共聚物的合成及表征

利用上述大分子 RAFT 试剂调控单体 AAPBA 的 RAFT 聚合制备得到三嵌段共聚物,通过调整大分子链转移剂与单体的投料比控制 PAAPBA 链段的长度. 由于苯硼酸单体在有机溶剂中会三聚形成酸酐^[29],不利于聚合反应,通常需要用频哪醇将苯硼酸单体保护后再进行聚合, Sumerlin 课题组用 DMF 和水做溶剂,通过 RAFT 聚合方法,实现了未保护苯硼酸单体的活性聚合^[30],我们参考他们的反应条件进行聚合,得到了预期的三嵌段共聚物. 但由于该聚合物在 GPC 测试条件下,仍然会发生苯硼酸的酸酐化,导致 GPC 测定的分子量偏大,因此我们将嵌段共聚物中的苯硼酸基团用频哪醇保护后,用 GPC 测定了聚合物的分子量(图 2),3 种聚合物的分子量分布较窄,轻微的拖尾现象是由于大分子链转移剂的官能度不能完全达到 100% 所致,当苯硼酸单体投料比例较高时,得到嵌段共聚物的分子量较高,这证明达到了通过控制投料比调节三嵌段共

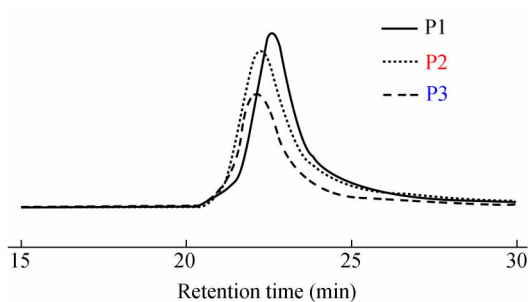


Fig. 2 GPC traces of the three block copolymers after the phenylboronic acid being protected with pinacol.

聚物中 PAAPBA 链段长度的目的. 为了确定 PAAPBA 链段的长度,测定了 3 种聚合物的核磁共振氢谱(图 3),通过计算 $\delta = 0.83 \sim 0.86$ 处甲基的质子信号与 $\delta = 1.33 \sim 2.06$ 处(含十二烷基的质子信号)PAAPBA 主链 CH_2 的积分比例,确定 **P1**, **P2** 和 **P3** 中 PEO 每端 PAAPBA 链段的重复单元数分别为 10,19 和 28 (表 1).

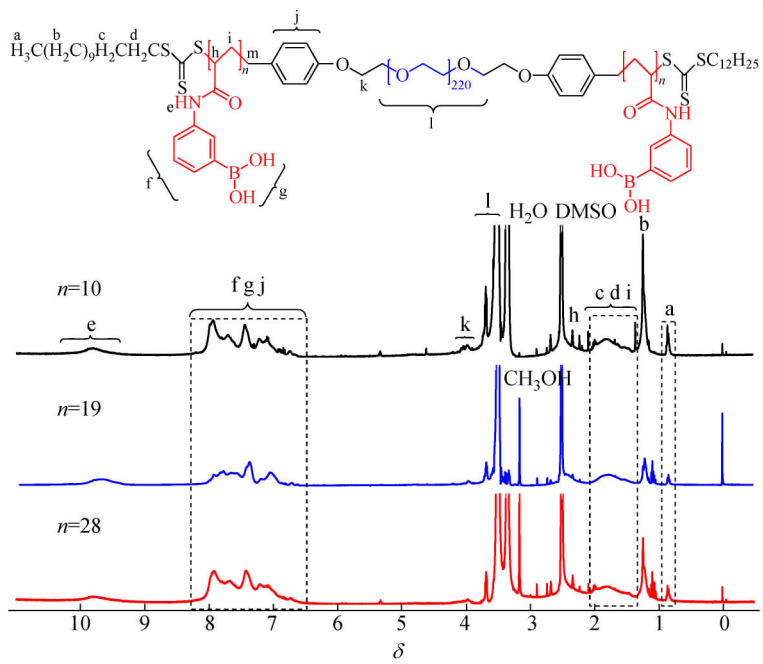


Fig. 3 ¹H-NMR spectra of the three block copolymers in DMSO-*d*₆

Table 1 Characterization of the triblock copolymers

Polymer	$M_n \times 10^{-3}$ ^a	PDI ^a	n ^b
P1	13.1	1.20	10
P2	14.7	1.21	19
P3	15.5	1.20	28

