

doi:10.3969/j.issn.1001-3539.2025.12.002

pH 敏感型 PASP-g-GG 的制备及生物相容性

侯露^{1,2}, 白凤^{1,2}, 周敏¹, 张磊^{1,2}

(1.凯里学院大健康学院,贵州凯里 556011; 2.贵州省普通高等学校黔东南苗侗药现代化研究重点实验室,贵州凯里 556011)

摘要:为提高抗肿瘤药物的生物利用度,减少毒副作用,以结冷胶(GG)为原料,L-天门冬氨酸(L-Asp)为单体,硝酸铈铵(CAN)为催化剂制备了天门冬氨酸接枝结冷胶(PASP-g-GG)接枝共聚物的新型药物递送载体。考察单体 L-Asp 与 GG 的配比和催化剂 CAN 浓度对接枝共聚反应的影响,发现当 L-Asp 与 GG 的质量比为 5:1、催化剂 CAN 浓度为 2.5 mmol/L 时,共聚物的接枝率和接枝效率分别为 420.41% 和 84.34%。对 PASP-g-GG 进行结构表征和热分析,结果显示产生了与 L-Asp 接枝后的特征峰,表明 L-Asp 与 GG 成功接枝共聚。以多柔比星(DOX)为抗肿瘤模型药物,以不同 L-Asp 与 GG 配比的 PASP-g-GG 为药物递送载体考察其载药性能,当 L-Asp 与 GG 质量比为 5:1 时,共聚物的载药量和包封率分别为 28.01% 和 87.66%。体外释放试验显示酸性环境下的释药速率明显高于正常生理环境,24 h 时 pH 分别为 1.2 和 5.0 下的 DOX 累积释放率分别为 92.10% 和 86.01%,而 pH 为 7.4 时的 DOX 累积释放率仅为 55.55%,表明 PASP-g-GG 具有 pH 敏感性。细胞毒性试验显示 PASP-g-GG 对 HeLa 细胞没有明显毒性,具有良好的生物相容性。因此,PASP-g-GG 接枝共聚物有望作为抗肿瘤药物的靶向递送载体使用。

关键词: 结冷胶;天门冬氨酸;pH 敏感;药物递送载体;接枝共聚物

中图分类号: TQ460.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3539(2025)12-0010-07

Preparation and biocompatibility of pH-sensitive PASP-g-GG

HOU Lu^{1,2}, BAI Feng^{1,2}, ZHOU Min¹, ZHANG Lei^{1,2}

(1.School of Life and Health Science,Kaili University,Kaili 556011,China; 2.Key Laboratory for Modernization of Qiandongnan Miao & Dong Medicine of Higher Education Institutions in Guizhou Province,Kaili 556011,China)

Abstract : To enhance the bioavailability and reduce the toxic side effects of antitumor drugs, a polyaspartic acid-graft-gellan gum (PASP-g-GG) copolymer as a drug delivery carrier was synthesized with gellan gum (GG) as backbone, L-aspartic acid (L-Asp) as monomer and cerium ammonium nitrate (CAN) as catalyst. The effects of the mass ratio of L-Asp to GG and the CAN catalyst concentration on the graft copolymerization were investigated. When the mass ratio of L-Asp to GG is 5:1 and the CAN concentration is 2.5 mmol/L, the grafting and grafting efficiency reach 420.41% and 84.34%, respectively. The structural characterization and thermal analysis of PASP-g-GG show that the characteristic peak after grafting with L-Asp is produced, indicating that L-Asp and GG are successfully grafted and copolymerized. Doxorubicin (DOX) was used as a model antitumor drug to evaluate the drug-loading performance of PASP-g-GG carriers with different L-Asp-to-GG ratios. When the mass ratio of L-Asp to GG is 5:1, the drug loading and encapsulation efficiency are 28.01% and 87.66%, respectively. In vitro drug release studies demonstrate a significantly higher drug release rate under acidic conditions compared to the physiological environment. The cumulative release rates of DOX are 92.10% at pH 1.2 and 86.01% at pH 5.0, significantly exceeding the value of 55.55% at pH 7.4, indicating distinct pH-sensitive release behavior. Cytotoxicity assays reveal that the blank PASP-g-GG carrier shows no significant toxicity to HeLa cells, confirming its good biocompatibility. These results suggest that PASP-g-GG copolymer is a promising pH-responsive carrier for targeted delivery of antitumor drugs.

Keywords : gellan gum ; L-aspartic acid ; pH-sensitive ; drug delivery carrier ; graft copolymer

基金项目: 凯里学院校级青年课题项目(2025YB035),贵州省教育厅青年科技人才成长项目(黔教合 KY 字[2022]076 号),黔东南州科技计划项目(黔东南科合 J 字[2022]60 号),贵州省 2023 年省级金课项目(SJK202346),凯里学院“十四五”学科专业平台团队一体化建设规划项目(YTH-PT202404,YTH-XM2024027),凯里学院学科专业平台团队一体化建设规划团队项目(YTH-TD20254I)

通信作者: 张磊,博士,教授,研究方向为药物分子绿色合成

收稿日期: 2025-09-29

引用格式: 侯露,白凤,周敏,等.pH 敏感型 PASP-g-GG 的制备及生物相容性[J].工程塑料应用,2025,53(12):10-16.

