

生物分子识别响应性水凝胶 及其智能给药系统

查刘生^{1,2}, 刘紫微¹

(1. 东华大学 纤维材料改性国家重点实验室, 上海 201620; 2. 东华大学 分析测试中心, 上海 201620)

摘 要:生物分子识别响应性水凝胶是模拟生命活动过程中的分子识别现象,能识别特定生物分子而产生刺激响应性的智能高分子材料. 用它构筑的智能系统类似于具有反馈和平衡功能的生物系统,在生物工程和生物医学领域有非常诱人的应用前景. 对能识别特定生物分子,如葡萄糖、酶、抗原、核酸等,产生刺激响应的智能水凝胶的制备及其在智能给药系统中的应用研究情况进行了详细介绍. 这些内容有助于更好地理解生物分子识别响应性水凝胶的结构和功能,另外也为发展新型智能给药系统提供了很好的思路.

关键词:智能水凝胶;生物分子识别;智能给药系统;刺激响应性

中图分类号:Q811 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4785(2007)06-0038-10

Biomolecular recognition in responsive hydrogels and their use as intelligent drug delivery systems

ZHA Liu-sheng^{1,2}, LIU Zi-wei¹

(1. State Key Laboratory for Modification of Chemical Fibers and Polymer Materials, Donghua University, Shanghai 201620, China; 2. Research Center for Analysis and Measurement, Donghua University, Shanghai 201620, China)

Abstract :Biomolecule recognition responsive hydrogels are the intelligent polymer materials which can recognize specific biomolecules and respond to them mimicking the molecule-recognizing process of life activity. The intelligent systems fabricated from the hydrogels resemble the biological systems with feedback and equilibrium functions, and they have a great deal of potential applications in the fields of bioengineering and biomedicine. In this paper, we give a detailed overview of current research in the preparation of intelligent hydrogels that respond to specific molecules, such as glucose, enzymes, antigens, nucleic acid, etc. The application of these hydrogels in intelligent drug delivery systems is also introduced. Then the paper explains the relationship between the structures and functions of biomolecular recognition in responsive hydrogels, giving a good basis for the development of new types of intelligent drug delivery systems.

Keywords :intelligent hydrogels; biomolecular recognition; intelligent drug delivery system; stimulative response

维持生命的最重要的生物系统是和像保持体内平衡这样固有的系统反馈功能紧密相连的. 例如,分泌细胞释放荷尔蒙激素受生理循环系统和特定的输入信号所调节. 这些固有的反馈系统能够感知特殊的离子或像荷尔蒙这样的生物分子(传感器功能),并且产生构象变化或者使构成系统的生物分子发生

重排从而发挥生物功能(执行器功能). 因此,如果把这些功能组合在聚合物材料中,就可以模仿天然的反馈系统构建能应用于生物化学和生物医学领域的智能系统.

能响应环境刺激而发生体积变化的智能水凝胶是一种智能高分子材料,它既有传感器功能又有执行器功能. 人们已从实验和理论角度对能感知环境温度、pH 变化、光和电场等非特异刺激信号产生响应的智能水凝胶进行了充分研究,这些智能水凝胶

收稿日期:2007-03-02.
基金项目:国家自然科学基金资助项目(50573009).

已在化学开关、传感器、机械化学执行器、特殊的分离系统、智能给药系统、生物反应器和人造肌肉等方面有许多实际的用途^[1-2]。模仿生物系统中的分子识别现象,能识别特定分子而产生刺激响应性的水凝胶是一种新型智能水凝胶。用这种智能水凝胶构建的智能系统非常类似于具有反馈和平衡功能的生物系统,因此在生物工程和生物医学领域的应用前景非常广阔。

1 葡萄糖识别响应性水凝胶

胰岛素依赖型糖尿病是由于生理性的反馈破坏,即由血中葡萄糖浓度所控制的胰岛素反馈机制被破坏所引起。目前,大多数治疗为近用餐时(预料血糖水平会升高时)注射胰岛素。从性质上讲,这种治疗是属于开放回路式。最好要求有一个自动的闭合回路系统,它要对血液中葡萄糖浓度的变化做出响应,供给胰岛素,这种智能胰岛素给药系统可称为人工胰腺。葡萄糖识别响应性水凝胶是一种能识别葡萄糖分子而产生刺激响应性的智能水凝胶,它非常适合用于人工胰腺,在开发智能胰岛素给药系统方面有明显的应用价值。

1.1 基于葡萄糖氧化酶的葡萄糖识别响应性水凝胶

早期制备具有葡萄糖识别响应性水凝胶是把葡萄糖氧化酶和 pH 刺激响应性水凝胶结合起来。葡萄糖氧化酶可直接固定在 pH 刺激响应性水凝胶内或固定于邻近 pH 刺激响应性水凝胶的另一水凝胶膜内,当环境水介质中存在葡萄糖时,它被葡萄糖氧化酶转化成葡萄糖酸,从而降低水凝胶中水的 pH 值,使 pH 刺激响应性水凝胶发生溶胀。如果水凝胶中包埋有胰岛素药物,它就能响应环境介质中葡萄糖的浓度变化而控制胰岛素的释放,如图 1 所示。

Horbett 等^[3]首先将葡萄糖氧化酶包埋在由 2-羟乙基甲基丙烯酸酯(HEMA)和 *N,N'*-二甲基胺基乙基甲基丙烯酸酯(DMAEMA)共聚形成的 poly(HEMA-co-DMAEMA) 水凝胶膜中来制备葡萄糖识别响应性胰岛素给药系统。为了使胰岛素具有很好的渗透性,他们在聚合过程中采取诱导相分离的办法来制备多孔水凝胶膜^[4]。添加的葡萄糖被葡萄糖氧化酶转化为葡萄糖酸,导致水凝胶膜中水的 pH 值降低,使具有 pH 刺激响应性的 poly(HEMA-co-DMAEMA) 水凝胶膜产生溶胀。水凝胶膜的多孔结构使胰岛素通过溶胀膜的渗透性大大提高。他们把能将 pH 值变化转化为颜色变化的 pH 染料指示剂引入到水凝胶膜中,进一步确证了葡萄糖识别响应性水凝胶膜中的 pH 变化。在这些实验结果

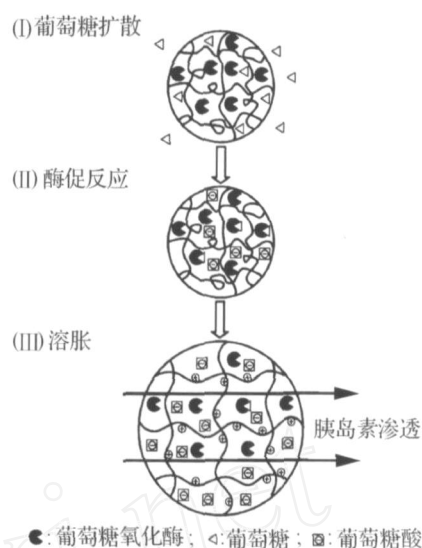
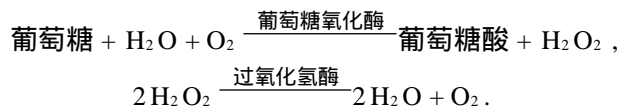


