

P (NIPA-co-HEMA)与 PNIPA/P (HEMA) IPN 水凝胶的 辐射聚合与可控缓释研究

庄银凤¹ 杨 华¹ 王国伟¹ 朱仲祺¹ 任方方¹ 宋伟强² 赵惠东²

¹ (郑州大学材料工程学院 郑州 450052)

² (河南省同位素研究所 郑州 450052)

摘要 采用辐射聚合方法制备了聚 N-异丙基丙烯酰胺 (PNIPA) 均聚物、N-异丙基丙烯酰胺 (NIPA) 与甲基丙烯酸 2-羟基乙酯 (HEMA) 共聚物 (P(NIPA-co-HEMA)) 和 PNIPA/P (HEMA) 互穿网络 (Interpenetrating Polymer Network, IPN) 水凝胶。研究了水凝胶溶胀度的温度依赖性;讨论了剂量率和吸收剂量对辐射聚合的影响,单体浓度及其配比和聚合介质对水凝胶的相转变温度、溶胀度和溶胀-消溶胀动力学的影响;并以木瓜蛋白酶作为模型药物,对水凝胶进行药物释放测定。实验结果表明,较为适宜的水凝胶在剂量率 1kGy/h,吸收剂量 30—40kGy,单体浓度 10%和聚合介质正丁醇中辐射合成。此类共聚与互穿网络水凝胶适用于药物的可控释放。

关键词 辐射聚合, N-异丙基丙烯酰胺, 甲基丙烯酸 2-羟基乙酯, 水凝胶, 药物释放体系

中图分类号 O631

具有环境响应的智能高分子材料是当前研究的热点之一,智能高分子水凝胶是其中重要的一类。聚 (N-异丙基丙烯酰胺) (Poly N-isopropylacrylamide, PNIPA) 水凝胶为高温收缩型温敏性水凝胶,在生物医药领域倍受重视,包括药物释放^[1,2]、固定化酶反应器和蛋白质分离等^[3-6]。

甲基丙烯酸 2-羟基乙酯 (2-hydroxyethyl methacrylate, HEMA) 具有良好的生物相容性被广泛应用于生物制药领域。将 HEMA 与 N-异丙基丙烯酰胺 (NIPA) 共聚或形成互穿网络 (Interpenetrating Polymer Network, IPN),通过结构的差异和不同的单体配比,改变水凝胶的相转变温度、溶胀度、溶胀-消溶胀速率等,以满足不同的使用要求。

辐射法合成 NIPA 类水凝胶由于设备的限制研究较少^[7,8]。这种方法操作简单,交联度可以通过改变单体浓度及剂量率和吸收剂量来控制;无任何添加成分,产物纯净,不会污染产品,可一步完成产品的制备及消毒;且与温度无关,可在较低温度下合成。

本工作首先由丙烯腈和异丙醇合成 NIPA,采用有一定疏水作用的 HEMA 作为共聚单体,用辐射聚

合法制备了 PNIPA 均聚物、P (NIPA-co-HEMA) 共聚物和 P (NIPA) /P (HEMA) 互穿网络聚合物水凝胶。测定其溶胀性能及其温度依赖性;并以木瓜蛋白酶为模型药物,对水凝胶进行药物释放研究。

⁶⁰Co 辐照源由河南省同位素研究所提供。

1 实验材料和方法

1.1 试剂

木瓜蛋白酶 (生化试剂),异丙醇、丙烯腈、浓硫酸、氨水、对羟基苯甲醚、甲基丙烯酸 2-羟基乙酯 (Fluka 公司)、乙醇、丙酮和正丁醇均为分析纯。

1.2 NIPA 的合成^[9]

将异丙醇、丙烯腈和对羟基苯甲醚混匀后倒入一滴液漏斗,浓硫酸倒入另一滴液漏斗,安在装有温度计与冷凝管的四颈烧瓶上。加入磁子,两漏斗同步滴加,于 55—65℃反应 40min。待产物冷却后,加氨水至 pH 1—2。将反应液倒入分液漏斗,分离出上层油状液体倒入烧杯中。加入少量晶种,于 0—5℃放置 24h,有大量针状晶体析出。抽滤后,

