

· 综述 ·

基于苯硼酸的葡萄糖响应性聚合物材料在 胰岛素投递和血糖检测中的应用*

刘 赣 杨 浩 马如江 史林启**

(功能高分子材料教育部重点实验室 南开大学高分子化学研究所 天津化学化工协同创新中心 天津 300071)

摘 要 近年来,葡萄糖响应性聚合物材料因其在糖尿病诊断和治疗领域的潜在应用而被广泛研究. 其中基于苯硼酸(PBA)的葡萄糖响应性聚合物作为人工合成材料而具有体系稳定,可逆响应的优势. 本文主要从自调节胰岛素投递和血糖持续检测两个方面综述近年来基于苯硼酸体系的聚合物材料的研究进展. 自调节胰岛素控制释放体系主要包括葡萄糖响应性微/纳米凝胶、聚合物胶束和囊泡3种形态,它们的形态结构组成对葡萄糖响应能力,反复开关释放及胰岛素的包覆都有很大的影响. 基于苯硼酸体系的血糖持续检测方法主要包括荧光感应器和可视感应器. 随着这些聚合物材料性能的逐步完善,它们将更有实际应用的潜力.

关键词 苯硼酸, 葡萄糖响应性, 聚合物, 胰岛素投递, 血糖检测

糖尿病已经成为危害中国人健康最严重的疾病之一,并伴有患病人口迅速加快,人口低龄化两大趋势. 因此糖尿病的治疗正受到广泛的研究,特别是胰岛素依赖性的1型糖尿病. 现有的治疗方法依然是依靠每日对病人皮下注射胰岛素以控制高血糖. 但是这种方法有两大问题,一是频繁注射胰岛素不仅对注射部位造成不可愈合的伤害,也给病人带来生理的痛楚和心理上的阴影. 另外注射胰岛素虽能短期降低血糖,但是不能控制血糖,胰岛素注射量过多造成的低血糖会导致严重的休克生理反应,让患者陷入生命危险. 因此,开发能够根据血糖水平智能响应控制释放胰岛素的系统就有非常重要的意义,科学家也做了很多研究工作.

另一方面糖尿病患者除了需要精确控制胰岛素的输送,能够长时间持续监测血糖浓度也能够极大的改善治疗的效果. 由于现有的血糖检测方法是定时检测,这种办法很难实时监控患者的病情. 因此开发能够长时间在体内实时检测血糖浓度的体系也非常重要,这也逐渐受到研究人员的关注. 而近年来基于苯硼酸的葡萄糖响应性聚合物材料因是完全合成材料,体系稳定,具有自调节

胰岛素投递以及持续检测血糖的应用前景而受到广泛研究.

苯硼酸及其衍生物是一类路易斯酸,其 pK_a 值范围是7.8~8.6^[1,2]. 它在水溶液中存在两种不同的形式(图1),一种是未电离的疏水形式,另一种是电离的亲水形式. 苯硼酸在电离后非常容易和葡萄糖等含有邻二醇的物质通过可逆共价键结合,并形成更加亲水的结构. 这样苯硼酸因其在加入葡萄糖后从疏水变成亲水而表现出葡萄糖响应性. 这种响应性可以用来设计自调节胰岛素释放体系,以用于血糖的控制.

然而苯硼酸在构筑葡萄糖响应性聚合物材料时有一个重要的问题就是它的 pK_a 比生理pH高很多^[3~5],在生理条件下,大部分苯硼酸都处于未电离状态,这种未电离状态和葡萄糖结合作用力很弱,因而响应能力很低. 研究人员为了提高苯硼酸在生理条件下的响应能力尝试了很多方法. 其中一种是在苯硼酸上引入拉电子基团,如在硼酸对位上引入羧基^[2]或是间位引入卤素或硝基^[6,7]. 还有一种方法是在硼酸邻位引入氨基或是羟基等配位基团,和硼原子配位以调节到合适的 pK_a ^[1,8].

* 2014-03-14 收稿,2014-04-15 修稿.

** 通讯联系人,E-mail:shilingqi@nankai.edu.cn

doi:10.11777/j.issn1000-3304.2014.14079

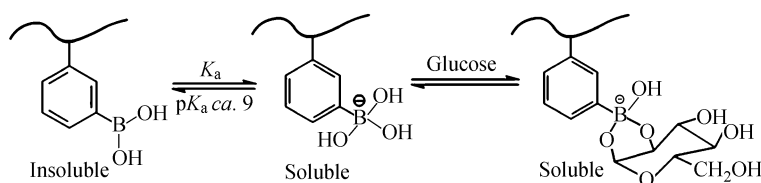


Fig. 1 Equilibria between different forms of phenylboronic acid (Adapted with permission from Ref. [2]; Copyright (2003) American Chemical Society)

虽然上述两种方法对于降低苯硼酸的 pK_a 很有效果,基于此的自调节胰岛素释放体系也受到广泛研究,但是它也存在合成复杂的不足.因此近年来研究人员试图寻找新的降低 pK_a 的方法,其中一种就是在含有羧基的聚合物链上部分修饰苯硼酸,通过羧基和硼原子的配位作用拉低苯硼酸的 pK_a ^[9, 10]. 另一种方法就是通过聚苯硼酸和聚糖结合形成复合物,这个复合物具有更合适的 pK_a 以在生理条件下响应^[11, 12].

基于苯硼酸的葡萄糖响应性聚合物材料体系有多种制备方式,包括共价键交联微/纳米凝胶,嵌段共聚物自组装胶束和囊泡以及模板法制备囊泡等.因此这篇文章主要综述了近年来基于苯硼酸的葡萄糖响应性微/纳米凝胶,胶束以及囊泡的研究进展,包括载体的制备方法,对葡萄糖的响应,还有对胰岛素的控制释放以及血糖浓度的实时检测.

1 自调节胰岛素投递体系

1.1 共价键交联微/纳米凝胶

水凝胶在药物载体领域有广泛的应用前景.在应用于胰岛素控制释放体系时,凝胶的化学交联结构很明显的优势就是体系稳定,而且还能反复溶胀收缩从而达到反复开关释放的目的. Kataoka 等对基于苯硼酸的葡萄糖响应性材料的合成和应用做了很多有价值的研究.他们开创性的工作就是利用聚(乙基吡咯烷酮-co-丙烯酸苯硼酸) (P(NVP-co-APBA)) 和聚乙烯醇(PVA)可逆作用复合成凝胶^[13],而后又用这种凝胶实现了葡萄糖响应性的胰岛素控制释放^[14].后来,他们又利用丙烯酰胺(AAm)和APBA的共聚制备凝胶,并达到糖响应的开关释放^[3].然而这种水凝胶虽具有葡萄糖响应性,可以用作移植载体^[15],但水凝胶由于尺寸太大,响应速度太慢.因此尺寸更小,结构稳定且响应能力更强的微凝胶逐渐受到更多的关注.

最初基于苯硼酸的葡萄糖响应性微凝胶是通

过两步法合成,首先共聚异丙基丙烯酸酰胺(NIPAM)和丙烯酸(AA)形成微凝胶,然后在羧基上修饰苯硼酸^[4, 16-19].修饰疏水的苯硼酸会明显降低微凝胶的体积相转变温度,含有10%苯硼酸的微凝胶在常温下会变得疏水而塌缩(图2),在 $pH=9$ 时由于苯硼酸和葡萄糖的结合凝胶的亲水性会增加,从而导致凝胶显著溶胀.溶胀的程度受到苯硼酸含量的影响,苯硼酸含量越高,溶胀越明显,同时凝胶也随着葡萄糖浓度的提高而增强响应.这种微凝胶具有明显的葡萄糖响应性,并能够用于制备胰岛素控制释放体系.但是由于响应的 pH 远高于生理条件,很难用于实际.因此研究人员也一直在改进这种体系以便能有实际应用.

Siddiq 等报道了利用4-乙基吡啶(4VP)制备能够在生理条件下葡萄糖响应性的微凝胶^[20].如图3所示,在P(NIPAM-4VP-AA)微凝胶上修饰苯硼酸可以得到含有不同4VP量的微凝胶.在凝胶中引入4VP可以通过N原子对B原子的给电子作用明显地降低苯硼酸的 pK_a ,含量越高,凝胶在生理条件下的响应性就越强.

除了通过改变微凝胶的组分来降低 pK_a ,也有很多研究通过设计不同的凝胶结构来达到目的. Ravaine 等报道合成了具有核壳结构的葡萄糖响应性微凝胶^[21].首先通过自由基聚合制备PNIPAM核,然后在以核为种子制备混合壳层NIPAM-APBA.在生理条件下这种壳层能够对葡萄糖响应,包覆的胰岛素也能够葡萄糖响应性释放.