图 1 基于葡萄糖氧化酶的葡萄糖识别响应性水凝胶响应机理的示意图

Fig. 1 Schematic illustration of the responsiveness mechanism of glucose recognition responsive hydrogel based on glucose oxidase

的基础上,他们还建立了一个能够描述葡萄糖分子识别响应性水凝胶膜稳态行为的数学模型,这个模型表明载有足够量的葡萄糖氧化酶的葡萄糖分子识别响应性水凝胶膜能对生理范围内的葡萄糖浓度显示出渐进的响应行为^[5]。以上介绍的含葡萄糖氧化酶的葡萄糖分子识别响应性水凝胶中 pH 刺激响应性组分使用的是弱碱型聚电解质,水介质 pH 值随着葡萄糖浓度的增加而下降,水凝胶发生溶胀。这类葡萄糖分子识别响应性水凝胶也可制成是随着葡萄糖浓度的增加而收缩,如 Peppas 等^[6-8]在活性葡萄糖氧化酶存在的情况下,使甲基丙烯酸(MAA)与聚乙二醇单甲基丙烯酸酯(PEGMA)共聚制备的具有葡萄糖识别响应性的接枝共聚物水凝胶(PMAA-g-PEG),在低 pH 值的条件下,PMAA 中的羧基和 PEG 中的醚基通过氢键作用形成复合物,PMAA-g-PEG 水凝胶处于收缩状态。而在高 pH 值的条件下因为羧基电离,形成的复合物发生离解,水凝胶发生溶胀。因此,当 PMAA-g-PEG 水凝胶中的葡萄糖氧化酶催化葡萄糖发生氧化反应时,产生的葡萄糖酸将导致水凝胶中微环境的 pH 值降低,水凝胶在低 pH 值条件下由于羧基和醚基之间的氢键作用而收缩。可以假定 PMAA-g-PEG 水凝胶在葡萄糖存在下因收缩而压榨出胰岛素,显示出葡萄糖识别响应性。如果在 pH 刺激响应性水凝胶中同时加入葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶,由于过氧化氢酶能催化葡萄糖转化为葡萄糖酸过程中形成的 H_2O_2 发生分

解,促使水凝胶微环境中的葡萄糖更快和更有效地转化为葡萄糖酸:



过氧化氢酶使 H_2O_2 分解产生的氧气还可以补救生理条件下水凝胶中氧的损耗,从而稳定葡萄糖氧化酶的活性. Podual 和 Peppas 等^[9-12]在葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶存在的情况下,用聚乙二醇双甲基丙烯酸酯(PEGDMA)做交联剂,将 DMAEMA 和 PEGMA 共聚制得 PDMAEMA-*g*-PEG 接枝共聚物水凝胶. 水凝胶中载有的过氧化氢酶具有促进葡萄糖向葡萄糖酸转化的能力,因此提高了水凝胶对葡萄糖产生识别响应的溶胀比和溶胀速率. Kang 等^[13]先通过与丙烯酰氯反应使葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶分别接上乙烯基基团,然后与磺酰胺类单体和 *N,N*-二甲基丙烯酰胺(DMAAm)共聚制备葡萄糖识别响应性水凝胶. 这种水凝胶的最大特点是在温度为 37 °C, pH 值为 7.4 的生理条件下,响应葡萄糖浓度的变化会发生可逆的溶胀和收缩,而且响应非常灵敏,不存在滞后现象.

还有一些含葡萄糖氧化酶的葡萄糖识别响应性水凝胶不是基于 pH 刺激响应性水凝胶,如 Tomoaki 等^[8]用甲基丙烯酰基乙氧基磷酸胆碱酯为单体制备了一种含葡萄糖氧化酶的葡萄糖识别响应性水凝胶. 这种水凝胶的特点是葡萄糖和葡萄糖氧化酶之间发生的酶促反应产生的 H_2O_2 可以使水凝胶发生降解. 降解的机理被认为是聚 2-甲丙烯酰基乙氧基磷酸胆碱的主链发生了断裂. 而且降解程度主要与 H_2O_2 的浓度有关. 因此这种水凝胶可用于葡萄糖敏感的胰岛素释放.

1.2 基于伴刀豆球蛋白 A 的葡萄糖识别响应性水凝胶

伴刀豆球蛋白 A (concanavalin A, Con A) 是一种能与细胞表面的糖蛋白、糖脂具有结合作用的蛋白质,它有 4 个能和葡萄糖结合的部位,非常适合于构建葡萄糖识别响应性智能系统. Brownlee 等^[14]和 Kim 等^[15-16]是用 Con A 研制葡萄糖识别响应性胰岛素释放系统的开拓者. 他们首先用葡萄糖对胰岛素进行修饰,合成了能与 Con A 形成复合物的葡萄糖修饰型胰岛素. 体系内存在游离的葡萄糖时,游离葡萄糖、葡萄糖修饰型胰岛素与 Con A 之间形成复合物具有竞争性. 由于游离葡萄糖与 Con A 之间的结合力较强,因此,葡萄糖修饰型胰岛素便被释放出来. 另外,利用 Con A 能与葡萄糖结合的特征,可在高分子的侧链上引入葡萄糖,利用其与 Con A 形成复合物而产生交联点的原理,可以制成葡萄糖识别

响应性水凝胶^[17]. 在 Con A 存在的条件下,将甲基丙烯酸(2-葡萄糖氧基)乙酯(GEMA)单体以及交联剂共聚,制备出含有 Con A 的聚甲基丙烯酸(2-葡萄糖氧基)乙酯(poly(GEMA))水凝胶(Con A/ poly(GEMA)水凝胶),其中交联密度随着 Con A 用量的增多而增加,表明 Con A 扮演着交联剂的角色. 将该水凝胶浸渍在含葡萄糖的水溶液中,发现凝胶会溶胀,溶胀度随葡萄糖浓度增加而升高. 通过测试压缩弹性率,发现凝胶的交联度随着葡萄糖浓度的升高而下降,这是由于与 Con A 结合的对象从水凝胶的侧链葡萄糖基变为游离的葡萄糖,因此 Con A 便不能起到交联点的作用(见图 2). Nakamae 等^[18]研究了 Con A/ Poly(GEMA)水凝胶对不同糖分子的识别作用,结果发现 Con A/ poly(GEMA)水凝胶对葡萄糖和甘露糖有分子识别响应性,而对半乳糖没有分子识别响应性,这是因为 Con A 只对单糖产生结合作用.

