

编者按: 恰逢清华大学百年校庆之际,《高分子通报》编辑部精心制作了这一期清华大学百年纪念专辑,邀请了清华大学生命学院、清华大学化学系和清华大学化学工程系的部分高分子科学工作者撰写成果论文,内容涉及光电功能高分子、高分子合金和复合材料、生物医用材料、纳米材料 and 环境友好的高分子材料等研究领域,希望藉此展示清华大学高分子科学研究的成果,反映清华高分子学者的精神风貌。

专 论

生物可降解电活性苯胺聚合物

李保松¹, 齐宏旭¹, 陶 磊¹, 危 岩^{1,2*}

(1. 清华大学化学系, 北京 100084;

2. 清华大学有机光电子与分子工程教育部重点实验室, 北京 100084)

摘要: 导电聚合物通过其独特的电活性或导电性,可智能地传递或控制细胞电化学信号,从而定向诱导组织器官的再生修复,已成为神经和组织工程领域研究的热点。本文主要介绍了我们实验室生物可降解电活性苯胺聚合物的相关工作,介绍了以苯胺齐聚物与可降解高分子接枝或嵌段制备具有电活性、可生物降解的新型导电聚合物及其在细胞培养和组织工程方面的研究。介绍了静电纺丝制备电活性纳米纤维的概况。苯胺齐聚物与可降解聚合物的接枝和嵌段可同时赋予其电活性、生物相容性和生物可降解性。可生物降解的电活性聚合物是未来生物组织工程领域的发展趋势之一,具有广阔的应用前景。

关键词: 苯胺齐聚物;嵌段共聚物;接枝共聚物;电活性;生物降解;电纺丝

人体很多细微的活动都与生物电有关^[1]。外界的刺激、心脏跳动、肌肉收缩、大脑思维等都伴随着生物电的产生和变化。基于细胞的多重功能(如黏附、增殖、迁移和分化)可通过电刺激进行调节^[2,3],人们广泛研究了导电聚合物在生物技术尤其是组织工程方面的潜在应用^[4]。例如当骨骼缺损后由于细胞信号传导和力学传导中断,导致组织再生能力下降,而传统的骨修复材料缺乏必要的信号传导能力,此时导电高分子就显示出巨大的应用价值。常见的有机导电聚合物包括聚乙炔(polyacetylene)、聚吡咯(polypyrrole, PPy)、聚噻吩(polythiophene)、聚苯胺(polyaniline, PANi)和聚3,4-乙撑二氧噻吩[poly(3,4-ethylenedioxythiophene), PEDOT]等。其中PPy、PEDOT已在纳米微粒^[5]、固载蛋白^[6]和器件表面修饰^[7]等方面取得了较好的成果,而生物相容性改性的PANi可用于神经和心肌等电刺激响应性细胞的培养及相关电活性组织工程支架。

1 苯胺齐聚物与生物可降解性

由于电活性可生物降解高分子既有可能传递细胞电信号,又具有良好的生物相容性和可降解性,成为智能生物组织工程材料研究的重要方向。苯胺齐聚物接枝共聚物和嵌段共聚物是电活性生物可降解高分子的主要研究热点^[8]。

苯胺齐聚物,例如苯胺三聚体、四聚体、五聚体(包括单封端以及双封端)等(见图1)是赋予高分子电活性和导电性的主要结构单元,具有和聚苯胺相类似的化学结构和电性能^[9],其中苯胺八聚体具有和聚苯胺接近的电导率^[10,11]。另一方面,苯胺齐聚物可以采用一些化学合成手段来获得其纯净物,其结构相比聚苯胺更易表征,性能与结构的关系更容易明确,因而近来获得了广泛的研究关注^[12,13]。然而由于苯

基金项目: 国家重点基础研究发展计划“973”项目(2011CB935701),中国博士后科学基金(20100480251)资助;

作者简介: 李保松(1979—),男,博士后,副研究员,主要从事高分子材料,腐蚀与防护研究;

* **通讯联系人:** E-mail: weiyen@tsinghua.edu.cn.

