

α -螺旋聚氨基酸交联的水凝胶的制备和材料特性*

张正初 熊炜* 吕华*

(北京大学化学与分子工程学院 北京 100871)

摘要 聚氨基酸作为一种主链结构和天然蛋白质相同的合成高分子,能够形成多种二级结构,为调节材料的宏观性能提供了新的维度.为系统研究二级结构对聚氨基酸材料的影响,本工作分别设计了 α -螺旋和无规线团结构的聚氨基酸交联剂,并构建了两类以不同二级结构聚氨基酸交联的水凝胶.通过比较两类水凝胶的流变和拉伸性能,研究了聚氨基酸的 α -螺旋结构对水凝胶力学性质的影响.结果表明,与无规线团聚氨基酸交联的水凝胶相比,螺旋聚氨基酸交联的水凝胶表现出更大的刚性、更高的韧性和快速恢复的特征,展现出 α -螺旋作为分子弹簧的特性与作为高力学性能水凝胶增强元件的潜力.

关键词 α -螺旋;聚氨基酸;二级结构;水凝胶;材料特性

Preparation and Material Properties of α -Helical Polypeptides Crosslinked Hydrogel*

Zhang, Zhengchu Xiong, Wei* Lu, Hua*

(College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract Polypeptides are synthetic polymers with a similar main chain structure to proteins, which can form various secondary structures, providing a new dimension for regulating the macroscopic properties of materials. To investigate the effect of secondary structures on the properties of polypeptide materials, we designed polypeptide crosslinking agents with α -helical and random coil structures. We synthesized glutamic acid derivatives with triethylene glycol monomethyl ether as the side chain, and subsequently prepared them as *N*-carboxy anhydride (NCA) monomers. We then used a tetra-armed initiator to initiate single chiral NCAs and a 1 : 1 mixture of enantiomeric NCAs to respectively prepare α -helical and random coil structured polypeptides. Acryloyl chloride was used to modify the end groups of the polypeptides so that they could be introduced as crosslinking agents into the polyacrylamide network of *N,N*-dimethylacrylamide (DMAM), resulting in the preparation of hydrogels crosslinked with polypeptides of different molecular weights and secondary structures. By comparing the swelling ratio, rheological and tensile properties of the two hydrogels, we studied the effect of α -helical structure of polypeptides on the mechanical properties of hydrogels. The results of swelling tests in aqueous solutions showed that, hydrogels crosslinked with random coil polypeptides exhibited better swelling performance compared to those crosslinked with α -helical structure polypeptides. The smaller mesh size of α -helical peptide networks resulted in fewer water molecules entering during swelling. Rheological characterization revealed that helical peptide hydrogels had lower critical strain and higher storage modulus, and exhibited faster recovery ability due to the high cooperativity of hydrogen bonds. Tensile experiments were conducted, and stress-strain curves were obtained. α -Helical polypeptide crosslinked gels exhibited higher fracture strength but lower fracture strain compared to random coil polypeptide crosslinked gels. The helical structure required a higher force to break the amide bonds due to multiple hydrogen bonds, resulting in lower extensibility. The elastic modulus of helical gels was significantly higher, independent of the crosslinker's molecular weight. Moreover, helical gels had higher fracture energy due to hydrogen bond dissociation and energy dissipation. According to these results, the hydrogel crosslinked with α -helical polypeptides exhibited greater rigidity, higher toughness, and faster recovery compared with the hydrogel crosslinked with random coil polypeptides, demonstrating the characteristics of α -helices as molecular springs and their potential as enhancers for high-performance hydrogels.

Keywords α -helix; polypeptide; secondary structure; hydrogel; material property

1 引言

水凝胶是由聚合物交联网络在水中溶胀形成的三

维结构^[1-2],具有高含水量、高生物相容性等优异性能,目前已在柔性传感器^[3]、组织工程^[4-6]、药物递送^[7-9]等

* Dedicated to the 90th anniversary of *Acta Chimica Sinica*.

* E-mail: weixiong1993@pku.edu.cn, chemhualu@pku.edu.cn

Received May 6, 2023; published June 27, 2023.

Supporting information for this article is available free of charge via the Internet at <http://sioc-journal.cn>.

Project supported by National Natural Science Foundation of China (22125101).

* 庆祝《化学学报》创刊 90 周年.

项目受国家自然科学基金(22125101)资助.

领域得到广泛应用. 但传统的合成水凝胶往往表现出较差的力学性能, 从而限制了其在生物医学方面的应用. 但在自然界中, 具有类似高含水量的天然水凝胶材料, 如软骨、心脏瓣膜等, 却往往具有优异的力学性能与抗疲劳能力^[10-11]. 基于仿生学原理, 将天然水凝胶中存在的分子作用或结构基元引入水凝胶中, 设计得到具有显著机械性能改善的凝胶材料, 是提升合成水凝胶性能的有效策略^[12-15].

生物体中, 在毛发、肌肉等组织中具有显著的 α -螺旋结构域. 对于 α -螺旋结构的力学性质研究表明, 多肽链段缠绕为螺旋构象后, 可以提高整体的有效直径, 增加链段的刚性, 同时对弯曲有更好的抗性. 此外, 螺旋在氢键作用下高度折叠, 使得当螺旋沿轴方向拉伸时, 其主链共价键作为“隐藏长度”受到氢键的保护, 使得螺旋具有可逆增韧的特性^[16-17]. α -螺旋的这一特性被总结为“分子弹簧”效应, 这一独特的结构也启发研究者应用于高性能材料设计中^[18].