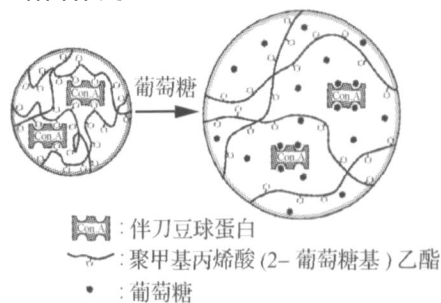


图2 Con A/ poly(GEMA)水凝胶产生葡萄糖识别响应性的示意图

Fig. 2 Schematic illustration of glucose recognition responsiveness in a Con A/ poly(GEMA) hydrogel

为避免包埋有 Con A 的水凝胶在溶胀-收缩过程中发生 Con A 泄漏的问题, Miyata 等^[19]首先将 Con A 分子接上乙烯基基团,然后在 poly(GEMA)的存在下,通过与其他单体和交联剂发生自由基聚合反应,形成具有互穿聚合物网络(IPN)结构的水凝胶. 连接在聚合物网络上的 Con A 侧基与 poly(GEMA)侧链上的葡萄糖基产生结合作用,形成物理交联点. 同样地,游离的葡萄糖比聚合物侧链上的葡萄糖基对连接在聚合物网络上的 Con A 侧基有更强的结合作用,导致水凝胶中物理交联点发生解离,水凝胶对葡萄糖产生识别响应性溶胀. 由于该水凝胶中 Con A 连接在聚合物网络上,因此不存在 Con A 泄漏的问题,因此具有更好的葡萄糖识别可逆响应性. 最近 Tanna 等^[20]用甲基丙烯酸葡聚糖酯(dex-MA)和接枝有甲基丙烯酰胺基的 Con A (Con A-MA)在光引发下聚合形成具有葡萄糖识别响应性的水凝胶,体外扩散实验结果表明,水凝胶能

多次可逆地响应葡萄糖浓度的变化释放胰岛素。

Park 等^[21-22]制备了一种能响应葡萄糖浓度变化发生溶胶-凝胶(sol-gel)可逆相转变的新型水凝胶。他们将乙烯基吡咯烷酮-丙烯基葡萄糖共聚物水溶液与 Con A 混合后,因葡萄糖侧基与 Con A 结合而立即变成水凝胶。当加入浓度至少为葡萄糖侧基浓度 4 倍的游离葡萄糖时,该水凝胶发生 sol-gel 相转变变为溶胶,并且这种转变具有可逆性,重复 10 几次没有出现任何问题。他们^[23]还用扩散池研究了作为模型蛋白质药物的溶菌酶和胰岛素通过葡萄糖识别响应性水凝胶膜的释放行为,含葡萄糖侧基的聚合物和 Con A 混合后放在池子的给体腔和受体腔之间,模型蛋白质从受体腔到给体腔的释放速率强烈地依赖于游离的葡萄糖浓度。他们的研究结果表明葡萄糖识别响应的 sol-gel 相转变可以用来构建葡萄糖敏感的胰岛素智能给药系统。You 等^[24]合成了一种亲水的两嵌段共聚物 PEG-*b*-PGEA,其中 PEG 为聚乙二醇链段,PGEA 为聚(2-葡萄糖基氧乙基丙烯酸酯)链段,它们都具有亲水性。但当 PGEA 链段中的葡萄糖侧基与 Con A 结合后它变为疏水链段,致使结合了 Con A 的两亲性两嵌段共聚物 PEG-*b*-PGEA/Con A 在水中聚集成聚合物纳米微球。如果在水介质中加入游离的葡萄糖时,由于竞争结合作用,与 PGEA 链段结合的 Con A 发生解离,聚合物纳米微球解聚形成水溶性聚合物。该聚合物纳米微球作为对葡萄糖有识别响应性的药物输送载体有良好的应有前景。

1.3 基于苯硼酸的葡萄糖识别响应性水凝胶

上文介绍的 2 类葡萄糖识别响应性水凝胶均基于如葡萄糖氧化酶和 Con A 等具有生物活性的蛋白质,下面介绍的一类则完全基于人工合成材料。苯硼酸(PBA)及其衍生物在水溶液中可与多羟基化合物结合,将结合位点作为交联点可用来构建葡萄糖识别响应性水凝胶。Kitano 等^[25-26]通过 *N*-乙烯基-2-吡咯烷酮(NVP)与 3-(丙烯酰胺基)苯硼酸(PBA)共聚合成了侧链带苯硼酸基团的共聚物(poly(NVP-co-PBA)。poly(NVP-co-PBA)和聚乙二醇(PVA)会形成复合物,因此,利用 PVA 和葡萄糖与 poly(NVP-co-PBA)之间形成复合物的竞争作用,可被用来建构葡萄糖识别响应性系统。poly(NVP-co-PBA)/PVA 复合物的形成和解离可通过观察粘度的变化来研究。粘度测量结果表明,没有葡萄糖存在的情况下,poly(NVP-co-PBA)和 PVA 之间形成了复合物,然而在葡萄糖存在的情况下,复合物发生解离。但直接将 poly(NVP-co-PBA)/PVA

复合物用作葡萄糖识别响应性胰岛素释放系统还不能达到实用目的,因为在生理 pH = 7.4 的条件下该复合物是不稳定的。为此有人^[27]将氨基基团引入到聚合物中或引入到苯硼酸基团附近,同时具有苯硼酸基团和氨基基团的 poly(NVP-co-PBA)/PVA 复合物水凝胶可被用来制备能用于生理 pH 环境下的新型葡萄糖识别响应性胰岛素输送系统^[28]。

另外,利用 PBA 在荷电态与非荷电态之间的变化也可建立葡萄糖识别响应性智能系统。PBA 在荷电态和非荷电态之间存在平衡,非荷电态 PBA 和葡萄糖形成的复合物因易于水解而不稳定,而荷电态 PBA 却能与葡萄糖形成稳定的复合物(见图 3)。荷电态 PBA 与葡萄糖形成稳定的复合物后,会导致平衡向荷电态 PBA 增加的方向移动。所以,随着体系中葡萄糖浓度的增加,荷电态 PBA 的浓度上升,从而引起侧链具有 PBA 基团的聚合物在水中的溶解度增大。用该聚合物形成的水凝胶会随着水介质中葡萄糖浓度的改变而发生溶胀或收缩,产生葡萄糖识别响应性。Kataoka 等^[27]用 *N,N*-二甲基丙烯酰胺和 PBA 合成了一种共聚物,该聚合物在 pH = 7.4 的缓冲溶液中的最低临界溶解温度(LCST)约为 27℃。没有 PBA 基团的共聚物不存在 LCST,表明 PBA 基团对聚合物 LCST 的出现有重要作用。带 PBA 基团共聚物的 LCST 随着葡萄糖浓度的增加而连续上升,这是由于荷电 PBA 基团的增多导致聚合物的亲水性提高,而荷电 PBA 基团的增多又是由于 PBA 基团和葡萄糖形成复合物造成的。