^aDetermined by GPC; ^bEstimated by ¹H-NMR

2.2 共聚物水凝胶的制备

将嵌段共聚物 **P1** 直接溶于缓冲液中,溶液粘度立即增大,浓度为 50 mg/mL 时,体系为黏稠液体状态,浓度大于 75 mg/mL,混合后体系无法流动,静置和离心除去气泡后,可以得到接近无色的透明凝胶,凝胶可以在倒置状态支撑自身重量.利用同样的方法无法得到共聚物 **P2** 和 **P3** 的凝胶,其原因在于共聚物中 PAAPBA 链段增长,当浓度为 100 mg/mL 时,二者无法均匀分散在水溶液中,经长时间超声无显著改观.改用 pH 值较高的 Na₂HPO₄ 溶液分散聚合物,放置 4 h 后,再加入 NaH₂PO₄ 溶液,共聚物 **P2** 在 100 mg/mL 下可以形成可在倒置状态支撑自身重量的凝胶.同样条件下,共聚物 **P3** 在 50 mg/mL 和 100 mg/mL 下均为浑浊的液体,无法形成凝胶.三嵌段共聚物为 ABA 结构,其中 PEO ($n = 220$) 链段为亲水链段,而两端的 PAAPBA 链段在 pH = 7.4 时疏水,因此,在疏水作用驱动下形成疏水区域,而亲水的 PEO 链段在疏水区域之间起到桥连作用,共聚物的浓度和亲疏水比例决定了其是否在水溶液中形

成均匀的凝胶体系.

2.3 流变性质测试

2.3.1 PAAPBA 链段长度的影响

用流变仪测定了共聚物 **P1** 和 **P2** 溶液的流变性质.图 4 是浓度为 100 mg/mL 的 **P1** 和 **P2** 溶液的角频率扫描结果,二者的 G' 与 G'' 随角频率的变化趋势接近.在较低的角频率下, G'' 高于 G' ,且均随着角频率的升高而增大, G' 增大的速率较快,随后二者出现交点;在大于交点对应角频率的范围内, G' 始终高于 G'' ,且在较高的角频率下 G' 接近处于平台,这表明两个聚合物样品均能形成凝胶^[31].共聚物 **P1** 凝胶的 G' 与 G'' 的交点对应的角频率 (ω_c) 为 1.46 rad/s, **P2** 凝胶的 ω_c 为 0.47 rad/s.松弛时间与 ω_c 成反比,松弛时间 (τ) 是反映凝胶交联点寿命的参数,通常情况下,弹性固体的松弛时间大于实验的时间尺度,而液体具有相当短的松弛时间.由公式 $\tau = 2\pi/\omega_c$ 计算得到二者的松弛时间分别为 4.3 s 和 13.4 s, **P2** 凝胶的松弛时间显著高于 **P1** 凝胶.这是因为与 **P1** 相比, **P2** 的疏水链段较长,链段间的疏水作用较强,疏水链段从疏水区域中游离和进入的速率较慢,因此交联点的寿命较长,松弛时间较短.通常增加疏水缔合聚合物的疏水链段长度会显著提高凝胶的交联密度,但 **P2** 凝胶的模量与 **P1** 凝胶相差不大,推测这是由于 **P2** 的水溶性不佳导致.在浓度 50 mg/mL 时, **P2** 为浑浊液体,提高浓度到

100 mg/mL,虽然其可形成宏观凝胶,但是仍会因为溶解度较低而导致部分链段未充分分散在体系中,此部分链段对交联密度的贡献较低,而使 **P2** 凝胶的 G' 和 G'' 与 **P1** 凝胶差别不大. 因此,下面的研究针对共聚物 **P1** 形成的凝胶进行.