HOU Lu, BAI Feng, ZHOU Min, et al. Preparation and biocompatibility of pH-sensitive PASP-g-GG[J]. Engineering Plastics Application, 2025,53(12):10-16.

癌症已成为全球范围内人类的主要疾病之一,化疗是癌症主要的治疗手段之一,但常规的治疗手段往往存在药物的靶向性低、多药耐药性高和副作用严重等缺陷^[1-2]。因此开发药物靶向性高和生物利用度高的刺激响应型药物递送载体十分必要,可以帮助提高抗肿瘤药物的靶向性和生物利用度、持续的药物释放,从而增强抗肿瘤药物的疗效^[3]。在肿瘤组织中,由于供氧不足、代谢特征不同,导致乳酸水平高,使肿瘤细胞微环境的pH值低于正常组织和血液中的pH值,而pH敏感型药物递送载体因暴露于外界酸性或碱性环境后能够发生结构的变化或降解,可实现药物在肿瘤部位的蓄积和释放^[4-5],使pH敏感型药物递送载体具有极大的临床应用前景^[6]。近年来,pH敏感型药物递送载体的研究取得显著进展,如Ultav等^[7]制备了通过壳聚糖-聚乙二醇涂层的中空介孔二氧化硅纳米粒子;Long等^[8]制备了基于原酸酯的聚乙二醇-羟基十二烷酸聚合物;Lin等^[9]设计了精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸结合多肽。以上载体均实现了多柔比星(DOX)的pH敏感性释放,提高了DOX的生物利用度。然而,许多pH敏感型药物递送载体仍面临原料或合成路线复杂,生物相容性仍需进一步优化等问题。因此,开发一种合成简便、生物相容性优异的新型pH敏感型药物递送载体仍然是一个重要的研究方向。

为应对上述挑战,本研究选取天然高分子多糖结冷胶(GG)作为基材,其具有良好的生物相容性、生物降解性和易于功能改性等特性^[10],常作为食品添加剂或药物递送载体等应用于食品或生物医学领域。为了赋予GG pH敏感特性,将功能性单体L-天门冬氨酸(L-Asp)与GG接枝共聚,L-Asp所具有的羧基常作为pH敏感型药物递送载体的响应基团。L-Asp是天然氨基酸,具有良好的生物相容性和生物降解性,作为药物递送载体可以提高药物的生物利用度^[11-12]。

为优化GG的性能,提高抗肿瘤药物的生物利用度,本文以硝酸铈铵(CAN)为催化剂、L-Asp为功能性单体,将L-Asp接枝于GG骨架上,制备了一种新型的天门冬氨酸接枝结冷胶(PASP-g-GG)接枝共聚物。通过调整单体L-Asp与GG的质量比和催化剂CAN的浓度,考察二者对接枝共聚反应效率的影响,通过傅里叶变换红外光谱(FTIR)和同步热分析[热重(TG)-差示扫描量热(DSC)]对PASP-g-GG接枝

共聚物进行表征。以DOX为模型药物,研究PASP-g-GG接枝共聚物的载药性能、pH敏感性能和生物相容性。相对于合成复杂的药物递送载体,本研究提供了一种更简便、高效和绿色环保的制备方法,为开发新型药物递送载体提供参考。

1 实验部分

1.1 主要原材料

GG:食品级,新疆阜丰生物科技有限公司;

二甲基亚砜(DMSO):纯度大于99.9%,北京兰杰柯科技有限公司;

三乙胺(纯度99%)、盐酸阿霉素(DOX·HCl)(纯度98%)、L-Asp(纯度99%)和CAN:上海麦克林生化科技股份有限公司;

甲醇:分析纯,成都金山化学试剂有限公司;

磷酸二氢钾:纯度9.5%,重庆江川化工有限公司;

磷酸氢二钠:纯度99%,天津市科密欧化学试剂有限公司;

透析袋:MWCO 3500,上海源叶生物科技有限公司;

CCK8试剂盒:江苏凯基生物技术股份有限公司;

HeLa细胞:上海富衡生物科技有限公司。

1.2 主要仪器及设备

FTIR仪:iS20,美国Thermo scientific Nicol公司;

紫外-可见分光光度计:UV1200,上海天美科学仪器有限公司;

酶标仪:SP-Max2300,上海闪谱生物科技有限公司;

TG-DSC仪:STA449 F3,德国Netzsch公司;

