

干燥方式对含直链淀粉半互穿网络水凝胶溶胀和降解的影响*

李胜方¹ 杨亚江^{1**} 杨祥良² 徐辉碧¹

(华中科技大学¹ 化学系² 生命科学与技术学院 武汉 430074)

摘 要 以4,4'-二甲基丙烯酰胺基偶氮苯(BMAAB)为交联剂,制备了丙烯酸-丙烯酰胺-甲基丙烯酸酯共聚物和直链淀粉半互穿网络水凝胶.以冷冻干燥和空气干燥两种方式,研究了干凝胶在 pH 2.2 和 pH 7.4 时的溶胀和降解性能.结果表明采用两种干燥方式的凝胶在不同 pH 的介质中都遵循二级溶胀动力学.凝胶内部水的扩散均为非 Fickian 机理,即扩散和链松弛协同作用的机理.但经历冷冻干燥的凝胶其扩散机制占优势.在 pH = 7.4 的介质中,冷冻干燥凝胶的平衡溶胀比(SR)显著增大,而在 pH = 2.2 时则无明显变化.扫描电镜(SEM)和降解实验发现,在结肠内容物的作用下,冷冻干燥凝胶在 5 天内降解率可达 35.3%,而空气干燥凝胶的降解率为 28.1%,表明冷冻干燥的方式可在一定程度上促进凝胶在结肠环境下的降解.

关键词 直链淀粉, 半互穿网络水凝胶, 干燥方式, 溶胀动力学, 降解

许多蛋白或多肽类药物,如胰岛素等不能通过口服途径给药,因为它们能被胃蛋白酶和小肠内的胰蛋白酶消化.研究表明结肠为这类药物的最佳给药位点,因为结肠内的消化酶少,活性低,且药物在结肠的停留时间长.结肠给药的关键在于^[1]凝胶在结肠部位的快速溶胀和降解,这与凝胶的微孔结构有密切关系.

冷冻干燥是一种不需添加任何致孔剂就能获得高度孔状物的方法. Kang^[2]等用冷冻干法制备了高度孔状的明胶材料,通过冷冻温度的改变可以调控干凝胶孔洞的大小,从而得到理想的组织工程材料. Shalaby^[3]等制备了负载有氢溴酸美沙芬的聚乙烯吡咯烷酮凝胶,研究表明冷冻干燥的聚乙烯吡咯烷酮凝胶比空气干燥的凝胶释放氢溴酸美沙芬快. Risbud 等^[4]制备了负载有抗炎药物(阿莫西林)的壳聚糖-聚乙烯吡咯烷酮半互穿网络凝胶,研究发现在模拟的胃肠道(SGF)环境下,冷冻干燥的凝胶在 3 h 内释放阿莫西林的量为 73.2%,而空气干燥的凝胶释放量仅为 31.68%. 目前鲜见用冻干法提高凝胶在结肠部位溶胀、降解及释放能力的报道.

本文以 4,4'-二甲基丙烯酰胺基偶氮苯为交联剂,制备了丙烯酸-丙烯酰胺-甲基丙烯酸酯共聚物和直链淀粉半互穿网络水凝胶.该聚合物水凝胶具有结肠给药载体的特征(含可以被结肠菌群降解的偶氮化合物和直链淀粉^[5~8]).分别用冻

干法和一般空气干燥法处理该凝胶.比较了冷冻干燥和空气干燥两种方法对该凝胶在 pH = 2.2 和 pH = 7.4 的溶胀和降解性能.

1 实验部分

1.1 原料

丙烯酸(AA)和甲基丙烯酸丁酯(BMA)为化学纯试剂,使用前蒸馏.丙烯酰胺(AM)、偶氮二异丁腈(AIBN)实验前用乙醇重结晶.直链淀粉、二甲基亚砷(DMSO)、过硫酸铵、对硝基苯胺、三氯化磷、乙醇、吡啶、浓硫酸和硫化钠为分析纯试剂,使用前无需纯化.4,4'-二甲基丙烯酰胺基偶氮苯(BMAAB)按文献方法^[9]合成, mp 268 ~ 269 °C; ¹H-NMR (300 MHz, DCl₃, δ): 2.10 (s, 6H, -CH₃), 5.52, 5.83 (d, 4H, -CH₃C = CH₂), 7.64 (s, 2H, -NH-), 7.72 ~ 7.75, 7.81 ~ 7.84 (m, 8H, Ar-H).