胺齐聚物分子量比较小,在一般溶剂中的溶解性较好,导致在实际应用过程中一部分苯胺齐聚物会发生流失;另外较低的分子量也使得苯胺齐聚物的稳定性有所下降,使得其抗氧化能力比较弱^[9]。作为生物材料使用,要求其具有足够的稳定性和生物可降解性,需将苯胺齐聚物与传统可生物降解高分子例如聚乳酸、丙交酯、壳聚糖等进行接枝或者嵌段合成,以赋予新型聚合物良好的电活性和可降解性。

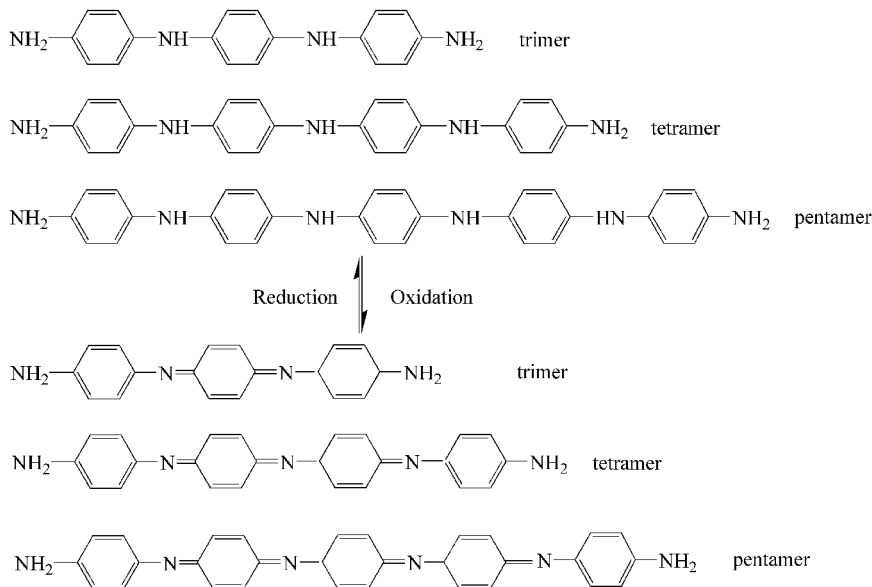


图 1 苯胺齐聚物的结构

Figure 1 Structure of amino-capped trimer, tetramer and pentamer of aniline

2 苯胺齐聚物接枝共聚物

生物医学领域的研究证明微量的电信号刺激对于多种细胞的生长、增殖与分化,都具有明显的改善和促进作用。导电高分子如聚苯胺、聚吡咯、聚 3,4-乙撑二氧噻吩等,做为一种既能为细胞提供具有电活性生长环境,同时又具有良好生物相容性的支架材料,一度成为组织工程研究的热点^[14]。但由于导电高分子的不可降解性,长期存在于生物体内会引起组织炎症,使其实际应用受到限制。而导电高分子低聚体由于具有与导电高分子相似的电化学性质,越来越多地被用于构建新型功能高分子^[15]和组织工程支架材料的研究^[16]。将苯胺低聚体引入到传统的生物高分子如聚乳酸、聚 ε-己内酯及天然生物高分子壳聚糖中,得到了一系列同时具有电活性和生物可降解性的高分子材料^[17,18]。在体内酶的作用下,苯胺齐聚物或作了修饰的衍生物可能具有一定的水溶性,部分最终降解为可吸收的小分子,被人体排出体外。这些化合物的生物毒性尚不清楚,是将来要研究的一个重要问题。

