

温敏水凝胶对疏水性药物的装载及释放行为

董同力嘎, 王爽爽, 赵淑环, 苏日娜, 李梦婷, 靳 烨

(内蒙古农业大学, 呼和浩特 010018)

摘要: 聚己内酯-聚乙二醇-聚己内酯(PCL-PEG-PCL)三嵌段共聚物的水溶液, 具有低临界溶液温度(LCST), 可制备温敏水凝胶, 并可作为药物载体应用于生物医学领域。使用 β -环糊精衍生物作为分子胶囊, 在改善疏水性药物的水溶性的同时, 提高PCL-PEG-PCL水凝胶对疏水性药物的装载和释放能力。实验中槲皮素作为疏水性药物的模型, 由于槲皮素分子与 β -环糊精络合形成微胶囊包装结构, 大幅度提高了槲皮素的溶解度; 此外槲皮素/ β -环糊精衍生物水溶液中PCL-PEG-PCL三嵌段聚合物, 也快速溶解形成共混溶液, 当温度提高到体温时, 迅速变成凝胶状态。在缓冲溶液中进行槲皮素药物的释放实验, 实现了PCL-PEG-PCL水凝胶对疏水性药物的缓释效果, 在缓释过程中 β -环糊精衍生物也充当了药物释放载体的作用。

关键词: 生物降解高分子; 温敏水凝胶; 药物装载释放; 环糊精

中图分类号: TS206; TB487 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2013)07-0034-04

Drug Loading and Release Behavior of Thermosensitive Hydrogel

DONG Tunglag, WANG Shuang-shuang, ZHAO Shu-huan, SURINA, LI Meng-ting, JIN Ye

(Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: Water solution of PCL-PEG-PCL triblock copolymer has low critical solution temperature, which can be used to prepare thermosensitive hydrogel and can be used as drug carrier in biomedical field. β -cyclodextrin derivatives were used as molecule capsules, which improve water solubility of hydrophobic drug and improve drug loading and release ability of PCL-PEG-PCL hydrogel to hydrophobic drug. Quercetin was used as model hydrophobic drug in the experiments. The solubility of quercetin was greatly improved because microcapsule packaging structure was formed by complexation between quercetin and β -cyclodextrin; blended solution was also formed by quickly solving of PCL-PEG-PCL triblock copolymer in quercetin/ β -cyclodextrin derivatives water solution, which quickly changed to hydrogel state when temperature rise to human body temperature. Slow releasing experiments of quercetin were carried out in buffered solution, slow releasing effect of hydrophobic drug by PCL-PEG-PCL hydrogels realized, and β -cyclodextrin derivatives also acted as drug carrier in the slow releasing process.

Key words: biodegradable polymer; thermosensitive hydrogel; drug loading; cyclodextrin

环糊精(cyclodextrin, CD)由于具有“外亲水, 内疏水”的特殊空腔结构, 可与多种客体分子包合形成包合物, 形成微胶囊包装, 提高活性客体分子的物理化学稳定性, 并能够实现对客体分子的控制释放, 已经在医药、食品、生物技术、分析化学、环境保护、化妆品等行业得到了广泛的应用^[1-3]。丁香油中有效抗菌成分可用 β CD进行微胶囊包装, 降低其挥发性^[4], 也可将尤加利精油或牛至精油分子包埋于 β CD分子中, 保持其原有的抗菌作用的同时大幅度延长其抗菌

有效期^[5-6]。

温敏水凝胶是近几年来发展比较快的一种高分子材料, 属于智能水凝胶的一种。虽然迄今为止多数仍停留在实验研究阶段, 但可以预见该类水凝胶在医学、农学、生物学等研究领域都有着广阔的应用前景。目前在药物控制释放、组织工程以及生物免疫等多个领域备受关注。温敏水凝胶具有随温度变化而产生液-固相转变(低临界溶液温度(LCST))的特点。在温度低于相转变温度时, 聚合物可溶于水形成自由流

收稿日期: 2013-01-20

基金项目: 内蒙古农业大学博士启动基金

作者简介: 董同力嘎(1972-), 男, 内蒙古人, 博士, 内蒙古农业大学教授、博士生导师, 主要研究方向为高分子材料、食品包装与储运。

动液体,温度升高至相转变温度以上,聚合物的水溶液发生相变,形成非化学交联的凝胶。它的这种独特性能使其具备了生物医学应用的潜力。可作为药物载体,在低温下与药物进行混合后注射到人体,在人体温下快速形成凝胶,可用作缓释制剂起到减少手术过程、简化医疗手段,降低患者痛苦等效果。