纳米粒度电位分析仪:ZS90,英国Malvern Panalytical公司。

1.3 PASP-g-GG接枝共聚物的制备

将适量GG在90℃下溶于150 mL蒸馏水中,随后按照不同的L-Asp与GG的质量比(分别为3:1, 5:1, 7:1, 9:1和11:1)和CAN浓度(分别为1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mmol/L)进行单因素考察,将所需量的L-Asp和CAN加入至GG溶液中,继续反应1 h。待反应体系冷却至室温后,高速离心取上清液加入过量甲醇进行沉淀,过滤收集沉淀物(粗产物),将粗产物高速离心再次进行纯化,得PASP-g-GG接枝共聚

物,将PASP-g-GG接枝共聚物置于50℃烘箱中烘干至恒重,根据产物质量计算接枝率和接枝效率^[13]。

接枝率(G)的计算公式见式(1)。

$$G = \frac{(W_2 - W_0)}{W_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中: W_0 为反应前投入GG的质量,单位g; W_2 为纯化后干燥的PASP-g-GG接枝共聚物的质量,单位g。

接枝效率(G_E)的计算公式见式(2)。

$$G_E = \frac{(W_2 - W_0)}{W_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中: W_1 为反应中初始投入单体L-Asp的质量,单位g。

1.4 PASP-g-GG@DOX的制备及载药性能测定

1.4.1 PASP-g-GG@DOX的制备

精密称取10 mg DOX·HCl溶于10 mL无水甲醇,向溶液中添加100 μL三乙胺,室温避光、磁力搅拌24 h后进行脱盐。选取三组催化剂CAN浓度均为2.5 mmol/L,不同L-Asp与GG质量比(3:1, 5:1和7:1)所制备的PASP-g-GG接枝共聚物作为药物载体,以考察不同接枝率的PASP-g-GG载体对载药性能的影响。分别称取上述三组载体100 mg溶于100 mL蒸馏水中得1 mg/mL空白载体溶液。精密称取3 mg脱盐DOX溶于3 mL DMSO得DOX溶液(1 mg/mL),将DOX溶液缓慢滴加于上述三组PASP-g-GG空白载体溶液中,避光、磁力搅拌2 h后透析24 h,高速离心除去游离药物,冷冻干燥,即得PASP-g-GG@DOX。

1.4.2 载药量及包封率的计算

配制浓度为50, 75, 100, 125, 150, 175, 200 μg/mL的DOX溶液,通过紫外-可见分光光度计在485 nm波长处测定吸光度值,绘制DOX标准曲线,计算载药量与包封率。

载药量(D_{LC})的计算公式见式(3)。

$$D_{LC} = \frac{m_d}{m_p + m_d} \times 100\% \quad (3)$$

式中: m_d 为PASP-g-GG接枝共聚物中药物的质量; m_p 为PASP-g-GG接枝共聚物的质量。

包封率(E_E)的计算公式见式(4)。

$$E_E = \frac{m_d}{m} \times 100\% \quad (4)$$

式中: m 为投入DOX的质量。

1.5 测试与表征

1.5.1 FTIR分析

通过KBr压片法对PASP-g-GG接枝共聚物进行FTIR表征,扫描波长为600~4 000 cm^{-1} ,分辨率和扫描次数分别为4 cm^{-1} 和32次。

1.5.2 TG-DSC测试

将PASP-g-GG接枝共聚物(接枝率为348.16%)置于 Al_2O_3 坩埚,在流速为30 mL/min的 N_2 气氛下,以10 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 的升温速率,在温度30~500 $^\circ\text{C}$ 范围内进行热稳定性分析。

1.5.3 粒径及电位测试

采用纳米粒度电位分析仪对PASP-g-GG接枝共聚物(接枝率为348.16%)进行粒径、多分散指数(PDI)及电位测定,取10 mg PASP-g-GG接枝共聚物溶于2 mL蒸馏水中,置于样品池中,在常温条件下上机测试。

1.5.4 体外释放试验

采用透析袋法^[14]测定DOX的体外释放率。将上述冷冻干燥后的PASP-g-GG@DOX粉末溶解,取4 mL PASP-g-GG@DOX溶液于透析袋(MWCO 3500)中,将透析袋置于含有20 mL, pH分别为1.2, 5.0和7.4 PBS缓冲液的离心管中,在37 $^\circ\text{C}$, 100 r/min的摇床中振摇,以模拟正常组织和肿瘤组织内的微环境,于0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h分别取样0.5 mL,同时补充等温等体积的新鲜释放介质。取样溶液在485 nm处测定吸光度值,计算累积释放率,绘制体外释放曲线。

累积释放率 Q 的计算公式见式(5)。

$$Q = \frac{C_t \times V + \sum_{i=1}^t C_{i-1} V_{i-1}}{m_0} \times 100\% \quad (5)$$

式中: m_0 为PASP-g-GG中药物的质量; C_t 和 C_{t-1} 分别为 t 和 $t-1$ 时刻透析介质中药物的浓度; V 是释放介质总体积; V_{t-1} 是 $t-1$ 时刻取出的样品体积。

