

β -环糊精交联聚丙烯酸水凝胶的合成及其药物控制释放研究*

黄 怡** 范晓东

(西北工业大学理学院应用化学系 西安 710072)

摘 要 采用1,3-二环己基碳化二亚胺(DCC)为缩合剂,通过 β -环糊精与丙烯酸的酯化反应合成了不同取代度的丙烯酸 β -环糊精酯(β -CD-6-A),以此为单体与丙烯酸通过氧化还原自由基引发聚合,合成出了不同交联密度和不同环糊精含量的新型水凝胶(AA- β -CD-6-A).溶胀实验表明,该类水凝胶均具有pH敏感性,溶胀动力学实验进一步对其机理进行了探讨.选择苯丁酸氮芥(CHL)作为模型药物,考察了不同pH下AA- β -CD-6-A水凝胶对药物释放行为的影响.结果表明,pH=6.8时药物释放率均大于pH=2.0时药物释放率,环糊精的存在表现出促释作用.

关键词 β -环糊精,水凝胶,pH敏感性,药物控制释放

环糊精聚合物除保持了母体分子所具有的包合性外,还表现出独特的高分子效应,如协同效应、邻基效应和较高的力学强度等,因此在分离分析技术、生物医学工程、环境保护和其它领域中取得了更加广泛的应用^[1~4].近年来,本课题组在环糊精聚合物尤其是具有环境响应性环糊精聚合物的研究中取得了一定的研究成果^[5~8].但基于环糊精单体的环境响应性共聚水凝胶的研究仅限于合成与表征.为了更深入的探讨其结构与性能的关系,以及该类聚合物在药物控制释放系统中的作用机理,本文合成了pH敏感型 β -环糊精/丙烯酸共聚水凝胶.由于丙烯酸优越的反应性能以及其聚合物特有的pH敏感性,有关丙烯酸类水凝胶的合成、性能以及应用研究已有大量文献报道,其种类和数量也相当多,但对与环糊精以共价键结合的聚合物的研究鲜见报道.本文采用1,3-二环己基碳化二亚胺缩合法得到了不同取代度的丙烯酸 β -环糊精酯(β -CD-6-A),经红外光谱、核磁共振氢谱确定了其结构与取代度,以两种不同取代度的丙烯酸 β -环糊精酯和丙烯酸为原料,采用氧化还原体系,合成了4种不同交联密度,不同环糊精含量的丙烯酸环糊精共聚水凝胶.采用红外光谱表征了其结构,并通过溶胀实验考察了其水凝胶的pH响应性.选择苯丁酸氮芥(CHL)作为药物控制释放的模型药物,主要研究在不同pH值下AA- β -CD-6-A水凝胶对药物释放行为的影响,

同时考察不同结构及环糊精含量对药物释放行为的影响.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

美国Varian公司Inova-400型(399.75 MHz)核磁共振仪;北京第二光学仪器厂WQF-310型付立叶红外光谱仪;德国Vario ELⅢ元素分析仪;北京UV1200型紫外可见分光光度仪.

β -环糊精,生化试剂,汕头市光华化学厂,重结晶两次,110℃ β -CD真空干燥12 h;1,3-二环己基碳化二亚胺(DCC),纯度为99%,ALORICH;N,N-二甲基甲酰胺(DMF),分析纯,天津市化学试剂三厂;丙烯酸(AA),分析纯,天津市化学试剂三厂;过硫酸铵,分析纯,西安化学试剂厂;亚硫酸氢钠,分析纯,沈阳试剂厂.

1.2 丙烯酸 β -环糊精酯(β -CD-6-A)的合成

称取一定量的 β -CD和DCC,溶于DMF中,在室温下滴加与DCC相同摩尔比的丙烯酸,30 min后,在一定温度下继续反应适当的时间.反应结束后,真空抽滤除去析出的固体,滤液用丙酮沉淀出粗产物,经稀释的乙酸、碳酸钾处理,蒸馏水、甲醇溶解,丙酮沉淀提纯后,真空干燥得白色固体产物 β -CD-6-A.