聚氨基酸是一种和天然多肽主链结构相似的聚合物材料, 其能够通过化学手段大量制备, 并具有优异的生物相容性和生物可降解性^[19]. 此外, 通过分子设计, 能够定制合成具有特定二级结构的聚氨基酸材料. 由此, 研究者们希望将 α -螺旋作为分子元件, 引入水凝胶中, 以定制其机械性能. 目前已有一些工作通过侧链修饰的方式, 在水凝胶中引入不同二级结构的聚氨基酸, 探究其对水凝胶吸涨性能、机械性能和自修复性质的影响, 证明了 α -螺旋聚氨基酸对水凝胶机械性能和自修复性能的提升作用^[20-21]. 但上述工作的交联点位于螺旋聚氨基酸的侧链, 使得螺旋在受力时难以从两端拉开, α -螺旋分子弹簧的性质的体现较不直观. 张拥军团队^[22-24]则利用螺旋兼具高韧性与高回弹的特征, 同时应用了大分子交联剂和螺旋聚氨基酸两种增韧手段, 设计了具有高性能的可穿戴柔性传感器. 但在这一系列研究中, 并未涉及比较不同二级结构的聚氨基酸对材料性能的影响.

由此, 本工作希望由末端修饰的多臂聚氨基酸作为水凝胶交联剂, 使得凝胶受力时能够从两端拉开螺旋, 并通过选用侧基相同, 而主链二级结构迥异的对照组, 更为清晰地分析其中 α -螺旋对凝胶力学性质的影响, 从而为将 α -螺旋结构作为水凝胶增强增韧的分子元件提供理论依据.

2 结果与讨论

2.1 聚合物的合成和后修饰

为了将 α -螺旋聚氨基酸作为交联剂引入水凝胶中, 本工作选用了 2-(2-(2-(2-(甲氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)谷氨酸酯-*N*-羧基内酸酐(EG₃GluNCA)作为聚氨基酸交联剂的单体. 该单体的单一手性聚合物 *L*-P(EG₃Glu)_{*n*} 能够在水溶液中较好地形成 α -螺旋结构, 且不受水溶液

pH 的影响. 同时, 通过简单地将等比例外消旋单体混合共聚, 则能够制备得到无规卷曲结构的聚氨基酸 *DL*-P(EG₃Glu)_{*n*}, 两种聚合物的侧链化学组成相同, 仅有二级结构的区别, 是研究 α -螺旋对水凝胶性能影响的理想模型. 因此, 本工作以季戊四胺为多官能化引发剂, 以较高的产率制备得到了不同二级结构的多臂聚氨基酸 P(EG₃Glu).

为充分探究不同长度的 α -螺旋对水凝胶力学性能的影响, 本工作设计了两种不同分子量的聚氨基酸, 分别得到单一手性的螺旋聚氨基酸 *L*-P(EG₃Glu)-10k 与 *L*-P(EG₃Glu)-40k(记为 L10k 与 L40k)和对映手性单体混合的、具有无规卷曲二级结构的聚氨基酸 *DL*-P(EG₃Glu)-10k, *DL*-P(EG₃Glu)-40k(记为 DL10k 与 DL40k).

各聚氨基酸的分子量通过尺寸排阻色谱(SEC)进行表征(图 1). SEC 结果表明, 成功合成了各个预期分子量的聚氨基酸, 同时分子量分布较窄(图 1A). 此前工作报道, 当聚合度在 10 以上时, P(EG₃Glu)能够形成稳定的 α -螺旋结构^[25]. 通过圆二色光谱验证, 如图 1B 所示, L10k 和 L40k 体现出典型的 α -螺旋构象; 而 DL10k 和 DL40k 则无明显的二级结构. 同时, 不同分子量的聚氨基酸中, L10k 螺旋度为 92%, L40k 螺旋度为 95%, 两者螺旋度类似, 该结果和稳定 α -螺旋的形成相符合.

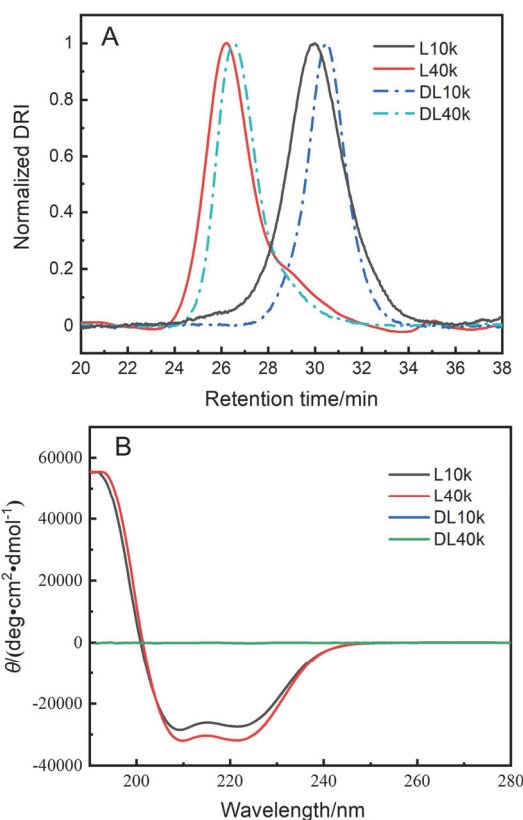


图 1 不同分子量和二级结构聚氨基酸交联剂的尺寸排阻色谱曲线(A)与圆二色光谱(B)