1.5.5 细胞毒性试验

采用CCK-8法^[15]考察PASP-g-GG接枝共聚物及负载DOX后对HeLa细胞的毒性。以 3×10^4 个/孔的密度接种HeLa细胞于96孔板中,培养过夜。向其加入不同浓度的空白PASP-g-GG(200, 400, 600, 800, 1 000 μg/mL),在37 $^\circ\text{C}$ 和5% CO_2 条件下孵育48 h。孵育结束后,向其加入10 μL CCK-8溶液,避光孵育2 h。使用酶标仪测定450 nm处光密度(OD)值,计算细胞存活率。

2 结果与讨论

2.1 PASP-g-GG接枝共聚物的反应机理

图1为PASP-g-GG的合成路线。CAN是一个单电子的强氧化剂,可催化GG主链上的羧基与L-Asp上的氨基发生缩合,以生成酰胺键的形式不断将L-Asp接枝于GG主链上^[16]。传统的酰胺合成需活化羧酸,而添加的试剂若不能有效清除,可能会造成一定的生物毒性。本合成方法反应物简单、反应效率高、绿色环保。

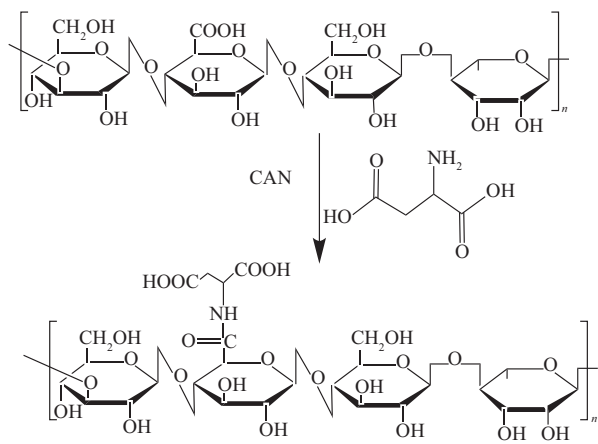


图1 PASP-g-GG的合成路线

Fig. 1 Synthesis route of PASP-g-GG

2.2 PASP-g-GG接枝共聚物的表征

2.2.1 FTIR分析

图2为L-Asp, GG和PASP-g-GG的FTIR图。由图2可知,对于L-Asp,在 $3\ 089\text{ cm}^{-1}$ 附近对应—OH的伸缩振动峰、 $1\ 693\text{ cm}^{-1}$ 处对应—C=O的伸缩振动峰、 $1\ 611\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\ 502\text{ cm}^{-1}$ 处对应—NH的弯曲振动峰,以上为L-Asp的特征吸收峰^[17]。对于GG,在 $3\ 439\text{ cm}^{-1}$ 附近对应—OH的伸缩振动峰、 $1\ 734\text{ cm}^{-1}$ 附近对应—C=O的伸缩振动峰、 $2\ 932\sim 3\ 244\text{ cm}^{-1}$ 对应—CH的伸缩振动峰、 $1\ 423\text{ cm}^{-1}$ 附近对应甲基—CH的弯曲振动峰、 812 cm^{-1} 附近对应烷基醚的—C—O—

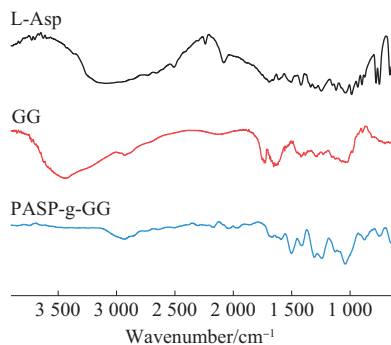


图2 L-Asp, GG和PASP-g-GG的FTIR谱图

Fig. 2 FTIR spectra of L-Asp, GG and PASP-g-GG

—C伸缩振动峰,以上吸收峰为GG的特征吸收峰^[18]。

对于PASP-g-GG,在保留GG骨架特征峰的同时,新增了 $1\ 642\text{ cm}^{-1}$ (酰胺键I带峰)和 $1\ 591\text{ cm}^{-1}$ (酰胺键II带峰),由此证明L-Asp已和GG成功接枝。

2.2.2 DTG分析

图3为GG和PASP-g-GG的DTG分析。GG主要有两个阶段的失重,第一个失重阶段($53\sim 154\text{ }^{\circ}\text{C}$)的产生是由于GG物理吸附水的失重,第二个失重阶段($230\sim 280\text{ }^{\circ}\text{C}$)的产生是GG主链断裂的失重导致。对于PASP-g-GG接枝共聚物,第一个失重阶段的峰明显减弱;第二个失重阶段($220\sim 289\text{ }^{\circ}\text{C}$)在 $260\text{ }^{\circ}\text{C}$ 有最大失重速率。相较于GG, PASP-g-GG接枝共聚物最大失重速率的温度升高,该阶段的失重为GG的主链和接枝共聚物的部分共价键断裂;第三个失重阶段($330\sim 405\text{ }^{\circ}\text{C}$)在 $371\text{ }^{\circ}\text{C}$ 有最大失重速率,该阶段的失重为接枝共聚物剩余的共价键断裂。因此, PASP-g-GG接枝共聚物热稳定性的提高可说明L-Asp已成功接枝于GG骨架上。

