

结肠位点药物转载凝胶的溶胀动力学研究*

殷以华 杨亚江** 徐辉碧

(华中科技大学化学系 武汉 430074)

摘 要 合成了带不同疏水侧基的甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酰胺及丙烯酸与4,4'-二(甲基丙烯酰胺基)偶氮苯交联共聚的凝胶.主要研究了这类凝胶在 pH=2.2 至 pH=7.4 的缓冲溶液的溶胀特性.其溶胀过程遵循二级溶胀动力学,影响这类凝胶溶胀行为的因素包括交联程度、疏水基链的长度、pH 值等.通过调节这些因素是完全可以控制凝胶在小肠内的溶胀程度,进而避免凝胶内部的药物被提前释放.

关键词 可降解凝胶,溶胀动力学

如何控制口服蛋白或酶类药物在胃部和小肠内不释放,只在结肠内释放或者在小肠内有少量释放而大量均释放在结肠内一直是生物医学界及药物学界倍受关注的研究课题.这是因为这类药物很容易被胃酶及存在于小肠内的胰酶所分解.解决这个问题一个途径就是把药物传递至结肠,此处分解蛋白的酶的活性显著降低^[1].利用存在于结肠内的微生物酶或细菌,将载体上某种基团化学键断裂,从而使药物在结肠处释放^[2~7].

现已知凝胶的降解率极大地取决于溶胀程度.即溶胀程度越大的凝胶,其降解率也越高.凝胶在被降解之前必须首先经过溶胀阶段^[3].文献中关于凝胶溶胀行为的研究大都涉及到影响凝胶溶胀的因素,如交联程度、亲水基及疏水基等因素^[8~10].但将药物传递至结肠,显然与凝胶溶胀行为的可控制性有关. Schott^[11]于1992年在研究高分子凝胶体系后提出二级溶胀动力学方程,但文献中关于生物降解凝胶溶胀动力学的研究尚不多见.

有鉴于此,我们设计并合成了既带有 pH 敏感的亲水基,又带有疏水长链侧基,也含有结肠菌可降解的偶氮基的共聚凝胶体系.即在胃部较低的 pH 条件下,凝胶由于受疏水长链侧基的控制具有很低的溶胀程度,保护药物免遭胃酶破坏.在小肠内,凝胶虽然由于 pH 的增加溶胀度有所提高,但由于长链侧基的疏水效应,溶胀较为缓慢,药物仍然被保护着直到结肠.在结肠内,凝胶的溶胀已达到能使结肠菌及电子载体导向偶氮

还原位点的程度.凝胶被降解,药物被释放出来.本文利用 Schott 二级溶胀动力学描述了此类凝胶的溶胀行为,所得结果与该动力学方程的相关性良好.对于这类凝胶被结肠菌在体外、体内降解研究将另文报道.

1 实验部分

1.1 含不同疏水侧基的甲基丙烯酸酯的制备

几种含有不同疏水侧基的甲基丙烯酸酯的制备采用了改进的文献上制备丙烯酸正丁酯的^[12]方法.其改进之处在于使用氯化亚铜作酯化反应的阻聚剂.分别制备了甲基丙烯酸正丁酯, bp 198℃^[13](终馏份);甲基丙烯正辛酯, bp 114℃/1866 Pa^[13];甲基丙烯酸十二烷基酯, bp 349℃^[13](终馏份).甲基丙烯酸十六烷基酯, bp 364℃(终馏份).

1.2 甲基丙烯酰氯的制备

在 50 mL 二氯亚砷中加入 1.49 g 的氯化铜,搅拌下滴加 52.1 mL 精制的甲基丙烯酸.加热至 35~40℃.滴加完毕后,升温至 60℃搅拌 6 h.收集 95~96℃^[14]的馏分.

1.3 4,4'-二氨基偶氮苯的合成

在 125 mL 水中加入 25 mL 浓硫酸, 10 g 对硝基苯胺, 35 g 过硫酸铵.加热至 40~45℃反应约 2 h,得 17.0 g 橘红色针状结晶.将此结晶与 102 g 硫化钠加入到 35 mL 水与 150 mL 无水乙醇的混合溶液中,加热到 80℃,回流 0.5 h 得 8.76 g 的 4,4'-二氨基偶氮苯.产率 57%, mp 248~249℃.