* 2005-01-31 收稿,2005-03-28 修稿;国家自然科学基金(基金号 20374040)及陕西省教育厅自然科学基金(基金号 05JK311)资助项目;

** 通讯联系人;E-mail: xysyhy@126.com

1.3 丙烯酸与丙烯酸 β -环糊精酯共聚水凝胶 (AA- β -CD-6-A) 的合成

将单体 AA 与 β -CD-6-A 按一定的重量配比溶于 3 mL 蒸馏水中,同时在反应体系中加入还原剂亚硫酸氢钠 10.6 mg 密封于反应瓶中,通氮 20 min 后,加入 27.6 mg 过硫酸铵水溶液,混合均匀,在室温下聚合 24 h.取出凝胶浸泡在蒸馏水中,12 h 更换一次蒸馏水,5 天后将水凝胶于室温下晾干后真空 (50℃) 干燥至恒重.

1.4 水凝胶溶胀率的测定

称重法测定水凝胶的溶胀率 (SR) 或平衡溶胀率 (ESR).在恒定温度下,将凝胶浸泡于特定的介质(具有相同离子强度不同 pH 值缓冲溶液或不同离子强度的溶液)中,使其溶胀.定时或待溶胀达平衡时取样,用滤纸除去水凝胶表面的水分后,称其重量. $SR = (W_t - W_0) / W_0$; $ESR = (W_{\infty} - W_0) / W_0$,其中 W_0 为干胶的质量, W_t 为时间 t 时刻时水凝胶的总质量; W_{∞} 为溶胀平衡后水凝胶的总质量.

1.5 缓冲溶液的配制

pH = 2.0 ~ 3.5 的缓冲溶液体系为 HCl-甘氨酸; pH = 4.0 ~ 5.5 的缓冲溶液体系为 HAc-NaAc; pH = 6.0 ~ 7.5 的缓冲溶液体系为 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 ; pH = 8.6 ~ 11.0 的缓冲溶液体系为 NaOH-甘氨酸,以上溶液均以 NaCl 调节离子强度 $I = 0.1 \text{ mol/L}$.

1.6 载药方法

将平均质量为 60 mg,直径和厚度分别为 50 mm 和 1.5 mm 的 AA- β -CD-6-A 干凝胶,浸泡于 ω (CHL) = 0.8%,溶剂为 $V(\text{丙酮}):V(\text{水}) = 1:1$ 的 CHL 溶液中,室温下放置 3 天,取出后在丙酮溶液中稍浸片刻,置于室温下晾干后,放入真空干燥箱中,干燥后称重.载药量由凝胶载药前后的质量差求得,其结果见表 1.

Table 1 Results of the drug-loaded hydrogels of AA- β -CD-6-A

Sample	PAA	I a	I b	II b
ω (Drug) (%)	6.29	5.23	5.61	4.83

1.7 药物累计释放率的测定

分别将载药的 AA- β -CD-6-A 水凝胶浸泡于 25.0 mL 释放介质 (pH = 2.0 或 pH = 6.8 离子强度为 0.1 mol/L 的缓冲溶液) 中,体系温度为 37℃,定时取 5.0 mL 释放液,同时向释放体系补充 5.0 mL 新鲜缓冲液,以维持释放体系的体积不变.用紫外

可见分光光度仪测定释放药物的含量.

药物 CHL 在不同 pH 介质中有着不同的紫外吸收光谱特性,因此需要作出它在不同介质中的标准工作曲线, $\lambda_{\max} = 260 \text{ nm}$ 为测定波长,其结果分别为: pH = 2.0, $A = -0.00987 + 8271.3 C$, $r = 0.9997$; pH = 6.8, $A = 0.02638 + 13694.68179 C$, $r = 0.9987$

2 结果与讨论

2.1 丙烯酸 β -环糊精酯 β -CD-6-A 的合成

β -CD 与丙烯酸在缩合剂 DCC 的作用下,合成丙烯酸酯化 β -环糊精的方法不但反应条件温和,产物易于提纯,且通过调节反应物摩尔比,或改变反应时间和温度,得到取代度不同的产物.从不同取代度产物的红外光谱可以发现,随着取代程度的增大, 1718 cm^{-1} 处的相对吸收强度随之增大, 2938 cm^{-1} 处出现的峰是亚甲基的 C—H 伸缩振动谱带,与化学反应无关,因此,无明显变化,根据文献[9],若以 1718 cm^{-1} 处的峰为探针谱带,以 2938 cm^{-1} 处的峰为参比谱带,两者吸收高度的相对比值应当与丙烯酸酯化环糊精的取代度呈线性关系,因而可以通过比较其比值的大小,确定其取代度.