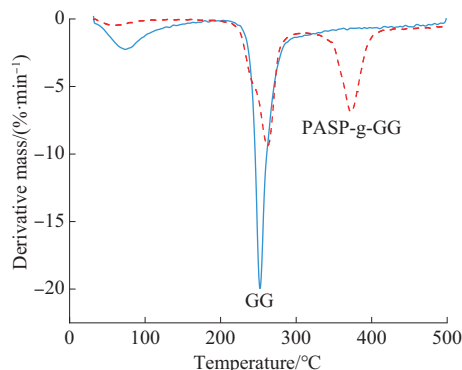


图3 GG和PASP-g-GG的DTG曲线

Fig. 3 DTG curves of GG and PASP-g-GG

2.2.3 DSC分析

图4为GG和PASP-g-GG的DSC曲线。由图4可知, GG在 $78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $258\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处观察到两个热分解峰,与DTG结果对应,在 $78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处观察到的热分解峰

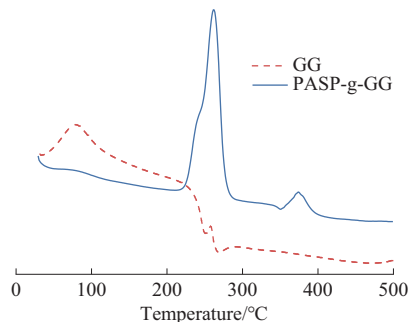


图4 GG和PASP-g-GG的DSC曲线

Fig. 4 DSC curves of GG and PASP-g-GG

由 GG 主链中物理吸附的水分损失而产生,在 258 °C 处观察到的热分解峰由 GG 骨架的断裂而产生。而 PASP-g-GG 接枝共聚物相对于 GG,在 78 °C 处的吸热峰明显减弱,在 260 °C 和 373 °C 显示出两个吸热峰,260 °C 处的吸热峰由 GG 骨架和部分接枝共聚键的断裂产生,而 373 °C 处的吸热峰由剩余的接枝共聚键断裂产生。PASP-g-GG 接枝共聚物与 GG 相比,热分解发生了显著改变,表明与未接枝的 GG 相比,PASP-g-GG 接枝共聚物吸水性降低,热稳定性得到提高。与 DTG 结果一致,共同说明 L-Asp 已成功接枝于 GG 骨架上。

2.2.4 粒径及电位分析

图 5 为 PASP-g-GG 的动态光散射图。由图 5 可见,PASP-g-GG 接枝共聚物的平均粒径为 146.6 nm, PDI 为 0.129, 电位为 -1.36 mV。说明 PASP-g-GG 接枝共聚物粒径较小且分散较为均匀,且电位为负电位,较小的粒径和负电位有利于肿瘤细胞的摄取,提高了肿瘤细胞的摄取率,可进一步提高药物的生物利用度。

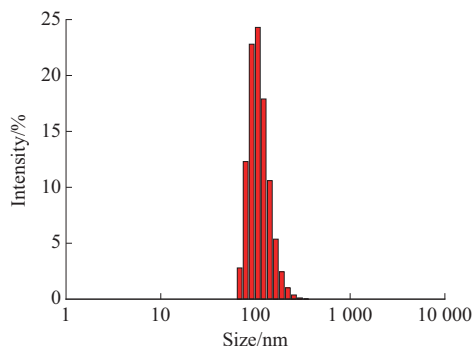


图 5 PASP-g-GG 的动态光散射图

Fig. 5 Dynamic light scattering of PASP-g-GG

2.3 PASP-g-GG 接枝共聚反应的单因素优化

2.3.1 单体 L-Asp 与 GG 的质量比

图 6 为当固定催化剂 CAN 浓度为 2.5 mmol/L 时,单体 L-Asp 与 GG 配比对接枝反应的影响。由图 6 可知,随着单体 L-Asp 与 GG 质量比的增加,接枝共聚反应的效率呈现先升后降的趋势,当单体 L-Asp 与 GG 的质量比增加至 5:1 时接枝效率达到峰值,为 69.94%;当单体 L-Asp 与 GG 的质量比增加至 7:1 时接枝率达到峰值,为 433.18%。接枝共聚反应的效率呈现先升后降的趋势,这是因为随着单体 L-Asp 的增加,单体 L-Asp 与 CAN 可充分接触,使接枝共聚反应效率增加;继续增加单体 L-Asp,GG 上的接枝链不断增长,空间位阻增加,使多余的单体无