* 2000-12-11 收稿, 2001-02-17 修稿;国家自然科学基金资助项目(基金号 29574160); ** 通讯联系人

1.4 4,4'-二(甲基丙烯酰胺基)偶氮苯(DMAAB)的合成^[15]

在 20 mL 无水吡啶中加入 3.82 g 4,4'-二氨基偶氮苯,室温搅拌下缓慢滴加 4.18 g 甲基丙烯酰氯. 60℃下反应 1 h.反应混合物被倾注到冰水浴中,用浓盐酸酸化到 pH = 4.0.过滤,用饱和的碳酸钠水溶液及水洗涤,干燥,用乙醇重结晶三次.

收得 5.01 g (收率 80%),mp 277 ~ 278℃.

1.5 凝胶的制备

以 DMF 为溶剂、AIBN 为引发剂,制备方法已在先期发表的论文述及^[16].单体丙烯酰胺(AM),丙烯酸(AA),不同疏水侧基的甲基丙烯酸烷基酯(*n*-AMA),溶剂二甲基甲酰胺(DMF)和引发剂(AIBN)的用量见表 1.

Table 1 The composition of gels and conditions of the preparation

Gels	AM(mol %)	AA(mol %)	<i>n</i> -AMA(mol %)	DMAAB(mol %)	AIBN(mg)	DMF(g)	Total(g)
A	49.5	40	10(<i>n</i> -A = 4)	0.5	30	7	10
B	49.5	40	10(<i>n</i> -A = 8)	0.5	30	7	10
C	49.5	40	10(<i>n</i> -A = 12)	0.5	30	7	10
D	49.5	40	10(<i>n</i> -A = 16)	0.5	30	7	10
E	74.8	20	5(<i>n</i> -A = 12)	0.2	30	7	10
F	54.7	40	5(<i>n</i> -A = 12)	0.3	30	7	10
G	54.6	40	5(<i>n</i> -A = 12)	0.4	30	7	10
H	54.6	40	5(<i>n</i> -A = 4)	0.4	30	7	10

1.6 凝胶溶胀行为的研究

自平衡溶胀的凝胶中取一小块(干重约 10 mg),室温干燥 24 h,后于 60℃减压干燥 24 h,称重(W_0).将此干燥的凝胶浸入一定 pH 值的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲溶液中,在不同时间间隔内取出用滤纸轻轻擦去表面多余的水分,称重(W).此过程进行到三次连续称量被溶胀凝胶的重量不变为止.根据下列方程^[16]计算溶胀程度:

$$\text{凝胶的吸水量}(H, \%) = 100 (W - W_0) / W_0$$

(1)

凝胶的扩散速率采用 Schott 二级溶胀动力学描述.凝胶的平均溶胀率(H/t)的倒数与溶胀时间有如下关系:

$$t/H = a + bt$$

(2)

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(2)有: $b = 1/H$,即凝胶达到溶胀平衡时吸水量的倒数.反之,在一个很短时间内, $a \gg bt$,方程(2)变成:

$$\lim_{t \rightarrow 0} (dH/dt) = 1/a$$

因此,截距 a 为初始溶胀率的倒数.

的组成相同但疏水基链长不等.它们在 pH2.2 的缓冲溶液中几乎不溶胀.而在 pH7.4 的缓冲溶液中,溶胀程度明显增加,且溶胀程度随疏水基链长的增加而降低.但 D 的溶胀程度比 C 高,表明由疏水侧基引起的疏水效应随疏水侧链长度的增强是有限的,当疏水侧链的长度增加到一定值时,不但不会增强疏水效应,反而由于分子链柔顺的增加使分子链更容易松弛,进而使溶胀程度仅有一定程度的增加.凝胶在 pH7.4 的缓冲溶液中溶胀程度明显高于在 pH2.2 的缓冲溶液中的溶胀程度,这是由于分子链上亲水基团(羧基)的作用结果.凝胶在 pH2.2 的缓冲溶液中几乎不溶胀还与分子链上的偶氮苯交联基团的刚性有关.凝胶的这一特性对控制药物在胃部不释放是很有意义的.