目前,众多基于聚乙烯醇(PEG)的两性高分子已被开发出来^[7-10],它们的水溶液都具有温敏液-固相转变特征,并具备生物降解性。聚己内酯-聚乙二醇-聚己内酯(PCL-PEG-PCL)三嵌段共聚物的水溶液也可制备温敏水凝胶^[10-16],并将其应用于体内或体外药物载体实验中。然而 PCL-PEG-PCL 水凝胶对疏水性药物的装载问题还没有得到有效解决。

现有药物和筛选的活性成分有相当大部分为疏水性药物,其在水中的溶解度极低,难以被机体吸收,不能有效地发挥药效作用。尤其利用在温敏水凝胶对加载疏水性药物并得到缓释效果,目前还没有有效的解决办法。笔者将利用 β -环糊精的衍生物为药物包装,提高疏水性药物的水溶性,改善温敏水凝胶对疏水性药物的包装装载能力和缓释效果。

1 试验

1.1 材料与仪器

PEG($M_n=1000$)购买于美国 Sigma-Aldrich 公司; β -环糊精购买于 Nihon Shokuhin Kako., Ltd., 日本; ε -CL: 单体, 购买于美国 Sigma-Aldrich 公司, 槲皮素(简称 QR)购买于 Nacalai Tesque, Inc, Kyoto, 日本, 分子式见图 1, 实验中作为疏水性药物的模型。

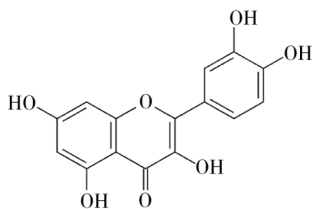


图 1 槲皮素的分子式

Fig. 1 Molecular structure of quercetin

1.2 方法

1.2.1 PCL-PEG-PCL 嵌段共聚物的制备

三嵌段共聚物 PCL-PEG-PCL(简称 CEC)通过开环聚合法制得。将干燥的 PEG 和 ε -CL 按不同比例加入到三口烧瓶中,并注入 2 滴 $\text{Sn}(\text{Oct})_2$,抽真空,通

氩气,置换 4~5 次,直到将管中氧气和水分排尽。密封后置于氩气保护下,在 120 °C 油浴中搅拌反应 24 h 后,将产物溶于二氯甲烷中,用乙醚沉淀纯化 2 次,剩余的溶剂在真空下移除,干燥过夜,将产物密封后于 4 °C 冷藏保存,即可制得 CEC 共聚物。得到的 2 个样品分别命名为 CEC1 和 CEC2,见表 1,其各组分

表 1 合成的 PCL-PEG-PCL 三嵌段共聚物

Tab. 1 Synthesized PCL-PEG-PCL triblock copolymers

样品	PCL-PEG-PCL	投料比率 (CL/EG 质量比)	$M_n/(^1\text{H-NMR})$
CEC1 (CL) _{6.7} -(EG) _{22.7} -(CL) _{6.7} ^①		1.4	762-1000-762 ^②
CEC2 (CL) _{7.8} -(EG) _{22.7} -(CL) _{7.8}		1.6	893-1000-893

注:①小角标表示聚合度;②通过核磁氢谱计算 EG(定值)和 CL 的含量得到的数均分子量。

的相对分子质量由 $^1\text{H NMR}$ 测得。CEC2 共聚物的疏水部分 PCL 比 CEC1 的多些,在 CEC1 中 PEG 两侧 PCL 嵌段平均约有 6.7 个循环单元,而 CEC2 中约有 7.8 个循环单元存在。

1.2.2 线性环糊精聚合物(L β CD)的合成

β CD 的水溶性很低,将其合成为 L β CD 时其水溶性得到大幅度的提高。L β CD 的合成是按照文献中的方法^[17]。在 35 °C 温度下,将 10 g (8.81 mmol) β CD 加入到体积 15 mL(体积分数)为 15% 的 NaOH 水溶液中,不断搅拌溶解。再将 2 mL (8.81 mmol) 甲苯加入其中,在 35 °C 下不断搅拌 2 h。再将一定量的环氧氯丙烷加入到混合物中经 3 h 的搅拌反应,加入异丙醇使体积达到 200 mL,沉淀过滤。把所得的物质溶解在水中,用低浓度的盐酸进行中和、透析,将产品干燥冷却保存。