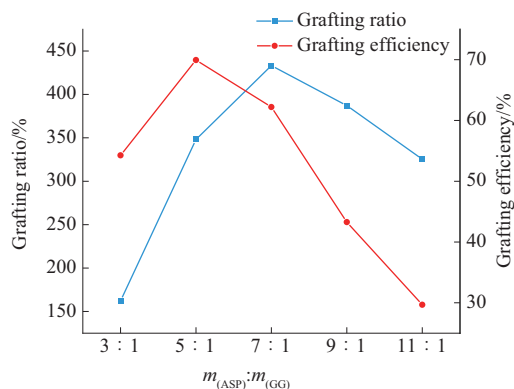


图 6 单体 L-Asp 与 GG 质量比 $[m_{(\text{ASP})}:m_{(\text{GG})}]$ 对接枝反应的影响

Fig. 6 Effects of mass ratio of L-Asp to GG $[m_{(\text{ASP})}:m_{(\text{GG})}]$ on grafting reaction

法与 GG 的反应活性中心充分接触,从而导致接枝共聚反应效率下降^[18]。

2.3.2 催化剂 CAN 的浓度

图 7 为当固定单体 L-Asp 与 GG 配比为 5:1 时,催化剂 CAN 浓度对接枝反应的影响。由图 7 可知,与单体 L-Asp 和 GG 配对接枝反应的影响相同,初始阶段接枝共聚反应的效率随着催化剂 CAN 浓度的增加而显著升高,在催化剂 CAN 浓度为 2.5 mmol/L 时,接枝率和接枝效率均达到峰值,分别为 420.41% 和 84.34%;随后随着催化剂 CAN 浓度的继续增加而下降。这是因为随着 CAN 浓度的增加,GG 主链上产生足够多的活性位点促进单体 L-Asp 与 GG 接枝共聚,接枝反应的效率不断提高;而当 CAN 浓度继续增加,接枝共聚反应的效率下降,这可能是因为较高的催化剂浓度提高了接枝链生长的终止速率。

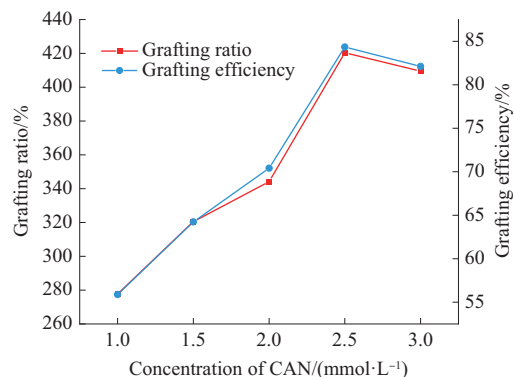


图 7 催化剂 CAN 浓度对接枝反应的影响

Fig. 7 Effects of CAN concentration on grafting reaction

2.4 PASP-g-GG@DOX 载药量与包封率的测定

通过 Excel 内置函数计算标准曲线方程为 $y = 0.0054x + 0.0175$ ($R^2 = 0.9991$), 即 DOX 浓度在 50~

200 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,呈现出良好的线性关系。表 1 为 L-Asp 与 GG 配比对载药性能的影响,如表 1 所示,当催化剂 CAN 浓度为 2.5 mmol/L, L-Asp 与 GG 质量比为 5:1 时,载药量和包封率达到最大值,分别为 28.01% 和 87.66%。这是因为 L-Asp 与 GG 配比为 5:1 时所对应的接枝效率最高,在此配比下的 PASP-g-GG 接枝共聚物具有合适的接枝率,使 L-Asp 上带负电的位点分布均匀且具有合适的空间结构,为 DOX 提供了可结合的位点和空间,帮助 DOX 通过静电作用和物理扩散至载体内部,从而提高载药量和包封率。较高的接枝率可能导致支链过度缠绕,具有较大的空间位阻使 DOX 难以扩散至载体内部。较低的接枝率可能导致支链较少,无法为 DOX 提供足够的有效结合位点。

表 1 L-Asp 与 GG 质量比对载药性能的影响
Tab. 1 Effects of mass ratio of L-Asp to GG on drug loading

$m_{(\text{ASP})}:m_{(\text{GG})}$	Drug loading/%	Encapsulation efficiency/%
3:1	20.46	65.68
5:1	28.01	87.66
7:1	12.58	38.80

2.5 体外释放试验

图 8 为 PASP-g-GG@DOX 的体外释放曲线。由图 8 可见,体外释放初始阶段, pH 值为 7.4, 5.0 和 1.2 的释放速率均较快,这是因为载体表面吸附或游离的 DOX 分子首先被释放到缓冲介质中。24 h 时 pH=1.2 和 pH=5.0 释放介质中的 DOX 累积释放率分别为 92.10% 和 86.01%, 明显高于 pH=7.4 释放介质中的 DOX 累积释放率(55.55%), 这主要是由 PASP-g-GG 具有酸敏感键(羧基), 在酸性环境下可发生质子化而导致载体结构发生改变引起;其次 DOX 在酸性环境下溶解性更好,二者促使 PASP-g-GG 载体在酸性环境下大量释放药物。通过体外释放试验表