Kataoka 等一直致力于研究智能响应的凝胶以提高响应性并实现自调节开关释放胰岛素.为此,他们研制出了一种表面为葡萄糖响应性薄层的凝胶^[6, 7, 22].如图4所示,由于凝胶外层响应速度更快,当凝胶塌缩时,外层因为脱水速度更快而导致凝胶内外相分离形成一层疏水层.而加入葡萄糖之后,外边的薄层响应会很快,同时表面薄层可以有效控制包覆的胰岛素的渗透,起到开关释放胰岛素的目的.

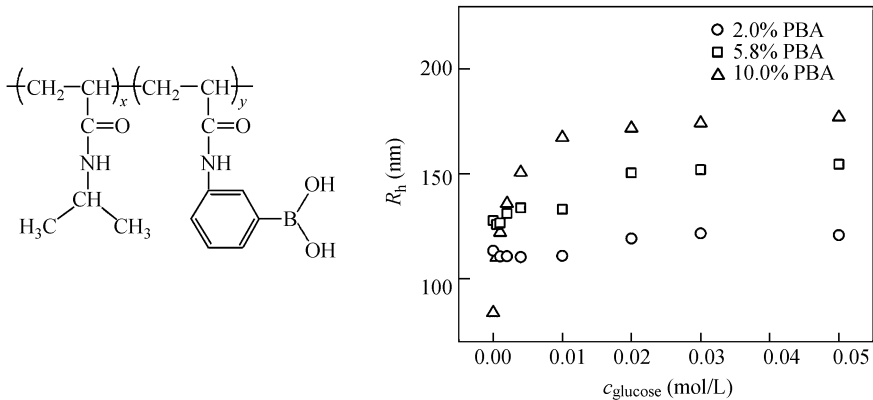


Fig. 2 Glucose-responsiveness of P (NIPAM-PBA) microgels: (a) P (NIPAM-PBA) microgels synthesized by modification APBA on P (NIPAM-AA) ; (b) glucose sensitivity of P (NIPAM-PBA) with different PBA contents at 25 °C and pH = 9.0 (Reprinted with permission from Ref. [4] ; Copyright (2006) American Chemical Society)

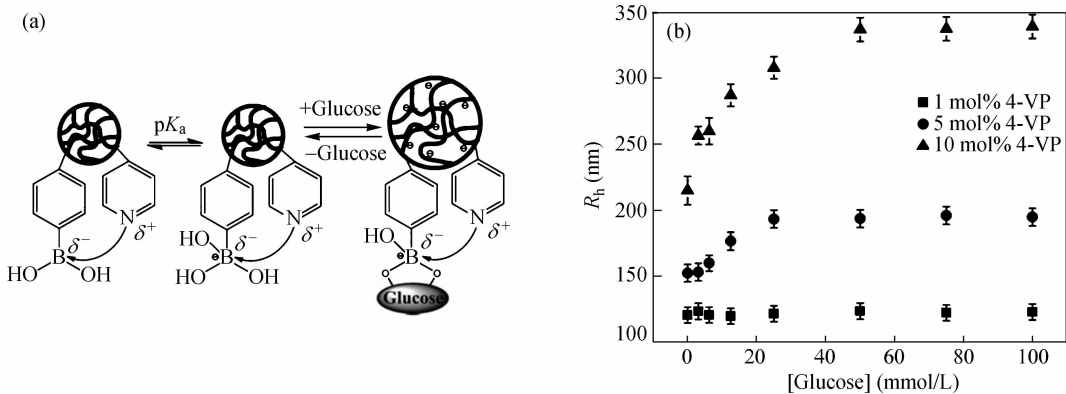


Fig. 3 Glucose responsiveness of P (NIPAM-4VP-PBA) microgels: (a) illustration for Lewis acid/base interaction in the microgels and glucose-induced swelling; (b) glucose sensitivity of p (NIPAM-4VP-PBA) with different 4VP contents at pH = 7.4 (Reprinted with permission from Ref. [20] ; Copyright © 2011 John Wiley & Sons, Inc)

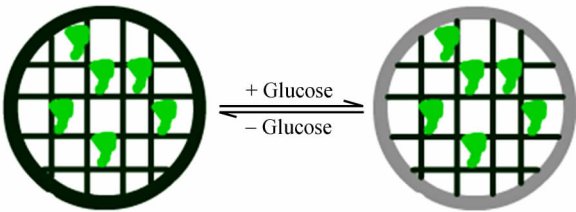


Fig. 4 Hydrogels containing glucose-responsive skin layer showing excellent self-regulated insulin release (Reproduced with permission from Ref. [7] ; Copyright © 2012 John Wiley & Sons, Inc)

葡萄糖响应性微凝胶虽然体系稳定性好,但是一般尺寸在几百纳米以上,会很快被体内免疫系统清除,很难满足胰岛素控制释放体系在体内长循环的要求.而且大尺寸导致凝胶葡萄糖响应速度慢,难以满足人体快速降低血糖的要求.另外上述对微凝胶的研究都只是停留在体外,没有考虑到材料的生物相容性问题.因此开发粒径在

100 nm 左右并具有良好的生物相容性的纳米凝胶具有重要的价值.陈学思等报道用一步巯基-烯基点击化学共聚季戊四醇-四(3-巯基丙酸酯)(QT),聚乙二醇二丙烯酸酯(PEGDA),聚乙二醇丙烯酸酯(PEGA)和APBA制备葡萄糖响应性纳米凝胶(图5)^[23].这种纳米凝胶尺寸在107 nm,外层为亲水性PEG长链.研究结果表明它能有效包覆胰岛素并在2 mg/mL葡萄糖浓度下(生理水平)对其响应释放,而且还能多次开关释放.进一步的MTT测试,乳酸脱氢酶活性测定以及溶血试验都表明纳米凝胶具有良好的生物相容性,因此该材料具有潜在的实际应用前景.

Wu等也报道了可注射的葡萄糖响应性纳米凝胶^[24].这种纳米凝胶通过NIPAM,右旋糖酐(Dextran)和APBA的共聚得到了尺寸150 nm的纳米凝胶,细胞实验表明它具有很好的生物相容

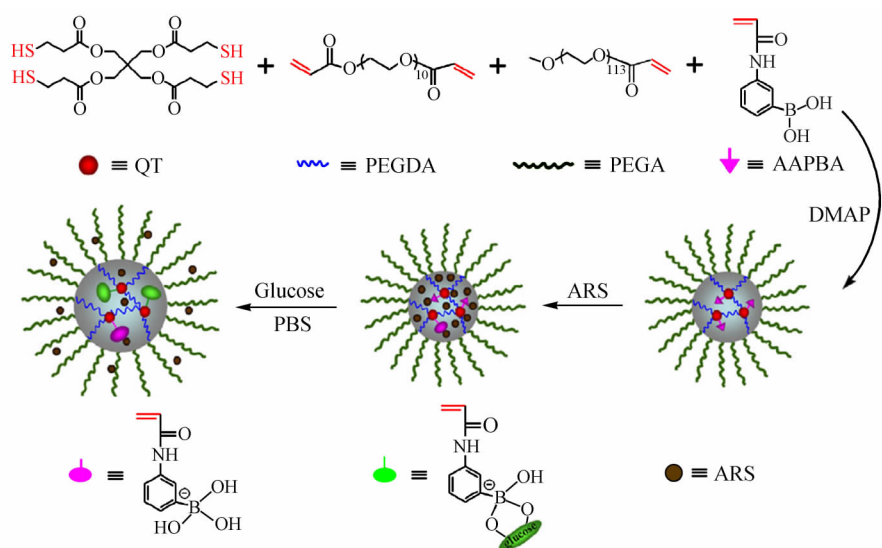


Fig. 5 Structures of the nanogel and glucose-sensitive behavior of ARS-loaded nanogel in PBS (Reprinted from Ref. [23]; Copyright (2013), with permission from Elsevier)

性. 活体实验表明负载胰岛素的纳米凝胶注射到糖尿病老鼠体内后能够降低血糖,并能持续 2 h 维持基础血糖 51% 的水平,表明这种葡萄糖响应性聚合物材料作为控制血糖的自调节控释体系具有实际应用的潜力.