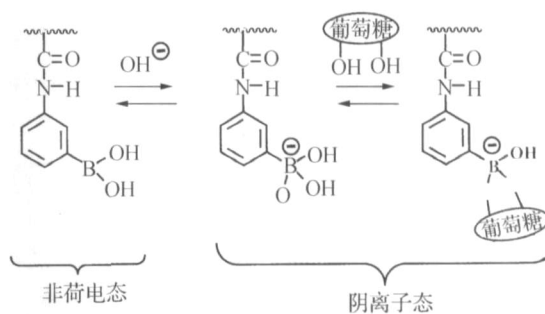


图 3 (烷基酰胺)苯硼酸结合葡萄糖的反应式

Fig 3 Equation of binding of (alkylamido) phenylboronic acid with glucose

基于带 PBA 基团聚合物的溶解性能响应葡萄糖的浓度变化而发生改变,Kataoka 等^[29]用 *N*-异丙基丙烯酰胺(NIPAM)和 PBA 共聚制备了具有葡萄糖识别响应性的水凝胶。该水凝胶能明显地响应外界葡萄糖浓度的变化而释放胰岛素。当缓冲溶液中葡萄糖浓度低于 1 g/L 时,水凝胶不释放胰岛素,而

当葡萄糖浓度达到 3 g/L 时,会出现明显的胰岛素释放现象.并通过来回改变环境中的葡萄糖浓度,成功地实现了从水凝胶中脉冲式释放胰岛素的目的.这些研究结果表明,可在不使用像蛋白质这样生物组分的情况下,通过 PBA 和葡萄糖形成复合物来构建葡萄糖识别响应性的胰岛素释放系统.带 PBA 基团的聚合物不仅能形成具有葡萄糖识别响应性的水凝胶,而且能形成具有葡萄糖识别响应性的微凝胶或聚合物空心微囊,在生物医学领域有更广的应用范围. Lapeyre 等^[30]采用沉淀聚合法使 NIPAM 和 PBA 共聚形成单分散性好的微凝胶,微凝胶在生理浓度下对葡萄糖有识别响应性. Geest 等^[31]首先合成带苯硼酸基团的聚电解质,然后在胶体粒子模板存在的情况下通过层层组装(layer-by-layer self-assembly)形成核壳结构微球,最后除去模板内核形成含 PBA 的聚合物空心微囊.该微囊对分散介质中的葡萄糖产生识别响应性而发生解离,如果作为胰岛素载体,将起到响应葡萄糖浓度变化而释放胰岛素的目的.

2 蛋白质识别响应性水凝胶

2.1 酶识别响应性水凝胶

可生物降解聚合物在生物医学领域里由于它们在组织工程和药物输送系统等方面的潜在应用而变得越来越重要.由于一些可生物降解聚合物能被某些特定的酶降解,所以用可生物降解聚合物能制备酶识别响应性水凝胶.一些酶可以作为重要的诊断信号用来监控某些生理变化,特定器官中这些特定的酶已成为药物定点输送的有用信号.所以,酶识别响应性水凝胶有望用于酶传感器和酶识别响应性药物输送系统.

主要存在于结肠中的微生物酶,可作为结肠定点药物输送的信号. Hovgaard 等^[32]根据结肠中的葡聚糖酶能降解葡聚糖的现象,采用二异氰酸酯为交联剂制备了能用于结肠靶向药物输送的葡聚糖水凝胶.体外实验结果观察到,在葡聚糖酶未存在的情况下,药物只是通过简单的扩散过程从葡聚糖水凝胶中释放出来.而在葡聚糖酶存在的情况下,药物主要通过葡聚糖的降解来释放.因此,可以认为葡聚糖水凝胶对葡聚糖酶具有识别响应性,有望用于结肠定点药物输送的智能系统.偶氮还原酶是结肠中微生物菌群产生的一种酶,也可用于结肠定点药物输送.为了构建结肠定点药物输送系统, Kopecek 等^[33-38]使用了能被偶氮还原酶降解的含偶氮键的芳香族化合物作为水凝胶的交联剂,形成的水凝胶

具有偶氮还原酶识别响应性.他们用酸性共聚单体和芳香族偶氮交联剂制备水凝胶,水凝胶既有 pH 识别响应性又有偶氮还原酶识别响应性.这种水凝胶在低 pH 环境中的溶胀比很小,可避免蛋白质药物在胃中被蛋白酶分解掉.但当水凝胶进入偏碱性的肠道中时,由于羧酸基团的离子化会发生溶胀,同时结肠中的偶氮还原酶能接近溶胀了的水凝胶中的交联点,使其降解并释放蛋白质药物,这是把酶识别响应性和 pH 识别响应性结合起来实现药物定点输送的典型例子.

医学领域中往往要求刺激响应性水凝胶能同时感知几种疾病引起的生理变化. Yui 等^[39]制备了必须在 2 种酶同时存在的情况下发生降解的双酶识别响应性水凝胶,他们采用带多肽端基的 PEG 与葡萄糖为原料,形成的水凝胶具有 IPN 结构.只有当能水解 PEG 上多肽的木瓜蛋白酶和能分解葡聚糖的葡萄糖酶同时存在时,水凝胶才能发生降解,其中任何一种酶单独存在都不会产生降解作用,见图 4.

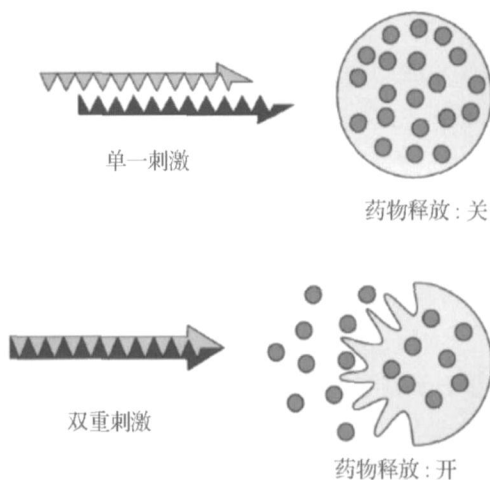


图4 只有2种刺激同时存在时水凝胶才能降解的示意图

Fig 4 Schematic illustration of degradation of hydrogel in the simultaneous presence of dual stimuli

水凝胶的这种双酶识别响应性能发挥自动防故障的作用,可以确保药物在特定的病灶组织释放.另外,双酶识别响应性水凝胶也可在明胶的溶胶-凝胶转变温度(T_{trans})之下通过明胶和甲基丙烯酸葡聚糖酯的顺序交联而制得^[40]. T_{trans} 之下温度制得的明胶-葡聚糖 IPN 水凝胶在-糜蛋白酶和葡聚糖酶都存在时才能发生降解,而在高于 T_{trans} 温度时制备的水凝胶没有这种效果.这些研究结果表明,双酶识别响应性水凝胶的降解行为主要由水凝胶的 IPN 结构控制,也就是化学结构不同的聚合物网络

之间的物理缠结.当-糜蛋白酶和葡聚糖酶都存在时,用作药物微储存器的脂质体微球可从双酶识别响应性水凝胶中释放出来,而只有其中一种酶单独存在时,脂质体微球就难以从水凝胶中释放出来^[41-42].