1.2 凝胶的制备

在烧杯中将 1 g 直链淀粉溶于 8 g 去离子水中,在 80 °C 加热大约 30 min,然后冷却到室温,形成 11% (W/V) 的均相溶液.称取计量的 AA、AM、BMAAB 和 BMA (摩尔比为 40:49.9:0.1:10) 溶于 DMSO 中,然后加入 1 mL 1.1% (W/V) 的直链淀粉溶液,最后加入 30 mg AIBN,搅拌直到形成棕黄色透明溶液,向透明溶液中不断通入氮气约 1.5 h.然后用注射器迅速将其注入聚合装置中.该装置

* 2006-06-30 收稿, 2006-08-27 修稿. 国家自然科学基金(基金号 20474022)资助项目; ** 通讯联系人, E-mail: yjyang@mail.hust.edu.cn

由两块玻璃板(13 mm × 13 mm × 2 mm)构成,中间以硅胶管($\varphi = 5$ mm)隔开,外部以铁夹固定.置入 80℃ 的恒温水浴中,聚合两天.

打开玻璃板,将凝胶依次浸入 100% 乙醇、60% 乙醇水溶液、30% 乙醇水溶液及蒸馏水中各 3~4 天,除去未反应的物质和溶剂,得到溶胀的凝胶.然后用打孔器把凝胶制成柱状样品.该凝胶在 50℃ 烘箱中干燥至恒重(称为空气干燥凝胶).在 -80℃ 的超低温冰箱冷冻 2 天后经冷冻干燥机干燥 2 天(称为冷冻干燥凝胶).

1.3 扫描电镜(SEM)测定

将空气干燥或者冷冻干燥的凝胶的表面和断面喷金,用场发射扫描电镜(Sirion 200, FEI)观察其形貌,加速电压 10 kV.

1.4 凝胶密度的测定

取柱状凝胶样品,测量其直径和高度,算出凝胶体积(v),用天平称出质量(m).凝胶的密度(ρ)按下式计算.每个样品取 5 个,取其平均值.

$$\rho = m/v \quad (1)$$

1.5 凝胶溶胀程度的观察

将不同干燥方式的干凝胶浸入 37℃ 的 pH = 7.4 的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲溶液中,间隔一定时间对溶胀的凝胶进行拍照.

1.6 凝胶溶胀特性研究

取一小块平衡溶胀的凝胶(干重约 50 mg)在 60℃ 干燥 48 h,称重(W_d).将此干凝胶浸入 37℃ 的一定 pH 值的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲溶液中,在一定的时间间隔内取出凝胶,用滤纸轻轻吸去表面多余的水分,称重(W_s).其溶胀比(SR)按下式计算^[10]:

$$SR = (W_s - W_d)/W_d \quad (2)$$

当溶胀的凝胶重量不发生改变时,这时的 SR 为平衡溶胀比.

凝胶的溶胀速率用 Schott 二级动力学方程^[11]来描述,凝胶的平均溶胀率(W/t)的倒数与溶胀时间有如下关系:

$$t/W = a + bt \quad (3)$$

式中常数 a , b 的物理意义解释为,在一个相当长时间溶胀内, $bt \gg a$. 根据方程(3)有 $b = 1/W$, 即凝胶达到平衡时吸水量的倒数.反之,在一个很短的时间内, $a \gg bt$, 方程(3)变成:

$$\lim_{t \rightarrow 0} (dw/dt) = 1/A \quad (4)$$

因此,截距 a 为初始溶胀率的倒数.

