

# 新型可注射温敏水凝胶的制备及其释药性能

章永望 赵会英\* 张 娜

(北京化工大学生命科学与技术学院, 北京 100029)

**摘 要:** 采用改性壳聚糖作为药物载体制备了一种可注射温敏水凝胶。将单甲氧基醚聚乙二醇 2000 (mPEG2000) 接枝到壳聚糖 (CS) 上制备壳聚糖接枝产物 (mPEG-g-CS); 将接枝产物在一定浓度下配制成凝胶溶液, 测定其温敏性能; 以温敏水凝胶为载体, 以布洛芬为模型药物进行体外释放研究。结果表明, mPEG-g-CS 水凝胶在体温 37 附近发生溶胶到凝胶的转变, 具有良好的温敏性能, 在一定的浓度范围内提高 mPEG-g-CS 浓度可降低相变温度, 缩短胶凝时间。体外释药结果表明 mPEG-g-CS 水凝胶对模型药物具有缓释作用, 有望用作可注射温敏型药物控释载体。

**关键词:** 可注射水凝胶; 药物控释; 温敏水凝胶; 壳聚糖

**中图分类号:** R944.1

## 引 言

温敏水凝胶能随环境温度的变化而发生可逆性的相转变, 低温液态、高温凝固的材料称为“反向温敏”材料<sup>[1]</sup>。利用“反向温敏”材料的相变特点, 将其作为组织缺损的一种填充材料或者可用于给药系统实现响应环境温度变化的智能化给药系统。温敏水凝胶注射到体内后, 在体温作用下原位凝固, 这样就可避免外科手术过程中的高度创伤性, 加速愈合、减少病人痛苦等。当用于修复复杂形状的组织时, 可注射水凝胶具有自适应性, 可体温固化, 这是一般水凝胶不可比拟的。可将其作为药物释放载体, 把所需浓度的药物与温敏凝胶混合后注射到患病部位, 并迅速形成凝胶。这种原位形成的水凝胶可以和周围组织牢固的结合, 可控制在特定部位形成水凝胶, 在病灶处精确地释放包裹的药物, 有效地控制了水凝胶中药物的释放范围, 减轻疼痛以及其他副作用。

壳聚糖作为一种新型药物载体, 具有良好的生物相容性, 生物可降解性, 且降解产物无毒<sup>[2]</sup>等优点, 已在缓释给药系统中广泛应用。本文用单甲氧基醚聚乙二醇 2000 (mPEG2000) 对壳聚糖 (CS) 进

行化学改性, 制备了一种可注射的温敏性凝胶, 并研究其温敏性能以及对药物的控制释放性能。

## 1 实验部分

### 1.1 材料与仪器

**1.1.1 材料** 单甲氧基聚乙二醇 2000, Fluka 公司; 壳聚糖, 脱乙酰度 95%, 浙江金壳生物化学有限公司; 氰基硼氢化钠 ( $\text{NaBH}_3\text{CN}$ ), Acros; 其他试剂均为分析纯, 透析袋 (截留分子量 10000 ~ 14000)。

**1.1.2 仪器** THZ-82A 水浴恒温振荡器, 常州国华电器有限公司; UV-2000 型紫外-可见分光光度计, 龙尼柯上海仪器有限公司; FT-IR 3100, 美国 Varian; LG-25 真空冷冻干燥机, 湖南湘仪离心机仪器有限公司; NDJ-79 型转子黏度计, 上海精密仪器仪表有限公司。

### 1.2 mPEG-g-CS 的制备与分析

**1.2.1 mPEG-g-CS 的制备** 根据 Sugimoto 等人的方法<sup>[3]</sup>, 先用  $\text{AC}_2\text{O}$  和 DMSO 氧化 mPEG 来合成 mPEG-CHO, 然后用  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  还原氢化的方法将醛化的 mPEG 接枝到壳聚糖主链上。本文按 mPEG-CHO 和 CS 的不同摩尔比反应, 制备了一系列接枝产物。