1.2 嵌段共聚物自组装胶束和囊泡

葡萄糖响应性控制释放胰岛素载体要想真正具有实用价值,必须能够在体内稳定停留较长时间. 由嵌段共聚物自组装形成的胶束或是囊泡一般尺寸为 10 ~ 200 nm,并且外层一般为生物相容性很好的 PEG, 这样的结构及性质能够有效延长循环时间,另一方面颗粒尺寸小也使响应能力更强. 因此近年来基于苯硼酸的葡萄糖响应性自组

装聚合物胶束和囊泡因其潜在价值而得到大量研究.

这些聚合物组装体的成功制备首先得益于苯硼酸嵌段共聚物的合成. Jakle 等通过原子转移自由基聚合 (ATRP) 两种不同路径合成了结构明确的苯硼酸嵌段共聚物^[25, 26]. 路径一是先制备用频那醇保护的乙烯基苯硼酸单体,然后再连续两步聚合得到嵌段共聚物;路径二则是先得到三甲基硅烷化的嵌段聚合物,再用苯硼酸取代三甲基硅烷得到苯硼酸聚合物.

为了提高聚合物胶束在生理条件下的响应性,很多研究人员试图制备新型含苯硼酸的嵌段聚合物. Hest 等报道了一种基于 wulff 型苯硼酸的

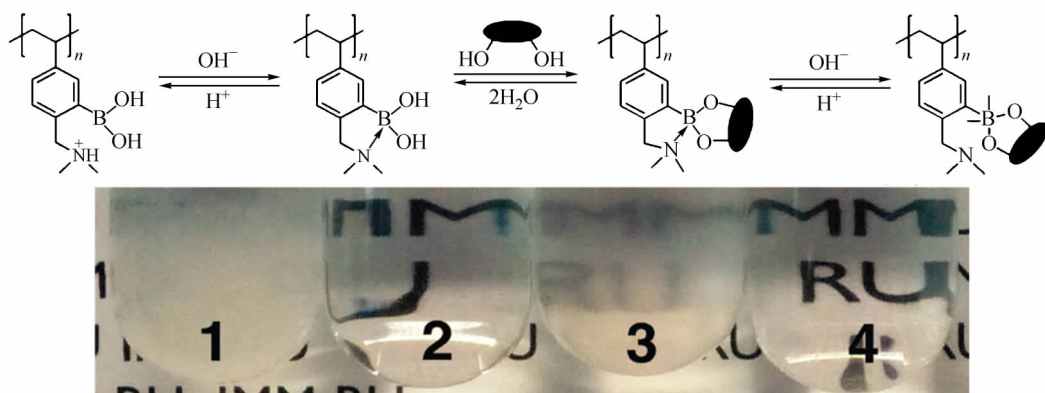


Fig. 6 A schematic representation of the Wulff-type boronic acid-containing polymer with monosaccharides in different pH environments The photograph shows tubes containing the polymer in different buffers after 18 h. Tube 1: polymer in PBS (pH = 7.4), Tube 2: in PBS/D-fructose (50 mmol/L), Tube 3: in PBS/D-glucose (100 mmol/L) and Tube 4: in TRIS/D-glucose (100 mmol/L, pH = 7.8) (Reprinted with permission from Ref. [27]; Copyright (2007) American Chemical Society)

嵌段共聚物以得到更合适的 pK_a ^[27]. 由于 B 和 N 原子的分子间相互作用,在中性 pH 时苯硼酸酯稳定性提高(图 6),这样就能提高单体生理条件下的葡萄糖响应性. 由这种单体形成的均聚物和嵌段共聚物在 pH 7.4 时和葡萄糖有明显的作

除了用 ATRP 合成聚苯硼酸,研究人员还开发了可逆加成-断裂转移自由基聚合(RAFT)等其他方法. Sumerlin 等报道通过 RAFT 合成了葡萄

糖响应性的聚丙烯酸苯硼酸-*b*-聚二甲基丙烯酰胺(PAPBA-*b*-PDMA)嵌段共聚物^[28],这种方法可以直接聚合未使用频那醇保护的单体. 改变亲水性嵌段 PDMA 的比例可以调节聚合物胶束解离的临界葡萄糖浓度^[29]. 之后为了能够使胶束在生理条件下响应,他们又用具有更低 pK_a 的单体 *N*-(2-丙烯酰胺乙基)-4-对酰胺苯硼酸(AEBB)制备嵌段共聚物(图 7)^[30]. 这个聚合物的苯硼酸 pK_a 为 8.2,当在 pH 7.4 加入葡萄糖时,聚集体解体.

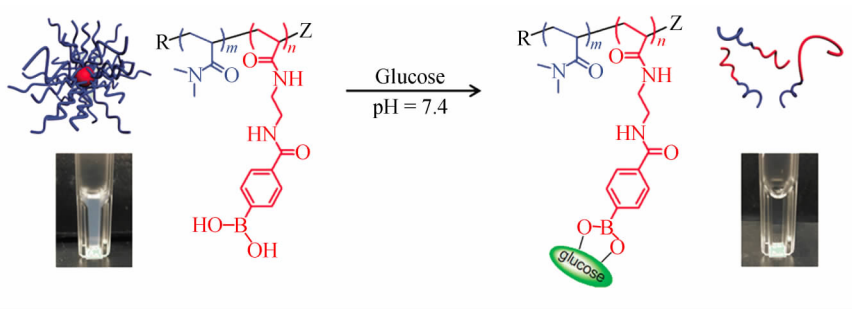


Fig. 7 Well-defined boronic acid block copolymers exhibiting glucose-responsive disassembly at physiological pH (Reprinted with permission from Ref. [30]; Copyright(2012) American Chemical Society)

一般聚合物胶束葡萄糖响应的过程就是利用葡萄糖和聚合物链上疏水苯硼酸的结合而使聚合物变得亲水,从而使胶束解离. 最近,杨晶等报道了^[31]一种由单体 2-苯硼酸酯-5-乙基-1,3-二氧己环丙烯酸酯(BDEMA)聚合形成的葡萄糖响应性

胶束(图 8). 这种由苯硼酸和二醇结合形成的苯硼酸酯会和葡萄糖作用,二醇被结合力更强的葡萄糖取代,这样聚合物链上的苯硼酸脱落,导致胶束的核变亲水而解体. 这种胶束在 pH = 7.4 和 37 ℃ 时具有非常快速的响应性,包覆的疏水药物

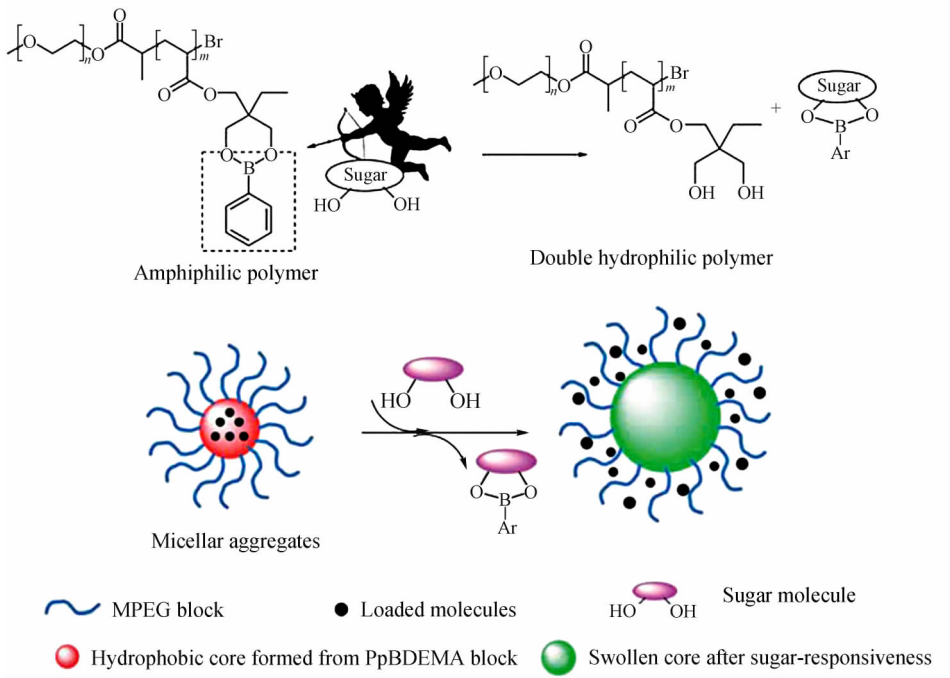


Fig. 8 Schematic illustration for sugar-responsive behavior of PEG-*b*-PPBDEMA micelles^[31] (Reproduced by permission of The Royal Society of Chemistry)

罗丹明能在 3 min 内释放 40%, 而包覆的胰岛素也能葡萄糖响应性释放, 并随着多次加入葡萄糖而多次释放^[32].