Figure 1 SEC spectrum (A) and CD diagram (B) of polypeptide cross-linking agents with different molecular weights and secondary structures

为了充分体现 α -螺旋的力学性能,在水凝胶受到外力时,力应当作用于 α -螺旋两端,将其拉开而耗散能量.因此,本工作将得到的聚氨基酸通过丙烯酰氯对端基进行丙烯酰基功能化,以引入交联位点.对该结构进行了核磁共振氢谱表征.丙烯酰氯处理后,聚合物中出现了双键的特征信号,且积分比例和聚合物端基完全丙烯酰氯修饰的结果一致(见支持信息图 S2.6).上述结果证明了端基已被丙烯酰氯完全修饰.

2.2 水凝胶的设计和共聚单体的筛选

为了实现将网络中的螺旋由两端拉开,最直接的设计策略是将螺旋的首尾通过柔性链段顺次连接,形成交联网络.即通过柔性端基功能化聚合物连接子,与端基可发生反应的聚合物相互偶联,构成类似“四臂聚合物水凝胶”结构的水凝胶^[26-27].但该设计中,网络的拓扑结构、参与反应的聚合物分子量和交联官能团的化学计量比会对凝胶的性能造成显著影响.文献报道,分子量不匹配的四臂聚合物凝胶会导致其力学性能的显著下降^[28].前期的尝试也证明,难以合成分子量分布和对应聚乙二醇连接子高度吻合的聚氨基酸.最终得到的结果难以区分是反应效率、凝胶缺陷等偶然因素,还是二级结构导致的凝胶性能差异.为此,本工作使用聚合物与小分子之间的反应,期望通过原位自由基聚合的方式,将聚氨基酸端基间以柔性的聚丙烯酰胺类聚合物连接,而聚氨基酸本身则充当交联剂.据报道,聚乙二醇交联的聚丙烯酰胺水凝胶具有较高的力学性能,同时对凝胶缺陷有一定的容忍性^[29].因此,采用类似的设计能够减少凝胶制备中操作误差等带来的干扰.

为了更为准确地分析二级结构在凝胶中的影响,本工作首先对共聚的丙烯酰胺类单体进行了初步筛选.具体实验中,选用了侧链不带电的丙烯酰胺(AAm),侧链为磺酸根的 2-丙烯酰胺-2-甲基丙磺酸(AMPS)与侧链为二甲氨基的 *N,N*-二甲氨基丙烯酰胺(DMAM)这三种不同的丙烯酰胺类单体,分别制备水凝胶.本工作中,选用了 L40k 和 DL40k 两种聚合物作为模型大分子交联剂,拟探究较高的大分子交联剂含量中,能否选择得到合适的共聚单体,探究交联剂二级结构对凝胶性能的影响.具体实验设计如图 2.

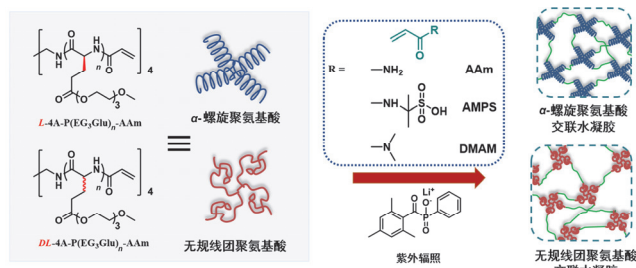


图 2 不同二级结构聚氨基酸交联剂交联的水凝胶合成示意图
Figure 2 Schematic showing of preparation of hydrogels crosslinked by different secondary structure polypeptide crosslinking agents

本工作首先制备了三种不同共聚单体的凝胶,以选用的聚氨基酸交联剂和共聚单体命名为 L40k/PAAm, L40k/PAMPS, L40k/PDMAM 与 DL40k/PAAm, DL40k/PAMPS, DL40k/PDMAM.对上述凝胶进行了振荡频率扫描与动态应变振幅循环扫描(见支持信息图 S2.7~S2.9).AAm 和 AMPS 单体制备得到的水凝胶储能模量类似,且不同二级结构聚氨基酸交联的水凝胶得到类似的结果.值得注意的是,AMPS 凝胶从模具中取出后即发生弯曲.DMAM 制备得到的凝胶则较好地体现出 L40k 和 DL40k 模量的差异(见支持信息图 S2.10).动态应变振幅循环扫描中,AAm 制备的 L40k 和 DL40k 凝胶在大应变处理后弹性模量迅速降低,仅有初始的 30%;AMPS 凝胶在一次处理循环后能够较好地体现出差异,但在第二次循环后则发生碎裂,模量急剧下降.而与前者相比,由 DMAM 单体制备得到的凝胶具有较好的可恢复性.

分析上述结果,以聚电解质单体 AMPS 形成凝胶后,由于其内部存在较大的电荷排斥,凝胶性质过脆;而 AAm 聚合后,其侧链 N-H 的存在使其易形成分子内以及分子间(和另一条 PAAm 链段或聚氨基酸交联剂)氢键,过强的氢键作用最终屏蔽了交联剂的二级结构效应,从而使得二级结构对凝胶性质的影响难以体现.此外,非协同氢键也难以快速恢复.这一结论也和前人报道的单纯 AMPS 或 AAm 凝胶的力学性质相一致^[27].而 DMAM 由于侧链为 *N,N*-二甲氨基,避免了氢键的干扰,又具有较低的电荷排斥,从而避免了前两者的不足,成功地体现出螺旋在凝胶中的效应.