**1.2.2 红外光谱测试** 分别将少量 CS 和 mPEG-g-CS 分别磨碎后通过与 KBr 混合压片测定其红外光谱。

**1.2.3 溶解性能测试** 分别取少量不同接枝率的 mPEG-g-CS 溶于各种常用的水溶液中, 对比壳聚糖

收稿日期: 2007-04-12

第一作者: 男, 1982 年生, 硕士生

\*通讯联系人

E-mail: hyzhao@mail.buct.edu.cn

接枝前后的溶解性能变化。

### 1.3 水凝胶制备以及温敏性能测试

**1.3.1 水凝胶溶液的制备** 将不同质量的 mPEG-g-CS 分别溶于一定量的磷酸盐缓冲液 (0.2 mol/L, pH 7.4) 中, 低温下搅拌, 使其充分溶解均匀后, 得到不同浓度的均匀透明溶液, 密封放置 4 冰箱中冷藏。

**1.3.2 温敏性能测试** 分别将含有不同浓度的水凝胶溶液的试管放置于恒温水浴中逐渐升温, 考察其从溶液到溶胶到凝胶的相变过程, 并记录其胶凝时间。胶凝时间定义为将凝胶由液态转变为固态所需要的时间。在 37 下, 胶凝时间在 15 min 内的凝胶浓度为温敏浓度。采用试管倒置法<sup>[4]</sup>来判断溶胶状态到凝胶状态的转变。

检测温敏水凝胶溶液 (1.0%) 分别在 15、20、37 和 45 测定其剪切黏度, 记录黏度随时间变化数据并作图。剪切转速 7.5 r/min, 每个测定温度点均恒温 15 min 后测试。

### 1.4 体外释放度测定

体外释放实验选用布洛芬为模型药物, 在恒温水浴振荡器 (转速 100 r/min, 37) 中进行, 取干凝胶加入适量含布洛芬 4 mg/mL 的磷酸盐溶液 (0.2 mol/L, pH 7.4), 同时滴加磷酸盐缓冲液 (0.2 mol/L, pH 7.4) 至 2 mL, 搅拌均匀后, 倒入刻度试管内。在 37 下恒温 1 h 形成稳定的水凝胶。加 8 mL 磷酸盐缓冲液 (0.2 mol/L, pH 7.4) 为释放介质, 由于凝胶的载药量较低, 少量的释放介质可满足漏槽条件。定时取样 1 mL, 并补充相同的释放液。在 222 nm 处测定吸光度, 布洛芬的浓度在 4.0 ~ 40.0 mg/L 范围内与 222 nm 下的吸光值呈现良好线性关系 ( $r = 0.9998$ )。空白凝胶在此波长下无吸收, 对含量测定无干扰。根据标准曲线计算布洛芬的释放质量, 并绘制累积释放曲线。

## 2 结果与讨论

### 2.1 mPEG-g-CS 的红外谱图分析

mPEG-g-CS 的接枝率主要取决于 mPEG-CHO 和 CS 的摩尔比例, 过量的 mPEG-CHO 能得到高接枝率的产物, 但高接枝率的产物可能丧失壳聚糖的性能, 只能得到可溶性的壳聚糖, 另一方面低摩尔比例只能得到不溶性的接枝产物。在两者之间的某些比例下, 能得到兼有两种性能的接枝产物<sup>[3]</sup>。同时壳聚糖的脱乙酰度越高, 溶解度越大, 分子量越小溶

解性能越好, 低分子量的壳聚糖比高分子量壳聚糖具有更好的生理活性。因此本文选用高脱乙酰度较低分子量的壳聚糖, 在低接枝率下即可获得较好的溶解性能。使用 3 种不同的摩尔配比合成接枝率分别为 22.4%、38.5% 和 50.9% 的产物 G1、G2 和 G3, 接枝率由质量法测定, 由公式  $(m_t - m_c) / m_t$  得到, 其中  $m_t$  为真空干燥后产物的质量,  $m_c$  为反应加入壳聚糖的质量。