图 2 是交联程度对溶胀程度的影响.其他组成相同而交联程度不同的同一种凝胶(E、F、G)的溶胀程度显然随着交联程度的增加而降低.同样,三个样品在 pH 2.2 的缓冲溶液中亦几乎不溶胀.由于偶氮苯交联剂是一个刚性交联剂,交联程度的增加必导致凝胶网络刚性增加以及网络间的作用力增强,使网络难以松弛,因而溶胀程度降低.

缓冲溶液的 pH 值对溶胀程度的影响见图 3.凝胶(H)在 pH4.0 ~ 5.0 的缓冲溶液中的溶胀程

2 结果与讨论

图 1 描述了四种凝胶(A、B、C、D)在 pH2.2 和 pH7.4 缓冲溶液中的溶胀动力学.这四种凝胶

度随着 pH 的增加有一个较大的突变,但在 pH5.0~8.0 和 2.2~4.0 的范围内, pH 对溶胀程度的影响不大. 凝胶(G,E)在不同 pH 的缓冲溶液中的溶胀动力学研究亦得到了类似的结果. 凝胶溶胀程度的突变性是羧基的离子化程度决定的,在较低或较高的 pH 范围内,由于羧基未被离子化或被全部离子化,因而对 pH 的依赖性不再明显.而在 pH 由低到高的过程中,分子链从卷曲态到完全伸展态,因而出现溶胀程度有一个较大的增加.

一般认为,大分子凝胶溶胀过程的决定因素是由渗透压导致的大分子链段的松弛效应.随着缓冲溶液扩散进入大分子内,溶胀速率随时间有

一个连续变化.在不同 pH 的缓冲溶液中,凝胶(H)的溶胀速率(dH/dt)随时间的变化曲线见图 4.干燥凝胶浸入溶液后均表现出初始速率最大,后随时间呈指数级递减直到达到平衡.在 pH2.2~5 范围内,扩散速率对介质的 pH 非常敏感,并随 pH 的增加而增大(pH2.2 处的 $dH/dt = 0$).但在 pH5~8 之间, pH 对扩散速率的影响不大,这在图 4 中可以清楚的看出.

疏水侧链长度对溶胀速率的影响见图 5.一般而言,疏水侧链越长,凝胶的溶胀速率越小.从图 5 可看出,在实验时间内,疏水侧链最短的凝胶(A)的溶胀速率最大,疏水侧链较长的凝胶

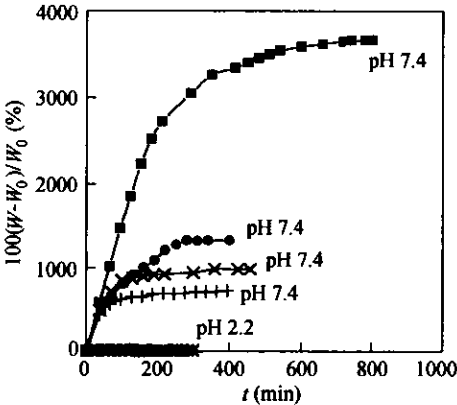


Fig. 1 Swelling kinetics of hydrogels (A, B, C, D) in the buffered solutions at pH7.4 and pH2.2 at 37°C
■: A(pH7.4); ●: B(pH7.4); ×: C(pH7.4); +: D(pH7.4); * : A(pH2.2); ○: B(pH2.2)

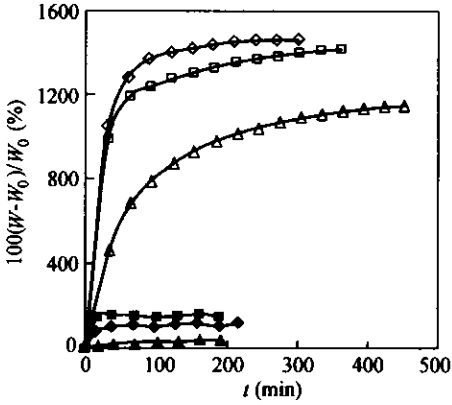


Fig. 2 Swelling kinetics of hydrogels (E, F, G, H) in the buffered solution at pH7.4 and pH2.2 at 37°C
◇: E(pH7.4); □: F(pH7.4); △: G(pH7.4); ◆: E(pH2.2); ■: F(pH2.2); ▲: G(pH2.2)