1.2.3 药物的装载和释放

选用 UV-VIS 分光光度计测量药物的浓度来确定药物的装载和释放量。因 Quercetin 不溶于水,但它溶于 L β CD 的水溶液,所以槲皮素的装载是首先配好 Quercetin/L β CD 水溶液后,在该水溶液中配制不同浓度的 CEC 水凝胶。凝胶形成后在其上部缓慢倒入 PBS 缓冲溶液,并用 UV-VIS 观察槲皮素的释放量。

2 结果与讨论

2.1 CEC 温敏水凝胶的温敏特性

合成出的 CEC1 和 CEC2 三嵌段共聚物的水溶液都呈现温敏效应。图 2 显示了质量分数 15% 的 CEC1

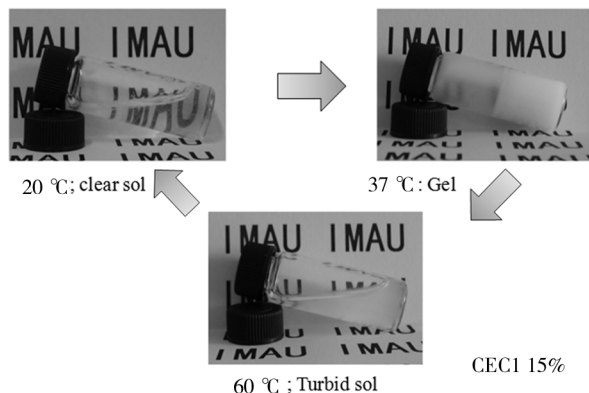


图2 CEC1 温敏水凝胶不同温度下的相变情况
Fig. 2 The state diagrams of thermosensitive hydrogel in water at various temperature

的水溶液,随温度变化而产生的液/固相变化过程。不难看出,CEC 水溶液在 20 °C 时为清澈液体,流动性非常好,当升温到 37 °C 时变成水凝胶,失去其流动性。温度再升高到 60 °C 时,其凝胶状态被破坏形成浑浊溶液。此时如果把它又迅速降温至室温时又可变成透明的水溶液。

2.2 PCL-PEG-PCL 温敏水凝胶对槲皮素的装载

槲皮素的碱性水溶液呈黄色,溶于冰醋酸,几乎不溶于水。如图 3 所示,图片中右侧样品瓶中添加水

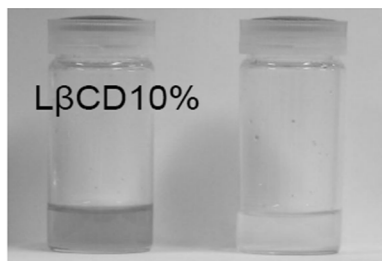


图3 槲皮素的水溶性
Fig. 3 Solubility of quercetin

后再加槲皮素,过一段时间发现槲皮素未能溶解于水中,沉淀在瓶底,用 UV-VIS 测量样品瓶上层溶液时未发现槲皮素存在的痕迹,足以证明槲皮素是非水溶性药物。如果添加些 LβCD 至质量分数 10% 时,槲皮素迅速溶解,呈现黄色溶液,如图 3 左侧图所示。

从图 4 中可以看出,槲皮素在丙酮溶液中溶解时在 380 nm 处观察到很强的吸收峰,此峰在 LβCD 水溶液中也存在,其峰值的位移可能归结于槲皮素分子被 βCD 包络的结果,即 LβCD 促进了槲皮素的水溶性。取 380 nm 处的特征峰,得到槲皮素的溶解度与 LβCD 添加量的关系,见图 5。从图 5 可以看出,槲皮