2.2 抗原识别响应性水凝胶

一种抗体能与特定抗原产生特异结合,这种结合有静电结合、氢键结合、范德华力结合等,其分子识别能力非常强,在免疫系统内起着保护生物体不受感染的作用.利用抗体对特定抗原的识别功能,可构建能用于免疫分析和感知抗原的传感器,也可利

用抗原-抗体之间的结合作为水凝胶的交联点来制备抗原识别响应性水凝胶. Miyata 等^[43]用 *N*-琥珀酰亚胺基丙烯酸酯 (NSA) 分别对兔免疫球蛋白 (IgG) 抗原和羊抗兔免疫球蛋白 (GAR IgG) 抗体进行修饰,分别合成出带乙烯基的抗原和抗体.用带乙烯基的 GAR IgG 和丙烯酰胺 (AAm) 共聚得到 poly (GAR IgG-co-AAm) 聚合物.在 poly (GAR IgG-co-AAm) 聚合物存在下,将带乙烯基的 IgG、AAm 和交联剂 *N,N'*-亚甲基双丙烯酰胺 (MBAA) 共聚制备出具有半互穿网络聚合物网络 (semi-IPN) 结构的水凝胶,见图 5.

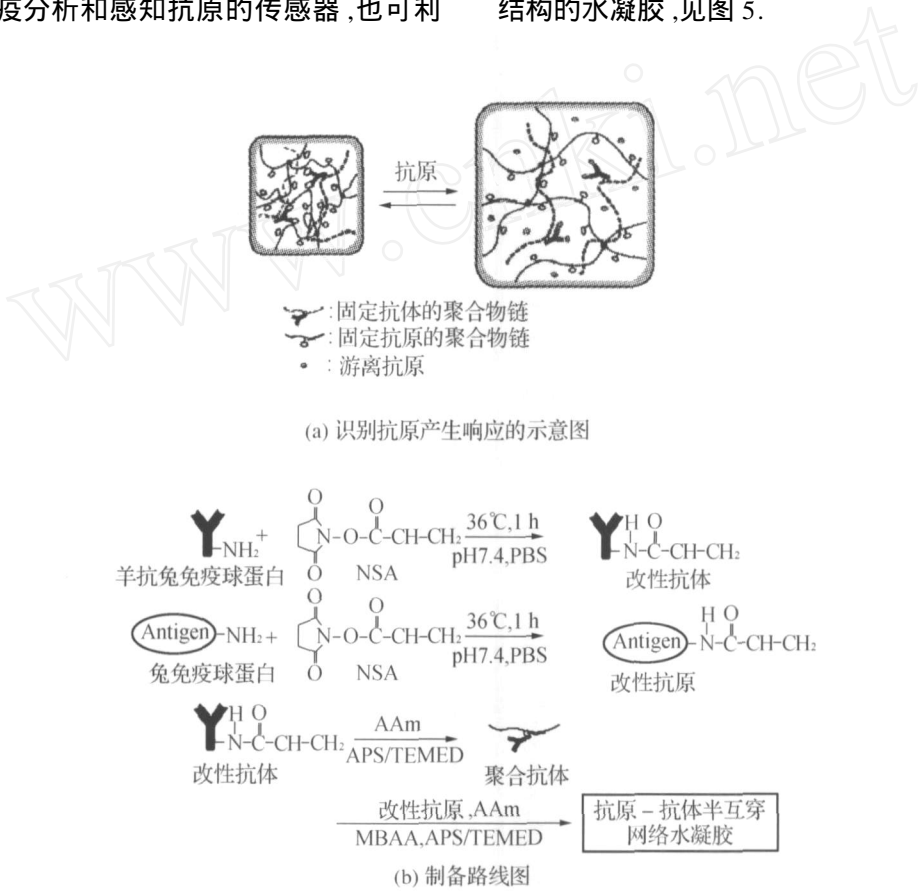


图 5 对 IgG 抗原具有识别响应性的水凝胶的制备路线图和产生识别响应的示意图

Fig. 5 Strategy for the preparation of IgG antigen recognition responsive hydrogel and schematic illustration of its antigen recognition responsiveness

由于 poly (GAR IgG-co-AAm) 与交联的 poly (IgG-co-AAm) 聚合物网络相互缠结,因此不会从凝胶中脱离出来.用上述方法制备的水凝胶在缓冲溶液中的溶胀度明显受溶液中存在的游离抗原 IgG 浓度的影响.这是因为水凝胶中连接在聚合物分子链上的抗原 IgG 和抗体 GAR IgG 产生特异结合形成了物理交联点.如果溶液中存在游离的抗原 IgG 时,由于游离的 IgG 比连接在聚合物链上的 IgG 对抗体 GAR IgG 有更强的结合作用^[44-45],导致水凝胶中物理交联点解离,水凝胶出现溶胀现象,说明水

凝胶具有识别抗原 IgG 的刺激响应性.另外由于包埋在水凝胶中的抗原和抗体均通过化学键连接在聚合物网络上,不会发生抗原和抗体的泄漏现象,因此该水凝胶对抗原 IgG 的识别响应性具有良好的可逆性.

抗体分子中对抗原具有特异识别作用的是其中 Fab 片段,直接使用抗体的 Fab 片段也可制备具有抗原识别响应性的水凝胶. Lu 等^[46]首先对抗体 IgG2a 的 Fab 片段接上乙烯基基团,然后与 NIPAM 和 MBAA 共聚形成含 IgG2a 的 Fab 片段的水凝

胶. 该水凝胶既有温敏性又有抗原识别响应性, 其抗原识别响应性与水凝胶中 Fab 片段的含量、环境 pH 值和温度有很大关系. 抗原识别响应性水凝胶不仅能识别特定的抗原分子, 而且还能识别该抗原决定基(epitope)^[47].

