

聚乙烯醇-羧甲基壳聚糖复合水凝胶药物缓释体系的制备及评价

张尚文 韩丹丹 汪鑫 胡升 丁宗贤 胡燕*

(中南民族大学药学院,武汉 430074)

摘 要 优化设计的功能水凝胶是一种优良的药物缓释载体。以聚乙烯醇(PVA)和羧甲基壳聚糖(CMCS)为原料,以两种物理交联方法相结合,制备了具有互穿网络结构的 PVA-CMCS 复合水凝胶。通过形貌特征分析、X 射线分析、热重分析、红外分析和溶胀性能等一系列表征考察了复合凝胶的物理化学性能。探索了 PVA-CMCS 复合水凝胶的最佳制备条件,并进行了载药和释药行为研究。结果发现:CMCS 浓度、甘油磷酸钠(GP)用量及冻融次数均会影响复合水凝胶的形态和溶胀性能。其中 5% PVA 与 3% CMCS 等量混合、加入 0.6g GP、冻融 4 次的复合水凝胶,在形态和溶胀上的结果最好。然后分别以大分子药物牛血清白蛋白(BSA)和小分子药物盐酸二甲双胍(MH)为模型药物,经释药研究表明,该复合水凝胶具有明显的 pH 敏感性,而且对大分子药物表现出更好的缓释效果。该复合凝胶制备方法简单温和,在作为大分子药物缓控释输送载体方面具有潜在的应用前景。

关键词 复合水凝胶,聚乙烯醇,羧甲基壳聚糖, β -甘油磷酸钠,冻融法

Preparation and evaluation of PVA-CMCS composite hydrogel for sustained drug delivery system

Zhang Shangwen Han Dandan Wang Xin Hu Sheng Ding Zongxian Hu Yan

(School of Pharmaceutical Science, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074)

Abstract The optimized functional hydrogel is an excellent sustained-release drug carrier. Polyvinyl alcohol (PVA)/carboxymethyl chitosan (CMCS) composite hydrogels with interpenetrating network were prepared. A series of characterizations, such as X-ray analysis, thermogravimetric analysis, infrared analysis and swelling property, were carried out. The optimal performance conditions of the hydrogel were investigated, and the drug release experiment was carried out by preparing PVA-CMCS loaded hydrogel. The results showed that the morphology and swelling properties of the hydrogels were affected by the concentration of CMCS, the dosage of sodium glycerophosphate (GP) and the number of freeze-thaw times in PVA-CMCS hydrogels. If the optimal preparation condition was that the volume of 5% PVA was equal mixing to the volume of 3% CMCS and 0.6g GP, as well as freeze-thawed for 4 times, the hydrogels had the best results in morphology and swelling behavior. Under these conditions, the drug-loaded hydrogels containing macromolecular bovine serum albumin and small metformin hydrochloride were prepared respectively. The results of drug release experiments showed that PVA-CMCS exhibited notably pH sensitivity as well as good performance in sustained release of macromolecular drugs. Furthermore, PVA-CMCS composite hydrogels prepared by the simple and mild process had great potential to be used as sustained drug delivery carriers for macromolecular drugs.

Key words composite hydrogel, polyvinyl alcohol, carboxymethyl chitosan, β -glycerophosphate, freeze-thaw method

水凝胶是一种能运载亲水和疏水分子,具有三维网络结构的高分子材料,被广泛用于医疗、化妆

品、食品等多种领域,因其拥有良好的缓释功能,能在治疗部位持久的释放药物,可用作药物输送载体。

基金项目:国家自然科学基金(81401510);湖北省自然科学基金(2017CFB414);湖北省大学生创新训练计划(SCX1727);中南民族大学中央高校基金(CZY19030)

作者简介:张尚文(1996-),男,硕士研究生,主要研究方向为药物缓控释制剂。

联系人:胡燕,女,博士,副教授,主要从事药物缓控释制剂的研究。

聚乙烯醇(PVA)是聚醋酸乙烯酯的水解产物^[1],是一种用途广泛的水溶性高分子聚合物。在医药行业中,PVA可作为药物的载体,但是单独的PVA水凝胶在水中溶胀不理想,限制了其应用,因此可采用制备复合型水凝胶的方法来提高其性能。