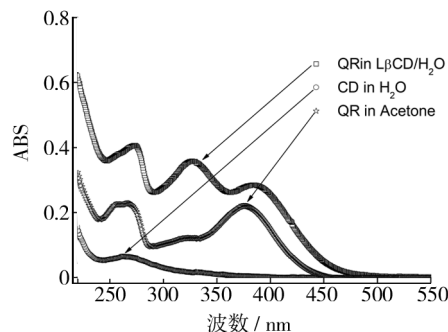


图4 槲皮素在各种溶剂中的 UV-Vis 图谱
Fig. 4 UV-Vis spectra of quercetin in the solution

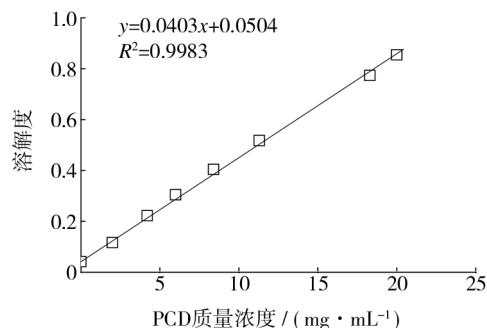


图5 槲皮素的溶解度与 LβCD 的添加量的关系
Fig. 5 Solubility of quercetin in LβCD solution

素的溶解与 LβCD 添加量成正比,随着溶液中 LβCD 添加量的增加,槲皮素的溶解度也在增加,原因是水中环糊精分子包络槲皮素分子而增加其溶解度。所以,对于槲皮素的装载实验,首先配制槲皮素/LβCD 水溶液,然后在其中添加 CEC 嵌段共聚物进行溶解,升温调节后得到含有槲皮素的温敏水凝胶。

2.3 PCL-PEG-PCL 温敏水凝胶对槲皮素的释放

槲皮素在不同 PBS 缓冲溶液中释放量与时间的关系见图 6。从图 6 可以看出,槲皮素可以被释放出

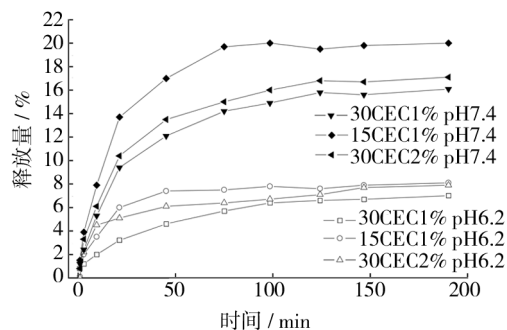


图6 槲皮素从 PCL-PEG-PCL 温敏水凝胶里的释放
Fig. 6 Release of quercetin from thermosensitive hydrogel PCL-PEG-PCL

来,原因是凝胶里未与高分子形成络合物的 L β CD 很容易将槲皮素分子释放到 PBS 缓冲液里。对于槲皮素的释放量,pH 值也起到很重要的作用,总的来说,在 pH=7.4 的缓冲液里释放的速度比 pH=6.2 中的要快,量要大。水凝胶的浓度和 PCL 链段的相对分子质量同样起到了重要作用,15% 的 CEC1 溶液中释放的速度和量都大于 30% 的 CEC1 中释放的速度和量,这些可以归结到凝胶的凝固程度。显然浓度低的凝固程度较低,所以对槲皮素的束缚也小,槲皮素释放也快。而从 CEC1 中释放槲皮素的速度和量略小于 CEC2 中的,几乎没有太大的区别。

3 结论

PCL-PEG-PCL 共聚物水溶液具有随温度变化而产生液-固相转变的特点,在其水溶液中添加 L β CD 可以将槲皮素装载到其中,从而可以做到 PCL-PEG-PCL 水凝胶对疏水性药物的装载和释放效果。药物 PCL-PEG-PCL 在碱性环境中的释放速率大于酸性环境,水凝胶的浓度越大,槲皮素释放的速率越低,而 CEC 共聚物的相对分子质量对槲皮素的释放速率的影响不太明显。

参考文献:

- [1] DOMINIQUE D, GILLES P, DENIS W. Cyclodextrins in Targeting Application to Nanoparticles[J]. *Adv Drug Del Rev*, 1999, 36(1): 26-40.
- [2] SZEJTLI J. Medicinal Applications of Cyclodextrins[J]. *Med Res Rev*, 1994, 14(3): 353-386.
- [3] 许文才, 黄少云, 李东立, 等. 基于环糊精包合技术的活性包装研究进展[J]. *包装工程*, 2010, 31(9): 122-130.
XU Wen-cai, HUANG Shao-yun, LI Dong-li, et al. Research Progress of Active Packaging Based on Cyclodextrin Inclusion[J]. *Packaging Engineering*, 2010, 31(9): 122-130.
- [4] 邓靖, 谭兴和, 薛琼. 丁香精油 β -环糊精微胶囊制备工艺条件的优化[J]. *包装工程*, 2010, 31(11): 19-22.
DENG Jing, TAN Xing-he, XUE Qiong. Optimization of Microcapsule Preparation Technology Condition of Clove Oil- β -Cyclodextrin[J]. *Packaging Engineering*, 2010, 31(11): 19-22.
- [5] 周春禾, 王建清, 金政伟. 尤加利精油制备微胶囊抗菌纤维素薄膜[J]. *包装工程*, 2011, 32(1): 40-49.
ZHOU Chun-he, WANG Jian-qing, JIN Zheng-wei. Preparation of Microcapsule Antibacterial Cellulose Film from Eucalyptus Oil[J]. *Packaging Engineering*, 2011, 32(1): 40-49.

