

分子印迹智能水凝胶的研究进展

李祖彬, 霍东霞^{*}, 王红英

(郑州大学材料科学与工程学院, 郑州 450052)

摘要: 智能水凝胶可以响应外界环境(如温度、pH、溶剂、离子强度、电场、磁场、光、压力和特异分子等)的变化, 发生可逆体积相变, 从而具有控制释放的能力。将分子印迹技术引入智能水凝胶, 制备分子印迹智能水凝胶, 不仅可以保持其环境响应性, 更赋予其对特异分子的识别性能, 从而可以根据外界环境的变化控制其对特定分子记忆功能的开关, 实现自动识别并结合或释放特定分子。它有望应用于药物控释、生物传感和免疫分析等领域。本文综述了分子印迹智能水凝胶的研究现状, 讨论了其目前所面临的挑战, 并展望了其发展前景。

关键词: 智能水凝胶; 分子印迹; 感应-响应; 分子识别; 控制释放

引言

智能水凝胶(Intelligent Hydrogels)是一类能够响应外界刺激信号(如温度、pH、溶剂、离子强度、电场、磁场、光、压力和特异分子等)的变化而产生可逆体积相变的水凝胶。由于它同时具备了感应和响应功能, 兼有水凝胶的柔韧性和渗透性, 因而倍受关注。近几十年来, 其研究已取得了较大的进展, 并广泛应用于固定化酶、物质分离、细胞培养、温敏开关、化学传感和药物控制释放等领域。

分子印迹技术(Molecular imprinting technique, MIT)是制备对某一特定目标分子具有特异选择性的聚合物的过程。将分子印迹技术应用于环境敏感水凝胶, 制备分子印迹智能水凝胶(Molecularly Imprinted Intelligent Hydrogels, MIHs), 不仅可以提高水凝胶分子网络对特定分子的结合力, 而且能够根据外界环境的变化控制其对特定分子记忆功能的开关, 实现自动识别并结合或释放特定分子; 同时, 外界特定分子浓度的变化也能刺激水凝胶发生溶胀或收缩, 从而控制其中包埋物质的释放。这些特定分子主要是蛋白质、聚肽、核酸、葡萄糖等生物大分子, 因而在药物控释体系、生物传感器和免疫分析等领域有着巨大的应用前景。

1 分子印迹智能水凝胶的制备

分子印迹技术的核心是制备分子印迹聚合物(Molecularly Imprinted Polymers, MIPs), 传统的 MIPs 制备过程一般包括三步(见图 1): (1) 功能单体和印迹分子在一定相互作用下形成某种可逆复合物; (2) 加入交联剂, 以印迹分子为模板(template), 引发功能单体进行聚合, 在聚合物中对模板分子的形状进行复制。这样就形成了一主体结构(host structure), 也就是对模板分子的印迹; (3) 利用化学或物理方法将印迹分子从高分子网络中洗脱, 获得与之相匹配的三维空穴。它可以再次选择性地与模板分子结合, 从而具有专一识别功能。

分子印迹智能水凝胶由于受到本身作用机理和应用领域等方面的限制, 其制备方法有别于一般的方法。Tanaka^[1~4]提出 MIHs 必须由至少两种功能单体组成, 其中一种功能单体用来结合模板分子, 另一种功能单体则起到感知外界刺激信号、控制水凝胶体积相变的作用。当水凝胶体积收缩时, 分子链上的结合位点相互靠近, 水凝胶处于分子记忆状态; 当水凝胶溶胀时, 分子链上的结合位点相互远离, 处于失忆

基金项目: 河南省自然科学基金项目(0511050500), 河南省青年骨干教师资助项目;

作者简介: 李祖彬(1980—)男, 硕士研究生, 主要从事功能高分子方面的研究工作。

*** 通讯联系人:** E-mail: dxhuo@zzu.edu.cn.

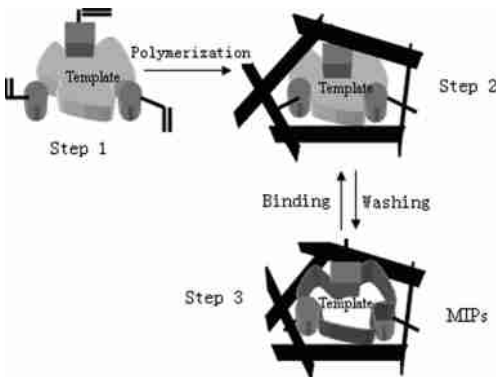


图 1 分子印迹聚合物的制备过程
Figure 1 Procedure of preparing MIPs

状态(见图 2)。

分子印迹智能水凝胶需要采用低交联度来保证其溶胀性能,以致无法形成固定的三维空穴,因此,印迹成功的关键主要由模板分子与功能单体所形成的复合物的稳定性决定。如果二者的结合力太弱,无法