为了研究抗原识别响应性水凝胶作为智能系统用于药物输送的可能性, Miyata 等^[43]探索了在有无特定抗原存在的 2 种情况下, 模型药物穿过抗原识别响应性水凝胶的渗透性. 有特定抗原存在时模型药物能透过抗原识别响应性水凝胶膜, 没有特定抗原存在时模型药物则透不过. 因此, 抗原识别响应性水凝胶有望用于构建能响应特定抗原而调节药物释放的智能系统. 除了用于智能药物释放系统外, 抗原识别响应性水凝胶还可用于微传感器, 在医学检测领域有潜在的应有前景^[48].

3 核酸分子识别响应性水凝胶

脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA)由腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶和尿嘧啶等核苷组成, 其中互补的碱基对产生的氢键作用以及碱基的堆砌使核酸形成双链或三链螺旋结构. Aoki 等^[49]注意到核酸碱基之间形成的互补氢键后, 合成了侧链含尿嘧啶组分的聚 6-(丙烯酰氧基甲基)尿嘧啶(PAU). 由于低温下尿嘧啶组分之间形成复合物, PAU 不溶于水, 但在高于最高临界溶解温度(UCST)时, PAU 变成在水中可溶. 此外, 腺苷的存在因尿嘧啶和腺苷之间形成复合物使 PAU 的 UCST 向低温方向移动. 腺苷对 PAU 的 UCST 的影响不同于鸟苷, 原因是尿嘧啶与腺苷和鸟苷之间的作用不同. 所以, PAU 是一种核酸碱基敏感的聚合物, 它在水中的溶解度能响应添加的特定的核酸碱基而发生改变, 用它可构建能用于药物输送的新型核酸碱基识别响应性水凝胶. Maeda 等^[50]最先报道了能识别 DNA 而产生响应的水凝胶. 他们将具有一定碱基序列的单链 DNA(ssDNAs)直接接枝在聚丙烯酰胺水凝胶网络上, 或将接枝有单链 DNA 的聚丙烯酰胺水凝胶网络与纯聚丙烯酰胺水凝胶网络形成 semi-IPN 水凝胶网络. 当环境水介质中存在与水凝胶中 ssDNAs 互补的 ssDNAs 时, 这 2 类含有 ssDNAs 的水凝胶均会产生响应性收缩, 具有 IPN 结构的水凝胶的收缩更明显. 不过这 2 类含 ssDNAs 的水凝胶只会识别互补的 ssDNAs 产生收缩, 产生收缩的机理被认为是互补的 2 根 ssDNAs 形成双螺旋结构后长度会缩短. 最近 Maeda 等^[51]又制备了能识别互补的 ssDNAs 而发生溶胀的 DNA

识别响应性水凝胶. 他们用 2 种两端带乙烯基基团且具有一定碱基序列的 ssDNAs 作为交联剂合成聚丙烯酰胺水凝胶. 其中一种 ssDNAs 分子链内碱基对具有互补性, 能形成所谓“分子灯塔(molecular beacon)”的链结构, 见图 6.

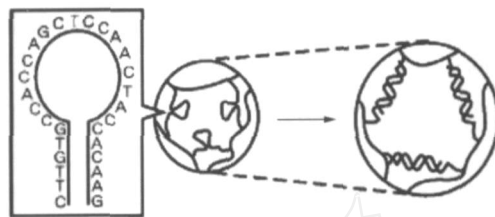


图6 具有“分子灯塔”结构的 ssDNAs 与互补的 ssDNAs 配对后水凝胶发生溶胀

Fig 6 Hydrogel containing the ssDNAs with a “molecular beacon” molecule is expected to swell

用这种 ssDNAs 作为交联剂合成的水凝胶能识别缓冲介质中与其互补的游离 ssDNAs 而产生溶胀. 而用分子链内无碱基配对作用的直链 ssDNAs 作为交联剂合成的水凝胶与以前报道的一样, 能识别与其互补的游离 ssDNAs 而产生收缩. 前一种 DNA 识别响应性水凝胶产生溶胀的机理可能是由于作为交联剂的 ssDNAs 在与互补的 ssDNAs 配对后打开了原来的“分子灯塔”结构, 使交联链伸长所致.

4 结束语

能识别特定生物分子而产生响应的智能水凝胶及其智能系统的研究无论是从理论角度还是从实际应用角度来看都有非常重要的意义. 生物分子识别响应性水凝胶识别响应机理的研究将有助于理解生物分子的生物功能和生命活动现象. 生物分子识别响应性水凝胶的神奇特性表明它们作为新一代智能材料或智能系统在许多领域有诱人的应有前景, 尤其是在生物医学领域, 如作为智能药物给药系统、生物传感器、人工肌肉等等. 尽管生物分子识别响应性水凝胶的研究近年来取得很大进展, 但还存在不少问题有待解决. 与其他刺激响应性水凝胶的响应速度相比, 生物分子识别响应性水凝胶的响应速度较慢. 目前很多生物分子识别响应性水凝胶均使用了像酶、抗原和核酸等这样的生物活性物质, 这些生物物质容易失活, 会导致水凝胶丧失生物分子识别响应性. 生物分子种类繁多, 而迄今研究的生物分子识别响应性水凝胶能识别的生物分子却很少. 很多生

物分子识别响应性水凝胶的识别响应机理还不是很清楚.这些问题还有待多学科的科学工作者来共同解决,尤其是在设计新型生物分子识别智能水凝胶及其智能系统方面,需要高分子科学、生物医学和智能系统等领域的研究者加强合作.

参考文献:

- [1] NAYAK S, LYON L A. Soft nanotechnology with soft nanoparticles[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2005, 44(47): 7686 - 7708.
- [2] PEPPAS N A, HILT J Z, KHADEMOSSEINI A, et al. Hydrogels in biology and medicine: from molecular principles to bionanotechnology[J]. *Advanced Materials*, 2006, 18(11): 1345 - 1360.
- [3] ALBIN G, HORBETT T A, RATNER B D. Glucose sensitive membranes for controlled delivery of insulin: insulin transport studies[J]. *Journal of Controlled Release*, 1985(2): 153 - 164.
- [4] CARTIER S, HORBETT T A, RATNER B D. Glucose-sensitive membrane coated porous filters for control of hydraulic permeability and insulin delivery from a pressurized reservoir[J]. *Journal of Membrane Science*, 1995, 106(1 - 2): 17 - 24.
- [5] ALBIN G W, HORBETT T A, MILLER S R, et al. Theoretical and experimental studies of glucose sensitive membranes[J]. *Journal of Controlled Release*, 1987, 6(1): 267 - 291.
- [6] HASSAN C M, DOYLE F J, PEPPAS N A. Dynamic behavior of glucose-responsive poly(methacrylic acid-g-ethylene glycol) hydrogels[J]. *Macromolecules*, 1997, 30(20): 6166 - 6173.
- [7] PARKER R S, DOYLE F J, PEPPAS N A. A model-based algorithm for blood glucose control in type I diabetic patients[J]. *Journal of Biomedical Engineering*, 1999, 46: 148 - 157.
- [8] TOMOAKI U, YOSHIHIRO K, JUNJI W, et al. Degradation of phospholipid polymer hydrogel by hydrogen peroxide aiming at insulin release device[J]. *Biomaterials*, 2003, 24(28): 5183 - 5190.
- [9] PODUAL K, DOYLE F J, PEPPAS N A. Preparation and dynamic response of cationic copolymer hydrogels containing glucose oxidase[J]. *Polymer*, 2000, 41(11): 3975 - 3983.
- [10] PODUAL K, DOYLE F J, PEPPAS N A. Glucose-sensitivity of glucose oxidase-containing cationic copolymer hydrogels having poly(ethylene glycol) grafts[J]. *Journal of Controlled Release*, 2000, 67(1): 9 - 17.
- [11] PODUAL K, DOYLE F J, PEPPAS N A. Dynamic behaviour of glucose oxidase-containing microparticles of poly(ethylene glycol)-grafted cationic hydrogels in an environment of changing pH[J]. *Biomaterials*, 2000, 21(14): 1439 - 1450.
- [12] PODUAL K, DOYLE F J, PEPPAS N A. Modeling of water transport in and release from glucose-sensitive swelling-controlled release systems based on poly(diethylaminoethyl methacrylate-g-ethylene glycol)[J]. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 2004, 43(23): 7500 - 7512.
- [13] KANG S, BAE Y H. A sulfonamide based glucose-responsive hydrogel with covalently immobilized glucose oxidase and catalase[J]. *Journal of Controlled Release*, 2003, 86(1): 115 - 121.
- [14] BROWNLEE M, CERAMI A. A glucose-controlled insulin delivery system: semisynthetic insulin bound to lectin[J]. *Science*, 1979, 206: 1190 - 1191.
- [15] SEMINOFF L A, OLSEN G B, KIM S W. A self-regulating insulin delivery system. I. Characterization of a synthetic glycosylated insulin derivative[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 1989, 54(3): 241 - 249.
- [16] KIM S W, PAI C M, MAKINO K, et al. Self-regulated glycosylated insulin delivery[J]. *Journal of Controlled Release*, 1990, 11(1 - 3): 193 - 201.
- [17] MIYATA T, JIKIHARA A, NAKAMAE K, et al. Preparation of poly(2-glucosyloxyethyl methacrylate) / concanavalin A complex hydrogel and its glucose-sensitivity[J]. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 1996, 197(3): 1135 - 1146.
- [18] NAKAMAE K, MIYATA T, JIKIHARA A, et al. Formation of poly(glucosyloxyethyl methacrylate)-concanavalin A complex and its glucose-sensitivity[J]. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 1994, 6(1): 79 - 90.
- [19] MIYATA T, JIKIHARA A, NAKAMAE K, et al. Preparation of reversibly glucose-responsive hydrogels by covalent immobilization of lectin in polymer networks having pendant glucose[J]. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 2004, 15(9): 1085 - 1098.
- [20] TANNA S, SAHOTA T S, SAWICKA K, et al. The effect of degree of acrylic derivatisation on dextran and concanavalin A glucose-responsive materials for closed-loop insulin delivery[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(25): 4498 - 4507.
- [21] LEE S J, PARK K. Synthesis and characterization of sol-gel phase-reversible hydrogels sensitive to glucose[J]. *Journal of Molecular Recognition*, 1996, 9(5 - 6): 549 - 557.
- [22] OBAIDAT A A, PARK K. Characterization of glucose dependent gel-sol phase transition of the polymeric glucose-concanavalin A hydrogel system[J]. *Pharmaceutical*

- Research, 1996, 13(7): 989 - 995.
- [23] OBAIDAT A A, PARK K. Characterization of protein release through glucose-sensitive hydrogel membranes [J]. *Biomaterials*, 1997, 18(11): 801 - 806.
- [24] YOU L C, LU F Z, LI Z C, et al. Glucose-sensitive aggregates formed by poly(ethylene oxide)-block-poly(2-glucosyloxyethyl acrylate) with concanavalin A in dilute aqueous medium [J]. *Macromolecules*, 2003, 36(1): 1 - 4.
- [25] KITANO S, KATAOKA K, KOYAMA Y, et al. Glucose-responsive complex formation between poly(vinyl alcohol) and poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) with pendent phenylboronic acid moieties [J]. *Macromolecular Rapid Communications*, 1991, 12(4): 227 - 233.
- [26] KITANO S, KOYAMA Y, KATAOKA K, et al. A novel drug delivery system utilizing a glucose responsive polymer complex between poly(vinyl alcohol) and poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) with a phenylboronic acid moiety [J]. *Journal of Controlled Release*, 1992, 19(1 - 3): 161 - 170.
- [27] KATAOKA K, MIYAZAKI H, OKANO T, et al. Sensitive glucose-induced change of the lower critical solution temperature of poly in physiological saline [J]. *Macromolecules*, 1994, 27(4): 1061 - 1062.
- [28] AOKI T, NAGAO Y, SANUI K, et al. Glucose-sensitive lower critical solution temperature changes of copolymers composed of N-isopropylacrylamide and phenylboronic acid moieties [J]. *Polymer Journal*, 1996, 28(4): 371 - 374.
- [29] KATAOKA K, MIYAZAKI H, BUNYA M, et al. Totally synthetic polymer gels responding to external glucose concentration: their preparation and application to on/off regulation of insulin release [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1998, 120(48): 12694 - 12695.
- [30] LAPEYRE V, GOSSE I, CHEVREUX S, et al. Mono-dispersed glucose-responsive microgels operating at physiological salinity [J]. *Biomacromolecules*, 2006, 7(12): 3356 - 3363.
- [31] DE GEEST B G, JONAS A M, DEMEESTER J, et al. Glucose-responsive polyelectrolyte capsules [J]. *Langmuir*, 2006, 22(11): 5070 - 5074.
- [32] HOVGGAARD L, NDSTED H. Dextran hydrogels for color-specific drug delivery [J]. *Journal of Controlled Release*, 1995, 36(1 - 2): 159 - 166.
- [33] SAFFRAN M, KUMAR G S, SAVARIAR C, et al. A new approach to the oral administration of insulin and other peptide drugs [J]. *Science*, 1986, 233: 1081 - 1084.
- [34] YEH P Y, KOPECKOVA P, KOPECEK J. Biodegradable and pH-sensitive hydrogels: synthesis by crosslinking of N, N dimethylacrylamide copolymer precursors [J]. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 1994, 32(9): 1627 - 1637.
- [35] YEH P Y, KOPECKOVA P, KOPECEK J. Degradability of hydrogels containing azoaromatic crosslinks [J]. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 1995, 196(7): 2183 - 2202.
- [36] GHANDEHARI H, KOPECKOVA P, KOPECEK J, et al. Biodegradable and pH sensitive hydrogels: synthesis by a polymer-polymer reaction [J]. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 1996, 197(9): 965 - 980.
- [37] GHANDEHARI H, KOPECKOVA P, KOPECEK J. In vitro degradation of pH-sensitive hydrogels containing aromatic azo bonds [J]. *Biomaterials*, 1997, 18(12): 861 - 872.
- [38] AKALA E O, KOPECKOVA P, KOPECEK J. Novel pH-sensitive hydrogels with adjustable swelling kinetics [J]. *Biomaterials*, 1998, 19(11 - 12): 1037 - 1047.
- [39] KURISAWA M, TERANO M, YUI N. Double-stimuli-responsive degradation of hydrogels consisting of oligopeptide-terminated poly(ethylene glycol) and dextran with an interpenetrating polymer network [J]. *Journal of Biomaterials Science: polymer Edition*, 1997, 8(9): 691 - 708.
- [40] YAMAMOTO N, KURISAWA M, YUI N. Double-stimuli-responsive degradable hydrogels: interpenetrating polymer networks consisting of gelatin and dextran with different phase separation [J]. *Macromolecular Rapid Communications*, 1996, 17(5): 313 - 318.
- [41] KURISAWA M, YUI N. Dual-stimuli-responsive drug release from interpenetrating polymer network-structured hydrogels of gelatin and dextran [J]. *Journal of Controlled Release*, 1998, 54(2): 191 - 200.
- [42] MIYATA T, ASAMI N, URAGAMI T. Preparation of an antigen-sensitive hydrogel using antigen-antibody bindings [J]. *Macromolecules*, 1999, 32(6): 2082 - 2084.
- [43] MIYATA T, ASAMI N, URAGAMI T. A reversibly antigen-responsive hydrogel [J]. *Nature*, 1999, 399: 766 - 769.
- [44] NATSUME T, KOIDE T, YOKOTA S K, et al. Interactions between collagen-binding stress protein HSP47 and collagen: analysis of kinetic parameters by surface plasmon resonance biosensor [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269(49): 31224 - 31228.
- [45] MURAI N, TAGUCHI H, YOSHIDA M. Kinetic analysis of interactions between GroEL and reduced α -lactalbumin: effect of GroES and nucleotides [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270(34): 19957 - 19963.
- [46] LU Z R, KOPECKOVA P, KOPECEK J. Antigen re-