虽然 pK_a 合适的苯硼酸衍生物结构明确, 但是合成过程往往非常复杂, 因此研究人员也在研究其他更简单的方法. 史林启等报道了一种更简单的方法来调节胶束响应的 pK_a ^[9, 10]. 他们合成了嵌段共聚物聚乙二醇-*b*-聚(丙烯酸-*co*-丙烯酰胺苯硼酸)(PEG-*b*-P(AA-*co*-AAPBA)), 这个聚合物是通过在 PEG-*b*-PAA 上部分修饰 APBA 来得到, 当 APBA 的修饰度是 63% 时, 嵌段共聚物组装而成的核壳胶束能够在 $pH = 7.4$ 时具有葡萄糖响应性. 固态¹¹B MAS NMR 分析表明羧基和 B 原子的配位诱导硼酸从平面三角结构变成四面体结构, 这就降低了苯硼酸的 pK_a 从而能在 $pH = 7.4$ 时响应. 胶束包覆的胰岛素也能够葡萄糖响应性释放.

基于苯硼酸的聚丙烯酸胶束虽然具有明显的葡萄糖响应性, 但是它本身是不可降解的, 不利于材料在体内的应用. 陈学思等最近报道了葡萄糖响应性的聚多肽胶束用于生理条件下的自调节胰岛素控制释放^[33]. 这种聚合物通过在生物相容性

好生物可降解的聚乙二醇-*b*-聚谷氨酸(PEG-*b*-PGA)上修饰 APBA 来合成. 包覆的胰岛素在高血糖时快速释放(超过 2 mg/mL)而在正常血糖(1 mg/mL)时释放较少.

基于苯硼酸的嵌段共聚物胶束虽然成功用于包覆胰岛素并对其葡萄糖响应性释放, 但是其简单的核壳结构很容易在葡萄糖存在时直接解体, 这很难让它满足反复开关释放的要求. 史林启等报道了一种葡萄糖响应性复合胶束^[34], 它通过 2 条嵌段共聚物聚乙二醇-*b*-聚(天冬氨酸-*co*-天冬酰胺基苯硼酸)(PEG-*b*-P(Asp-*co*-AspPBA)) 和聚(异丙基丙烯酰胺)-*b*-聚(天冬氨酸-*co*-天冬酰胺基苯硼酸)(PNIPAM-*b*-P(Asp-*co*-AspPBA)) 共组装而得到(图 9). 这样复合胶束具有共同的核 P(Asp-*co*-AspPBA) 和混合的 PEG/PNIPAM 壳层. 当温度升高到 37 °C 后, PNIPAM 会塌缩在核表面形成一层连续的膜, 并在中间嵌有 PEG. 这种核-壳-冠结构的复合胶束展现出可逆的葡萄糖响应性溶胀, 并能反复开关释放胰岛素. 另外, 连续的 PNIPAM 膜还可以保护包覆的胰岛素免受蛋白酶的降解. 因此这种葡萄糖响应性复合胶束提供了一种简单有效的方法来构建自调节胰岛素控释体系.

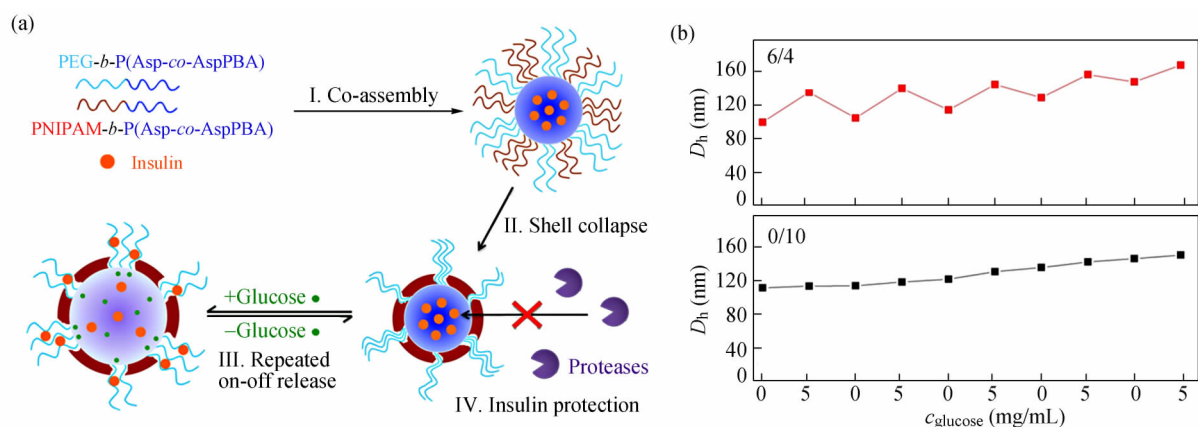


Fig. 9 (a) Schematic illustration of glucose-responsive complex polymeric micelle (CPM) for repeated on-off release and insulin protection under physiological conditions; (b) Repeated on-off release of insulin from CPM^[34] (Reproduced by permission of The Royal Society of Chemistry)

除了利用苯硼酸和羧基复合降低 pK_a 的方法, 很多研究也表明苯硼酸和二醇类复合也能降低 pK_a ^[11, 12, 35-39]. Sumerline 等报道了基于苯硼酸和二醇的可逆复合的动态共价纳米聚集体(图 10)^[38]. 苯硼酸和多元二醇能够复合成聚集体, 但是加入单一二醇后又能够竞争结合苯硼酸, 导致聚集体的解离. 这种通过竞争交换反应的形成-解

离的过程能够多次反复进行.

不同于小分子多元二醇, 史林启等报道了由 PEG-*b*-P(AA-*co*-AAPBA) 和聚葡萄糖聚(丙烯酸-*co*-丙烯酰胺葡萄糖胺)(P(AA-*co*-AGA)) 共组装形成的葡萄糖响应性复合胶束^[11, 12]. 这种复合胶束稳定性强, 由于它具有纳米尺寸以及亲水的核能快速响应, 更重要的是苯硼酸和聚葡萄糖的复合

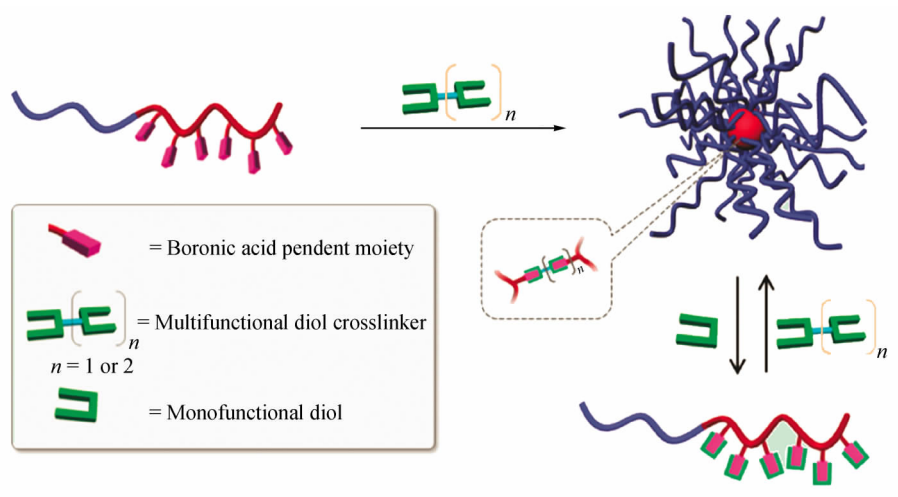


Fig. 10 Formation and disintegration of dynamic-covalent nanoaggregates *via* boronic ester formation and transesterification (Reprinted with permission from Ref. [38] ; Copyright (2011) American Chemical Society)

能拉低的苯硼酸的 pK_a , 因此其响应能力比单一 PEG-*b*-P(AA-*co*-AAPBA) 胶束更强. 它在生理条件 2 mg/mL 葡萄糖浓度时就能够响应, 并可以实现高血糖时葡萄糖响应性开关释放, 因此是一个有效的方法来制备自调节胰岛素控释体系.

除了嵌段共聚物自组装形成的胶束, 自组装的囊泡因其具有亲水的中空结构能够提高胰岛素包覆率从而也受到广泛研究. 其中最初的工作是由 Hest 等报道^[40], 他们合成了两嵌段共聚物聚乙二醇-*b*-聚苯硼酸 (PEG-*b*-PSBA) 并自组装形成

囊泡(图 11), 该囊泡能够在葡萄糖存在时解体. 另外为了制备膜透过性可调控的纳米反应器, 他们又加入了另一条嵌段共聚物聚乙二醇-*b*-聚苯乙烯 (PEG-*b*-PS) 和 PEG-*b*-PSBA 共组装形成囊泡, 其中 PS 和 PSBA 形成混合核. 加入葡萄糖后, 由于 PSBA 变得亲水, 囊泡的疏水层开始变得疏松, 产生很多小孔. 包覆酶的囊泡可以通过改变 2 条聚合物来调节核上的小孔, 从而调节小分子的跨膜扩散能力, 形成纳米反应器.