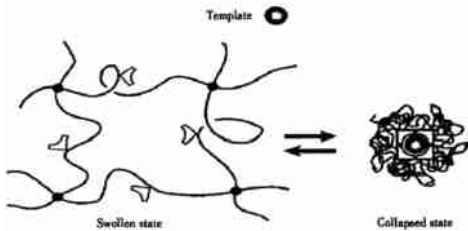


图 2 MIHs 记忆过程
Figure 2 Memory process of MIHs

进行有效的印迹;太强,则聚合后难以洗脱。为了改进这些缺点,有研究者将功能单体在聚合前部分交联,形成一种“imprinter”^[5,6],它含有二个或二个以上的双键或功能基团,功能基团间很容易相互连接形成类似二硫化物或 1,2-乙二醇的结构。聚合后,功能基团间相互分开形成同性离子对,当两个基团靠近时能与溶液中的模板分子发生多点离子键合,增强了非共价型复合物的稳定性。R·D’Oleo 等^[5]制得了含-S-S-的“imprinter”,聚合后-S-S-氧化断裂为成对的磺酸基团,在无模板分子的情况下制备了对 Ca²⁺ 具有识别功能的水凝胶。Moritani 和 Alvarez-Lorenzo^[6,7]合成了含有乙二醇键的二聚物“imprinter”,再以 N,N-亚甲基双丙烯酰胺(BIS)为交联剂,与 N-异丙基丙烯酰胺(NIPAm)进行共聚,然后使水凝胶聚合物分子链上的乙二醇键断裂,形成成对的季铵正离子,能够与含有两个羧酸基团的模板分子离子键合。

目前,分子印迹智能水凝胶的制备仍存在两大技术难题:

(1)交联剂的用量 传统的分子印迹聚合物主要应用于分离工程,大多采用增加交联剂用量(15%~90%)来提高 MIPs 的机械强度,降低其在溶液中的溶胀,固定三维空穴结构,从而实现分子识别。然而吸水溶胀是水凝胶的一个重要特性,分子印迹智能水凝胶正是利用体积的溶胀-收缩来实现对特定分子的可控识别的。因此,如何降低交联剂用量,制备出兼顾刚性和柔韧性的低交联度分子印迹智能水凝胶是研究的热点之一。Yilmaz^[8]和 Long^[9]以传统的方法制备了交联剂用量分别为 19%和 22%的水凝胶,该种水凝胶仍具有分子识别能力。Wizeman 等^[10]以葡萄糖分子为模板,用功能聚合物代替功能单体,将交联度降至 13%。但这些分子印迹智能水凝胶与正常水凝胶的交联度(0.1%~3%)相比仍然较高。

水凝胶分子网络结构的设计日益引起学者的兴趣,有人采用同时增加交联剂和功能单体的分子量,即增加分子链长来改善网络的弹性(见图 3)。从图 3 中 c 可以看出,交联剂和功能单体有一最佳合适比,这依赖于模板分子的大小。若是仅仅增加交联剂链长则会造成结合位点的损失,降低水凝胶对特定分子的识别能力^[11,12]

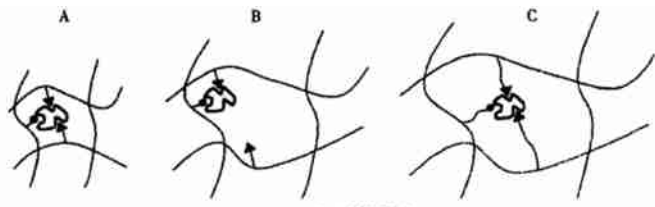


图 3 交联剂和功能单体相对含量的影响

(A)功能单体和交联剂具有合适的比例。(B)交联剂链长增加。(C)交联剂和功能单体链长均相应增加。

Figure 3 Effect of the ratio of crosslinking agent to functional monomer

(A)Appropriate ratio of crosslinking agent to functional monomer·(B)An increase in crosslinking agent·