由此,根据上述实验结果,DMAM 是研究聚氨基酸二级结构效应适用的共聚单体.接下来的工作中,分别选用不同长度和二级结构的聚氨基酸,制备得到四种水凝胶.制备得到的水凝胶交联度为 0.16%,固含量为 30%.分别命名为 L40k/PDMAM, DL40k/PDMAM, L10k/PDMAM, DL10k/PDMAM.

成功制备得到水凝胶后,对各组水凝胶进行溶胀测试.在水溶液中溶胀 48 h 后,测定不同组水凝胶的平衡溶胀比.其中, L10k/PDMAM 和 L40k/PDMAM 平衡溶胀比分别为 550% 和 520%,而 DL10k/PDMAM 和 DL40k/PDMAM 平衡溶胀比分别为 1210% 和 1090%.结果表明,以无规线团结构的聚氨基酸交联的凝胶相较于螺旋结构聚氨基酸交联的凝胶,其溶胀性能更好.这一性质可归因于相较于柔性的无规线团链段,高度卷曲的螺旋聚氨基酸更为紧凑.例如据报道,聚赖氨酸在 α -螺旋二级结构下,其持续长度相比无规线团聚赖氨酸显著增大^[30].因此,螺旋聚氨基酸交联形成的网格较小,因而在溶胀时,进入螺旋网络的水分子更少.

2.3 水凝胶的流变性能表征

本工作对不同交联比例与不同聚合物构型的水凝胶进行了流变学表征,其结果如图 3 和表 1.

表1 不同聚氨基酸交联的水凝胶的流变扫描结果汇总

Table 1 Summary of rheological tests for hydrogels crosslinked by different polypeptides

凝胶名称	储能模量 G' /kPa	耗散模量 G'' /kPa	临界应变 γ
L10k/PDMAM	17.5	1.7	500%
L40k/PDMAM	22.4	3.3	450%
DL10k/PDMAM	16.0	2.3	>1000%
DL40k/PDMAM	7.8	0.8	>1000%

通过振荡应变扫描确定材料的临界应变. 在振荡应变扫描中, 不同交联剂分子量与二级结构的水凝胶都表现出黏弹性响应. 对于螺旋聚氨基酸交联的凝胶而言, 其临界应变在 500%左右; 而无规线团聚氨基酸交联的凝胶其临界应变在 1000%以上(图 3A, 3B). 随后, 于线性黏弹区内对水凝胶进行振荡频率扫描. 对于所有材料而言, 储能模量较耗散模量高, 证明了这些材料始终处于弹性凝胶的状态. 同一聚合度不同二级结构聚氨基酸交联的水凝胶中, 螺旋聚氨基酸交联的材料相比于无规线团聚氨基酸交联的材料, 具有更大的储能模量, 但临界应变较低(图 3C, 3D). 综合考虑上述结果. 相比于柔顺的无规线团聚氨基酸, 高度卷曲的螺旋聚氨基酸结构

更为紧凑, 网格尺寸更低, 使得水凝胶具有更强的模量与更小的临界应变. 此外, 对于不同二级结构的聚合物而言, 其储能模量的交联剂分子量依赖性质相反, 即无规线团聚氨基酸交联的凝胶的模量随着交联剂分子量增大而降低, 而螺旋聚氨基酸交联的凝胶模量随着交联剂分子量增大而提高. 这一现象和此前对于类肽螺旋的研究相一致^[31].

在振荡应变扫描时, 若剪切应变大于凝胶的临界应变, 凝胶将在高剪切下失效. 水凝胶的恢复性质将体现为高应变撤去后储能模量的恢复. 为验证这一设计, 对水凝胶施加大剪切应变, 破坏其结构后, 再在小应变下测量其模量的恢复, 即动态应变振幅循环扫描(图 4A). 在高应变下, 凝胶的耗散模量大于储能模量, 说明此时凝胶已失效. 而当高应变撤去后, 能够观察到凝胶的储能模量将重新恢复. 进行两次循环后, 比较各个凝胶恢复情况(图 4B). 能够观察到, 螺旋聚氨基酸交联的水凝胶在一次循环后能保持约 90%的模量; 两次循环后保留模量也大于 50%. 而无规线团交联的聚氨基酸在一次循环后即损失 50%以上的模量. 特别地, DL10k/PDMAM 凝胶两次循环后甚至碎裂, 无法继续测试.