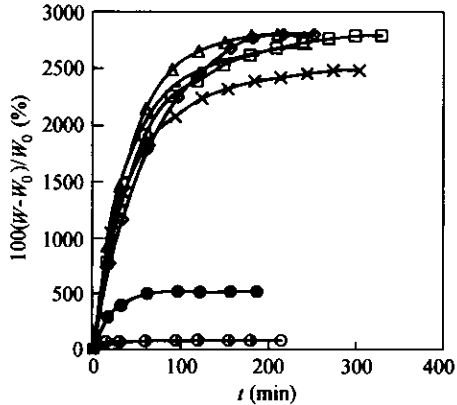


Fig. 3 Swelling kinetics of hydrogel (H) in the buffered solutions with different pH values at 37°C
○: pH2.2; +: pH3.0; ●: pH4.0; ◇: pH5.0; △: pH6.0; -: pH7.0; □: pH7.4; ×: pH8.0

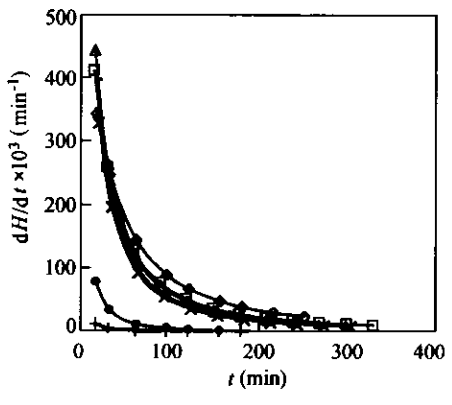


Fig. 4 Variation of the swelling rates dH/dt as a function of the time of swelling at 37°C for gel (H) in various pH values of the buffered solutions
+ : pH3.0; ●: pH4.0; ◇: pH5.0; △: pH6.0; -: pH7.0; □: pH7.4; ×: pH8.0

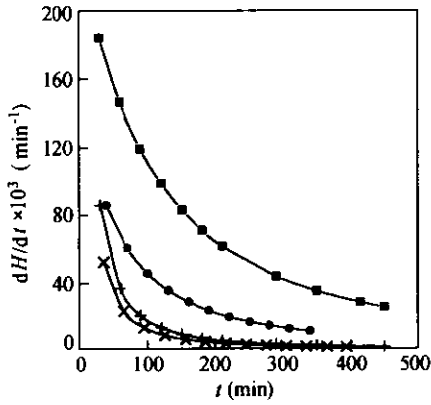


Fig. 5 The effect of the lengths of the hydrophobic side-chains on the change of swelling rates (dH/dt) as a function of the time of swelling for gels (A, B, C, D) in the pH 7.4 of buffered solutions at 37°C

■: A; ●: B; ×: C; +: D

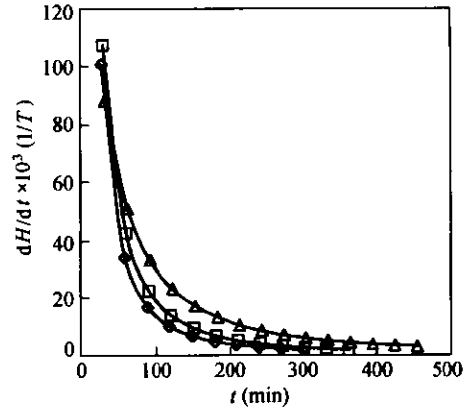


Fig. 6 The Effect of the cross-linking degree of hydrogels (E, F, G) on variation of the swelling rates dH/dt as a function of the time of swelling in the pH 7.4 of buffered solutions at 37°C

◇: E; □: F; △: G

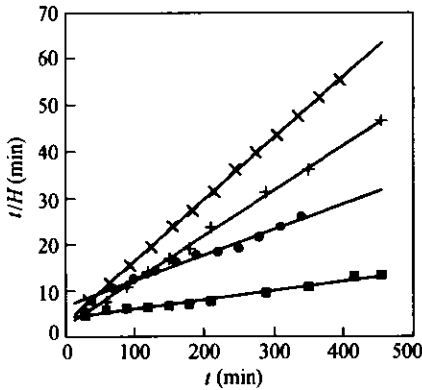


Fig. 7 Variation of the reciprocal rates of swelling defined in equation (1) as a function of the swelling time for the different lengths of hydrophobic groups of gels (A, B, C, D) in pH 7.4 of buffered solution at 37°C