(C)A corresponding increase in crosslinking agent and functional monomer

(2)溶剂的选择 根据分子印迹智能水凝胶制备过程中模板分子与功能单体之间相互作用力的类型,可将其分为共价型和非共价型。分子印迹智能水凝胶常用于对生物大分子的识别,若其以共价键形式与生物大分子相互作用,虽然识别性较高,但会由于作用力太强,易造成生物大分子失活;而以非共价键形式制备的分子印迹水凝胶作用条件温和,能够更好地保持生物分子的活性,因而在生命科学领域中的应用意义更大。在非共价作用中,氯仿、乙腈等有机溶剂有利于氢键和离子作用的加强,但生物大分子在有机溶剂中容易变性失活,且大多数有机溶剂都有毒性,不利于生物应用;水相更适合水凝胶的应用环境,而水相会干扰功能单体与模板分子的非共价相互作用,导致其作用力的减弱,这一矛盾阻碍了分子印迹智能水凝胶在生物领域的应用。

Watanade 等^[13]以盐酸降麻黄碱(norephedrine hydrochloride)为模板分子,以二噁烷为溶剂,将 NIPAm、丙烯酸(AAc)和交联剂共聚制得了温敏性分子印迹智能水凝胶。当温度高于其体积相转变温度(VPTT)时,水凝胶处于收缩状态,然而在相同温度条件下,随着溶液中降麻黄碱浓度的增大,水凝胶却能够逐步溶胀,而增加溶液中肾上腺素(adrenaline)的浓度,则水凝胶的溶胀率不发生变化,说明该水凝胶能够识别负载降麻黄碱分子而溶胀。然而在水相中制备该水凝胶时,则无此识别能力。该研究结果表明,溶剂会干扰功能单体与模板分子的相互作用,从而影响印迹效果。

为了实现在水中进行分子印迹,以避免生物大分子在有机溶剂中失活,Paraskevi^[14]和 Wizeman^[10]分别以葡萄糖磷酸钡盐(GPS-Ba)和葡萄糖磷酸钠盐(GPS-Na)为模板分子,用水溶性的聚丙烯胺盐酸盐(PAAm·HCl)代替功能单体丙烯胺(AAm),以离子键结合,用环氧氯丙烷交联后得到的 MIHs 能选择识别葡萄糖分子,键合容量分别达 0.6g 葡萄糖/g 干凝胶和 0.5g 葡萄糖/g 干凝胶,并可成功拆分葡萄糖同分异构体。

2 温敏分子印迹智能水凝胶

温敏分子印迹智能水凝胶分子网络中含有一定比例的亲水和疏水基团,温度的变化可以影响这些基团的疏水作用和大分子链间的氢键作用,从而改变水凝胶的网络结构,产生体积相变。其溶胀与收缩强烈地依赖于温度,有高温收缩和低温收缩两种类型。一般在低温下溶胀度高,在较高温度下溶胀度低。

聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAm)是典型的高温收缩型水凝胶,处于收缩状态时,表现出分子识别能力。Tanaka^[1~4]以 Ca^{2+} 为模板,NIPAm 和 AAc 为功能单体,BIS 为交联剂,制备了 Ca^{2+} 印迹水凝胶。室温下,水凝胶在水中溶胀,其中的结合位点相互远离,无法结合 Ca^{2+} ;而当温度高于 VPTT 时,水凝胶突然收缩,结合位点相互靠近,此时吸附溶液中的 Ca^{2+} 。对比实验表明,MIHs 对 Ca^{2+} 的吸附容量和选择性远远大于非印迹水凝胶(non-MIHs)。何江川等^[15]以 NIPAm 为温度响应性单体,甲基丙烯酸(MAAc)为功能单体,在 *N*-甲基吡咯烷酮(NMP)中经 BIS 交联聚合,对甘草酸进行分子印迹,制备了可识别甘草酸分子的温敏分子印迹水凝胶,所得水凝胶可以富集水溶液中的甘草酸,并对它表现出特殊的选择性分离作用,分配系数约为非印迹智能水凝胶的 11 倍。

如果水凝胶分子网络具有微观相分离结构,即同时兼具起响应作用的“软区”(flexible areas)和起识别作用的“硬区”(rigid areas),则可以兼顾水凝胶的柔韧性和分子印迹聚合物的分子识别性。互穿网络