对壳聚糖和其接枝产物 G2 分别进行红外扫描, 结果如图 1 所示, 3200 ~ 3500  $\text{cm}^{-1}$  之间的宽峰是 O—H 和 N—H 的伸缩振动吸收峰, 说明这些羟基和氨基之间存在着强弱不同的分子内和分子间的氢键。从谱图中可以看出壳聚糖发生接枝反应后, 强度明显变弱, 表明壳聚糖的羟基或氨基上发生了衍生化反应。2900  $\text{cm}^{-1}$  附近是亚甲基的 C—H 伸缩振动吸收峰; 1650  $\text{cm}^{-1}$  和 1550  $\text{cm}^{-1}$  附近的吸收峰分别对应于壳聚糖的酰胺谱带和酰胺谱带; 1100  $\text{cm}^{-1}$  附近是醚键的 C—O 伸缩振动吸收峰。通过比较可以发现接枝产物的 IR 谱图上 2900  $\text{cm}^{-1}$  和 1100  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰的相对强度明显高于壳聚糖, 同时可观察到酰胺谱带的吸收峰明显减弱, 说明反应主要发生在 CS 的  $-\text{NH}_2$  上。

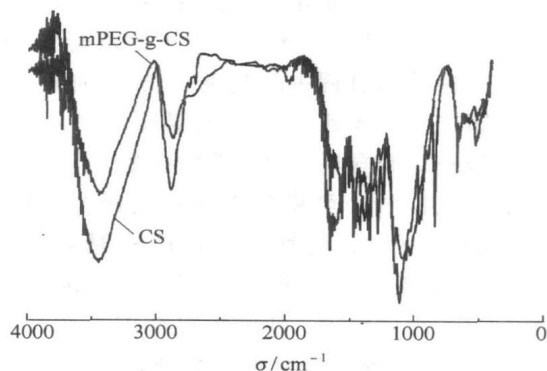


图 1 CS 和 mPEG-g-CS 的红外谱图

Fig. 1 FTIR spectra of mPEG-g-CS and chitosan

### 2.2 mPEG-g-CS 的溶解性能

壳聚糖是一种优良的生物医用材料, 然而由于分子间、分子内氢键的存在, 使得它不溶于一般的有机溶剂和水, 这为其在注射剂型方面的应用造成了很大的困难。而亲水性 mPEG 链段的引入, 可以改善壳聚糖的溶解性能, 使该体系在中性和弱碱性条件下仍呈溶解状态。将壳聚糖及其接枝产物溶于各种常用溶剂中, 试样浓度为 5 mg/mL, 充分搅匀后放置 4 冰箱冷藏 24 h 后, 对比考察壳聚糖接枝前后

的溶解性能变化,结果如表 1 所示。

表 1 CS 与 mPEG-g-CS 的溶解性

Table 1 Solubility properties of mPEG-g-CS and chitosan

溶剂	CS	G1	G2	G3
NaAc-HAc 缓冲液 (pH5.8)	+	+	+	+
生理盐水 (0.9%)	-	+	+	+
去离子水 (pH7.0)	-	+	+	+
PBS 缓冲液 (pH7.4)	-	+	+	+
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> /NaHCO <sub>3</sub> 缓冲液 (pH10.0)	-	±	+	+

- 为不溶解; ±为部分溶解; + 为溶解

结果表明,mPEG-g-CS 的接枝率越高,溶解性能越好。将亲水性的聚乙二醇接枝到壳聚糖骨架上得到的接枝产物的溶解性能明显提高,它不仅能溶解于中酸性溶液中,还能溶解于弱碱性溶液中。低接枝率的 mPEG-g-CS 在中、弱碱溶液中一开始几乎不溶解,然后慢慢溶胀,而高接枝率的 mPEG-g-CS 在水中由溶胀逐步转变为向水中溶解过程。由于高接枝率的 G3 具有很好的溶解性能,并无明显温敏特征,本文主要考察 G2 形成的水凝胶。