1.7 凝胶在结肠内容物作用下的降解

取干凝胶(重约为 50 mg)称重(W_1),置于烧瓶内,加入 50 mL 的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲溶液(pH = 7.4),一定量的结肠内容物^[6], 1×10^{-3} mol/L 中性红, 20 wt% α -D-葡萄糖.然后通氮气大约 30 min,用保鲜膜密封.将烧瓶放入恒温摇床(37℃, 50 r/min),间隔一定时间取出凝胶,用蒸馏水浸泡干净, 60℃ 干燥约 5 天至恒重(W_2).凝胶的降解率(R)根据下式计算:

$$R(\%) = 100(W_1 - W_2)/W_1 \quad (5)$$

2 结果与讨论

2.1 干燥方式对凝胶微观结构的影响

通过测定两种凝胶的密度,发现二者差别较大.空气干燥的凝胶密度为 1.357 (g/cm³),而冷冻干燥凝胶的密度为 0.045 (g/cm³).从外观上看,冷冻干燥凝胶松软有弹性.这种差别显然与凝胶的微孔结构有关.为此,进一步用 SEM 观察两种凝胶.图 1 为冷冻干燥和空气干燥的丙烯酸-丙烯酰胺-甲基丙烯酸酯共聚物和直链淀粉半互穿网络水凝胶的扫描电镜图.冷冻干燥凝胶的表面粗糙、有较多的孔洞,孔径近似为 30~50 μ m(图 1b),内部截面有大量开放的微孔通道,并且亲水性的直链淀粉分子均匀分布在孔壁上(图 1d).然而空气干燥的半互穿网络凝胶的表面是完全非孔状的(图 1a),其内部截面非常致密、亲水性的直链淀粉分子被紧密包裹在其中,分布不规则(图 1c).以上这种微观结构上的差别主要归因于干燥工艺过程的不同.溶胀的凝胶在冷冻过程中会形成大量冰的结晶,这些冰晶充当了致孔剂.在随后的真空条件下,冰晶从凝胶基体中直接升华为气体,使凝胶形成大量开放的微孔通道,溶胀了的直链淀粉分子仍然呈溶胀时的自然分布状态,在凝胶基体中分布较为均匀.而在空气干燥的过程中,溶胀的凝胶在较高的温度下,液态水逐渐渗流(扩散)至凝胶表面而被蒸发.凝胶网络骨架在失水后处于坍塌状态,导致凝胶微观结构呈致密形貌^[4],并且直链淀粉分子由于凝胶网络的坍塌而回缩,分布不均匀.这些不同的表面形貌和内部微结构将影响到凝胶的溶胀和降解性能.

图 2 为两种凝胶在缓冲溶液(pH = 7.4)中的溶胀过程中的形貌.空气干燥凝胶在 2 h 后先出现样品边缘溶胀,随后开始中间溶胀.达到平衡溶胀的时间大约为 26 h.而冷冻干燥凝胶则表现

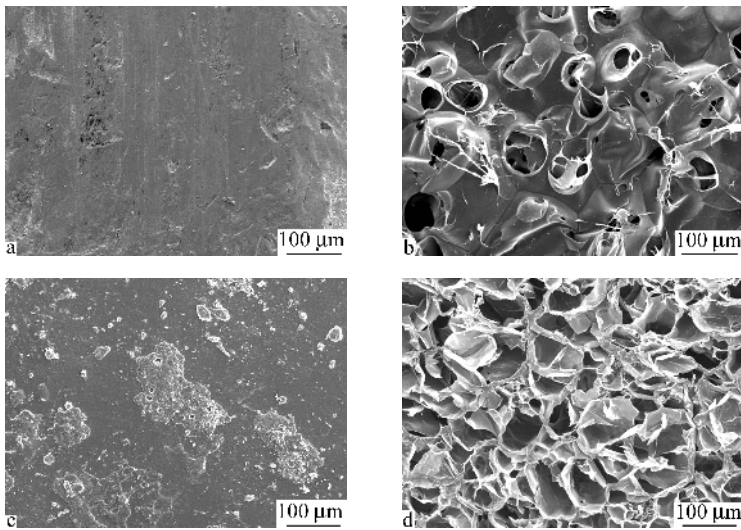


Fig. 1 SEM images of air-dried and freeze-dried hydrogels

The surface morphology of air-dried (a) and freeze-dried (b) hydrogels, cross-sectional view of air-dried (c) and freeze-dried (d) hydrogels