(IPN)聚合物水凝胶可以具备微观相分离结构,且可提高水凝胶材料的机械强度。Yamashita^[16]采用二步印迹法,先用 PAAc 结合重金属离子,然后再加入 NIPAm,交联后形成互穿网络结构。将模板分子洗脱后,该分子印迹智能水凝胶在温度高于 VPTT 时收缩,对重金属离子具有识别结合力。也有学者^[11]提出使水凝胶体系中形成液晶网络或者使其具有半晶结构,则晶区的稳定有序性可以具有印迹效果。

最近,相继有人报道^[14,17,18],有些温敏性分子印迹智能水凝胶在溶胀状态时也具有一定的吸附能力,且吸附能力随着温度升高呈先增大后减小的趋势,存在一个最佳溶胀状态(见图 4),该研究结果说明分子链的过度收缩反而会影响水凝胶对特定分子的识别结合。

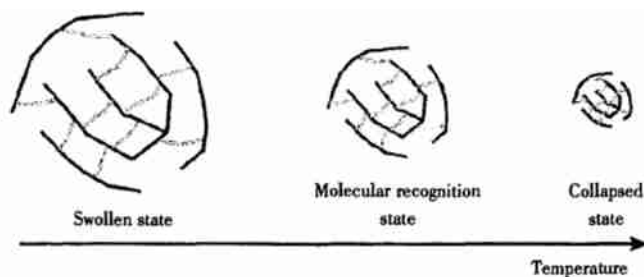


图 4 温度的影响

Figure 4 Effect of temperatur

3 pH 敏感分子印迹智能水凝胶

水凝胶的 pH 敏感性最早是由 Tanaka^[19]在测定陈化后的聚丙烯酰胺凝胶溶胀比时发现的。这类水凝胶的溶胀或去溶胀是随 pH 值的变化而发生变化的,它们含有大量易水解和质子化的解离基团,当外界 pH 变化时,这些基团的解离程度相应改变,造成凝胶内外离子浓度的变化,并引起网络内氢键的生成或断裂,导致凝胶的不连续体积相变。一般来说,具有 pH 响应性的水凝胶都是通过交联而形成大分子网络,网络中含有酸性(或碱性)基团,随着介质 pH 值、离子强度改变,这些基团发生电离,导致网络内大分子链段间氢键的解离,引起不连续的溶胀体积变化。

Oral 等^[20]以 D-葡萄糖为模板分子,聚乙二醇-600 双甲基丙烯酸酯与甲基丙烯酸共聚,制得了具有星型结构的分子印迹智能水凝胶,该水凝胶具有 pH 敏感性,pH=4.5 时发生体积相转变,在收缩状态时能够识别葡萄糖分子。

Demirel 等^[21]以 N,N-亚甲基双丙烯酰胺(BIS)为交联剂,以过硫酸铵(APS)和 N,N,N,N-四甲基乙二胺(TEMED)引发 N-叔丁基丙烯酰胺(TBA)、丙烯酰胺(AAm)和顺丁烯二酸(MA)进行交联共聚,对牛血清蛋白(BSA)进行印迹,制备了可识别 BSA 的 pH/温度敏感 BSA 分子印迹 P(TBA-co-AAm/MA)智能水凝胶。它在 pH 为 5(BSA 的等电点为 4.8)左右时对 BSA 的吸附容量最大,随温度升高其吸附容量降低,并在各种条件下对 BSA 的吸附容量均比非印迹水凝胶高得多。

水凝胶除了可以响应温度和 pH,还可以响应电场、磁场、光和压力等,因此,有望制备电敏分子印迹智能水凝胶和光敏分子印迹智能水凝胶等,甚至可以合成多重响应分子印迹智能水凝胶。

4 结语

分子印迹智能水凝胶结合了分子识别和感应-响应两大功能,在药物控制释放、生物传感和免疫分析等领域有着广阔的应用前景。但由于研究历史较短,仍然存在一些亟待解决的问题。

(1)分子印迹智能水凝胶的可控制识别机理的研究相对肤浅。目前的研究基本上停留在定性水平,有关其热力学和动力学的研究报道还不多,还缺乏定量和系统的研究。如何从分子水平上更好地理解其响应过程和识别过程,仍需努力;