河南省自然科学基金 (004042400) 和河南省教委自然科学基金 (2000430005) 资助

第一作者:庄银凤,女,1944年7月出生,1966年毕业于中国科学技术大学,高分子化学专业,现任郑州大学材料工程学院高分子材料与工程系教授,主要从事高分子化学与物理研究

收稿日期:初稿 2003-12-02,修回 2004-02-11

用饱和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和少量去离子水洗涤和干燥, 制得纯净的 NIPA。

1.3 水凝胶的制备

1.3.1 PNIPA 和 P(NIPA-co-HEMA) 水凝胶的辐射合成 将 NIPA 配成 7%、10% 和 15% (W/W) 的水溶液置于橡胶圈密封的两玻璃片中, 分别在剂量率为 1kGy/h 或 4kGy/h, 吸收剂量在 100kGy 以内的 γ 射线室低温辐射聚合得 PNIPA 均聚物水凝胶。

将不同配比的 NIPA 和 HEMA 于不同溶剂, 配成单体浓度为 10% 的溶液。单体配比为 HEMA/NIPA = 1/9、2/8、3/7 和 5/5 (W/W); 聚合反应介质为水、50% (V/V) 乙醇水溶液、50% (V/V) 丙酮水溶液和正丁醇; 分别置于橡胶圈密封的两玻璃片中; 在剂量率 1kGy/h, 吸收剂量 10—40kGy 下室低温辐射聚合得 P(NIPA-co-HEMA) 共聚物水凝胶。

1.3.2 PNIPA/P(HEMA) IPN 水凝胶的辐射合成 将 5% NIPA 水溶液在剂量率 1kGy/h, 吸收剂量 20kGy 下室低温辐射聚合得 PNIPA 水凝胶。PNIPA 水凝胶在水中浸泡、洗涤和干燥。把干燥的 PNIPA 浸入 5%、10% 和 20% HEMA 的正丁醇溶液中, 使 HEMA/NIPA=1。在剂量率 1kGy/h, 吸收剂量 30kGy 下室低温辐射聚合得互穿网络水凝胶。

1.4 凝胶的溶胀度和相转变温度的测定

溶胀度为吸收了溶剂的凝胶重量与干凝胶重量之比。相转变温度指溶胀度-温度曲线突变的温度。

1.5 凝胶的木瓜蛋白酶释放的测定

用 UV-3000 紫外扫描仪 (Shimadzu) 在 282nm 处, 10—100 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内, 测定木瓜蛋白酶的吸光度 A 对溶液浓度 C 的回归直线: $C=(6.9A-3.5)\times 10^{-4}$, 相关系数 $r=0.99$ 。

准确称取经浸泡、洗涤和干燥后的凝胶试样, 置于 1% 木瓜蛋白酶的磷酸盐缓冲溶液中 ($\text{pH}=7.4$, $I=0.1$) 于 4°C 浸泡 2d, 20°C 干燥、称重, 计算吸附量。

将吸附有木瓜蛋白酶的干凝胶, 置于 $\text{pH}=1$ 的盐酸溶液中浸泡 4h, 再在 37°C 、 $\text{pH}=7.4$ 磷酸盐缓冲溶液中放置 24h, 定时取出少许液体, 于 282nm 处测吸光度, 跟踪水凝胶的木瓜蛋白酶释放过程。

1.6 扫描电镜

将干燥的 PNIPA/P(HEMA) 互穿网络凝胶喷金后, 用 KYKY-1000B 型扫描电镜观察其表面形态。

2 结果与讨论

2.1 剂量率和吸收剂量对辐射聚合的影响

对 PNIPA 水凝胶, 当剂量率为 4kGy/h 时, 吸收剂量在 40kGy 以下, 凝胶柔软, 有弹性, 但几乎不具有温敏性; 而吸收剂量在 40kGy 至 100kGy 时, 凝胶变硬, 受压后易破碎。当剂量率为 1kGy/h 时, 吸收剂量在 50kGy 以下, 凝胶具有温敏性。本实验条件下, 剂量率为 1kGy/h, 吸收剂量在 30—40kGy 较为适宜。