2.2 丙烯酸 β -环糊精酯 β -CD-6-A 的结构表征

合成的丙烯酸 β -环糊精酯的红外光谱均在 1718 cm^{-1} 处出现了酯基中羰基的伸缩振动吸收谱带.只是由于取代度的不同,其强度有所差别.通常 C=C 伸缩振动谱带在 $1640 \sim 1680 \text{ cm}^{-1}$,因环糊精在此处的羟基面内弯曲振动吸收峰的掩盖,难以分辨出丙烯酰基中 C=C 的吸收峰,但核磁共振谱明确的给出了烯氢的吸收峰,图 1 是 β -CD-6-A 的核磁共振氢谱图,位于化学位移 $\delta_{\text{H}} = 6.37 \sim 5.81$ 的 3 组峰分别是丙烯酰基中 3 个烯氢的吸收峰. $\delta_{\text{H}} = 5.18 \sim 4.95$ 是环糊精中 1-H 的化学位移,由于受到取代基的影响,部分移向低场.另外,由于烯氢的共振峰与环糊精中氢的共振峰明显分离,由此可以得到取代度.对取代度为 2 和 3 两种结构进行了元素分析测定,结果为,理论值 (%) (取代度为 2,分子式为 $\text{C}_{48}\text{H}_{76}\text{O}_{37} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) C 43.18, H 6.45; 实验值 (%) C 42.77, H 6.48; 理论值 (%) (取代度为 3,分子式为 $\text{C}_{51}\text{H}_{79}\text{O}_{38} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) C 44.60, H 5.76; 实验值 (%) C 44.17, H 5.68.

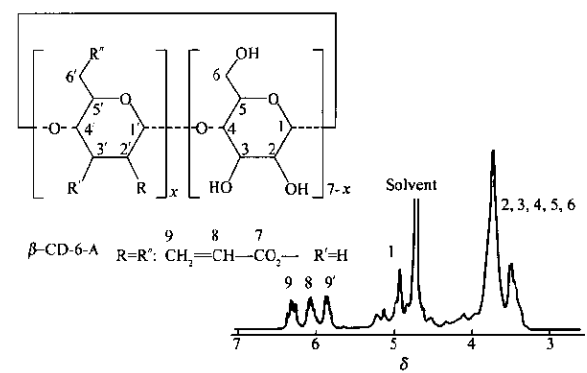


Fig. 1 ¹H-NMR spectrum of β-CD-6-A
Solvent: D₂O

2.3 共聚物 AA-β-CD-6-A 的合成

将两种不同取代度的环糊精改性单体丙烯酸 β-环糊精酯 β-CD-6-A 按一定的重量配比(表 2), 分别与单体 AA 共聚得到了两个系列的共聚物 I a, I b 和 II a, II b.

Table 2 Feed composition and copolymer composition of hydrogels AA-β-CD-6-A

Sample		Feed ratio
D. S. *	Code	β-CD-6-A AA(g:g)
2	I a	0.3:0.7
	I b	0.4:0.6
3	II a	0.3:0.7
	II b	0.4:0.6

* D. S. (substitution degree of β-CD-6-A) calculated by ¹H-NMR.

2.4 共聚物 AA-β-CD-6-A 结构的表征

合成的 4 种共聚凝胶的红外图谱中, 3480 cm⁻¹ 是丙烯酸中羧基的 O—H 与环糊精中 O—H 的伸缩振动吸收峰, 位于 1160 ~ 1260 cm⁻¹ 是丙烯酸中 C—O 伸缩振动, 而环糊精的特征吸收峰 C—O 伸缩振动处于 1020 cm⁻¹, 且这一谱带的强度随着环糊精含量的增加而增强. 其相对强度与反应物中两种单体重量配比的相对大小顺序一致.

2.5 水凝胶溶胀行为的动力学分析

为了较深入地了解 AA-β-CD-6-A 水凝胶的溶胀过程, 我们对其溶胀动力学进行了研究. 溶胀过程采用 Peppas^[10] 提出的等式(1)对水凝胶在 pH = 2.0、pH = 6.8 和 pH = 11.0 的缓冲介质中下溶胀率随时间的变化进行分析:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \tag{1}$$

$$\ln \frac{M_t}{M_\infty} = n \ln t + \ln k \tag{2}$$

式中 K 和 n 是常数, n 值描述了凝胶吸水或释放的机理. 对等式(1)取对数, 得等式(2). 当 $n = 0.5$ 时表明溶胀过程遵循典型的 Fick 扩散机理; 当 $n > 1$ 时, 水的吸入或释出为凝胶松弛所控制; 当 $0.5 < n < 1$ 时, 则是由凝胶的松弛和水的扩散协同控制的.