为寻求一种理想的能够响应电信号刺激同时又可生物降解的生物高分子作为组织工程支架材料,危岩、陈学思团队设计合成了一种聚谷氨酸与苯胺四聚体的接枝共聚物^[19],见图 2。将具有电活性的苯胺四聚体(AT)接枝到聚谷氨酸(PGA)侧链上,得到了以可生物降解的聚谷氨酸为主链,具有电活性的苯胺四聚体为侧链的新型接枝共聚物。共聚物可溶解于碱性缓冲溶液中,也可溶于 DMF、DMSO 等非质子极

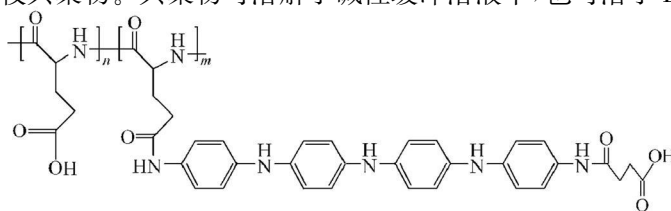


图 2 PGA-g-AT 共聚物的结构

Figure 2 Structure of copolymer PGA-g-AT

性溶剂,共聚物具有与苯胺低聚体相似的可逆氧化还原过程并可被质子酸掺杂,表现出良好的电化学活性。主链聚谷氨酸可以在体内酶的作用下,部分最终降解为可吸收的小分子,苯胺低聚体部分由于分子量较小也可被人体排出体外。由于处于中间氧化态的苯胺低聚体可以被质子酸掺杂,主链上剩余羧基的存在使聚合物在一定条件下会发生分子间或分子内的自掺杂现象,并常伴随着自组装现象的出现。若对这一现象深入研究有可能在应用中不需要外加掺杂剂即可使苯胺低聚体处于掺杂态。同时,自组装现象的出现也可能赋予材料更好的韧性,有望在组织工程支架材料的研究中发挥作用。

3 苯胺齐聚物嵌段共聚物

为寻求一种理想的能够在人体内传导生物电信号的神经传导材料,危岩与长春应化所张万金团队设计合成了既具有电活性,同时又有良好生物相容性和生物可降解性的材料:聚乳酸(PLA)和苯胺齐聚物的嵌段共聚物^[20]。我们选取了双羧基封端的苯胺五聚体作为研究模型,同具有生物降解性的 PLA 形成共聚物。苯胺五聚体和具有生物降解性的 PLA 形成共聚物,一方面能改善苯胺五聚体的毒性,另一方面还能控制材料的降解,降解后 PLA 和苯胺五聚体等小分子物质可随排泄物一起排出体外,为其在人体内的应用提供了良好的前景。这是首次将电活性概念引入生物医用降解材料来进行研究,具有创新性和潜在的应用价值。苯胺齐聚物有三种封端形式:苯基/氨基封端、双苯基封端和双氨基封端。合成电活性可生物降解聚乳酸与苯胺五聚体嵌段共聚物的过程如下^[8,21]:

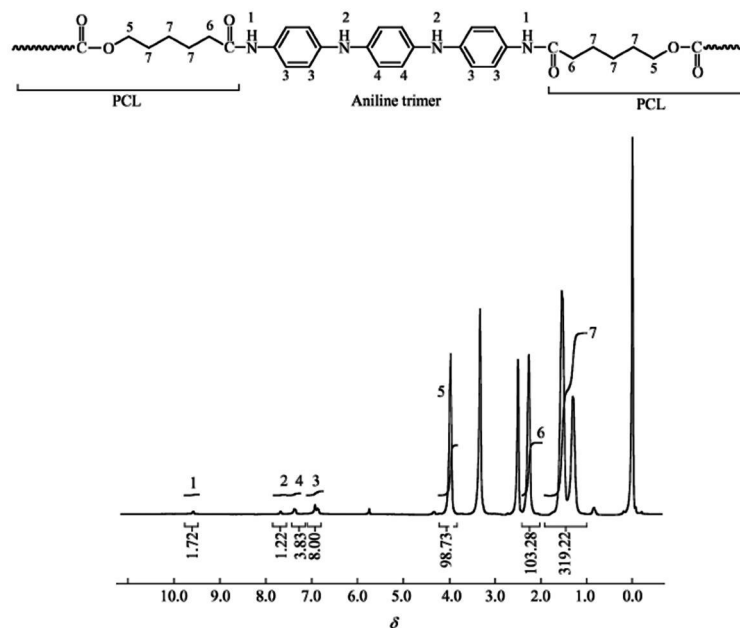


图3 双聚己内酯封端的苯胺三聚体的聚合物¹H-NMR 图谱

Figure 3 ¹H-NMR spectrum of obtained double polyester capped aniline trimer polymer

首先,用丁二酸酐保护 *N*-苯基-1,4 对苯二胺的端氨基,再用保护后的 *N*-苯基-1,4 对苯二胺和对苯二胺以过硫酸铵为氧化剂在酸性条件下反应,得到双羧基封端的苯胺五聚体;其次,在 N_2 气氛下,取重结晶后的丙交酯 100g(0.694mol)溶于 150mL 甲苯中,用注射器注入 3.5588g(0.0434mol)丁二醇引发剂,辛酸亚锡作为催化剂,用量是丁二醇摩尔数的 0.5%,于 110℃连续搅拌反应 12h,丙交酯经开环聚合生成双羟基封端的 PLA。反应产物用乙醇沉降得到 PLA 的白色固体粉末,用真空泵抽干至恒重;最后,取 2.1200g(2.0mmol)双羟基封端的 PLA 和 1.3450g(2.0mmol)双羧基封端的苯胺五聚体溶于 15mL *N*-甲基吡咯烷酮(*N*-methyl pyrrolidone, NMP)中,以 1.6504g(8.0mmol)DCC 作为缩合剂,在 N_2 气氛中,在冰水浴冷却下反应 48h。反应结束后,先抽滤,除掉白色晶状的不溶物,将滤液用乙醚沉降得到蓝色沉淀,再用 $CHCl_3$ 溶解,乙醚沉淀,反复 2 次,然后用真空泵抽干至恒重,得到可生物降解聚乳酸与苯胺五

聚体嵌段共聚物。

另外,危岩、景遐斌团队设计合成了天然高分子明胶与苯胺五聚体的交联聚合物^[22],该交联聚合物具有良好的生物相容性和生物降解性,同时由于苯胺五聚体的电活性在不需外加电刺激的条件下能显著促进神经细胞的分化,有望在神经修复组织工程支架材料方面得到应用。交联聚合物具有与苯胺低聚体相似的电化学性质,苯胺五聚体被成功地引入到酸性水溶液中,同时,在酸性水溶液中,苯胺五聚体保持了电活性,为研究电活性对细胞生长的影响提供了条件。

我们还合成了双聚己内酯封端的苯胺三聚体的聚合物^[23]。以双氨封端苯胺三聚体为引发剂,辛酸亚锡为催化剂,在无水甲苯溶液中引发 ϵ -己内酯(ϵ -CL)开环聚合,得到了一分子量约为 5900 的双聚己内酯封端的苯胺三聚体 ABA 型三嵌段聚合物。在所得的聚合物结构中,苯胺三聚体化学链结构得到了完整的保留,聚合物也体现出了和苯胺齐聚物相类似的一些性质。在聚合物中,苯胺齐聚物的双端氨基经反应后形成酰胺键,热稳定性和电化学稳定性均得到了较大的提高,特别地,聚合物对溶液 pH 值的变化响应范围更宽、更灵敏。以氘代 DMSO 为溶剂,我们检测了所得聚合物的核磁氢谱,见图 3。