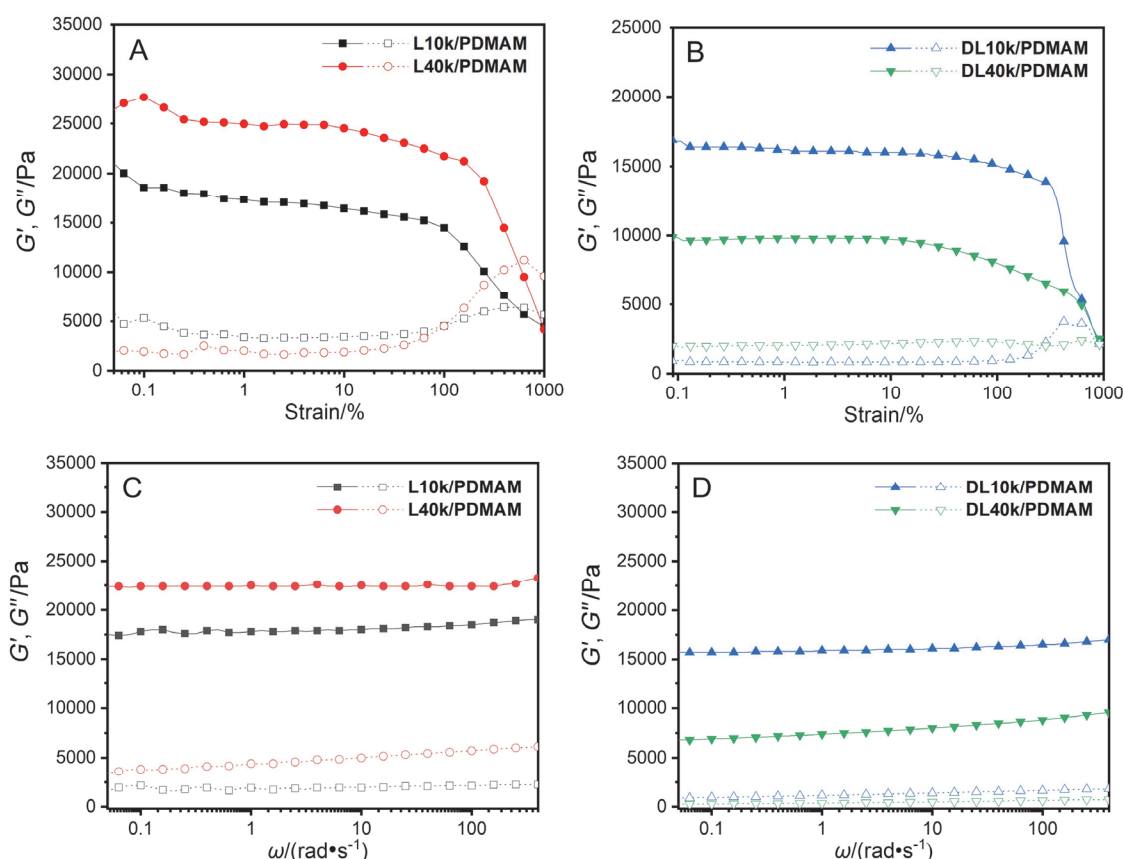


图3 聚氨基酸交联的凝胶的流变扫描结果, 对螺旋聚氨基酸(A, C)、无规线团聚氨基酸(B, D)交联水凝胶的振荡应变扫描与振荡频率扫描结果. 图中实心标记为储能模量(G'), 空心标记为耗散模量(G'')

Figure 3 Rheological tests of polypeptide hydrogels, showing the oscillatory strain and frequency scans of hydrogels crosslinked with α -helical polypeptides (A, C) and random coil polypeptides (B, D). The solid markers represent the storage modulus (G'), and the open markers represent the loss modulus (G'')

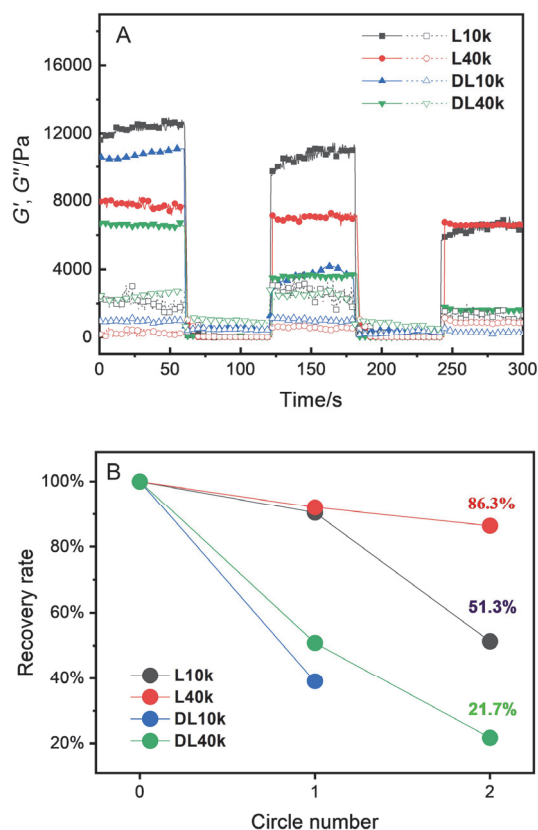


图 4 (A) 聚氨基酸交联水凝胶的动态应变振幅循环扫描结果. 图中实心标记为储能模量(G'), 空心标记为耗散模量(G''); (B) 凝胶在动态应变振幅循环扫描后的恢复性能, 恢复率为循环后储能模量与初始储能模量的比值

Figure 4 (A) Dynamic strain amplitude cycle scan results of polypeptide crosslinked hydrogels. The solid markers indicate the storage modulus (G'), and the hollow markers indicate the loss modulus (G''). (B) Recovery performance of the hydrogel after dynamic strain amplitude cycle scanning. The recovery rate is the ratio of the storage modulus after cycling to the initial storage modulus

动态应变振幅循环扫描中, α -螺旋聚氨基酸交联的水凝胶相比于无规线团聚氨基酸交联的水凝胶, 表现出更快速恢复的能力. 这一性质可归因于 α -螺旋中氢键的高协同性. 大应变剪切后, 凝胶中链缠结与氢键遭到破坏. 而当应变撤去后, 螺旋聚氨基酸交联的凝胶由于氢键的协同作用, 能够快速恢复; 而无规卷曲聚氨基酸的氢键不存在协同性, 被破坏后恢复缓慢, 在连续扫描下体现出模量的下降. 同时, 较高聚合度的聚氨基酸交联凝胶恢复能力更好, 我们认为, 聚合度更高的螺旋聚氨基酸协同效应更强, 从而具有更高的剪切后快速恢复的能力.