表 3 中未见 pH = 2.0 介质中的溶胀动力学参数, 是因为所有水凝胶的溶胀结果在进行等式(2)拟合时未能得到相关性较好的线性关系, 这主要是在该介质中, 溶胀程度太小的缘故. 在 pH 值为 6.8 和 11.0 时, I a 和 I b 的 n 值均在 0.62 ~ 0.73 范围内, 可见在该介质中, 水凝胶的溶胀主要是由水的扩散和凝胶松弛协同控制的, 这是由于在该介质中, 这两种水凝胶有较大溶胀率(平衡溶胀率 40.09 ~ 53.97), 而 II a 和 II b, 的 n 值分别为 0.40、0.47 和 0.55, 表明这两种水凝胶主要是由溶剂的扩散所控制. 这与它们的交联程度较大有关. 交联程度的增加导致网络分子间作用力及刚性增大, 导致网络松弛变缓. 纯聚丙烯酸水凝胶(PAA)在这两种介质中的 n 值分别为 0.64 和 0.62, 说明其溶胀是由水的扩散和凝胶松弛协同控制的, 而该凝胶的交联程度与含环糊精的 I a 和 I b 相近(平衡溶胀率 ESR 分别为 53.97 和 47.19), 以上讨论说明凝胶的交联程度在决定其溶胀机理中起着重要的作用.

Table 3 Dynamic and equilibrium swelling data of copolymers PAA and I a ~ II b at various pH values of buffered solutions at 25 °C

Sample code	pH	Swelling exponent n	k (min) $\times 10^2$	Corr. coeff. r	ESR^*
PAA	6.8	0.64	0.77	0.9961	53.97
I a	6.8	0.73	0.48	0.9954	56.43
I b	6.8	0.69	0.61	0.9963	42.12
II a	6.8	0.55	2.49	0.9781	14.79
II b	6.8	0.47	4.36	0.9750	8.65
PAA	11.0	0.62	0.96	0.9938	47.19
I a	11.0	0.67	0.74	0.9877	51.26
I b	11.0	0.68	0.69	0.9933	40.09
II b	11.0	0.40	6.00	0.9868	7.34

* Equilibrium swelling ratio

表 3 中的 n 值表明, 大多数水凝胶的溶胀动力学不符合 Fick 定律, Fick 定律为一级扩散动力学定律, 因为该定律将扩散剂的扩散系数和扩散膜的厚度在整个过程中均看成常数, 而后者在有体积膨大的溶胀体系中显然并非常数. Schott^[11] 为这种溶胀过程提出了一个理论模型, 认为该过程

可以用二级动力学进行描述.凝胶的平均溶胀率(M_t/t)的倒数与溶胀时间有如下关系:

$$t/M_t = a + bt \tag{3}$$

式中常数 a 和 b 的物理意义被解释如下,在一个较长时间溶胀过程中, $bt \gg a$. 根据方程(3)有 $b = 1/M_t$, 即凝胶达到溶胀平衡时吸水量的倒数.反之,在溶胀的初始时阶段, $a \gg bt$, 因此,截距 a 为初始溶胀率的倒数.

将上述样品在溶胀过程中获得的数据应用于方程(3)干凝胶的溶胀过程,发现平均溶胀率(M_t/t)的倒数与溶胀过程的时间有很好的线性关系,所得常数 a 和 b 及相关系数列于表 4.

Table 4 Constant a and b of equation 3 for PAA and I a ~ II b at various pH values of buffered solutions at 25℃

Sampl code	pH	a	b	Corr. coeff. r	ESR*
PAA	2.0	26.3906	0.1532	0.999	6.08
I a	2.0	23.0711	0.1540	0.9992	6.07
I b	2.0	25.1637	0.1780	0.9999	5.21
II a	2.0	10.7602	0.3943	0.9986	2.43
II b	2.0	17.3707	0.4959	0.9996	1.92
PAA	6.8	10.8799	0.0163	0.9953	53.97
I a	6.8	9.3727	0.0151	0.9964	56.43
I b	6.8	11.9527	0.0206	0.9968	42.12
II a	6.8	12.3167	0.0625	0.9933	14.79
II b	6.8	12.9840	0.1098	0.9991	8.65
PAA	11.0	9.7261	0.0184	0.9919	47.19
I a	11.0	8.6836	0.0161	0.9926	51.26
I b	11.0	11.3131	0.0203	0.9920	40.09
II b	11.0	19.6567	0.1228	0.9891	7.34