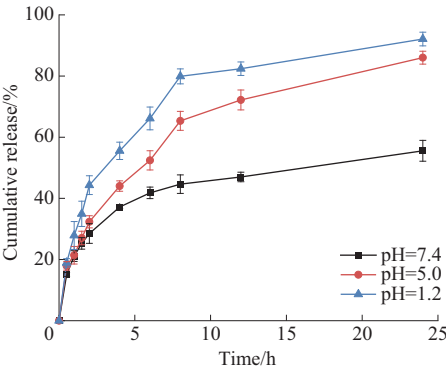
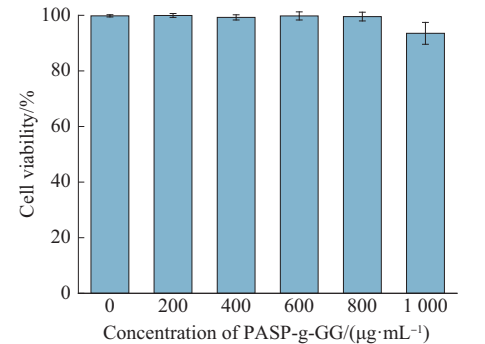


图 8 PASP-g-GG@DOX 的体外释放曲线
Fig. 8 In vitro drug release curves of PASP-g-GG@DOX

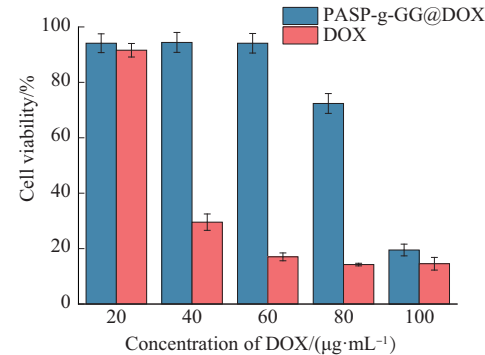
明 PASP-g-GG 载体具有 pH 敏感性,能够在生理 pH=7.4 的条件下保持一定的稳定性,减少药物在血液循环中的提前泄漏;而当其达到肿瘤组织中,并被细胞摄取进入酸性的内涵体/溶酶体(pH=4.5~5.0)后可实现药物的缓控释放。

2.6 细胞毒性试验

图 9 为 PASP-g-GG 对 HeLa 细胞的体外细胞毒性以及 PASP-g-GG@DOX 和 DOX 对 HeLa 细胞的体外细胞毒性。HeLa 细胞在 PASP-g-GG 空白载体中孵育 48 h 后,当 PASP-g-GG 空白载体浓度低于 800 $\mu\text{g/mL}$ 时,细胞存活率在 99% 以上,即使 PASP-g-GG 空白载体浓度高达 1 000 $\mu\text{g/mL}$,仍有 93% 的细胞存活率。PASP-g-GG@DOX 和游离 DOX 对 HeLa 细胞的细胞毒性呈现浓度依赖性, PASP-g-GG@DOX 的半数抑制浓度(IC50)为 87.48 $\mu\text{g/mL}$, 游离 DOX 的 IC50 为 34.30 $\mu\text{g/mL}$, 低于 PASP-g-GG@DOX 的 IC50。由此证明 GG 通过与 L-Asp 接枝共聚修饰后,不具有明显的细胞毒性,表明 PASP-g-GG 载体具有良好的生物相容性,有望作为 pH 敏感性药物递送载体使用。



(a) In vitro cytotoxicity of PASP-g-GG on HeLa cells



(b) In vitro cytotoxicity of PASP-g-GG@DOX and DOX on HeLa cells

图 9 PASP-g-GG, PASP-g-GG@DOX 和 DOX 对 HeLa 细胞的体外细胞毒性

Fig. 9 In vitro cytotoxicity of PASP-g-GG, PASP-g-GG@DOX and DOX on HeLa cells

3 结论

(1)以CAN为催化剂成功制备了PASP-g-GG接枝共聚物,当单体L-Asp与GG质量比增加至7:1时,共聚物的接枝率达到峰值,为433.18%;当催化剂CAN浓度为2.5 mmol/L时,共聚物的接枝效率达到峰值,为84.34%。

(2)PASP-g-GG接枝共聚物具有pH敏感性,在酸性环境中(pH为1.2和5.0)可大量释放药物,累积释放率分别为92.10%和86.01%,高于中性环境中的累积释放率,因此避免药物在到达肿瘤部位前过早释放,减小药物的毒副作用。