- [6] 王建清, 赵亚珠, 金政伟, 等. 牛至精油涂膜瓦楞纸板的制备及抑菌活性研究[J]. *包装工程*, 2010, 31(23): 1-3.
WANG Jian-qing, ZHAO Ya-zhu, JIN Zheng-wei, et al. Preparation of Corrugated Board Coated with Oregano Oil and Study on Its Antimicrobial Activity[J]. *Packaging Engineering*, 2010, 31(23): 1-3.
- [7] JEONG B, KIM S W, BAE Y H. Thermosensitive Sol-el Reversible hydrogels[J]. *Adv Drug Del Rev*, 2002, 54: 37-51.
- [8] LEE B H, LEE Y M, SOHN Y S, et al. A Thermosensitive Poly(organophosphazene) Gel[J]. *Macromolecules*, 2002, 35: 3876-3879.
- [9] KIM M S, HYUN H, CHO Y H, et al. Preparation of Methoxy Poly(ethyleneglycol)-block-poly(caprolactone) via Activated Monomer Mechanism and Examination of Micellar Characterization[J]. *Polym Bull*, 2005, 55: 149-156.
- [10] JEONG B, BAE H B, KIM S W. Drug Release from Biodegradable Injectable Thermosensitive Hydrogel of PEG-PLGA-PEG Triblock Copolymers[J]. *J Control Release*, 2000, 63: 155-163.
- [11] BAE S J, SUH J M, SOHN Y S, et al. Thermogelling Poly(caprolactone-b-ethylene glycol-b-caprolactone) Aqueous Solutions[J]. *Macromolecules*, 2005, 38: 5260-5265.
- [12] GONG C Y, SHI S, WANG X H, et al. Novel Composite Drug Delivery System for Honokiol Delivery: Self-Assembled Poly(ethylene glycol)-Poly(ϵ -caprolactone)-Poly(ethylene glycol) Micelles in Thermosensitive Poly(ethylene glycol)-Poly(ϵ -caprolactone)-Poly(ethylene glycol) Hydrogel[J]. *J Phys Chem B*, 2009, 113: 10183-10188.
- [13] BAE S J, JOO M K, JEONG Y, et al. Gelation Behavior of Poly(ethylene glycol) and Polycaprolactone Triblock and Multiblock Copolymer Aqueous Solutions[J]. *Macromolecules*, 2006, 39: 4873-4879.
- [14] 巩长吻, 顾迎春, 刘彩兵, 等. 温度敏感型 PCL-Pluronic-PCL 水凝胶的合成与性能[J]. *生物医学工程学杂志*, 2007, 23(4): 86-93.
GONG Chang-yang, GU Ying-chun, LIU Cai-bing, et al. A Thermosensitive PCL-Pluronic-PCL Biodegradable Block Copolymer Hydrogel[J]. *Polymer Materials Science and Engineering*, 2007, 23(4): 86-93.
- [15] GONG C Y, SHI S, DONG P W, et al. Synthesis and Characterization of PEG-PCL-PEG Thermosensitive Hydrogel[J]. *Int J Pharm*, 2009, 365: 89-99.
- [16] HWANG M, SUH J M, BAE Y H, et al. Caprolactonic Poloxamer Analog: PEG-PCL-PEG[J]. *Biomacromolecules*, 2005, 6: 885-890.
- [17] KOOPMANS C, RITTER H. Formation of Physical Hydrogels via Host-Guest Interactions of β -Cyclodextrin Polymers and Copolymers Bearing Adamantyl Groups[J]. *Macromolecules*, 2008, 41: 7418-7422.