* ESR: Equilibrium swelling ratio

含环糊精的水凝胶 (I a、I b、II a 和 II b) 在 pH = 6.8 介质中的 a 值分别为 $9.3727 < 11.9527 < 12.3167 < 12.9840$, 在 pH = 11.0 介质中 (I a、I b 和 II b) 的 a 值分别为 $8.6836 < 11.3131 < 19.6567$, 可见凝胶的初始溶胀速率随凝胶交联程度的增加而减小, 其 b 值分别为 $0.0151 < 0.0206 < 0.0625 < 0.1098$ (pH = 6.8); $0.0161 < 0.0203 < 0.1228$ (pH = 11.0), 表明凝胶的最大平衡溶胀程度也随交联程度的增加而减小, 这与前面所讨论的结果相一致.

另外,平衡溶胀率 (ESR) 与 I a 和 I b 相近的丙烯酸水凝胶 PAA 在 3 种介质中的 a 和 b 值均与 I a 和 I b 的 a 和 b 值相近, 说明凝胶的初始溶胀速率和最大平衡溶胀程度主要取决于凝胶的交联程度.

2.6 AA-β-CD-6-A 水凝胶对 CHL 的释放行为研究

一般情况下, 药物从骨架片中的释放机制可通过 Peppas 经验式^[12]来描述:

$$\ln W = n \ln t + \ln k \tag{4}$$

W 为药物在 t 时间的累积释放分数, k 为速率常数, n 是表征释放机制的特征参数, 对于圆柱形制剂而言, 当 $n = 0.5$ 时药物释放机制为 Fick 扩散

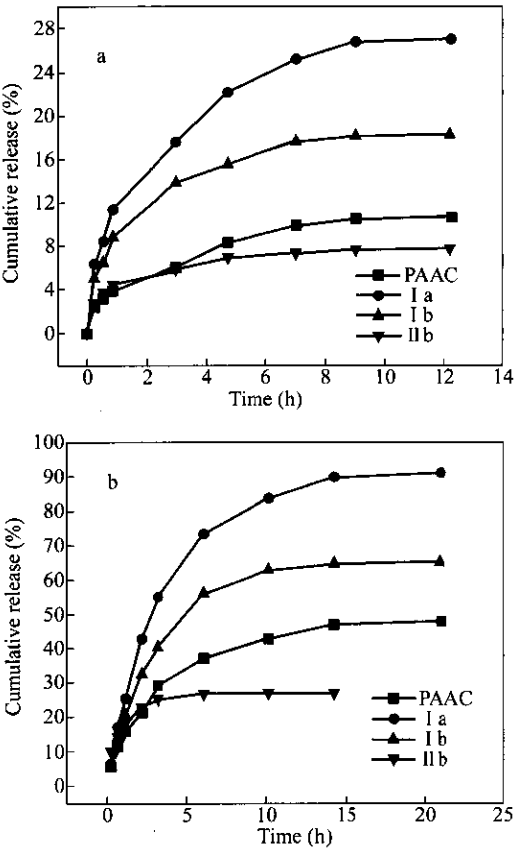


Fig.2 Cumulative release profiles of CHL from the loaded hydrogels (PAA and I a ~ II b) in buffered solutions at (a) pH = 2.0 and (b) pH = 6.8 at 37℃

Table 5 Analysis of release kinetics of the loaded hydrogels of PAA and I a ~ II b at various pH values of buffered solutions at 37℃

Sample code	pH	Release index n	$k \times 10^2$ (min)	Corr. coeff. r	ESR*
PAA	2.0	0.41	0.77	0.9956	6.08
I a	2.0	0.39	2.26	0.9944	6.07
I b	2.0	0.35	2.03	0.9886	5.21
II b	2.0	0.28	1.36	0.9934	1.92
PAA	6.8	0.53	1.50	0.9849	53.97
I a	6.8	0.66	1.42	0.9734	56.43
I b	6.8	0.61	1.41	0.9758	42.12
II b	6.8	0.33	4.23	0.9813	8.65

* ESR: Equilibrium swelling ratio

控制;当 $0.5 < n < 1.0$ 时,药物释放机制为非 Fick 扩散(即药物和骨架松弛协同作用);当 $n > 1.00$ 时,为骨架松弛机制.由方程(4)拟合所得结果见表 5.