- sponsive hydrogels based on polymerizable antibody Fab' fragment[J]. Macromolecular Bioscience, 2003, 3 (6): 296 - 300.
- [47] SOFIYA K, RON K, MARINA K, et al. Rapid colorimetric detection of antibody-epitope recognition at a biomimetic membrane interface[J]. Journal of the American Chemical Society, 2001, 123(3): 417 - 422.
- [48] LINDEN H, HERBER S, OL THUIS W, et al. Stimulus-sensitive hydrogels and their applications in chemical (micro) analysis[J]. Analyst, 2003, 128(4): 325 - 331.
- [49] AOKI T, NAKAMURA K, SANUI K, et al. Adenosine-induced changes of the phase transition of Poly(6-(acryloyloxymethyl) uracil) aqueous solution[J]. Polymer Journal, 1999, 31(11): 1185 - 1188.
- [50] MURAKAMI Y, MAEDA M. Hybrid hydrogels to which single-stranded(ss) DNA probe is incorporated can recognize specific ssDNA[J]. Macromolecules, 2005, 38 (5): 1535 - 1537.
- [51] MURAKAMI Y, MAEDA M. DNA - responsive hydrogels that can shrink or swell[J]. Biomacromolecules, 2005, 6(6): 2927 - 2929.

作者简介:



查刘生,男,1964年生,教授,博士生导师,主要研究方向为智能高分子材料及智能系统.主持过国家科委地方重大科技攻关项目和国家自然科学基金面上项目,有4项成果通过省级鉴定,处于国内或国际领先水平,1项成果获省部级科技进步三等奖,申报国家发明专利1项,完成横向开发项目14项,发表论文50多篇,其中20多篇被SCI收录.

E-mail:lszha@dhu.edu.cn.



刘紫微,女,1981年生,硕士研究生,主要研究方向为生物分子识别响应性水凝胶.

E-mail:ziweiliu@mail.dhu.edu.cn.

Third International Conference on Innovative Computing, Information and Control

第3届创新计算、信息与控制国际会议

ICICIC2008 organized by ICIC International and Dalian University will be held on June 18-20, 2008, at Dalian University, Dalian, China.

Scope

Papers are solicited for, but not limited to, the two major categories:

Innovative Computing and Information: 1) Signal and Image Processing; 2) Speech and Audio Processing; 3) Image and Video Coding and Transmission; 4) Video Processing and Analysis; 5) Image Video Storage; 6) Retrieval and Multimedia; 7) Digital Watermarking and DRM; 8) Artificial Intelligence; 9) Computing and Intelligent Systems; 10) Machine Learning; 11) Biometric and Biomedical Applications; 12) Sensor and Neural Networks; 13) Knowledge Discovery and Data Mining; 14) Visualization and Its Information; 15) Information and Its Technical Education.

Others Intelligent System and Control: 1) Fuzzy Mathematics and Applications; 2) Fuzzy Systems Modeling and Analysis; 3) Knowledge-based Systems; 4) Hybrid Systems Modeling and Design; 5) Fault Detection and Identification; 6) Optimization and Decision Making; 7) Control Systems and Applications; 8) Systems Identification; 9) Risk Analysis and Management; 10) Modeling and Simulation Techniques; 11) Sound & Vibration Control; 12) Others.

Paper Submission Papers are invited from prospective authors with interest on the related areas (oral or poster presentations). Each paper should follow the IEEE format with title, authors' names, affiliation, email addresses, an up to 150-words abstract, and a two-column body with 4 single-spaced pages and with font size at 10 pts. All papers must be submitted electronically in PDF format only: <http://bit.kuas.edu.tw/~icic08/> Papers presented at the conference will be selected for publication in: Int. J. Innovative Computing, Information & Control (indexed by SCI), Int. J. ICIC Express Letters.

Important Dates

Deadline for paper submission: January 20, 2008;
Notification of acceptance: February, 20, 2008;
Camera-ready manuscript submission: March 20, 2008.

The Conference Proceedings will be published by IEEE Press.
web site: <http://www.ijicic.org/icicic2008.htm>