之后 Kim 等报道了在生理条件下具有葡萄

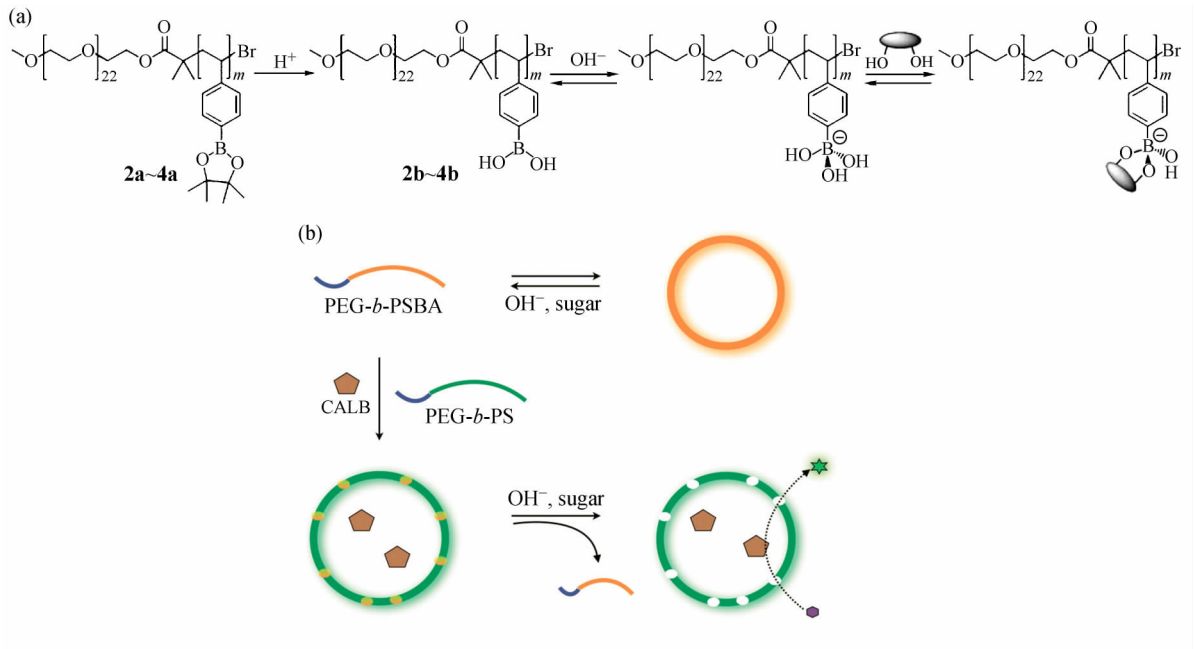


Fig. 11 (a) Molecular structure of block copolymers, PEG-*b*-PSBA, and their equilibrium with sugar molecules in a basic aqueous phase; (b) Schematic representation of the formation of bioreactors with a permeable membrane utilizing the sugar responsiveness of the block copolymers (Reprinted with permission from Ref. [40] ; Copyright (2009) WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA , Weinheim)

糖响应性并控制释放胰岛素的自组装囊泡^[41]. 他们合成了 pK_a 更低的苯硼酸衍生物单体乙烯基苯硼氧化物 (BOx) (图 12), 再通过 RAFT 方法聚合

得到嵌段共聚物 PEG-*b*-PBOx. 该囊泡能够在中性 pH 下葡萄糖响应性解体, 并释放出胰岛素.

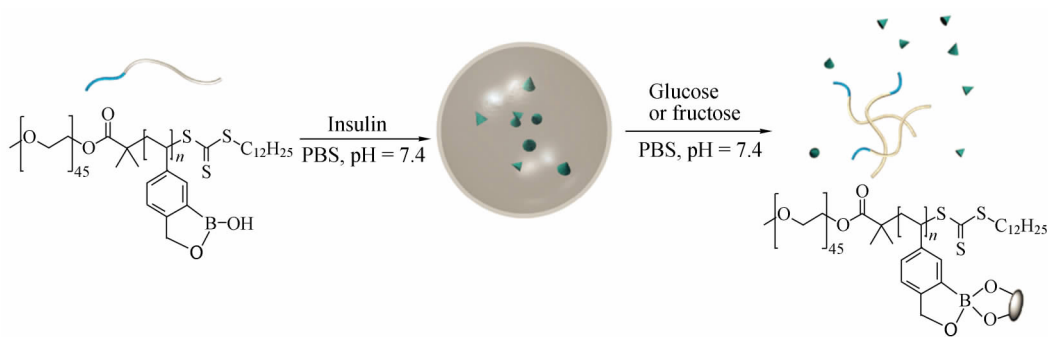


Fig. 12 Self-assembly of PEG-*b*-PBOx and its disassembly in the presence of monosaccharides (Reprinted with permission from Ref. [41]; Copyright (2012) American Chemical Society)

1.3 模板法制备的囊泡

基于苯硼酸的聚合物自组装囊泡虽然受到大量研究, 但是其形态尺寸并不是很容易控制. 因此研究人员也通过模板法制备基于苯硼酸的葡萄糖响应性囊泡. 如图 13 所示, Smedt 等报道了利用聚阳离子聚(丙烯酰胺基苯硼酸-*co*-二甲基胺乙基丙烯酸酯) (P(AAPBA-*co*-DMAEA)) 和聚阴离子聚(乙烯基苯磺酸钠) (PSS) 层层组装构建葡萄糖响应性囊泡^[42]. 加入葡萄糖之后, 苯硼酸基团由中性变成负电, 囊泡的电性平衡被打破, 导致两种聚合物的相互排斥, 造成囊泡的解体, 而这种在中性条件下的响应可以潜在应用于胰岛素的控制释放.

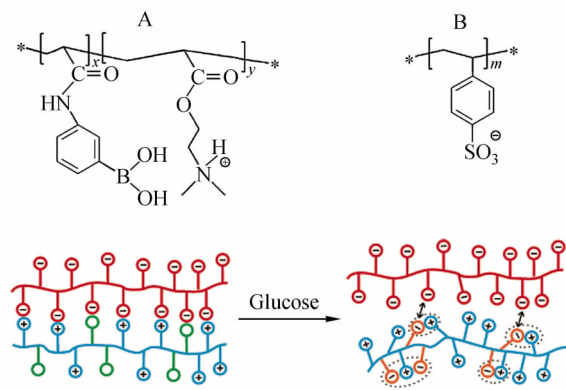


Fig. 13 Polyelectrolytes used for the fabrication of the hollow nanocapsules and proposed mechanism of the glucose-induced decomplexation of the polyelectrolyte bilayer (Reprinted with permission from Ref. [42]; Copyright (2006) American Chemical Society)

连续自由基聚合制备了葡萄糖和温度双响应的空心纳米囊泡^[43]. 首先 PNIPAM 寡聚物通过自由基聚合形成模板, 再在表面共聚 NIPAM 和 APBA. 增加 APBA 的比例会是减小空心球的尺寸, 并能使壳层更加多空. 空心囊泡的葡萄糖响应 pK_a 为 8.86, 溶胀程度和葡萄糖浓度成正比.

2 实时血糖检测

除了用于制备自调节胰岛素投递体系, 基于苯硼酸的葡萄糖响应性聚合物材料还用于血糖浓度的持续检测研究. 对葡萄糖浓度的检测研究主要有荧光感应器^[44~47] 和比色感应器^[48~51].

2.1 荧光感应器

基于苯硼酸的荧光法检测血糖的优势在于稳定性好并且能够快速可逆响应. 通过在苯硼酸上连接荧光基团, 当加入葡萄糖之后, 由于苯硼酸和糖的作用使得荧光强度发生变化从而达到检测葡萄糖的目的. 这种方法的关键在于如何放大葡萄糖响应性的荧光变化程度. 在这种荧光体系中, 光致电子转移 (PET) 模式受到广泛研究^[52, 53]. Czarnik 等报道了蒽硼酸能通过和葡萄糖结合增加淬灭, 从而改变荧光强度^[52].