■: A; ●: B; ×: C; +: D

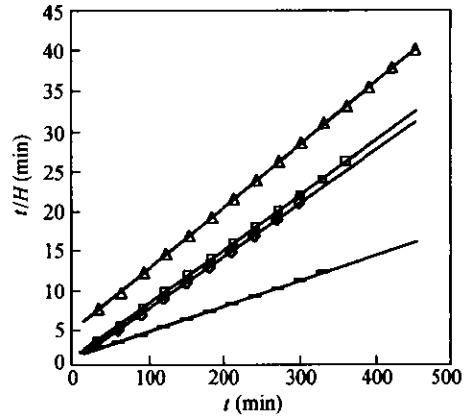


Fig. 8 Variation of the reciprocal rates of swelling defined in equation (1) as a function of the swelling time for the different cross-linking degree of gels (E, F, G, H) in the pH 7.4 of buffered solution at 37°C

◇: E; □: F; △: G; —: H

(C)最慢,而疏水侧链最长的凝胶(D)的溶胀速率反而比凝胶(C)高,这可能与十六烷基具有较高的柔顺性有关。

交联程度对溶胀速率的影响见图 6。凝胶溶胀速率的衰减快慢是 $E > F > H$, 即交联程度越小,凝胶溶胀速率的衰减越快。这可能是由于交联程度较高的凝胶网络的刚性及分子间的作用力较大,链的松弛需要一个较长的过程之故。

干凝胶的溶胀过程不遵循一级扩散动力学(Fick 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扩散过程中均看成常数,而

后者在有体积膨大的溶胀体系中显然并非常数。Schott 为这种溶胀过程提出了一个理论模型,他认为该过程可以用二级溶胀动力学进行描述。我们将上述八个样品在溶胀过程中获得的数据应用于方程(2),发现平均溶胀率(H/T)的倒数与溶胀过程的时间有很好的线性关系,与 pH 无关(见图 7~9)。

由方程(2)可知,凝胶的溶胀过程由 a 和 b 两个常数决定,即凝胶的初始溶胀速率和最大平衡溶胀程度决定了凝胶溶胀的全过程。因而,研究影响 a 和 b 这两个常数的因素对控制凝胶的溶胀

过程具有重要意义. 凝胶的初始溶胀速率与干凝胶的链松弛率有关, 而凝胶的链松弛与凝胶网络的刚柔性、亲水/疏水性、交联程度、厚度等因素有关. 这些均影响凝胶的初始溶胀速率. 本文侧重研究了亲水/疏水性及交联程度等因素对凝胶的最大平衡溶胀程度和初始溶胀速率的影响. 图 7 显示了不同疏水侧基对常数 a 和 b 的影响. 四种凝胶的常数 a 的大小是: 凝胶 A(4.1788) < B(6.7003) > C(3.1346) > D(2.5178). $a < b$ 主要是由于凝胶 B 的疏水性大于 A. $B > C > D$ 则是由于长链疏水基的柔顺性逐步递增之故. 常数 b 的大小是: A(0.0195) < B(0.0549) < D(0.0967) < C(0.1324). 这一顺序亦可由上述的这四种凝胶的疏水性及长链疏水基的柔顺性来解释. 图 8 是交联程度对常数 a 和 b 的影响. 常数的大小是: E(0.7382) < F(1.2337) < G(4.6448). 这显然是由于交联程度的增加导致网络分子间作用力及刚性增大, 导致网络松弛变缓之故. 常数 b 的大小是: E(0.0657) < F(0.0675) < G(0.0771). 这与上述讨论的交联程度对溶胀程度的影响结论完全一致.