(2)交联剂和功能单体的含量,以及聚合方法等对其响应及识别性有着关键的影响,但分子印迹智能水凝胶分子网络结构的设计仍缺乏系统理论的指导;

(3)水相更适合水凝胶的应用环境,而水相会干扰印迹过程,这一矛盾阻碍了分子印迹智能水凝胶的研究。虽然已有学者^[7,10]用水溶性单体代替传统的单体在水相中制备了分子印迹智能水凝胶,但仍具有局限性。

尽管分子印迹智能水凝胶目前还处于初级研究阶段,制备技术还有待进一步完善,但其显著的优越性能已引起了越来越多的关注,可以推测分子印迹水凝胶在必将在生物医用等领域有着巨大的发展潜力。

参考文献:

- [1] Alvarez-Lorenzo C, Guney O, Oya T, et al. *Macromolecules*, 2000, 33(23): 8693~8697.
- [2] Alvarez-Lorenzo C, Concheiro J. *Control Release*, 2002, 80(1-3): 247~257.
- [3] Ito K, Chuang J, Alvarez-Lorenzo C, et al. *Prog Polym Sci*, 2003, 28(10): 1489~1515.
- [4] Oya T, Enoki T, Grosberg A Y, et al. *Science*, 1999, 286(5444): 1543~1545.
- [5] D'Orleo R, Alvarez-Lorenzo C, Sun G. *Macromolecules*, 2001, 34(14): 4965~4971.
- [6] Moritani T, Alvarez-Lorenzo C. *Macromolecules*, 2001, 34(22): 7796~7803.
- [7] Moritani T, Alvarez-Lorenzo C. *USP* 20, 020, 115, 738(February 2001).
- [8] Yilmaz E, Mosbach K, Haupt K. *Allal Commun*, 1999, 36: 167~170.
- [9] Cong Y, Moshach K. *J Chromatogr A*, 2000, 888: 63~72.
- [10] Wizenman W J, Kofinas P. *Biomaterials*, 2001, 22: 1485~1491.
- [11] Byrne M E, Park K, Peppas N A. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2002, 54(1): 149~161.
- [12] Peppas N A, Leabandung W. *J Biomater Sci Polymer Edn*, 2004, 15(2): 125~144.
- [13] Watanabe M, Akahoshi T, Tahata Y, et al. *J Am Chem Soc*, 1998, 120: 5577~5578.
- [14] Pampi P, Kofinas P. *Biomaterials*, 2004, 25: 1969~1973.
- [15] 何江川, 林强. *化学研究与应用*, 2005, 17(2): 216~219.
- [16] Keiji Y, Takashi N, Kozo O, et al. *Polym J*, 2003, 35(7): 545~550.
- [17] Paraskevi P, Bolisay Linden D V, Kofinas P. *Materials Research Society Symposium-Proceedings*, 2003, 787: 79~84.
- [18] Bolisay Linden D V, March J F, Bentle, Wiliam E, et al. *Materials Research Society Symposium -Proceedings*, 2003, 787: 29~33.
- [19] Tanaka T. *Phys Rev Lett*, 1978, 40(12): 820~823.
- [20] Oral E, Peppas N A. *J Biomed Mater Res-Part A*, 2004, 68A(3): 439~447.
- [21] Demirel G, Ozcetin G, Turan E, et al. *Macromolecular Biosci*, 2005, 5(10): 1032~1037.

Development of Molecularly Imprinted Intelligent Hydrogels

LI Zu-bin, HUO Dong-xia^{*}, WANG Hong-ying

(School of Materials Science and Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: Intelligent Hydrogels exhibit reversible swelling behavior in response to external stimulation, such as temperature, pH, solvent, ionic strength, electric field, magnetic field, light, pressure, specific analyte, etc. Improving the characteristic of intelligent hydrogels by molecular imprinting technique, those hydrogels not only have the ability of environmental responsiveness, but also have the specialty of molecular recognition. Hence, the molecularly imprinted intelligent hydrogels can auto-recognize and bind/release the specific analyte in response to the external stimuli, which has potential application in delivery of drug, biosensors and immune analysis. In this paper, the development of molecularly imprinted intelligent hydrogels is reviewed. The challenges and the research tendency are discussed.

Key words: Intelligent Hydrogels; Molecular imprinting; Sensitiveness-Responsiveness; Molecular recognition; Controlled release