采用溶液法,将合成的可生物降解的苯胺五聚体/聚乳酸多嵌段共聚物(PLAAP)和低聚乳酸接枝改性的 HA (op-HA)与聚(丙交酯-乙交酯)(PLGA)共混,制备智能型电活性可生物降解纳米复合材料(PLAAP/op-HA/PLGA),通过施加一定的电信号刺激,采用细胞培养和动物试验研究电活性纳米复合材料对成骨细胞的粘附、扩展、增殖和分化,以及骨骼缺损修复的影响。结果表明,电活性材料和电刺激可明显增强细胞的粘附和生长,提高成骨相关基因表达,引导和促进骨骼再生,显示了良好的应用前景^[8,24]。

4 电活性导电高分子膜培养细胞

危岩、Lelkes P I、MacDiarmid A G、陈学思团队已将 PANi 应用于诸如心肌细胞、PC-12 细胞、骨细胞及干细胞等的培养,研究电刺激信号对这些细胞及其形成组织的生理活动的影响^[2,25,26]。将这些细胞置于一个恒电位环境下,或者间歇性给予一定大小的电流刺激,可促使细胞的分化和生长,只要电位或电流大小适中,不会对细胞有危害作用。由于 PANi 具有电刺激响应性,经过改性可将其制成功能性生物材料。与非导电性生物材料相比,这类导电聚合物具有对多种刺激信号的敏感性和响应性,因而具有更好地适应性。不但能够存储信息和能量,而且能够表现出多种智能功能。细胞^[4]与工程化支架材料的相互作用可以调节和重塑细胞在体外环境条件下的生理功能,生物功能性氨基酸和寡肽改性导电 PANi 可赋予其良好的生物相容性,实现神经细胞在其表面的有效黏附与增殖。通过静电纺丝制备的 PANi/明胶导电性纳米纤维,用于心肌细胞的培养,为心脏、心血管和神经组织重建开辟了一条新路。我们在多肽改性 PANi 膜表面、电纺 PANi/明胶纳米纤维膜表面培养 PC12 神经细胞和 H9c2 心肌细胞方面进行了一些研究工作^[4]。PANi 导电聚合物作为一种智能型支架材料,用于组织重建中的细胞增长与分化调节,将在组织工程等相关生物医学领域发挥重要作用。

5 电纺丝制备电活性纳米纤维

电纺丝方法制备的超细纤维具有高比表面积($\sim 10^3 \text{ m}^2/\text{g}$)及多孔结构^[27],可用于纺丝的高分子材料很多,其应用研究范围很广。危岩与吉林大学王策、张万金、卢晓峰团队,中科院长春应用化学研究所陈学思团队进行了大量的研究,包括传感器^[28]、导电材料^[29]、组织工程支架^[30]、高性能过滤器^[31]、分离膜及药物控制释放载体^[32,33]等方面。用电纺丝方法制备的可生物降解超细纤维在组织工程支架领域占有重要的地位,可用于血管支架、外伤被覆及种子细胞培养等。到目前为止,包括通用高分子、导电高分子、生物高分子和液晶高分子在内的数十种聚合物都利用这种方法制成了相应的纳米纤维^[34,35]。研究导电聚合物的电纺纤维是电活性生物材料的一个重要方向,可以为电刺激培养细胞提供基材、组织工程支架、可生物降解材料,因此具有重要的应用价值。另外,电纺纤维作为一种全新的药物载体,在药物的担载和控制释放领域也有着广泛的应用前景。

6 展望

为了寻求一种理想的能够响应电信号刺激同时又可生物降解的生物高分子,用做组织工程支架,为生物医学的发展奠定基础,我们研究了可生物降解的电活性聚合物,如苯胺齐聚物的接枝和嵌段共聚物,研究物理刺激(如电刺激)对细胞生长、取向和分化的影响,采用静电纺丝技术制备生物可降解电活性纳米纤维,这些都是有价值的研究工作,具有重要科学意义。随着生物医学的发展和人们环保健康意识的增强,可生物相容及可降解的电活性聚合物已经成为高分子科学一个重要的发展趋势,有望部分替代传统的高分子材料,在生物医学和仿生能源等领域展现了良好的发展前景,值得我们进一步去研究。