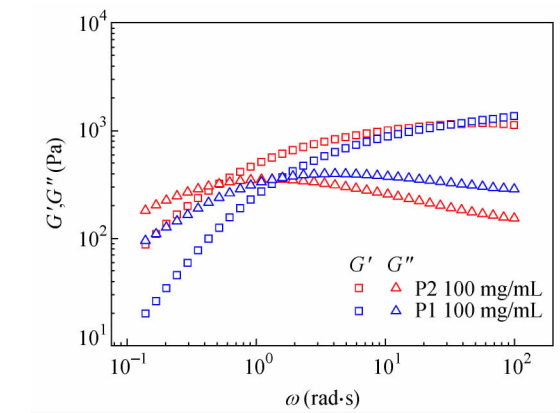


Fig. 4 Dynamic storage modulus and loss modulus as a function of angular frequency for **P1** and **P2** solutions (100 mg/mL, 25 °C, $\gamma = 1\%$)

2.3.2 共聚物浓度的影响

研究了 3 个浓度下 (75 mg/mL, 100 mg/L 和 125 mg/mL) 共聚物 **P1** 凝胶的流变性质, 3 个样品分别简写为 **G1**, **G2** 和 **G3**. 图 5 为 3 个凝胶样品的角频率扫描结果. **G3** 的 G' 与 G'' 较高, 这说明其交联密度较高. 在角频率大于 30 rad/s 以上的区间, 3 种凝胶的 G' 处于平台 (角频率继续增大 G' 的变化较小), 选择平台区 68.7 rad/s 的角频率下对应的 G' 来说明样品的强度. 凝胶 **G1**, **G2** 和 **G3** 的 G' 分别为 329 Pa, 1190 Pa 和 2980 Pa, **G3** 凝胶的强度最大. $\tan\delta$ 是凝胶 G'' 与 G' 的比值, 反应了某一角频率下凝胶黏性与弹性的比例, $\tan\delta$ 值越小, 表明凝胶的性质越接近固体. **G1**, **G2** 和 **G3** 的 $\tan\delta$ 分别为 0.36, 0.23 和 0.20, 因此 **G3** 凝胶在性质上更接近与固体. **G1**, **G2** 和 **G3** 的松弛时间 τ 的值分别为 2.0 s, 4.3 s 和 5.7 s, **G3** 凝胶的松弛时间最长. 因此, 共聚物浓度越高, 形成的凝胶的硬度更大, 性质上更接近于固体, 具有更长的松弛时间.

2.3.3 温度的影响

图 6 为 3 个凝胶的 G' 和 G'' 随温度的变化. 在升温过程中, 凝胶的 G' 与 G'' 逐渐降低, G' 的下降速率比 G'' 快, 在某温度下 G' 与 G'' 相交; 在交点之后的温度范围内 G' 始终小于 G'' , 且随着温度升高二者差距逐渐扩大. 一般认为, 当 G' 大于 G''

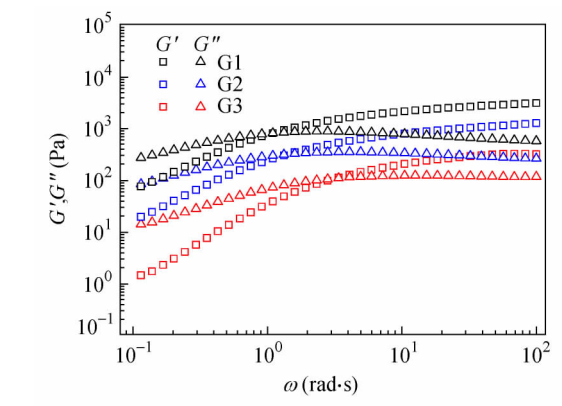


Fig. 5 Dynamic storage modulus and loss modulus as a function of angular frequency for **G1**, **G2** and **G3** gels (25 °C, $\gamma = 1\%$)

时, 固体性质占主导, 当 G' 小于 G'' 时, 液体性质占主导, 因此升温过程中 G' 与 G'' 的交点所对应的温度 T_c 反映的是凝胶由固体性质向液体性质的转变, 将 T_c 定义为超分子凝胶的凝胶-溶液转变温度 (T_c 的值与扫描过程中所选取的频率有关, 频率变化, T_c 也可能变化, 此处使用的频率为 1 Hz). 共聚物的浓度对于转变温度具有显著的影响, 凝胶 **G1**, **G2** 和 **G3** 的凝胶-溶液转变温度分别为 30.6, 35.4 和 39.4 °C, 浓度较高的凝胶的转变温度较高.