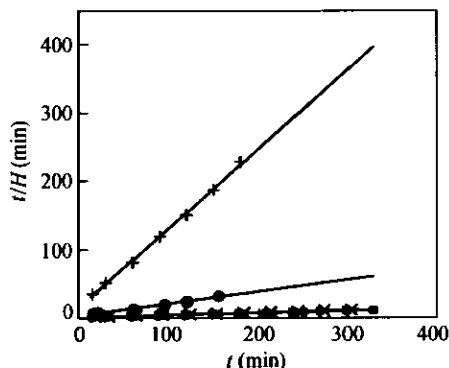


Fig. 9 Variation of the reciprocal rates of swelling defined in equation (1) as a function of the swelling time for gels (H) in different pHs of buffered solutions at 37°C
+ : pH3.0; ● : pH4.0; ◇ : pH5.0; △ : pH6.0;
- : pH7.0; □ : pH7.4; x : pH8.0

pH 对常数 a 和 b 的影响见图 10. 在不同 pH 值的酸性缓冲溶液中, 凝胶 (H) 常数 a 的大小是: pH3(13.543) > pH4(2.2111) > pH5(1.7901) > pH6(1.0435) > pH7(0.9879), 即初始溶胀速率随 pH 值的增大而增大, 这显然是与网络上羧基的离子化程度随 pH 值的增大有关. 而在碱性介质中, 常数 a 的大小是: pH7(0.9879) < pH7.4(1.3222) > pH8(1.1303). 即在碱性介质中, 常数 a 反而比中性介质中要大, 并且 pH7.4 处比

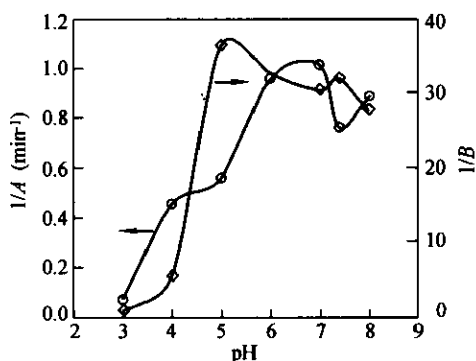


Fig. 10 Variation of the initial swelling rates ($1/A$) and the maximum swelling equilibrium degree ($1/B$) of gel (H) with the pH of buffered solution at 37°C
○ : $H(1/A)$; ◇ : $H(1/B)$

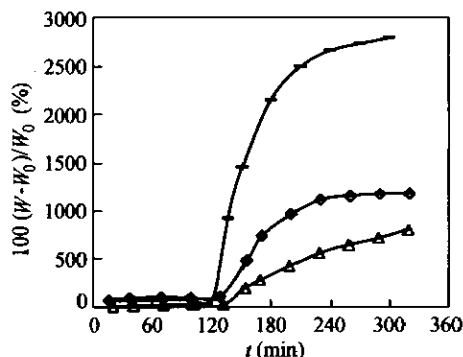


Fig. 11 Swelling kinetics of gels (H, E, C) at pH2.2 of the buffered solution for 2 h and at pH 6.0 of the buffered solution for 3 h at 37°C
— : H; ◇ : E; △ : G

pH8 处更大. 这可能是由于在碱性介质中的溶胀之初, 干凝胶表面的羧基被完全中和, 净电荷剧增, 致使凝胶表面的刚性增强, 凝胶内部更加紧缩之故. 此时若再增加溶液的 pH 值, 阳离子对干凝胶表面阴离子的屏蔽效应又会使凝胶表面的柔性增强, 从而使常数 a 下降. 对常数 b 而言, 在酸性介质中, 其大小是: pH3(1.1654) > pH4(0.1814) > pH5(0.0275) < pH6(0.0307) < pH7(0.0329). 在碱性介质中, 其顺序为: pH7(0.0329) > pH7.4(0.0314) < pH8(0.0364). 实验数据表明: 平衡溶胀程度在 pH5 处有一个急剧增大, 然后又有所降低. 在 pH7.4 处又有所增加, 然后又降低. 这个结果与图 3 得到的结果完全一致. 在 pH7.4 处的平衡溶胀程度有一个微小的增加, 这一现象可能是由于在碱性介质中氢离子被中和, 网络上阴离子间的斥力增加使网络膨大的结果.