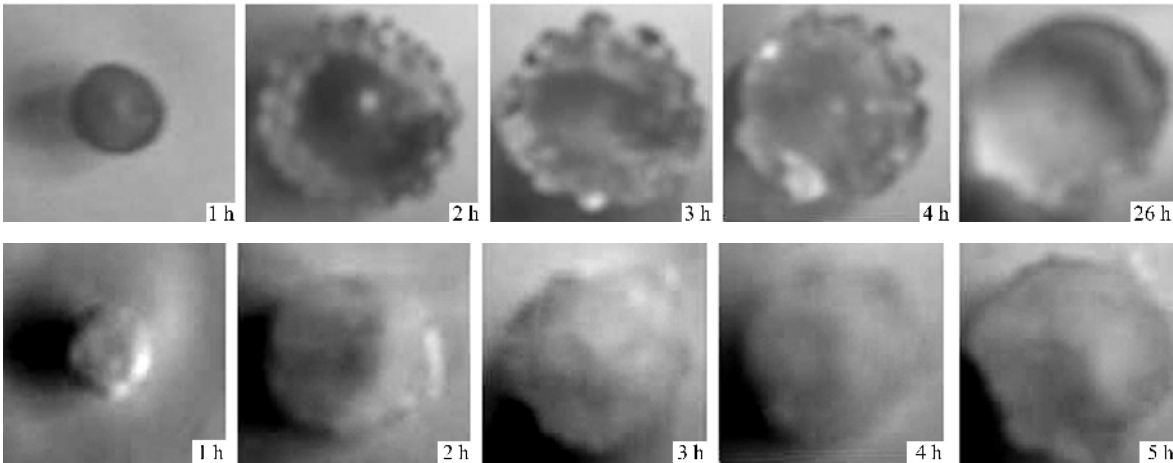


Fig. 2 Photographs of air-dried (up) and freeze-dried (down) hydrogels swelling at different time in pH = 7.4 buffer solution

为样品边缘和中间的同时溶胀. 达到平衡溶胀的时间仅为 5 h 左右. 这种溶胀行为上的显著差别归因于它们的微观结构的不同. 由于冷冻干燥凝胶存在大量开放的微孔结构, 这些开放的微孔结构在溶胀过程中通过毛细作用加快了缓冲溶液的渗透和扩散. 同时, 均匀分布在孔壁上的直链淀粉的亲水作用以及缓冲溶液的快速进入导致离子化羧基的排斥作用增强, 使凝胶的溶胀进一步加快, 表现为边缘和中间的同时溶胀. 而空气干燥凝胶由于微观结构的致密性, 在溶胀过程中只能是由外至内的逐步溶胀, 其溶胀速率相对要慢得多.

2.2 两种凝胶的溶胀行为

图 3 为两种凝胶在 pH = 2.2 和 7.4 的缓冲溶液中的溶胀动力学曲线. 由图可知, 在 pH = 2.2 的缓冲溶液中, 冷冻干燥凝胶的 SR 虽大于空气干

燥凝胶, 但仍然小于 1. 而在 pH = 7.4 的缓冲溶液中, 冷冻干燥凝胶的 SR 显著增大. 这种 pH 敏感性主要归因于分子链上亲水基团(羧基)的作用. Schott 对这种有体积变化的溶胀过程提出了二级溶胀动力学模型(见方程式(3))^[11], 将两种凝胶在 pH = 2.2 和 pH = 7.4 的缓冲溶液中获得溶胀数据应用于方程(3), 图 4 表明两种凝胶的平均溶胀率(W/t)的倒数与溶胀时间有良好的线性关系, 且与介质的 pH 值无关.

根据方程(3)可计算常数 a 和 b 的值. 在 pH = 2.2 的介质中, 空气干燥凝胶的 a 值(135.21)远大于冷冻干燥凝胶(49.62). 空气干燥凝胶的 b 值(1.82)也大于冷冻干燥凝胶(0.93). 同样, 在 pH = 7.4 的介质中, 空气干燥凝胶的 a 值(20.23)远大于冷冻干燥凝胶(2.57), 空气干燥凝胶