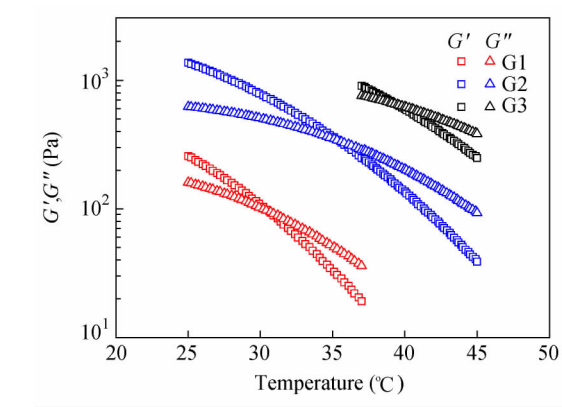


Fig. 6 Temperature-dependent dynamic storage modulus and loss modulus as a function of angular frequency for **G1**, **G2** and **G3** gels ($f = 1$ Hz, $\gamma = 1\%$, 1 K/min)

2.3.4 糖浓度的影响

通过流变学方法研究了葡萄糖的加入对于凝胶性质的影响, 如图 7 所示, 葡萄糖的加入会使凝胶的模量下降, 也使 G' 和 G'' 的交点向较高的角频率移动, 葡萄糖分子会以动态共价键与苯硼酸结合, 一方面, 结合使 PAAPBA 链段的亲水性增强; 另一方面, 与葡萄糖的结合会使苯硼酸的 pK_a 降

低,使更多的苯硼酸重复单元以带负电形式存在,提高链段间的静电排斥力.这两种结果都会削弱 PAAPBA 链段之间的疏水缔合作用,缩短交联点的寿命,导致模量的下降和松弛时间的缩短.这些结果表明所得到的凝胶样品对于葡萄糖浓度有响应.

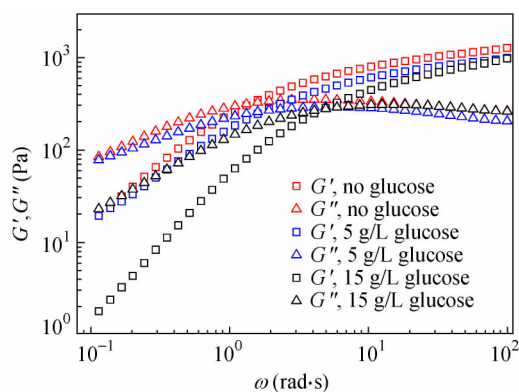


Fig. 7 Dynamic storage modulus and loss modulus as a function of angular frequency for **G2** gel at different glucose concentrations (25 °C, $\gamma = 1\%$)

2.4 凝胶对模拟蛋白药物的包载和释放实验

研究了凝胶 **G2** 对蛋白质 FITC-BSA 的包载和葡萄糖响应释放行为. 首先将 FITC-BSA 溶于磷酸缓冲液中,然后将共聚物 **P2** 溶于该溶液中,经离心和静置处理即得到了包载有 FITC-BSA 的凝胶,实验证明, FITC-BSA 的存在不会显著影响凝胶的形成,凝胶仍保持均匀透明的形态. 进一步研究了 FITC-BSA 从凝胶 **G2** 内部的释放过程,结果见图 8. 在无糖缓冲液中, FITC-BSA 以相对较慢的速率释放,糖的加入提高了其释放速率. 相较于无糖缓冲液体系,在 10 g/L 葡萄糖的作用下, FITC-BSA 释放速率较高,释放在 150 min 内完成;在 30 g/L 葡萄糖溶液中,释放速率进一步提高,90 min 释放完全. 推测这是因为凝胶内部 PAAPBA 链段缔合形成的疏水区域的广泛存在,