随后 pH 的增加又会导致阳离子对网络上阴离子的屏蔽,致使溶胀程度又有所降低。

人体胃部的 pH 在 1~3.5 之间,上述几种凝胶在此 pH 范围内的溶胀程度很低,将它们用作药物载体可避免药物在胃部因载体发生较大溶胀而释放。同时,由于凝胶在此 pH 范围内的溶胀程度很低,使得这些凝胶的整个溶胀过程主要取决于其在小肠内的溶胀。一般认为:药物载体在小肠内的滞留时间为 3 h,小肠内的 pH 值为 5~7。因而研究凝胶在此 pH 范围内 3h 后的溶胀程度是非

常有意义的。图 11 显示了凝胶(H, E, G)在 pH2.2 的缓冲溶液中溶胀 2 h 后放入 pH6 的缓冲溶液中溶胀 3 h 的溶胀动力学曲线。三种凝胶在 pH2.2 的缓冲溶液中近乎不溶胀,而在 pH6 的缓冲溶液中的溶胀率是: $H > E > G$ 。这与上述得到的结果一致。因此,通过调节凝胶的组成(如交联剂含量)或改变疏水基链长是完全可以控制凝胶在小肠内的溶胀程度,进而避免凝胶内部的药物被提前释放。

REFERENCES

- 1 Kopecek J, Kopeckova P, Brondsted H, Rahti R, Rihoa B, Yeh P-Y, Ikesue K. *J Control Release*, 1992, 19: 121 ~ 130
- 2 Saffran M, Kumar G S, Savariar C, Burnham J C, Williams F, Neckers D C. *Science*, 1986, 233: 1081 ~ 1084
- 3 Brondsted H, Kopecek J. *Pharm Res*, 1992, 9: 1540 ~ 154
- 4 Lancaster C M, Wheatley M A. *Polymer Preprints*, 1989, 30: 480 ~ 481
- 5 Brown J P, McGarraugh G V, Parkinson T M, Wignard R E, Olerdonk A B. *J Med Chem*, 1983, 26: 1300 ~ 1307
- 6 Brondsted H, Kopecek J. *Biomaterials*, 1991, 12: 584 ~ 592
- 7 Kopeckova P, Kopecek J. *Makromol Chem*, 1990, 191: 2037 ~ 2045
- 8 Yang Y J, Engberts J B F N. *J Org Chem*, 1991, 56: 4300 ~ 4304
- 9 Yang L, Yang Y J. *Chinese J Polym Sci*, 1998, 16: 164 ~ 169
- 10 Chen Sunqing(陈顺清), Yang Yajiang(杨亚江). *Acta Physico-Chimica Sinica(物理化学学报)*, 1998, 14: 380 ~ 384
- 11 Schott H J. *Macromol Sci -Phys*, 1992, B31: 1 ~ 9
- 12 Horning E C. *Organic Syntheses*. Submitted by Rehberg C E. New York: John Wiley and Sons, Inc. Collective Volume 3, 146 ~ 148
- 13 Eizo Omori. *Functional Acrylic Acid Resin (in Chinese)*. Translated by Zhang Y. Beijing: Chemical Industry Press, 1993. 234 ~ 236
- 14 Rehberg C E, Dixon M B, Fisher C H. *J Am Chem Soc*, 1945, 67: 208 ~ 210
- 15 Siegel R A, Firestone B A. *Macromolecules*, 1988, 21: 3254 ~ 3259
- 16 Yang Y J, Engberts J B F N. *Colloids and Surfaces*, 2000, 169: 85 ~ 94

SWELLING KINETICS OF HYDROGELS FOR COLONIC-SITE DRUG DELIVERY

YIN Yihua, YANG Yajiang, XU Huibi

(Department of Chemistry, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074)

Abstract Hydrogels based on *n*-alkyl methacrylate esters (*n*-AMA), acrylic acid and acrylamide cross-linked with 4,4'-di(methacryloylimino)azobenzene were prepared. Swelling behavior of the hydrogels was studied by immersion of slabs of samples in buffered solutions of pH values 2.2 ~ 7.4. The process of swelling follows Schott second-order diffusion kinetics. The factors influencing the swelling behavior of the gels include: the degree of cross-linking, the lengths of the *n*-AMA side chains, pH values *et al*.

Key words Hydrogels, Swelling kinetics