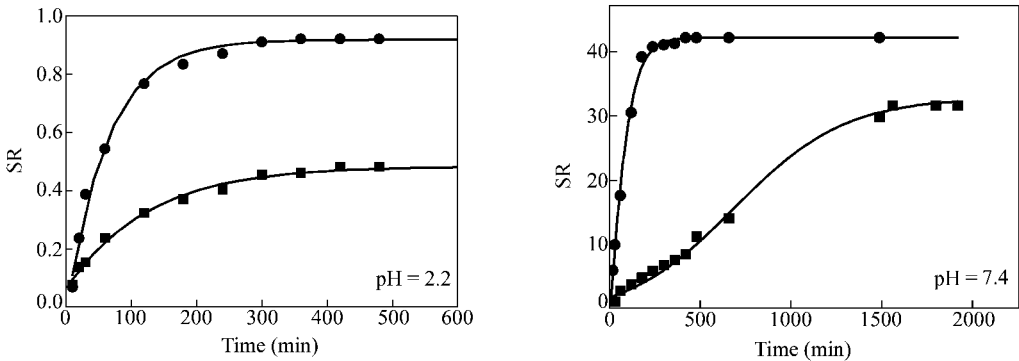


Fig. 3 Swelling kinetics of air-dried and freeze-dried hydrogels in pH = 2.2 and 7.4 buffer solution at 37°C
■ Air-dried ; ● Freeze-dried

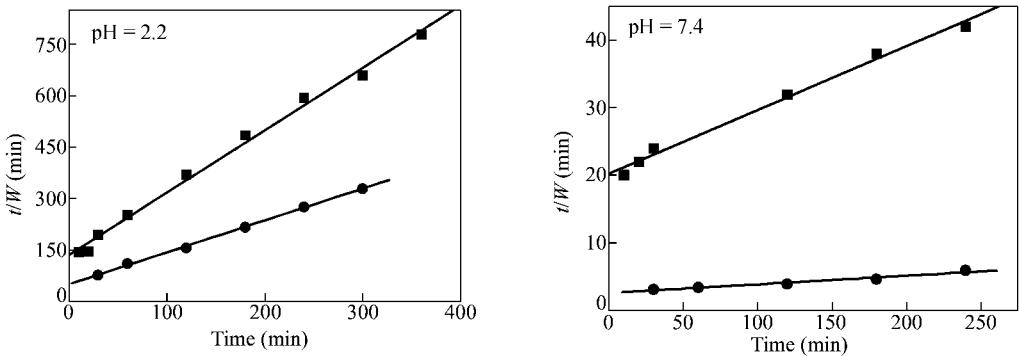


Fig. 4 Variation of the reciprocal rate of swelling defined in Eq. (2) as a function of the swelling time for air-dried and freeze-dried hydrogels
■ Air-dried ; ● Freeze-dried

的 b 值(0.094)大于冷冻干燥凝胶(0.013). 前已述常数 a 和 b 值的物理意义均与凝胶的初始溶胀和最大平衡溶胀有关, 因此两种凝胶的 a 和 b 值的差别, 进一步表明干燥方式对凝胶的溶胀行为有较大的影响.

图 5 为两种凝胶在不同 pH 下的 SR. 由图可知, 两种凝胶在 pH = 2.2 ~ 3 的范围内, 其 SR 几乎为 0. 这意味着冷冻干燥凝胶作为药物载体对控制药物在胃部不释放具有重要意义. 而在 pH = 4 ~ 6 之间, 凝胶的 SR 均呈现迅速增大的趋势, 冷冻干燥凝胶表现得更明显. 这显然是由于前述的微结构及相对较大程度的离子化所致.

2.3 水在两种凝胶内的扩散机理

水在凝胶内部的扩散控制机理可以用下式来确定^[12] :

$$F = M_t/M_\infty = kt^n \tag{6}$$

式中, M_t 为 t 时间时的吸水量, M_∞ 为达到溶胀平衡时的吸水量, k 为扩散常数. 指数 n 是表征溶剂扩散方式的量. 对柱状凝胶来讲, 当指数 $n = 0.5$ 时为 Fickian 扩散机理, 即凝胶的溶胀为扩散机理

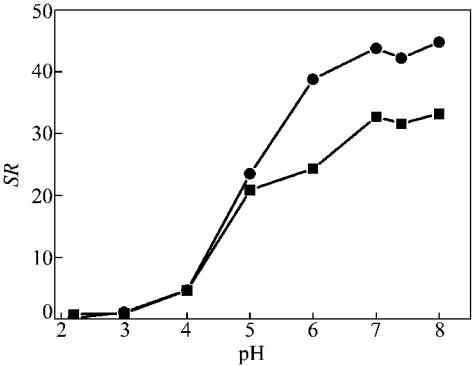


Fig. 5 Variation of the SR with pH values of the buffered solution at 37°C
■ Air-dried ; ● Freeze-dried