2.4 水凝胶的拉伸性质表征

对上述不同分子量和二级结构聚氨基酸交联的凝胶进行单轴拉伸, 进行多次实验, 并根据其中代表性的结果绘制其应力-应变曲线(图 5, 表 2).

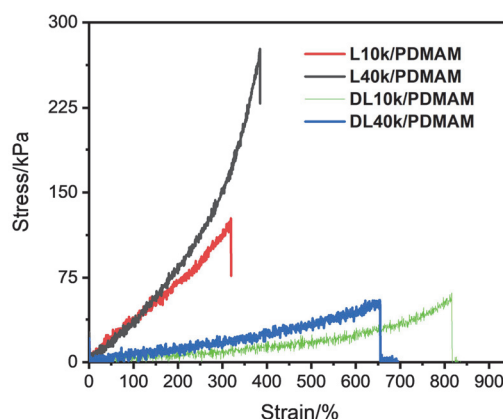


图 5 不同分子量和二级结构的聚氨基酸交联水凝胶的应力-应变曲线

Figure 5 Stress-strain curves of hydrogels crosslinked with different molecular weights and secondary structures polypeptides

表 2 不同分子量和二级结构的聚氨基酸交联水凝胶的单轴拉伸结果
Table 2 Tensile mechanical properties of hydrogels crosslinked with different molecular weights and secondary structures polypeptides

凝胶名称	弹性模量 E /kPa	断裂能/($\text{kJ}\cdot\text{m}^{-3}$)	断裂伸长率
L10k/PDMAM	34	22.4	320%
L40k/PDMAM	32	43.6	350%
DL10k/PDMAM	5.5	17.0	810%
DL40k/PDMAM	7.1	17.2	650%

应力-应变曲线中, 各组凝胶均呈现出弹性凝胶的特征. 和无规线团的聚氨基酸交联的凝胶 DL10k/PDMAM 与 DL40k/PDMAM 相比, 螺旋聚氨基酸交联组 L10k/PDMAM 与 L40k/PDMAM 的断裂强度显著提高, 但断裂伸长率却有所下降. 凝胶拉伸过程中, 作为交联点的螺旋聚氨基酸被拉开. 而螺旋聚氨基酸内存在的多重氢键, 使得令酰胺键断裂所需的外力将作用于整个螺旋中, 进而提高了断裂时的应力. 而无规卷曲聚氨基酸的熵弹簧被拉开所需的外力则相对较低. 而同时, 虽然不同二级结构所对应的聚氨基酸分子量相等, 但 α -螺旋高度紧缩而无规线团相对舒展, 因而 DL 系列交联的凝胶网络相对 L 系列而言网络更灵活, 体现出更高的延展性. 同时, 由于 α -螺旋中, 氢键沿着螺旋的方向, 具有各向异性, 因而拉伸时, 应力将集中于交联点附近; 相比而言, 无规线团中氢键无特定方向, 拉伸时应力分布更均匀. 因此, 螺旋聚氨基酸交联相比于无规线团聚氨基酸, 凝胶的延展性较差. 这一结论和此前文献报道的侧链交联的水凝胶一致^[21].

通过应力-应变曲线进一步计算得到不同凝胶的弹性模量和断裂能, 其结果见表 2. 螺旋聚氨基酸交联的水凝胶弹性模量显著高于无规线团聚氨基酸交联的凝胶, 同时并不具有交联剂分子量的依赖性. 这一结果可归因于二级结构的影响. 根据圆二色光谱结果, L10k 和 L40k 螺旋度分别为 92% 和 95%, 两者螺旋度类似, 因此

于弹性阶段, α -螺旋被拉开时, L10k/PDMAM 和 L40k/PDMAM 凝胶体现出相似的刚性. 此外, 螺旋聚氨基酸交联的水凝胶断裂能显著高于无规线团聚氨基酸交联的凝胶, 这一结果可能源于多重氢键解离以及隐藏长度释放带来的能量耗散效应. 而 L10k/PDMAM 和 L40k/PDMAM 的断裂能的差异可归因于拉伸后期, α -螺旋被拉开. 此时, 更高聚合度的聚氨基酸交联剂内部氢键协同效应更强.

3 结论

制备具有较高力学性能的水凝胶是领域内经久不衰的目标. 本工作基于 α -螺旋独特的分子弹簧机制, 提出 α -螺旋的刚性、氢键的协同效应和快速恢复特征能够提高水凝胶的模量、韧性与快速修复性能, 并通过设计具有不同二级结构的聚氨基酸交联剂构筑凝胶, 对 α -螺旋于凝胶材料性能和力学性质的作用进行研究.