(3)PASP-g-GG接枝共聚物没有明显的细胞毒性,具有良好的生物相容性,因此有望作为抗肿瘤药物的递送载体使用。

参考文献

- [1] ZHU Y X, JIA H R, DUAN Q Y, et al. Nanomedicines for combating multidrug resistance of cancer[J]. WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology, 2021, 13(5). DOI:10.1002/wnan.1715.
- [2] SOLANKI R, BHATIA D. Stimulus-responsive hydrogels for targeted cancer therapy[J]. Gels, 2024, 10(7). DOI: 10.3390/gels10070440.
- [3] LOSADA-BARREIRO S, CELIK S, SEZGIN-BAYINDIR Z, et al. Carrier systems for advanced drug delivery:Improving drug solubility/bioavailability and administration routes[J]. Pharmaceutics, 2024, 16(7). DOI:10.3390/pharmaceutics16070852.
- [4] ZHUO S J, ZHANG F, YU J Y, et al. pH-sensitive biomaterials for drug delivery[J]. Molecules, 2020, 25(23). DOI: 10.3390/molecules25235649.
- [5] QIN J Y, ZHU Y B, ZHENG D S, et al. pH-sensitive polymeric nanocarriers for antitumor biotherapeutic molecules targeting delivery[J]. Bio-Design and Manufacturing, 2021, 4(3):612–626.
- [6] RAHIM M A, JAN N, KHAN S, et al. Recent advancements in stimuli responsive drug delivery platforms for active and passive cancer targeting[J]. Cancers, 2021, 13(4). DOI: 10.3390/cancers13040670.
- [7] ULTAV G, TONBUL H, TAVUKCUOGLU E, et al. pH-sensitive chitosan-PEG-decorated hollow mesoporous silica nanoparticles could be an effective treatment for acute myeloid leukemia (AML) [J]. Journal of Nanoparticle Research, 2022, 24(2). DOI: 10.1007/s11051-022-05404-8.
- [8] LONG M M, LIU S H, SHAN X T, et al. Self-assembly of pH-sensitive micelles for enhanced delivery of doxorubicin to melanoma cells[J]. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2020, 59. DOI:10.1007/s11051-022-05404-8.
- [9] LIN W F, MA G L, YUAN Z F, et al. Development of zwitterionic polypeptide nanoformulation with high doxorubicin loading content for targeted drug delivery[J]. Langmuir, 2019, 35(5):1 273–1 283.
- [10] NAYAK A K, BERA H, HASNAIN M S, et al. Gellan gum-based nanomaterials in drug delivery applications[M]//Biopolymer-Based Nanomaterials in Drug Delivery and Biomedical Applications. Amsterdam:Elsevier, 2021:313–336.
- [11] MANN J L, YU A C, AGMON G, et al. Supramolecular polymeric biomaterials[J]. Biomaterials Science, 2018, 6(1):10–37.
- [12] 赵俭波, 魏军, 曹辉, 等. 聚天冬氨酸水凝胶的研究与应用进展[J]. 化工进展, 2019, 38(7):3 355–3 364.
- [12] ZHAO Jianbo, WEI Jun, CAO Hui, et al. The research and application progress of PASP hydrogel[J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2019, 38(7):3 355–3 364.
- [13] 杨德华, 蒋文伟, 李鹏翔, 等. 共聚物PVC-g-C合成及其抗菌性能[J]. 工程塑料应用, 2020, 48(2):28–34.
- [13] YANG Dehua, JIANG Wenwei, LI Pengxiang, et al. Synthesis copolymer PVC-g-C and its antibacterial properties[J]. Engineering Plastics Application, 2020, 48(2):28–34.
- [14] WENG J J, HUANG Z B, PU X M, et al. Preparation of polyethylene glycol-polyacrylic acid block copolymer micelles with pH/hypoxic dual-responsive for tumor chemoradiotherapy[J]. Colloids and Surfaces B:Biointerfaces, 2020, 191. DOI:10.1016/j.colsurfb.2020.110943.
- [15] ZENG X H, GAO W T, TIAN X Q, et al. Regulating p53/PUMA pathway on cervical cancer C-33A and HeLa cells of *Acanthus ilicifolius* Linn alkaloid 2-benzoxazolinone derivatives[J]. Journal of Molecular Structure, 2025, 1332. DOI: 10.1016/j.molstruc.2025.141569.
- [16] ZARECKI A P, KOLANOWSKI J L, MARKIEWICZ W T. Microwave-assisted catalytic method for a green synthesis of amides directly from amines and carboxylic acids[J]. Molecules, 2020, 25(8). DOI:10.3390/molecules25081761.
- [17] SUHAIL M, FANG C W, CHIU I H, et al. Designing and *in vitro* characterization of pH-sensitive aspartic acid-graft-poly(acrylic acid) hydrogels as controlled drug carriers[J]. Gels, 2022, 8(8). DOI:10.3390/gels8080521.
- [18] BHOSALE R R, GANGADHARAPPA H V, ALI M OSMANI R, et al. Design and development of polymethylmethacrylate-grafted gellan gum (PMMA-g-GG)-based pH-sensitive novel drug delivery system for antidiabetic therapy[J]. Drug Delivery and Translational Research, 2020, 10(4):1 002–1 018.