控制. 当 $n = 1.0$ 时为 Case II 扩散机理, 即凝胶的溶胀为链松弛机理控制. 当 n 值在 0.5 和 1.0 之间时为非 Fickian 扩散机理, 即凝胶的溶胀为扩散、链松弛机理共同控制. 图 6 是以两种凝胶的 $\ln M_t/M_\infty$ 对 $\ln t$ 的作图, 经线性回归, 由斜率和截距计算得空气干燥凝胶和冷冻干燥凝胶在 pH = 7.4 的介质中的 n 值分别为 0.69 和 0.59. 表明水

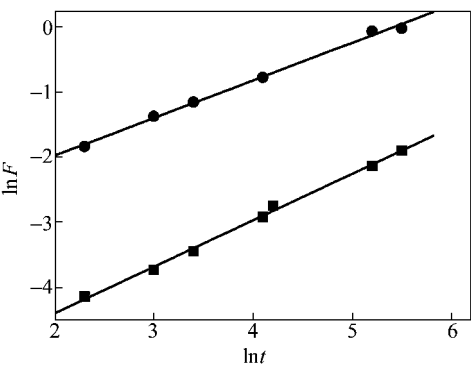


Fig. 6 The $\ln F$ versus $\ln t$ for the swelling of the air-dried and freeze-dried hydrogel sample in pH = 7.4 buffer solution

■ Air-dried ; ● Freeze-dried

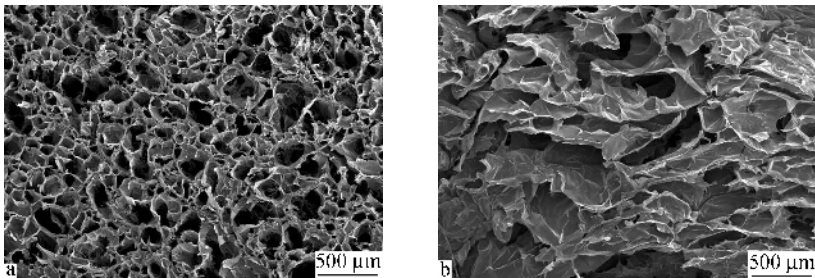


Fig. 7 SEM images of air-dried gel (a) and freeze-dried gel (b) after degradation by colon suspension

别为 9.2% (1 天)、17.2% (2 天) 和 28.1% (5 天) ; 而冷冻干燥凝胶不同时间内的失重率分别为 12.3% (1 天)、25.1% (2 天) 和 35.3% (5 天) . 两种干燥方式的凝胶的失重率都随时间的增加而增加, 表明两种凝胶在结肠内容物作用下都发生了降解反应, 然而在相同的时间范围内, 冷冻干燥凝胶的失重率比空气干燥凝胶相对要大, 说明冷冻干燥凝胶的降解速率相对更快. 其主要原因在于冷冻干燥凝胶的开放的微孔通道使得亲水性的共聚物和淀粉分子与水分子接触的比表面积增大, 水可以通过这些开放的微孔通道的毛细作用而被快速吸收入凝胶, 从而可以增强凝胶对含有可降解偶氮键和淀粉酶的结肠液的快速渗透吸收, 促

在两种凝胶内的扩散均为非 Fickian 扩散机理. 冷冻干燥凝胶的 n 值更接近 0.5, 说明在复合机理中扩散机理占优势.

2.4 凝胶在结肠内容物作用下的降解

我们前期研究表明凝胶的降解与其溶胀性能是紧密相关的^[5-7]. Ghandehari 等在研究凝胶的降解时也指出, 凝胶的合成方式不同会导致其降解方式也不同^[13]. 实验中发现凝胶降解后由淡黄色变为无色, 说明在结肠菌作用下, 含有偶氮键的交联剂发生了偶氮还原反应^[5-7], 交联结构解体, 关于淀粉在结肠内容物的作用下的降解也有大量文献报道^[8], 本文不另赘述. 由实验得到空气干燥凝胶在结肠内容物作用下在不同时间内的失重率分