综合流变和拉伸结果, 对于不同聚合度的聚氨基酸, α -螺旋结构的聚氨基酸相比于无规线团均体现出更高的强度, 表现出更好的快速恢复特征. 上述结果表明 α -螺旋能够作为一种提升水凝胶强度和快速恢复的分子元件, 预期其可在制备高性能凝胶中发挥其潜力.

本工作将聚氨基酸的二级结构作为调控水凝胶性能的一种全新维度. 传统调节水凝胶的力学性能的策略, 受限于调节网络的结构, 往往牵一发而动全身, 会带来诸多不期望的性能变化. 例如, 增大凝胶的交联度能够有效提高水凝胶的机械性能, 却又不可避免带来自修复性能的下降和孔隙率的极大变化. 因此, 通过改变聚氨基酸的二级结构, 能够在全新维度上调控水凝胶的力学性能, 有助于研究分子水平的结构到宏观材料性质之间的关联, 为设计具有独特材料性能的新型水凝胶指明方向.

4 实验部分

4.1 聚合物的制备和后修饰

2-(2-(2-(甲氧基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)谷氨酸酯-*N*-羧基内酰胺(EG₃GluNCA)的合成路线用文献中的方法制备得到^[32]. 聚合在手套箱中氮气保护下进行. 在 20 mL 的样品瓶中加入 1.0 g *L*-EG₃GluNCA, 使用手套箱中 10 mL *N,N*-二甲基甲酰胺溶解(若制备 *DL* 型的聚合物, 应分别在两个样品瓶中称取 0.5 g NCA, 溶解后合并), 加入特定量新配制的 0.1 mol/L 季戊四胺引发剂(L40k, 130 μ L; L10k, 520 μ L), 加入磁子进行反应. 反应 18 h 之后, 使用 FT-IR 检测聚合是否完全. 聚合完毕后, 从手套箱中取出, 用乙醚沉淀, 4000 r/min 离心 10 min. 弃去上层清液, 将所得到的聚合物置于真空烘箱中烘干. 得到白色胶状固体(0.6 g, 产率 80%). 得到的聚合物通过核磁 ¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*)和以 *N,N*-

二甲基甲酰胺(DMF)作为流动相的尺寸排阻色谱进行表征. 核磁谱图见支持信息图 S2.4. *DL*-构型的聚合物通过等比例混合不同手性单体, 以类似方法制备得到.

对 4A-P(EG₃Glu)_{*n*} 的端基进行丙烯酰氯修饰. 在 5 mL 样品瓶中称取 200.0 mg (1.0 equiv.) 聚合物, 用 4 mL 无水二氯甲烷溶解, 加入 12.0 mg 三乙胺(16.0 equiv.), 在冰水浴下预先冷却至 0 °C. 量取 6.8 mg 丙烯酰氯(12.0 equiv.), 缓慢加入体系中. 加入后撤去冰浴. 室温搅拌 6 h. 反应结束后, 用乙醚沉淀, 以 4000 r/min 速度离心 10 min. 弃去上层清液, 得到白色胶状聚合物. 将聚合物加入 5 mL 二次水溶解, 用 PD-10 预装脱盐柱除去小分子, 冻干, 得到约 80.0 mg 端基修饰双键的聚合物. 产率约 40%. 得到产物通过核磁 ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)进行表征. 核磁谱图见支持信息图 S2.6.

4.2 水凝胶的制备

对于由端基双键功能化聚合物作为交联剂的凝胶, 将双键修饰后的聚合物交联剂 P(EG₃Glu)-AAm、单体 *N,N*-二甲基丙烯酰胺(DMAM)与光引发剂苯基(2,4,6-三甲基苯甲酰基)磷酸锂盐(LAP)按设计的比例溶解于二次水中, 固定凝胶含水量为 70%(质量分数). 振荡扫描和拉伸时, 交联度为 0.16%, 考虑仪器振幅的上限, 在动态应变振幅循环扫描中选用交联度为 1%的凝胶进行测试, 此时螺旋聚氨基酸交联的水凝胶临界应变约 200%, 无规线团聚氨基酸交联的凝胶临界应变约 350%.

例如, 制备交联剂分子量为 10k, 交联度为 0.16% 的螺旋聚氨基酸交联的凝胶时, 62.9 mg DMAM (0.64 mmol, 625.0 equiv.)、10.2 mg *L*-P(EG₃Glu)-AAm (0.0010 mmol, 1.0 equiv.)溶解于 147 μ L 二次水中, 加入 18.7 μ L 10 mg/mL LAP (0.19 mg, 0.00064 mmol, 0.625 equiv.), 充分混合后, 将其转移至预先经过氟硅烷疏水处理的玻璃板上, 板间由硅胶薄膜控制空隙为 0.5 mm, 两端以长尾夹固定. 室温在紫外反应器中光照下反应 12 h, 撤去硅胶模具, 得到所需凝胶. 其他聚合度和二级结构聚氨基酸交联的水凝胶使用类似的方式制备得到.