为了能够应用于活体, 这种荧光响应需要能够在生理条件下发生. James 等在单一和二元苯硼酸体系中苯环邻位引入氨基来调节荧光响应 pH 到 7.77 (图 14)^[54]. 另外, 二元苯硼酸体系还表现出对葡萄糖响应的专一性和敏感性. 在所有的单糖中, 只有葡萄糖能够同时和两个苯硼酸作用, 因此加入葡萄糖后, 二元苯硼酸和葡萄糖的作

另外刘鹏等报道通过一锅两步“自清除”法

用比其他单糖更强,而且结合之后能够抑制氨基对荧光分子的光致电子转移,使其荧光强度显著增强.

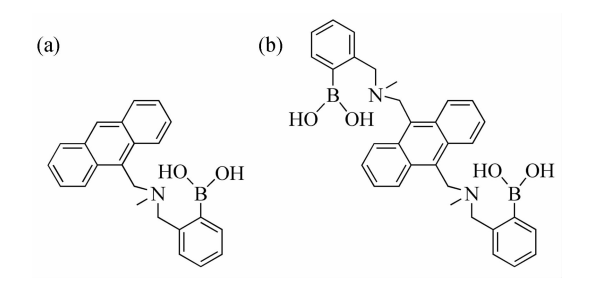


Fig. 14 Structure of (a) monoboric acid and (b) diboric acid (Reprinted with permission from Ref. [54]; Copyright (1995) American Chemical Society)

基于这一点,Takeuchi 等报道了基于苯硼酸的葡萄糖响应性凝胶用于活体实时血糖监测^[55]. 这种凝胶除了葡萄糖识别位点还包含荧光基团和亲水性聚合物层,可以让二元苯硼酸基团很容易和葡萄糖结合并激发荧光. 活体实验表明注射这种荧光颗粒后有足够强的信号在表皮检测血糖水平. 另外,他们为了让这种基于荧光的传感器更稳定的留在植入部位而制备了纤维状的葡萄糖响应

性凝胶^[56]. 这种纤维的表皮植入数量能够被很好的控制,在植入部位可以停留长达 140 天,用 PEG 代替聚丙烯酰胺后炎症反应减弱,且在使用后也能够非常方便的移除,因此具有潜在的价值用于活体血糖持续检测.

除了荧光分子,具有荧光性质的无机金属纳米粒子也被广泛用于葡萄糖的光学检测,比如 CdS 量子点^[57]和 Ag 等贵金属纳米粒子^[58, 59]. 量子点因其具有许多优点如光稳定性强,量子产率高等优势而受到广泛研究,但它在体内可能存在严重的安全性问题. 而贵金属纳米粒子由于其良好的生物相容性可以作为潜在的替代品.

Zhou 等报道了一种能够兼具葡萄糖的光学检测以及自调节胰岛素控释的纳米凝胶(图 15)^[60]. 这种纳米凝胶以 Ag 纳米粒子为核,在其表面共聚 APBA 和丙烯酸二甲胺基乙酯(DMAEA). 由于其中性条件能够发生明显的葡萄糖响应性溶胀,进而使 Ag 纳米粒子的光致发光因其周边环境折光指数的改变而淬灭. 这种多功能杂化纳米凝胶具有潜在的同时用于光学检测和控释释放的前景.

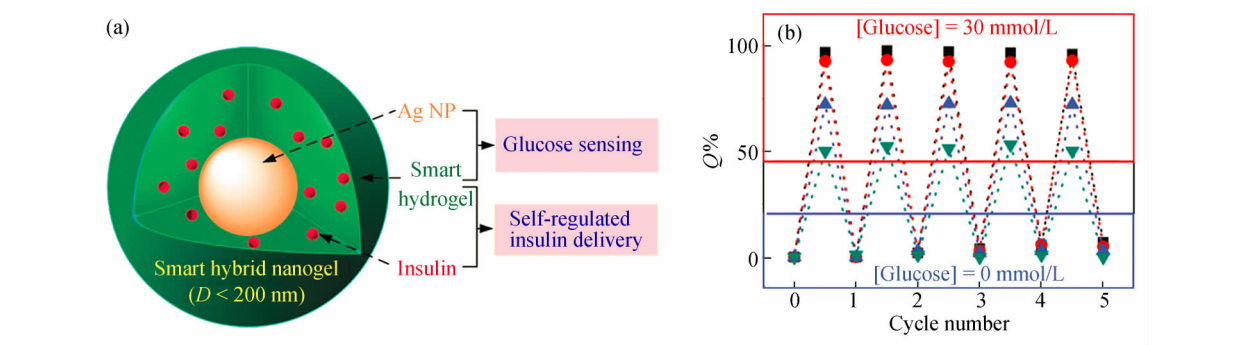


Fig. 15 Smart hybrid nanogel for glucose monitor and self-regulated insulin delivery: (a) Structure of smart hybrid nanogel; (b) Photoluminescence quenching and recovery cycles upon the repeated addition (30 mmol/L) and dialysis removal of glucose (0 mmol/L) in the dispersion medium of the corresponding hybrid nanogels (Reprinted with permission from Ref. [60]; Copyright (2010) American Chemical Society)

2.2 可视感应器

胶粒晶体阵列(CCAs)因其独特的结构和在光学领域的潜在应用而受到广泛研究. 它是由胶体粒子(约 100 nm)周期性排列并镶嵌在聚合物凝胶中而形成. 根据可见光的布拉格衍射原理,这些排列规整的点阵结构表现出颜色. 衍射光的波长取决于晶格长度,即胶粒之间的距离. 当聚合物凝胶上修饰苯硼酸基团后,凝胶能够在葡萄糖存在时响应溶胀,这会改变晶格长度从而改变衍射

光的波长. 这样我们就能根据可见光颜色的变化而监测葡萄糖的浓度.

Asher 等第一次报道了基于聚苯乙烯(PS)纳米球和 PAAm 水凝胶的可视感应器^[48]. 在修饰了葡萄糖识别基团 PBA 后,晶体胶粒阵列能够在葡萄糖存在时溶胀,衍射波长红移(图 16). 然而,这个体系只在低离子强度下响应,而无法用于生理条件. 为了能用于高离子强度环境,他们又研究了一个类似的体系,它基于 PAAm-PEG 或 PAAm-

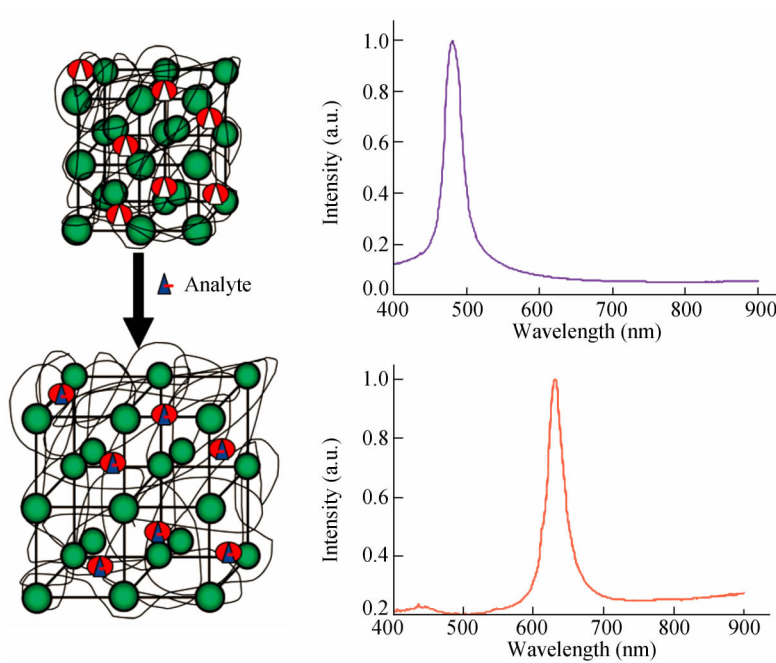


Fig. 16 Polymerized crystalline colloidal array photonic crystal sensing materials consist of an embedded CCA surrounded by a polymer hydrogel network containing a molecular-recognition element (Reprinted with permission from Ref. [48]; Copyright (2003) American Chemical Society)