进凝胶的降解. 然而相反, 空气干燥凝胶却没有开放的微孔通道, 所以亲水性的共聚物和淀粉分子的水合过程较慢, 需要长时间才能达到溶胀平衡, 凝胶对酶的吸收也较为缓慢, 因而其降解速率也较慢. 图 7 为两种凝胶在结肠内容物作用后的内部截面扫描电镜照片, 与未降解的凝胶 (图 1) 相比, 空气干燥凝胶由致密变为疏松. 而冷冻干燥凝胶的孔洞变大, 孔壁变薄, 表明其降解程度更大, 降解速率更快. 实验中发现两种凝胶的降解过程与图 2 描述的溶胀过程类似, 即空气干燥凝胶降解时, 凝胶的黄色由边缘到中心逐渐褪色. 而冷冻干燥凝胶在降解时, 其中心和边缘同时逐渐褪色.

REFERENCES

1 Ikesue K, Kopecková P, Kopecek J. *Int J Pharma*, 1993, 95 :171 ~ 179

2 Kang H W, Tabata Y, Ikada Y. *Biomaterials*, 1999, 20 :355 ~ 364

3 Shalaby W S W, Peck G E, Park K. *J Controlled Release*, 1991, 16 :37 ~ 42

4 Risbud M V, Hardikar A A, Bhat S V, Rhonde, R R. *J Controlled Release*, 2000, 68 :23 ~ 30

5 Yin Yihua(殷以华), Yang Yajiang(杨亚江), Xu Huibi(徐辉碧). *Acta Polymeric Sinica(高分子学报)*, 2002, (3) :287 ~ 292

6 Yin Yihua(殷以华), Yang Yajiang(杨亚江), Xu Huibi(徐辉碧). *Acta Polymeric Sinica(高分子学报)*, 2002, (4) :408 ~ 413

7 Yin Yihua(殷以华), Yang Yajiang(杨亚江), Xu Huibi(徐辉碧). *Acta Polymeric Sinica(高分子学报)*, 2002, (5) :650 ~ 655

- 8 Sinha V R, Kumria R. *Int J Pharma*, 2001, 224 :19 ~ 38
- 9 Liu Z, Hu H, Zhuo R. *J Polym Sci Part A : Polym Chem*, 2004, 42 :4370 ~ 4378
- 10 Yang Y, Engbert J B F N. *Colloids Surf A : Physicochem Eng Asp*, 2000, 169 :85 ~ 94
- 11 Schott H. *J Macromol Sci Phys*, 1992, B31 :1 ~ 9
- 12 Ritger P L, Peppas N A. *J Controlled Release*, 1987, 5 :37 ~ 42
- 13 Ghandehari H, Kopecková P, Kopeček J. *Biomaterials*, 1997, 18 :861 ~ 872

INFLUENCE OF DRY METHODS ON THE SWELLING AND DEGRADATION OF SEMI-IPN HYDROGELS CONTAINING AMYLOSE

LI Shengfang¹, YANG Yajiang¹, YANG Xiangliang², XU Huibi¹

(¹ Department of Chemistry, ² College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074)

Abstract The semi-IPN hydrogels of poly(acrylic acid-acrylamide-butyl methacrylate) and amylose were prepared using 4,4'-bis(methacryloylamino)azobenzene (BMAAB) as a crosslinker. The swelling behavior and degradation of hydrogels air-dried and freeze-dried both were investigated by immersion in buffer solutions of pH = 2.2 and 7.4. The results indicate that both types of gels follow the Schott second-order swelling kinetics. Diffusion of water in gels was a non-Fickian process, having a combinational mechanism of diffusion of water molecules and relaxation of the macromolecular chain. However, the diffusion mechanism was dominative for freeze-dried hydrogels. The equilibrium swelling ratio of freeze-dried hydrogels increases remarkably in pH = 7.4 buffer solutions, but almost no change in pH = 2.2 buffer solutions. The degradation of gels was carried out in the presence of colon suspension. SEM and degradation of hydrogels show that the degradation ratios of freeze-dried and air-dried gels were 35.3% and 28.1% within 5 days, respectively. It indicates that the degradation can be enhanced in the colon for gels treated by the freeze-dried method.

Key words Semi-IPN, Hydrogels, Dry methods, Swelling kinetics, Degradation