图 1 是剂量率为 1kGy/h, PNIPA 水凝胶于 25°C 在水中的溶胀性能与辐射剂量的关系。随吸收剂量增加, 溶胀度减少; 吸收剂量在 40kGy 以下, 溶胀度均大于 20。不同吸收剂量下, PNIPA 水凝胶在水中的溶胀度与温度的关系如图 2 所示。在 10kGy 时, 凝胶交联网络稀疏, 凝胶较软。在 20—30kGy 时, 交联网络适中。

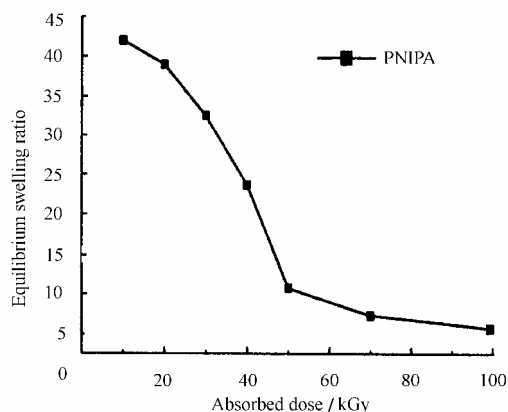


Fig.1 Effect of absorbed dose for PNIPA hydrogels

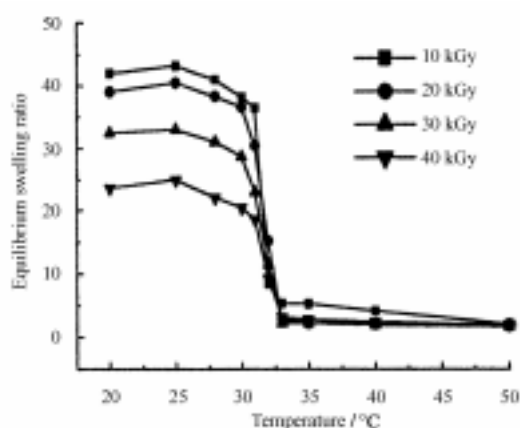


Fig.2 Effect of temperature for PNIPA hydrogels

P(NIPA-co-HEMA)和 PNIPA/P(HEMA) IPN 水凝胶一般均在剂量率 1kGy/h, 吸收剂量 30kGy 下辐射合成。

2.2 单体浓度和对比对温敏性的影响

表 1 为用不同单体浓度和不同吸收剂量制得的 PNIPA 水凝胶于 25℃ 在水中的平衡溶胀度。剂量率为 1kGy/h, 吸收剂量为 40kGy 时, 当单体浓度为 7% 及其以上, 水凝胶才具有一定强度。当单体浓度为 15% 时, 溶胀度太小。单体浓度为 10%, 吸收剂量为 25kGy 时, 水凝胶综合效果最好。相转变温度均为 $(33 \pm 1) ^\circ\text{C}$ 。

Table 1 Equilibrium swelling ratios of PNIPA hydrogels at 25℃

NIPA Con- centration	Absorbed dose			
	20kGy	25kGy	30kGy	40kGy
7%	45	40.7	40.0	35.2
10%	39	37.5	32.5	23.7
15%	22.7	22.2	20.3	18.6

图 3 为 1kGy/h, 30kGy 时, 不同配比的 P (NIPA-co-HEMA) 共聚水凝胶在水中的溶胀度与温度的关系。随 HEMA 含量增加, 相转变温度略有提高, 相转变温度范围变宽, 溶胀度减少。当 HEMA/NIPA=1 时, 共聚水凝胶类似均匀失水。

实验条件下, 配料比相同的互穿网络水凝胶的溶胀度比共聚水凝胶明显增大, 相转变温度比共聚者稍降低 (见图 3)。IPN 水凝胶的表面形态为非连续相, P(HEMA) 微区较均匀分布在 PNIPA 结构相中, 互穿网络相互缠结, 形成了微相分离的互穿网络结构 (见图 4)。