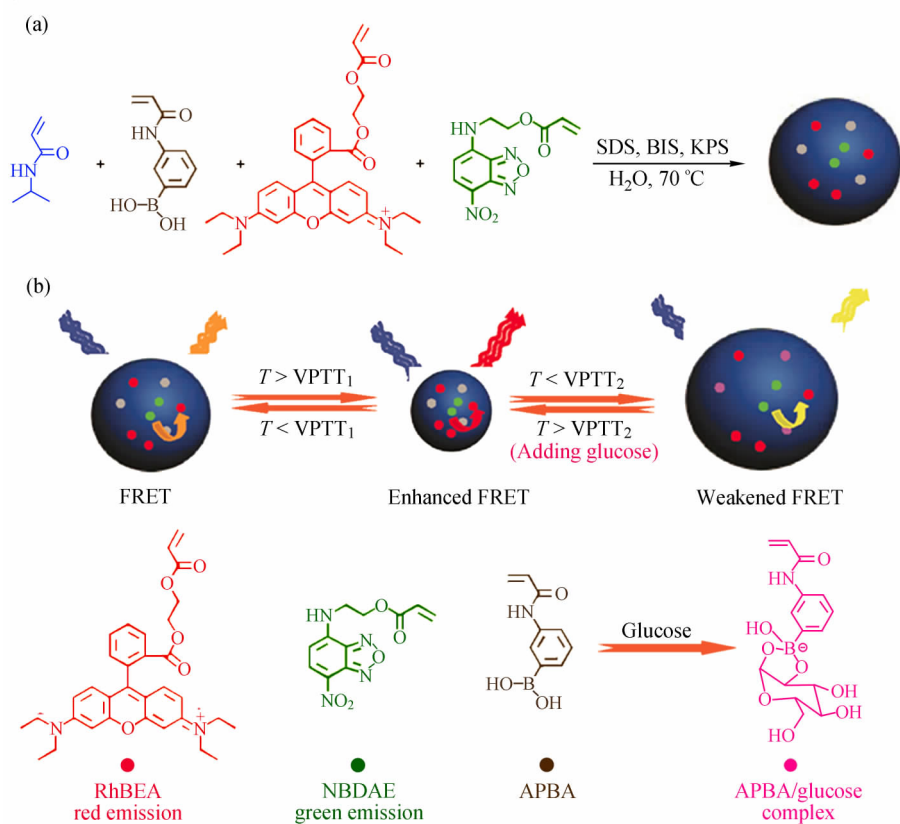


Fig. 17 (a) Synthetic schemes employed for the preparation of thermo- and glucose-responsive P(NIPAM-APBA-NBDAERhBEA) fluorescent microgels *via* emulsion polymerization; (b) Schematic illustration for the modulation of FRET efficiencies within P(NIPAM-APBA-NBDAE-RhBEA) microgels by temperature variations and the addition of glucose (Reprinted with permission from Ref. [61]; Copyright (2011) American Chemical Society)

15-crown-5(15-冠-5)凝胶并对其修饰苯硼酸^[49]. 由于 PEG 或冠醚的存在,它们能够和苯硼酸在葡萄糖存在下形成超分子复合结构,增加凝胶的交联度,导致光子晶体衍射的蓝移. 这种结构能够在生理条件下对葡萄糖响应. 为了进一步提高响应速度,他们在凝胶中共聚丙烯酸正己酯以控制凝胶体系的弹性和亲疏水的平衡^[50]. 结果显示响应速度显著提高,在平均血糖浓度(5 mmol/L)时凝胶完全响应只需要 90 s,而在眼泪中平均葡萄糖浓度(0.15 mmol/L)时只需 300 s. 这种体系有望用于制备对糖尿病患者的诊断用隐形眼镜.

除了胶体晶体阵列,刘世勇等报道了具有 FRET 效应的葡萄糖响应性微凝胶用于葡萄糖浓度的检测^[61]. 该微凝胶基于温敏性 PNIPAM 和葡萄糖响应性 PBA,并同时引入了 FRET 给体 NBDAE 和受体 RhBEA(图 17). 逐渐增加葡萄糖能够让凝胶发生溶胀,体积增大,这样凝胶内 FRET 的给体和受体之间距离就会增大,FRET 效应减弱,导致凝胶激发光波长改变. 因此这种微凝胶可以用于可视葡萄糖传感器.

3 结论和展望

糖尿病的治疗进展依赖于找到能够精确控制释放所需要量的胰岛素以及持续检测血糖浓度的材料. 化学交联的微凝胶具有很好的稳定性以及反复释放胰岛素的能力;自组装聚合物胶束具有长循环的功能并能快速响应;而囊泡则具有胰岛素负载率高的优势. 长时间持续检测葡萄糖的荧光感应器则很有希望将来应用于实际,这也给我们带来了对未来材料应用的希望. 虽然这些材料的研究有了很多进展,但要实现真正的临床应用还任重道远. 面临的问题依然有胰岛素的包覆率低,反复开关释放胰岛素体系实用难等. 对于胰岛素包覆率低的问题,目前潜在的解决方法有利用纳米胶囊包覆胰岛素^[62, 63]或是化学修饰胰岛素结构以增强它与苯硼酸聚合物的作用,如糖基化胰岛素. 而反复开关释放胰岛素是一个非常核心但又棘手的问题,表面带有隐形壳层的响应性纳米凝胶和结构稳定的复合胶束或许是有潜力的发展方向. 然而,鉴于目前的胰岛素投递载体体内循环时间基本很难满足糖尿病治疗的要求,皮下植入^[64]或是口服投递^[65]载体应该更有实际的应用前景.

REFERENCES

- 1 Shiino D, Murata Y, Kubo A, Kim Y J, Kataoka K, Koyama Y, Kikuchi A, Yokoyama M, Sakurai Y, Okano T. *J Control Release*, 1995, 37(3): 269 ~ 276
- 2 Matsumoto A, Ikeda S, Harada A, Kataoka K. *Biomacromolecules*, 2003, 4(5): 1410 ~ 1416
- 3 Kataoka K, Miyazaki H, Bunya M, Okano T, Sakurai Y. *J Am Chem Soc*, 1998, 120(48): 12694 ~ 12695
- 4 Zhang Y J, Guan Y, Zhou S Q. *Biomacromolecules*, 2006, 7(11): 3196 ~ 3201
- 5 Hoare T, Pelton R. *Macromolecules*, 2007, 40(3): 670 ~ 678
- 6 Matsumoto A, Yamamoto K, Yoshida R, Kataoka K, Aoyagi T, Miyahara Y. *Chem Commun*, 2010, 46(13): 2203 ~ 2205
- 7 Matsumoto A, Ishii T, Nishida J, Matsumoto H, Kataoka K, Miyahara Y. *Angew Chem Int Edit*, 2012, 51(9): 2124 ~ 2128
- 8 Dowlut M, Hall D G. *J Am Chem Soc*, 2006, 128(13): 4226 ~ 4227
- 9 Wang B L, Ma R J, Liu G, Li Y, Liu X J, An Y L, Shi L Q. *Langmuir*, 2009, 25(21): 12522 ~ 12528
- 10 Wang B L, Ma R J, Liu G, Liu X J, Gao Y H, Shen J Y, An Y L, Shi L Q. *Macromol Rapid Comm*, 2010, 31(18): 1628 ~ 1634
- 11 Ma R J, Yang H, Li Z, Liu G, Sun X C, Liu X J, An Y L, Shi L Q. *Biomacromolecules*, 2012, 13(10): 3409 ~ 3417
- 12 Yang H, Sun X, Liu G, Ma R, Li Z, An Y, Shi L. *Soft Matter*, 2013, 9(35): 8589 ~ 8599
- 13 Kitano S, Kataoka K, Koyama Y, Okano T, Sakurai Y. *Macromol Rapid Comm*, 1991, 12(4): 227 ~ 233
- 14 Kitano S, Koyama Y, Kataoka K, Okano T, Sakurai Y. *J Control Release*, 1992, 19(1-3): 161 ~ 170
- 15 Ravaine V, Ancla C, Catargi B. *J Control Release*, 2008, 132(1): 2 ~ 11
- 16 Hoare T, Pelton R. *Biomacromolecules*, 2008, 9(2): 733 ~ 740
- 17 Xing S, Guan Y, Zhang Y. *Macromolecules*, 2011, 44(11): 4479 ~ 4486
- 18 Guan Ying(关英), Luo Qiaofang(罗巧芳), Zhang Yongjun(张拥军). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2010, (3): 280 ~ 284
- 19 Xing Shuying(邢淑莹), Guan Ying(关英), Zhang Yongjun(张拥军). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2011, (6): 567 ~ 571
- 20 Farooqi Z H, Wu W, Zhou S, Siddiq M. *Macromol Chem Phys*, 2011, 212(14): 1510 ~ 1514
- 21 Lapeyre V, Ancla C, Catargi B, Ravaine V. *J Colloid Interf Sci*, 2008, 327(2): 316 ~ 323