2.3 水凝胶的温敏性能

2.3.1 温敏水凝胶的相变行为 当把 mPEG 接枝到壳聚糖分子上后,由于 mPEG-g-CS 分子内存在着大量的羟基和未接枝 mPEG 的游离氨基,因此,溶于水后,这些官能团之间形成分子间、分子内氢键。在低温的环境中,高分子链是伸展的,黏度低,具有流动性(图 2(a),图 3)。当温度升高到临界相变温度上时,壳聚糖间疏水相互作用和氢键作用迅速处于主导地位,高分子链卷曲,呈相互交联结构,流动性逐渐降低,黏度逐渐增加,最后形成水凝胶(图 2(b),图 3)。当温度逐渐降低到 4℃左右,温敏凝胶的高分子链重新伸展开来,黏度逐渐降低,从凝胶向溶胶转变,因而具有可逆的“反向温敏”特性。

2.3.2 温敏水凝胶浓度对相变温度的影响 低浓度低温时,水凝胶流动性好呈液体状态,如图 4 所示,在相变曲线下升温,30 min 内不会成为凝胶,只能以溶胶状态存在。在相变曲线上方,水凝胶呈凝固状态。当浓度高于 1.4% 时,即使在较低温度下,由于黏度很大,也会呈凝固状态。

2.3.3 温敏水凝胶浓度和温度对胶凝时间的影响 由图 5 可以发现,温敏水凝胶体系浓度范围在 0.9%~1.1% 之间表现出良好的温敏性能,37℃下能在 3~10 min 内迅速凝固,证明它有快速的温度

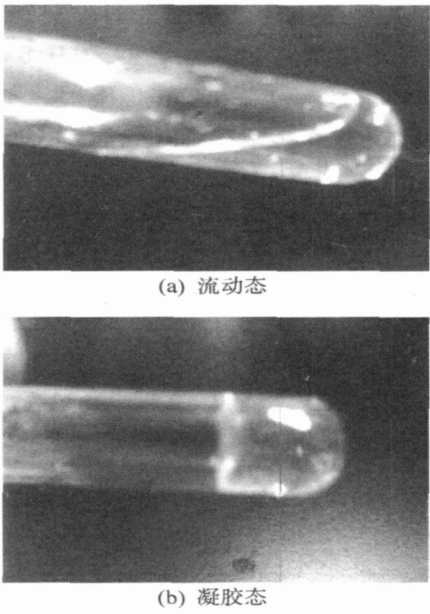


图 2 水凝胶在不同温度下的相转变  
Fig. 2 Sol-to-gel transition of the hydrogel at different temperatures

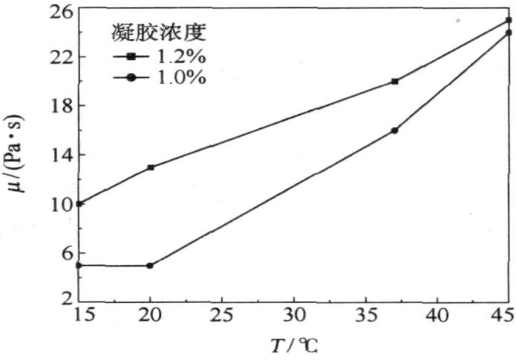


图 3 mPEG-g-CS 水凝胶在不同温度点的黏度变化  
Fig. 3 Viscosities of hydrogels as a function of temperatures

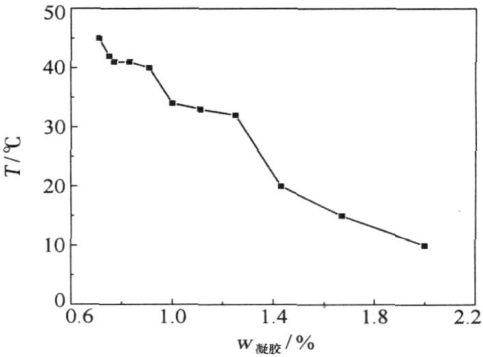


图 4 不同浓度下水凝胶在 30 min 内的相变曲线  
Fig. 4 Sol-to-gel transition curve for different concentrations of hydrogel over 30 min