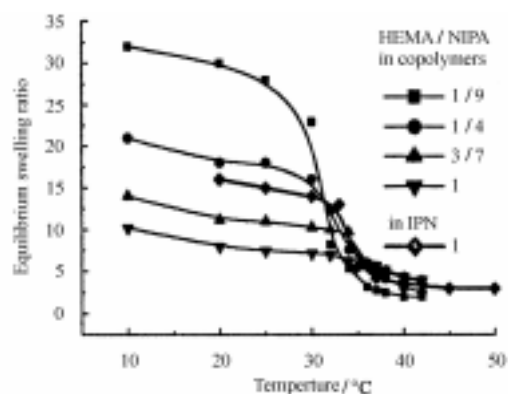


Fig.3 Effect of feed monomer weight ratio for hydrogels

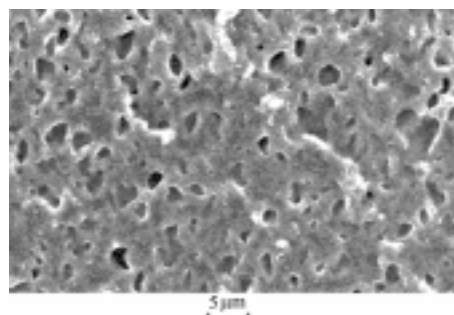


Fig.4 SEM image of PNIPA/P(HEMA) IPN hydrogel (HEMA/NIPA=1)

2.3 聚合介质的影响

以上以水作聚合反应介质时, HEMA 在水中分散不很均匀, 共聚水凝胶溶胀度很小。为此根据溶度参数相近原则选择合适的聚合介质。表 2 括号内列出实验所用单体和试剂的溶度参数。表 2 中括号内的数字为对应物的溶度参数。

Table 2 Effect of polymerization medium on equilibrium swelling ratio of P (NIPA-co-HEMA) hydrogels at 25℃

Medium	Weight ratio			
	HEMA/NIPA=1/9 (10.28)	HEMA/NIPA=1/4 (10.36)	HEMA/NIPA=3/7 (10.50)	HEMA/NIPA=1 (10.63)
N-Butyl alcohol (11.7)	30	24	17	13.2
50% Acetone/Water (15.83)	28	21	14	9.3
50% Ethanol/Water (16.33)	28	19	12	8.0
Water (24)	28	18	11.2	7.5

以相应单体摩尔比在不同聚合介质中制得的共聚凝胶在水中的溶胀度从水、乙醇/水、丙酮/水到正丁醇依次增大 (见图 5)。正丁醇与共聚单体溶度参数最为接近, HEMA 在介质中分散最均匀, 所得凝胶透明 (其它为半透明凝胶), 溶胀度最大。当 HEMA/NIPA=1 时, 在聚合介质正丁醇中制得的共聚凝胶较在聚合介质水中制得的共聚凝胶, 其在水中的溶胀度增加近 1 倍。在 1kGy/h、30kGy 时, 聚合介质为正丁醇的 P (NIPA-co-HEMA) 凝胶

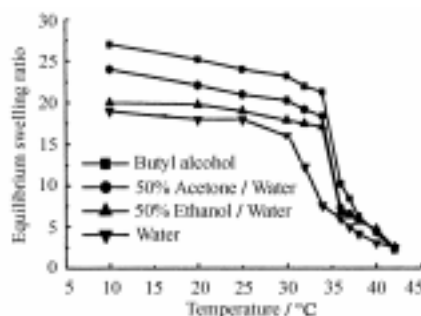


Fig.5 Effect of polymerization medium for P(NIPA-co-HEMA) hydrogels

(HEMA/NIPA=1/4) 相转变温度在 36—37℃; 聚合介质为水时的共聚凝胶相转变温度在 34℃; 聚合介质为 50%丙酮水溶液或 50%乙醇水溶液时的共聚凝胶相转变温度介于两者之间。