- 22 Matsumoto A, Kurata T, Shiino D, Kataoka K. *Macromolecules*, 2004, 37(4) : 1502 ~ 1510
- 23 Zhao L, Xiao C, Ding J, He P, Tang Z, Pang X, Zhuang X, Chen X. *Acta Biomater*, 2013, 9(5) : 6535 ~ 6543
- 24 Wu Z, Zhang X, Guo H, Li C, Yu D. *J Mater Chem*, 2012, 22(42) : 22788 ~ 22796
- 25 Qin Y, Cheng G L, Sundararaman A, Jakle F. *J Am Chem Soc*, 2002, 124(43) : 12672 ~ 12673
- 26 Qin Y, Sukul V, Pagakos D, Cui C Z, Jakle F. *Macromolecules*, 2005, 38(22) : 8987 ~ 8990
- 27 Cambre J N, Roy D, Gondi S R, Sumerlin B S. *J Am Chem Soc*, 2007, 129(34) : 10348
- 28 Roy D, Cambre J N, Sumerlin B S. *Chem Commun*, 2008(21) : 2477 ~ 2479
- 29 Cambre J N, Roy D, Sumerlin B S. *J Polym Sci Pol Chem*, 2012, 50(16) : 3373 ~ 3382
- 30 Roy D, Sumerlin B S. *ACS Macro Lett*, 2012, 1(5) : 529 ~ 532
- 31 Yao Y, Wang X M, Tan T W, Yang J. *Soft Matter*, 2011, 7(18) : 7948 ~ 7951
- 32 Yao Y, Zhao L, Yang J, Yang J. *Biomacromolecules*, 2012, 13(6) : 1837 ~ 1844
- 33 Zhao L, Ding J X, Xiao C S, He P, Tang Z H, Pang X, Zhuang X L, Chen X S. *J Mater Chem*, 2012, 22(24) : 12319 ~ 12328
- 34 Liu G, Ma R J, Ren J, Li Z, Zhang H X, Zhang Z K, An Y L, Shi L Q. *Soft Matter*, 2013, 9(5) : 1636 ~ 1644
- 35 Springsteen G, Wang B H. *Tetrahedron*, 2002, 58(26) : 5291 ~ 5300
- 36 Cao H S, Heagy M D. *J Fluoresc*, 2004, 14(5) : 569 ~ 584
- 37 Jin X, Zhang X, Wu Z, Teng D, Zhang X, Wang Y, Wang Z, Li C. *Biomacromolecules*, 2009, 10(6) : 1337 ~ 1345
- 38 Bapat A P, Roy D, Ray J G, Savin D A, Sumerlin B S. *J Am Chem Soc*, 2011, 133(49) : 19832 ~ 19838
- 39 Wang Di(王 嶙), Liu Shiyong(刘世勇). *Scientia Sinica Chimica(中国科学 化学)*, 2011, 41(2) : 351 ~ 358
- 40 Kim K T, Cornelissen J J L M, Nolte R J M, van Hest J C M. *Adv Mater*, 2009, 21(27) : 2787
- 41 Kim H, Kang Y J, Kang S, Kim K T. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(9) : 4030 ~ 4033
- 42 De Geest B G, Jonas A M, Demeester J, De Smedt S C. *Langmuir*, 2006, 22(11) : 5070 ~ 5074
- 43 Du P, Mu B, Wang Y, Liu P. *Mater Lett*, 2012, 75 : 77 ~ 79
- 44 Suenaga H, Mikami M, Sandanayake K, Shinkai S. *Tetrahedron Lett*, 1995, 36(27) : 4825 ~ 4828
- 45 Kataoka K, Hisamitsu I, Sayama N, Okano T, Sakurai Y. *J Biochem*, 1995, 117(6) : 1145 ~ 1147
- 46 Sun X Y, Liu B, Jiang Y B. *Anal Chim Acta*, 2004, 515(2) : 285 ~ 290
- 47 Yamauchi A, Sakashita Y, Hirose K, Hayashita T, Suzuki I. *Chem Commun*, 2006(41) : 4312 ~ 4314
- 48 Asher S A, Alexeev V L, Goponenko A V, Sharma A C, Lednev I K, Wilcox C S, Finegold D N. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(11) : 3322 ~ 3329
- 49 Alexeev V L, Sharma A C, Goponenko A V, Das S, Lednev I K, Wilcox C S, Finegold D N, Asher S A. *Anal Chem*, 2003, 75(10) : 2316 ~ 2323
- 50 Ben-Moshe M, Alexeev V L, Asher S A. *Anal Chem*, 2006, 78(14) : 5149 ~ 5157
- 51 Hu J M, Liu S Y. *Macromolecules*, 2010, 43(20) : 8315 ~ 8330
- 52 Yoon J, Czarnik A W. *J Am Chem Soc*, 1992, 114(14) : 5874 ~ 5875
- 53 Springsteen G, Ballard C E, Gao S, Wang W, Wang B H. *Bioorg Chem*, 2001, 29(5) : 259 ~ 270
- 54 James T D, Sandanayake K, Iguchi R, Shinkai S. *J Am Chem Soc*, 1995, 117(35) : 8982 ~ 8987
- 55 Shibata H, Heo Y J, Okitsu T, Matsunaga Y, Kawanishi T, Takeuchi S. *P Natl Acad Sci Usa*, 2010, 107(42) : 17894 ~ 17898
- 56 Heo Y J, Shibata H, Okitsu T, Kawanishi T, Takeuchi S. *P Natl Acad Sci Usa*, 2011, 108(33) : 13399 ~ 13403
- 57 Cordes D B, Gamsey S, Singaram B. *Angew Chem Int Edit*, 2006, 45(23) : 3829 ~ 3832
- 58 Aslan K, Lakowicz J R, Geddes C D. *Anal Biochem*, 2004, 330(1) : 145 ~ 155
- 59 Aslan K, Lakowicz J R, Geddes C D. *Anal Chem*, 2005, 77(7) : 2007 ~ 2014
- 60 Wu W T, Mitra N, Yan E, Zhou S Q. *ACS Nano*, 2010, 4(8) : 4831 ~ 4839
- 61 Wang D, Liu T, Yin J, Liu S Y. *Macromolecules*, 2011, 44(7) : 2282 ~ 2290
- 62 Yan M, Du J J, Gu Z, Liang M, Hu Y F, Zhang W J, Priceman S, Wu L L, Zhou Z H, Liu Z, Segura T, Tang Y, Lu Y F. *Nature Nanotech*, 2010, 5(1) : 48 ~ 53
- 63 Liu Y, Du J J, Yan M, Lau M Y, Hu J, Han H, Yang O O, Liang S, Wei W, Wang H, Li J M, Zhu X Y, Shi L Q, Chen W, Ji C, Lu Y F. *Nature Nanotech*, 2013, 8(3) : 187 ~ 192
- 64 Gu Z, Aimetti A A, Wang Q, Dang T T, Zhang Y, Veiseh O, Cheng H, Langer R S, Anderson D G. *ACS Nano*, 2013, 7(5) : 4194 ~ 4201
- 65 Pridgen E M, Alexis F, Kuo T T, Levy-Nissenbaum E, Karnik R, Blumberg R S, Langer R, Farokhzad O C. *Sci Transl Med*, 2013, 5(213) : 1 ~ 8

Phenylboronic Acid Based Glucose-responsive Polymeric Materials
for Insulin Delivery and Glucose Monitoring

Gan Liu, Hao Yang, Ru-jiang Ma, Lin-qi Shi *

(Key Laboratory of Functional Polymer Materials of Ministry of Education, Institute of Polymer Chemistry,
Nankai University, Collaborative Innovation Center of Chemical Science and Engineering, Tianjin 300071)

Abstract Recently, glucose-responsive polymeric materials have attracted great interest for their potential applications in diabetes diagnosis and therapy. Among them, phenylboronic acid (PBA) based polymers hold advantages such as high stability and reversible response as they are totally synthetic materials. This article reviewed the advances of PBA-based polymeric materials for self-regulated insulin delivery and continuous glucose monitoring. Self-regulated insulin delivery systems mainly include glucose-responsive micro/nanogels, polymeric micelles and vesicles. Their component and morphology have great effect on the glucose sensibility, repeated on-off release and insulin encapsulation. On the other hand, PBA-based systems for continuous glucose monitoring contain fluorescent sensors and colorimetric sensors. Since these polymeric materials are gradually optimized, they would show more potential for further practical applications.

Keywords Phenylboronic acid, Glucose-responsive, Polymer, Insulin delivery, Glucose monitoring

* Corresponding author: Lin-qi Shi, E-mail: shilingqi@nankai.edu.cn