响应性。凝胶浓度在 1.3 % 以上时在室温下流动性很差,已无明显温敏性。凝胶浓度在 0.8 % 下时,流动性非常好,在 37 °C 下,大约需要 3 h 以上才能形成凝胶,更低的浓度时,则不形成凝胶,只能呈溶胶状态。在一定的低浓度范围内随温度升高,可以使凝胶时间急剧缩短,如果温敏水凝胶在 30 min 内的相变温度高于人体温度,则影响了它的实用价值,因此在实际应用中需要选择合适的凝胶浓度。

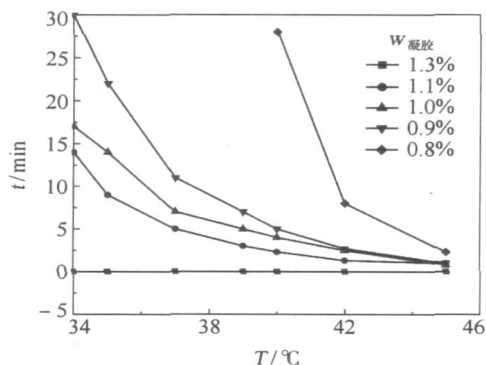


图 5 水凝胶的胶凝时间随温度的变化

Fig. 5 Sol-to-gel transition time of hydrogels as a function of temperature

## 2.4 药物在水凝胶中的释放

**2.4.1 mPEG-g-CS 凝胶体系对药物缓释机理** 壳聚糖作为天然可生物降解的高分子载体,其释药特性很复杂,不仅药物可从凝胶中扩散出来,而且凝胶骨架本身也处于降解过程<sup>[5]</sup>。凝胶在 PBS 溶液 (0.2 mol/L, pH 7.4) 中的释放如表 2 所示,浓度为

表 2 模型药物在水凝胶中缓释效果

Table 2 Key data for the controlled release of a model drug from the hydrogel

时间/d	平均累积释放度/%	$S_D^*$	凝胶体积损失/%
0.5	12.51	0.71	0
1	15.52	0.35	0
2	27.80	8.53	0
3	37.80	2.64	0
4	48.50	2.55	0
5	61.30	3.73	5
6	68.50	3.05	10
7	72.12	2.69	16
8	75.10	2.40	23
9	78.60	1.70	30
10	82.56	1.63	40

\*  $S_D$  为标准偏差

1.0 % 的凝胶体系,在前 6 d 释放了约 70 % 的药物,体积损失 10 % 左右,而在 6 ~ 10 d 内,体积损失了 30 %,药物则释放了剩余的 30 % 左右,因此药物释放前期主要以扩散为主,后期药物随凝胶的溶蚀逐渐被释放出来。

**2.4.2 mPEG-g-CS 水凝胶对模型药物的释放** 图 6 是 1.0 % 浓度的水凝胶对模型药物的累积释放曲线。由图 6 可以看出,温敏水凝胶在 6 d 里药物累积释放达到 70 %,并可持续释放药物 10 d 左右,对模型药物有较好的缓释作用。在形成凝胶的过程中,疏水性模型药物被壳聚糖的疏水键吸附,同时 mPEG 长分子链聚集而紧密缠绕形成网络结构,小分子药物主要通过凝胶孔洞中缓慢扩散出来,因此结合微球、脂质体等其他载体形式,增大药物体积能在一定程度上减缓药物扩散释放