以亲水性的 PEO 链段维系的亲水区域被疏水区域分隔开,而 FITC-BSA 为水溶性大分子,其活动被局限在亲水区域中,很难通过凝胶中分布较广的疏水区域扩散出凝胶网络,只能随着凝胶网络的溶解而逐渐被释放. 葡萄糖分子通过与苯硼酸的结合,使 PAAPBA 链段亲水性增加,负电荷密度提高,进而削弱凝胶的交联作用,加速凝胶网络的溶解,最终加速 FITC-BSA 的释放. 宏观观察释放试验过程,可看到固体形式存在的凝胶随时间延长尺寸逐渐缩小,直至最后完全消失,成为均相溶液,证明凝胶完全溶解.

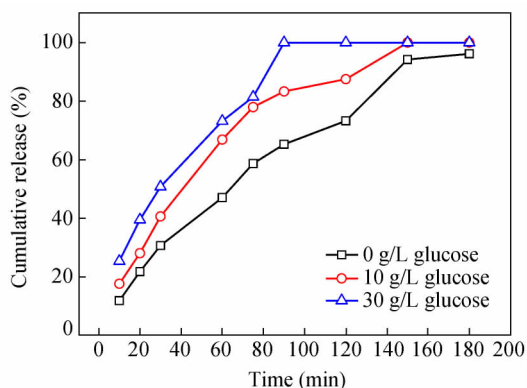


Fig. 8 Release profiles of BSA-FITC from **G2** at 25 °C in 50 mmol phosphate buffer (pH = 7.4) containing 0, 10, and 30 g/L of glucose respectively

3 结论

本文利用 PEO 大分子链转移剂调控 AAPBA 单体的 RAFT 聚合,合成了 3 种分子量分布较窄, PAAPBA 链段长度不同的 PAAPBA-*b*-PEO-*b*-PAABPA 三嵌段共聚物. 在生理 pH 值下,三嵌段共聚物表现出疏水缔合的特性,因此,在一定浓度下,通过疏水作用可形成宏观超分子凝胶,凝胶表现出葡萄糖敏感性,并可在凝胶亲水微区包载 FITC-BSA,加入葡萄糖后, FITC-BSA 的释放加快.

REFERENCES

- Bajpai A K, Shukla S K, Bhanu S, Kankane S. *Prog Polym Sci*, 2008, 33: 1088 ~ 1118
- Puppi D, Chiellini F, Piras A M, Chiellini E. *Prog Polym Sci*, 2010, 35: 403 ~ 440
- Hoffman A S. *Adv Drug Delivery Rev*, 2002, 54: 3 ~ 12
- Zhang J Z, Xiao C S, Wang J C, Zhuang X L, Chen X S. *Chinese J Polym Sci*, 2013, 31: 1697 ~ 1705
- Rowan S J, Cantrill S J, Cousins G R L, Sanders J K M, Stoddart J F. *Angew Chem Int Ed*, 2002, 41: 898 ~ 952
- Deng G H, Tang C M, Li F Y, Jiang H F, Chen Y M. *Macromolecules*, 2010, 43: 1191 ~ 1194
- Aoki T, Kawashima M, Katono H, Sanui K, Ogata N, Okano T, Sakurai Y. *Macromolecules*, 1994, 27: 947 ~ 952
- Yoshikawa H Y, Rossetti F F, Kaufmann S, Kaindl T, Madsen J, Engel U, Lewis A L, Armes S P, Tanaka M. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 1367 ~ 1374