2.4 凝胶溶胀-消溶胀动力学

在 1kGy/h、30kGy 和 HEMA/NIPA=1/4 时, 不同聚合介质中辐射聚合的共聚凝胶干试样在水中的溶胀和消溶胀动力学如图 6 和图 7 所示。聚合介质为正丁醇的试样溶胀速率大, 经 4h 溶胀度达平衡溶胀的 80%; 聚合介质为水的试样需经 8h 才达到此值; 丙酮/水和乙醇/水为聚合介质的试样处两者之间。对应于 $SR=0.4t^{0.51}$ 、 $SR=0.36t^{0.38}$ 、 $SR=0.38t^{0.46}$ 和 $SR=0.38t^{0.43}$ 。与溶胀动力学一致, 聚合介质为正丁醇的共聚凝胶试样其消溶胀速率大于其余聚合介质的试样。在开始 15min 内失水较快, 约为总失重的 15%。失水量达 15%—70%时, 试样类似均匀失水; 失水量大于 70%时, 失水速度明显变慢。在正丁醇中 PHEMA 易于形成大孔网状结构, 使 PNIPA/P(HEMA) IPN 凝胶 (HEMA/NIPA=1) 易于溶胀或消溶胀 (见图 8)。溶胀时 1h 内即达平衡溶胀度的一半; 消溶胀时 1h 内即接近一半, 3h 内达平衡状态。

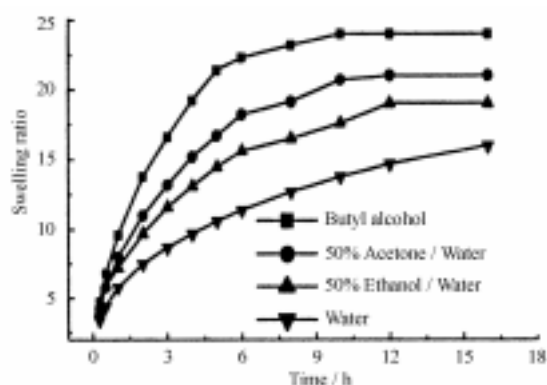


Fig.6 Swelling kinetics of P(NIPA-co-HEMA) hydrogels at 25°C

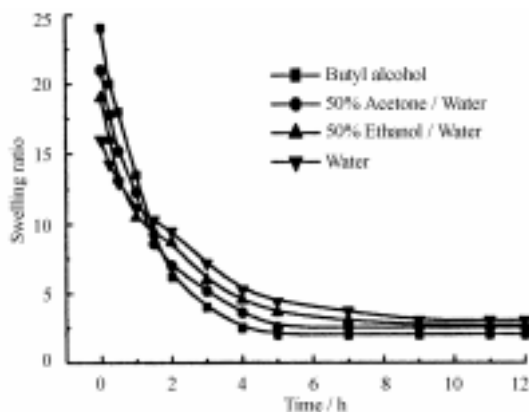


Fig.7 Deswelling kinetics of P(NIPA-co-HEMA) hydrogels at 45°C

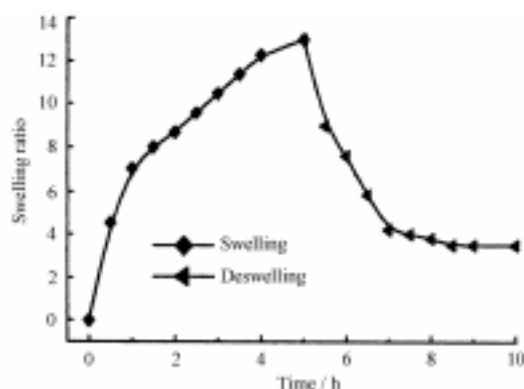


Fig.8 Swelling and deswelling kinetics of IPN hydrogels at 25°C and 45°C

2.5 木瓜蛋白酶的释放

以木瓜蛋白酶作模型药物, 用 P(NIPA-co-HEMA) (HEMA/NIPA=1) 和 PNIPA/P(HEMA) IPN HEMA/NIPA=1 试样作药物载体, 于 37℃跟踪木瓜蛋白酶的可控释放 (见图 9)。对 IPN 载药体, 在开始 4—5h 释放较快, 此后类似均匀释放, 8h 后释放渐趋平衡。对于共聚物载药体在 16h 内类似均匀释放。通过改变单体配比和凝胶的结构, 既可调节凝胶载药体的药物可控释放, 以满足不同的使用要求。