参考文献:

- [1] Hsieh B, Wei Y. *Semiconducting Polymers: Applications, Properties and Synthesis*. The American Chemical Society-Oxford University Press, 1999, 384~398.
- [2] Bidez III P R, Kresh Y J, Wei Y, Lelkes P I. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg: Stem Cell Engineering, Part 2*, 2011, 119~141.
- [3] Guterman E, Cheng S, Palouian K, Bidez P, Lelkes P, Wei Y. *Polym Prepr (Am Chem Soc, Div Polym Chem)*, 2002, 43 (2): 766~767.
- [4] Li M Y, Paul B, Elizabeth G T, Guo Y, MacDiarmid A G, Lelkes P I, Yuan X B, Yuan X Y, Sheng J, Li H, Song C X, Wei Y. *Acta Acad Med Sin*, 2006, 28(6): 845~848.
- [5] Wei Y. *J Chem Edu*, 2001, 78(4): 551~553.
- [6] Wei Y, Li B S, Fu C K, Qi H X. *Acta Polym Sinica*, 2010, (12): 1399~1405.
- [7] Chao D M, Zhang J F, Liu X C, Lu X F, Wang C, Zhang W J, Wei Y. *Polymer*, 2010, 51(20): 4518~4524.
- [8] Huang L H, Hu J, Zhuang X L, Ma J, Chen X S, Jing X B, Guo Y, Li M Y, Lelkes P I, Wei Y. *Chem J Chin Univ*, 2005, 26(9): 1771~1773.
- [9] Yang Z F, Wang X T, Yang Y K, Liao Y G, Wei Y, Xie X L. *Langmuir*, 2010, 26 (12): 9386~9392.
- [10] Wei Y, Jamasbi H Y, Li S X, Cheng S, Jansen S A, Sein L T. *Polym Prepr (Am Chem Soc, Div Polym Chem)*, 2000, 41(2): 1761~1762.
- [11] Wei Y, Yang C C, Chen M H, Li W. *ANTEC Soc Plast Eng*, 1997, 55(2): 1369~1372.
- [12] Wei Y, Yang C C, Wei G, Ding T Z, Feng G Z. *Synth Metals*, 1997, 84: 289~291.
- [13] Wei Y, Yang C C, Ding T Z. *Tetrahedron Lett*, 1996, 37: 731~734.
- [14] Guo Y, Li M Y, Mylonakis A, Han J J, MacDiarmid A G, Chen X S, Lelkes P I, Wei Y. *Biomacromolecules*, 2007, 8(10): 3025~3034.
- [15] Bidez P R, Li S X, MacDiarmid A G, Venancio E C, Wei Y, Lelkes P I. *J Biomater Sci-Polym Ed*, 2006, 17(1~2): 199~212.
- [16] Chao D M, Ma X B, Lu X F, Cui L L, Mao H, Zhang W J, Wei Y. *J Appl Polymer Sci*, 2007, 104(3): 1603~1608.
- [17] Huang L H, Hu J, Lang L, Wang X, Zang P B, Jing X B, Wang X H, Chen X S, Lelkes P I, MacDiarmid A G, Wei Y. *Biomaterials*, 2007, 28(10): 1741~1751.
- [18] Hu J, Huang L H, Zhuang X L, Zhang P B, Lang L, Chen X S, Wei Y, Jing X B. *Biomacromolecules*, 2008, 9(10): 2637~2644.
- [19] Lang L, Zhuang X L, Liu Y D, Chen X S, Wei Y. *Acta Polym Sinica*, 2010, (7): 956~959.
- [20] Huang L H, Zhuang X L, Hu J, Lang L, Zhang P B, Wang Y, Chen X S, Wei Y, Jing X B. *Biomacromolecules*, 2008, 9(3): 850~858.
- [21] Chen L, Yu Y H, Mao H P, Lu X F, Zhang W J, Wei Y. *Chem J Chin Univ*, 2004, 25(9): 1768~1770.
- [22] 刘亚栋, 胡军, 郎乐, 庄秀丽, 陈学思, 景遐斌, 危岩. 2009 全国高分子学术论文报告会论文集下, 天津, 2009, 655.
- [23] Liu S W, Zhang Y, Wei Y, Xu J R. *Acta Polym Sinica*, 2010, 1: 22~26.
- [24] 黄利红, 胡军, 庄秀丽, 陈学思, 景遐斌, 危岩. 2005 全国高分子学术论文报告会论文集, 北京, 2005, 471.
- [25] Li M Y, Paul B, Elizabeth G T, Guo Y, MacDiarmid A G, Lelkes P I, Yuan X B, Yuan X Y, Sheng J, Li H, Song C X, Wei Y. *Chin J Polym Sci*, 2007, 25(4): 331~340.
- [26] Li M Y, Guo Y, Wei Y, MacDiarmid A G, Lelkes P I. *Biomaterials*, 2006, 27: 2705~2715.
- [27] Lu X F, Wang C, Wei Y. *SMALL*, 2009, 5(21): 2349~2370.
- [28] Qi H S, Sui X F, Yuan J Y, Wei Y, Zhang L N. *Macromol Mater Eng*, 2010, 295(8): 695~700.
- [29] Lu X F, Zhao Y J, Wang C, Wei Y. *Macromol Rapid Commun*, 2005, 26(16): 1325~1329.
- [30] Patel A C, Li S X, Wang C, Zhang W J, Wei Y. *Chem Mater*, 2007, 19(6): 1231~1238.
- [31] Yang Q B, Li Z Y, Hong Y L, Zhao Y Y, Qiu S L, Wang C, Wei Y. *J Polymer Sci, Part B: Polym Phys*, 2004, 42(20): 3721~3726.