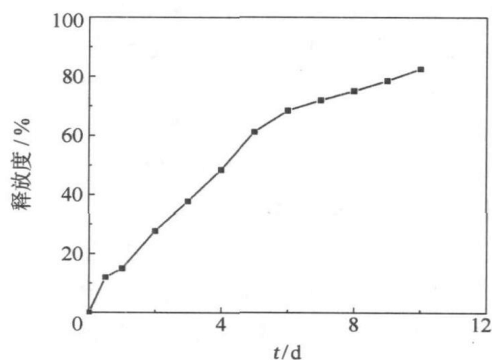


图 6 模型药物从水凝胶的累积释放曲线(凝胶浓度 1 %)

Fig. 6 In vitro cumulative release of a model drug from the hydrogel (1 % gel)

## 3 结论

(1) 制备了 mPEG-g-CS 温敏水凝胶。mPEG-g-CS 水凝胶的温敏性与浓度有密切的关系,接枝率为 38.5 % 的水凝胶在 0.9 % ~ 1.1 % 的浓度范围内,能在 37 °C 下 3 ~ 10 min 内迅速凝固。

(2) 接枝率为 38.5 % 的水凝胶对疏水性药物可持续释放一周以上,有望成为理想的注射式植入型药物释放载体。

**致谢** 感谢张鹏副教授在冷干实验中提供的帮助。

## 参考文献:

- [1] 郑俊民. 药用高分子材料学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002.

- [2] 蒋挺大. 壳聚糖[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.
- [3] SUGIMOTO M, MORIMOTO M, SASHIWA H, et al. Preparation and characterization of water-soluble chitin and chitosan derivatives[J]. Carbohydrate Polymers, 1998, 36: 49 - 59.
- [4] JEONG B, BAE Y H, KIM S M. Thermoreversible gelation of PEG-PL-GA-PEG triblock copolymer aqueous solutions[J]. Macromolecules, 1999, 32(21): 7064 - 7069.
- [5] 罗华丽, 鲁在君. 壳聚糖作为药物载体的缓释机理的研究进展[J]. 天中学刊, 2006, 21(2): 38 - 40.

## Preparation and characterization of a new injectable thermosensitive hydrogel for sustained drug release

ZHANG YongWang ZHAO Hui Ying ZHANG Na

(College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

**Abstract:** An injectable thermosensitive hydrogel (PEG-g-CS), based on chemically modified chitosan, has been prepared by grafting different amounts of PEG onto chitosan. The sol-to-gel transition of the PEG-g-CS hydrogel was shown to occur at about body temperature ( $\sim 37^\circ\text{C}$ ) which indicates it has optimum thermosensitivity for use as a drug carrier. Increasing the grafting ratio results in a reduction in the phase transition temperature. A higher concentration of mPEG-g-CS leads to a lower phase transition temperature and a shorter response time of the thermosensitive gel. In vitro drug release from the gel was studied using ibuprofen as a model drug. The results indicated that the injectable gel is a promising carrier for sustained drug delivery.

**Key words:** injectable hydrogel; controlled release; thermoreversible gels; chitosan

(上接第 526 页)

## Thermo-oxidative aging mechanisms of carbon fiber/epoxy resin compound materials

ZHANG YanPing XIONG JinPing ZUO Yu

(College of Materials Science and Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

**Abstract:** Thermo-oxidative aging mechanisms of carbon fiber/epoxy resin compound materials have been studied by measurement of weight losses and static and dynamic mechanical properties as well as IR spectroscopy and SEM. The results showed that the weight loss increased exponentially and the residual bending strength of the composite decreased rapidly with increasing aging time at 100 and 150  $^\circ\text{C}$ , with the effects being more marked at the higher temperature. There was no change in the composite at 25  $^\circ\text{C}$ . Dynamic mechanical thermal analysis (DMTA) and IR measurements showed that the thermo-oxidative aging of the composite was controlled by physical aging at 25 and 100  $^\circ\text{C}$ , but by both physical aging and chemical aging at 150  $^\circ\text{C}$ .

**Key words:** carbon fiber; epoxy resin; composite; thermo-oxidative aging