综上所述,从 n 值看,当介质的 pH 值由 2.0 变到 6.8 时,除交联密度较小的 II b 外,其余水凝胶的释放机制由扩散控制逐渐向扩散与骨架松弛协同控制过度.显然是由于在 pH = 6.8 介质中,羧基去质子化后,带负电的羧酸根离子的静电相互作用,有利于骨架的松弛.图 2 表明, pH = 6.8 时

药物释放率均大于 pH = 2.0 时药物释放率. PAA 是纯丙烯酸水凝胶,在 pH = 2.0 和 pH = 6.8 两种介质中,尽管含环糊精的水凝胶 I b 的溶胀率(5.21)小于 PAA 的溶胀率(6.08),但 I b 的药物累计释放率大于 PAA 的药物累计释放率,表明环糊精有一定的促释作用.虽然 II b 环糊精含量远大于 I a 和 I b,但由于其较大的交联密度(平衡溶胀率远小于 I a 和 I b),它在两种介质中的均表现为较小的释放速率和释放量.

REFERENCES

- 1 Zhong N, Byun H S, Bittman R. *Tetrahedron Letters*, 2001, 42: 1839 ~ 1841
- 2 Mura P, Faucci M T, Maestrelli F, Furlanetto S, Pinzauti S. *J Pharm Biomed Anal*, 2002, 29: 1015 ~ 1024
- 3 Bibby D C, Davies N M, Tucker I G. *Int J Pharm*, 2000, 197: 1 ~ 11
- 4 Gosselet N M, Naranjo H, Renard E, Amiel C, Sebille B. *Eur Polym J*, 2002, 38: 649 ~ 654
- 5 Huang Yi(黄怡), Fan Xiaodong(范晓东), Hu Hui(胡晖). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2004, (2): 177 ~ 183
- 6 Huang Yi(黄怡), Fan Xiaodong(范晓东), Zhang Nannan(张楠楠). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2004, (6): 854 ~ 858
- 7 Liu Y Y, Fan X D. *Polymer*, 2002, 43(18): 4997 ~ 5003
- 8 Liu Y Y, Fan X D. *Macromolecular Bioscience*, 2003, 3(12): 715 ~ 719
- 9 Dong Yanming(董炎明), Xu Congyi(许聪义), Wang Jianwei(汪剑伟), Wang Mian(王勉), Wu Yusong(吴玉松), Ruan Yonghong(阮永红). *Science in China (Series B) (中国科学) (B 辑)*, 2001, 31 (2): 153 ~ 160
- 10 Hariharan D, Peppas N A. *Polymer*, 1996, 37 (1): 149 ~ 161
- 11 Schott H J. *Macromol Sci-Phys*, 1992, B31: 1 ~ 9
- 12 Kormeyer R W, Gurny R, Doelker E, Buri P, Peppas N A. *Int J Pharm*, 1983, 15(1): 25 ~ 35

STUDY ON HYDROGELS OF β-CYCLODEXTRIN-CROSSLINKED ACRYLIC ACID AND THEIR CONTROLLED DRUG RELEASE BEHAVIOR

HUANG Yi, FAN Xiaodong

(Department of Applied Chemistry, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072)

Abstract β-cyclodextrin(β-CD)-containing acrylic monomers (β-CD-6-A) with different substitution degree were prepared by using dicyclohexylcarbodiimide (DCC) as condensation agent, and a functional hydrogel was synthesized by copolymerization of β-CD-6-A with acrylic acid (AA) using a redox initiator system in aqueous solutions. The nuclear magnetic resonance ($^1\text{H-NMR}$), infrared spectroscopy (IR) and swelling experiments were employed to characterize the β-CD modified monomers and their copolymers. The results show that the resin's equilibrium swelling ratio (ESR) possesses pH-sensitivities. The mechanisms of controlled drug release were investigated by using an anti-cancer drug, chlorambucil (CHL), as the model medicines at different medium. The release behavior of CHL from the hydrogels β-CD-AA indicated that the release ratio of CHL is affected by the pH value, and the cumulative release at pH = 6.8 was higher than that at pH = 2.0. In addition, the release efficiency of CHL from the hydrogels with β-CD is higher than that of the hydrogels without β-CD.

Key words β-Cyclodextrin, Hydrogel, pH-Sensitivities, Controlled drug release