- [32] Wang Y Z, Li Y X, Yang S T, Zhang G L, An D M, Wang C, Yang Q B, Chen X S, Jing X B, Wei Y. *Nanotechnol*, 2006, 17(13): 3304~3307.
- [33] Wang Y Z, Yang Q B, Shan G Y, Wang C, Du J S, Wang S G, Li Y X, Chen X S, Jing X B, Wei Y. *Mater Lett*, 2005, 59(24~25): 3046~3049.
- [34] Yang Q B, Wang C, Hong Y L, Li Z Y, Zhao Y Y, Qiu S L, Wei Y. *Chem J Chin Univ*, 2004, 25(3): 589~591.
- [35] Yang Q B, Li D M, Hong Y L, Li Z Y, Wang C, Qiu S L, Wei Y. *Synth Met*, 2003, 137(1~3): 973~974.

Electroactive and Biodegradable Aniline Copolymer

LI Bao-song¹, QI Hong-xu¹, TAO Lei¹, WEI Yen^{1,2*}

(1. *Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China*; 2. *Key Laboratory of Organic Optoelectronics and Molecular Engineering of Ministry of Education, Beijing 100084, China*)

Abstract: Electroactive and electrically conductive polymers, which can ideally conduct bioelectrical signals in vivo, have shown potential applications in the culture of excitable cells and as electroactive scaffolds for neuronal or cardiac tissue engineering. In this paper, the new research progress of electroactive, biodegradable aniline oligomer grafted copolymers, block copolymers and cell culture were introduced. Recent progresses of electrospinning fibre are reviewed. The materials which are electroactive, remarkably biocompatible and biodegradable, were designed and synthesized by covalently grafting or block-copolymerizing aniline oligomers onto or with biodegradable polymers. The properties of these copolymers are promising for biomedical applications both in vitro and in vivo. Some potentially rewarding research directions are suggested.

Key words: Aniline oligomer; Block copolymer; Graft copolymer; Electroactive; Biodegradable; Electrospinning