- 9 Liao X, Chen G, Liu X, Chen W, Chen F, Jiang M. *Angew Chem Int Ed*, 2010, 122:4409 ~ 4413
- 10 Nakahata M, Takashima Y, Yamaguchi H, Harada A. *Nature Commun*, 2011, 2:511
- 11 Miyata T, Uragami T, Nakamae K. *Adv Drug Delivery Rev*, 2002, 54:79 ~ 98
- 12 Cambre J N, Sumerlin B S. *Polymer*, 2011, 52:4631 ~ 4643
- 13 Ma R J, Shi L Q, *Polym Chem*, 2014, 5:1503 ~ 1518
- 14 Kataoka K, Miyazaki H, Bunya M, Okano T, Sakurai Y. *J Am Chem Soc*, 1998, 120:12694 ~ 12695
- 15 Zhang Y, Guan Y, Zhou S. *Biomacromolecules*, 2007, 8:3842 ~ 3847
- 16 Lapeyre V, Gosse I, Chevreux S, Ravaine V. *Biomacromolecules*, 2006, 7:3356 ~ 3363
- 17 Hoare T, Pelton R. *Biomacromolecules*, 2008, 9:733 ~ 740
- 18 Wu W, Mitra N, Yan E C Y, Zhou S. *ACS Nano*, 2010, 4:4831 ~ 4839
- 19 Roy D, Sumerlin B S. *ACS Macro Lett*, 2012, 1:529 ~ 532
- 20 Wang B, Ma R, Liu G, Li Y, Liu X, An Y, Shi L. *Langmuir*, 2009, 25:12522 ~ 12528
- 21 Jin Q, Lv L P, Liu G Y, Xu J P, Ji J. *Polymer*, 2010, 51:3068 ~ 3074
- 22 Yao Y, Wang X M, Tan T W, Yang J. *Soft Matter*, 2011, 7:7948 ~ 7951
- 23 Kim K T, Cornelissen J J L M, Nolte R J M, van Hest J. *Adv Mater*, 2009, 21:2787 ~ 2791
- 24 Kim H, Kang Y J, Kang S, Kim K T. *J Am Chem Soc*, 2012, 134:4030 ~ 4033
- 25 Kim H, Kang Y J, Jeong E S, Kang S, Kim K T. *ACS Macro Lett*, 2012, 1:1194 ~ 1198
- 26 Yang T, Ji R, Deng X X, Du F S, Li Z C. *Soft Matter*, 2014, 10:2671 ~ 2678
- 27 Kanekiyo Y, Sano M, Iguchi R, Shinkai S. *J Polym Sci Part A Polym Chem*, 2000, 38:1302 ~ 1310
- 28 Tong Y Y, Dong Y Q, Du F S, Li Z C. *J Polym Sci Part A Polym Chem*, 2009, 47:1901 ~ 1910
- 29 Korich A L, Iovine P M. *Dalton Trans*, 2009, 39:1423 ~ 1431
- 30 Roy D, Cambre J N, Sumerlin B S. *Chem Commun*, 2008:2477 ~ 2479
- 31 Li J, Loh S. *Adv Drug Delivery Rev*, 2008, 60:1000 ~ 1017

Glucose-responsive Hydrogels Based on ABA Triblock Copolymers Containing Phenylboronic Acid

Ting Yang, Xin-xing Deng, Fu-sheng Du, Zi-chen Li*

(*Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, Key Laboratory of Polymer Chemistry and Physics of Ministry of Education, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871*)

Abstract A new type of poly(ethylene oxide) (PEO) chain transfer reagent was synthesized and used to mediate the reversible addition fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization of 3-(acrylamino) phenylboronic acid (AAPBA) to get three types of PAAPBA-*b*-PEO-*b*-PAABPA triblock copolymers with different PAAPBA lengths. The gelation of these copolymers at physiological pH was examined. It was found that hydrogel formation was dependent on the PAABPA block chain length, when the block was too long, no stable gel can be obtained due to the high hydrophobicity of the PAABPA segment. The effects of temperature, polymer concentration and glucose on the rheological properties of the gel were investigated in detail. The results indicated that the formed hydrogels possess solid-like behavior, at high polymer concentrations, gels with high strength and high phase transfer temperature could be obtained. In the presence of high concentration of glucose, interaction of glucose with the PAAPBA block can lead to the increase of the hydrophilicity of the PAAPBA block, thus leading to the break of the hydrogel network with time and finally the gel dissolved in about 1.5 h. Finally, the hydrogels could load FITC-BSA in the hydrophilic regions, and the release profile of FITC-BSA was accelerated in the presence of glucose.

Keywords Phenylboronic acid, Poly(ethylene oxide), Block copolymer, Glucose-responsive, Hydrogel

* Corresponding author: Zi-chen Li, E-mail: zcli@pku.edu.cn