References

- [1] Ahmed, E. M. *J. Adv. Res.* **2015**, *6*, 105.
- [2] Zhang, Y. S.; Khademhosseini, A. *Science* **2017**, *356*, 3637.
- [3] Yu, H. C.; Zheng, S. Y.; Fang, L.; Ying, Z.; Du, M.; Wang, J.; Ren, K.; Wu, Z. L.; Zheng, Q. *Adv. Mater.* **2020**, *32*, 2005171.
- [4] Han, Y.; Liu, C.; Xu, H.; Cao, Y. *Chin. J. Chem.* **2022**, *40*, 1578.
- [5] Boehnke, N.; Cam, C.; Bat, E.; Segura, T.; Maynard, H. D. *Biomacromolecules* **2015**, *16*, 2101.
- [6] Lee, K. Y.; Mooney, D. J. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 1869.
- [7] Qiu, Y.; Park, K. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *53*, 321.
- [8] Li, J.; Mooney, D. J. *Nat. Rev. Mater.* **2016**, *1*, 16071.
- [9] Wang, S. H.; Sun, L. N.; Cao, H.; Zhong, Y. M.; Shao, Z. Z. *Acta Chim. Sinica* **2021**, *79*, 1023 (in Chinese). (王苏杭, 孙丽娜, 曹涵, 钟一鸣, 邵正中, 化学学报, **2021**, *79*, 1023.)
- [10] Zhao, X.; Chen, X.; Yuk, H.; Lin, S.; Liu, X.; Parada, G. *Chem. Rev.* **2021**, *121*, 4309.
- [11] Taylor, D.; O'Mara, N.; Ryan, E.; Takaza, M.; Simms, C. *Biomed. Mater.* **2012**, *6*, 139.

- [12] Li, L.; Zhang, K.; Wang, T.; Wang, P.; Xue, B.; Cao, Y.; Zhu, L.; Jiang, Q. *Mater. Des.* **2020**, *189*, 108492.
- [13] Wei, H.; Zhang, B.; Lei, M.; Lu, Z.; Liu, J.; Guo, B.; Yu, Y. *ACS Nano* **2022**, *16*, 4734.
- [14] Cai, Y.; Shi, J.; Liu, F.; Li, H.; Man, X.; Guan, S. *Chin. J. Chem.* **2021**, *39*, 3085.
- [15] Yang, Y. Y.; Wang, X.; Wu, D. C. *Acta Chim. Sinica* **2021**, *79*, 1 (in Chinese). (杨艳宇, 王星, 吴德成, 化学学报, **2021**, *79*, 1.)
- [16] Fantner, G. E.; Oroudjev, E.; Schitter, G.; Golde, L. S.; Thurner, P.; Finch, M. M.; Turner, P.; Gutsmann, T.; Morse, D. E.; Hansma, H.; Hansma, P. K. *Biophys. J.* **2006**, *90*, 1411.
- [17] Root, D. D.; Yadavalli, V. K.; Forbes, J. G.; Wang, K. *Biophys. J.* **2006**, *90*, 2852.
- [18] Xu, Z.-H.; Li, X. *Adv. Funct. Mater.* **2011**, *21*, 3883.
- [19] Tian, Z.-Y.; Zhang, Z.; Wang, S.; Lu, H. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 1.
- [20] Oelker, A. M.; Morey, S. M.; Griffith, L. G.; Hammond, P. T. *Soft Matter* **2012**, *8*, 10887.
- [21] Chen, C.; Lan, J.; Li, Y.; Liang, D.; Ni, X.; Liu, Q. *Chem. Mater.* **2019**, *32*, 1153.
- [22] Liu, R.; Wang, H.; Lu, W.; Cui, L.; Wang, S.; Wang, Y.; Chen, Q.; Guan, Y.; Zhang, Y. *Chem. Eng. J.* **2021**, *415*, 128839.
- [23] Liu, P.; Zhang, Y.; Guan, Y.; Zhang, Y. *Adv. Mater.* **2023**, 2210021.
- [24] Liu, R.; Cui, L.; Wang, H.; Chen, Q.; Guan, Y.; Zhang, Y. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2021**, *13*, 42052.
- [25] Hou, Y.; Zhou, Y.; Wang, H.; Sun, J.; Wang, R.; Sheng, K.; Yuan, J.; Hu, Y.; Chao, Y.; Liu, Z.; Lu, H. *ACS Cent. Sci.* **2019**, *5*, 229.
- [26] Malkoch, M.; Vestberg, R.; Gupta, N.; Mespouille, L.; Dubois, P.; Mason, A. F.; Hedrick, J. L.; Liao, Q.; Frank, C. W.; Kingsbury, K.; Hawker, C. J. *Chem. Commun.* **2006**, *26*, 2774.
- [27] Sakai, T.; Akagi, Y.; Kondo, S.; Chung, U. *Soft Matter* **2014**, *10*, 6658.
- [28] Nele, V.; Wojciechowski, J. P.; Armstrong, J. P.; Stevens, M. M. *Adv. Funct. Mater.* **2020**, *30*, 2002759.
- [29] Song, G.; Zhao, Z.; Peng, X.; He, C.; Weiss, R. A.; Wang, H. *Macromolecules* **2016**, *49*, 8265.
- [30] Wilcox, K. G.; Dingle, M. E.; Saha, A.; Hore, M. J. A.; Morozova, S. *Soft Matter* **2022**, *18*, 6550.
- [31] Morton, L. D.; Hillsley, A.; Austin, M. J.; Rosales, A. M. *J. Mater. Chem. B* **2020**, *8*, 6925.
- [32] Zhang, C.; Yuan, J.; Lu, J.; Hou, Y.; Xiong, W.; Lu, H. *Biomaterials* **2018**, *178*, 728.

(Cheng, B.)