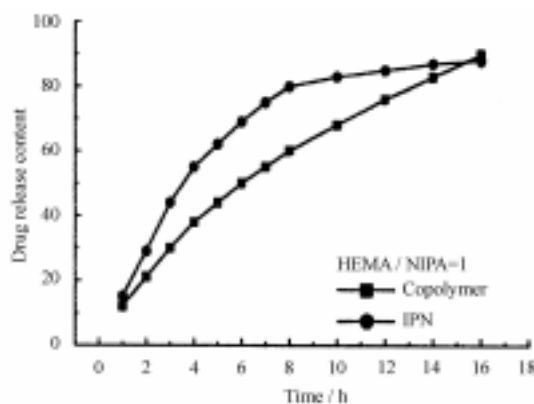


Fig.9 Drug release content for hydrogels at 37°C

3 结论

采用剂量率 1kGy/h、吸收剂量 30—40kGy, 单体浓度 10%时, 辐射合成 PNIPA 类水凝胶较为适宜。

采用具有良好生物相容性和一定疏水作用的 HEMA 作共聚单体。随 HEMA 含量增加, 溶胀度减少, 相转变温度略有提高, 相转变温度范围变宽。实验所得互穿网络水凝胶具有较大的溶胀-消溶胀速率。

聚合反应介质对凝胶的溶胀度、溶胀-消溶胀

速率和相转变温度有显著影响。采用与共聚单体溶度参数接近的介质(正丁醇)合成均质凝胶,增加了 HEMA 对相关性能的作用。

通过改变单体配比和凝胶的结构,可调节凝胶载药体的药物可控释放。

参考文献

- 1 杨华, 庄银凤, 朱仲祺, 等. 河南大学学报(自然科学版), 2001, **31**(1): 67-70
YANG Hua, ZHUANG Yinfeng, ZHU Zhongqi, *et al.* J Henan Univ (Natural Science), 2001, **31**(1): 67-70
- 2 ZHUANG Y F, YANG H, WANG G W, *et al.* J Appl Polym Sci, 2003, **88** (3): 724 -729
- 3 Arıca M Yakup, Öktem H Avni, Öktem Zeki, *et al.* Polymer International, 1999, **48**(9): 879-894
- 4 Cicek H, Tuncel A. J Polym Sci, Part A: Polym Chem, 1998, **36**(4): 543-552
- 5 ZHUANG Y F, CHEN L W, ZHU Z Q, *et al.* Polym Adv Technol, 2000, **11**(4): 192-197
- 6 YANG H, SONG W Q, ZHUANG Y F, *et al.* Macromolecular Bioscience, 2003, **3**(8): 400-403
- 7 Khutoryanskiy V V, Nurkeeva Z S, Mun G A, *et al.* J Polym Sci, Part B: Polym Phys, 2004, **42**(3): 515-522
- 8 Kishi R, Miura T, Kihara H, *et al.* J Appl Polym Sci, 2003, **89**(1): 75-84
- 9 Eastman Kodak Co., Fr. 1, 436, 391

Radiation polymerization and controlled drug release of P(NIPA-co-HEMA) and PNIPA/P(HEMA) IPN hydrogels

ZHUANG Yinfeng¹ YANG Hua¹ WANG Guowei¹ ZHU Zhongqi¹ REN Fangfang¹
SONG Weiqiang² ZHAO Huidong²

¹ (College of Materials Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052)

² (Isotope Institute of Henan Province, Zhengzhou 450052)

ABSTRACT Hydrogels of poly N-isopropylacrylamide (PNIPA), poly (N-isopropylacrylamide-co-2-hydroxyethyl methacrylate) (P (NIPA-co-HEMA)) and PNIPA/P(HEMA) IPN (Interpenetrating Polymer Network) were prepared by radiation polymerization. Dependence of their swelling behavior on temperature was studied. Effects of absorbed dose and dose rate on polymerization, feed monomer concentration and ratio, and polymerization medium on phase transition temperature, swelling ratio, and swelling and deswelling kinetics of these hydrogels were discussed. Papain (PAP) was provided a model drug. An investigation of controlled drug release of the hydrogels was conducted. According to the experimental results, the hydrogels with optimum performances were produced at absorbed dose rate of 1kGy/h, total dose of 30—40kGy, 10% total monomer concentration, and in polymerization medium of n-butyl alcohol. These copolymer and IPN hydrogels were promising materials for developing controlled drug release system.

KEYWORDS Radiation Polymerization, N-Isopropylacrylamide, 2-Hydroxyethyl Methacrylate, Hydrogels, Drug Release System

CLC O631