羧甲基壳聚糖(CMCS)是壳聚糖的一种衍生物,可由甲壳素/壳聚糖在碱性条件下与氯乙酸反应来制备^[2]。因其具有良好的成膜性、生物降解性、生物相容性和吸水保水性,在药物控释上具有很好的发展前途^[3]。

水凝胶在作为药物缓控释载体材料的研究方面具有相当的优势,目前冻融法制备得到的PVA水凝胶作为药物缓控释材料缺陷明显,为了提高其价值,本实验尝试将CMCS和PVA共混后,利用甘油磷酸钠(GP)与CMCS交联,再采用冻融法使PVA形成交联网络,从而制成具有互穿网络结构的PVA-CMCS复合水凝胶。选用牛血清白蛋白(BSA)和盐酸二甲双胍(MH)作为模型药物,研究并探讨了该复合水凝胶的最佳制备条件,并评价了其对不同分子量药物的缓控释性能。

1 实验部分

1.1 原料

聚乙烯醇(PVA,分析纯)、羧甲基壳聚糖(CMCS,分析纯)、盐酸二甲双胍(MH),上海阿拉丁生化科技股份有限公司; β -甘油磷酸钠(GP)、无水氯化钙、磷酸二氢钾、氢氧化钠及冰醋酸,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;浓盐酸(分析纯)、磷酸(85%),信阳市化学试剂厂;牛血清白蛋白(BSA)、考马斯亮蓝 G-250,均为分析纯, Sigma 公司。

1.2 PVA-CMCS 复合水凝胶的制备

将 5g PVA 加入 100mL 蒸馏水,95℃水浴加热溶解,冷却至室温,即得到 5%(wt,质量分数,下同)PVA 水溶液。称取一定量 CMCS 配制成一定浓度的 CMCS 溶液。将 PVA 和 CMCS 溶液等量混合,搅拌均匀后抽气,待没有气泡后加入 GP(先将 GP 溶于 1mL 蒸馏水中),50℃加热,反应一段时间后,冷却至室温,后将其倒入成型板中,-20℃冷冻 22h,室温下解冻 2h(此为一次循环),冻融循环一定次数后风干,存入干燥器备用。改变制备条件,分别探讨了 CMCS 质量分数(1%、2%、3%、4%、5%)、冻融次数(1—5 次)及 GP 用量对复合水凝胶性能

的影响。

1.3 复合水凝胶的表征

采用相机拍摄无 GP、冻融 4 次的 PVA-CMCS 复合水凝胶的外貌。并将两种不同的 PVA-CMCS 复合水凝胶(无 GP 和 0.3g GP)制成冷冻干燥样品,用扫描电镜(SEM)在不同放大倍数下研究其内部结构。

取纯 PVA、纯 CMCS、冷冻干燥后的 PVA-CMCS 复合水凝胶(无 GP 和 0.2g GP)样品,使用 X 射线衍射仪(XRD)进行扫描分析,管压 40kV,衍射角为两倍角且在 4~40°范围内,速率 1°/min 的;将样品按 1:99 的质量比与溴化钾颗粒混合均匀,研磨后压片并通过红外光谱仪(FT-IR)扫描;热分析时以 10℃/min 的升温速率,从 40℃升温至 500℃,由电脑记录实验数据,通过作图得到热重(TG)曲线。

1.4 PVA-CMCS 复合水凝胶的溶胀测试

精密称取风干后的水凝胶,记录质量(W_0)后,放入 37℃ pH=1.2 的模拟胃液(SGF)中^[4],每隔 0.5h 取出水凝胶,擦干表面水分后,进行称量,并记录其质量(W_t)变化,2h 后,将凝胶放入 37℃ pH=7.4 的模拟肠液(SIF)中,记录质量(W_t)的变化,直到凝胶质量恒定不变或者下降,按式(1)计算溶胀率(SR)。

$$SR = [(W_t - W_0) / W_0] \times 100\% \quad (1)$$

式中,SR 为 t 时刻溶胀率,%; W_0 为称取的风干凝胶质量,g; W_t 为 t 时刻溶胀后的凝胶质量,g。

1.5 复合水凝胶的释药性能研究

1.5.1 载药复合水凝胶制备方法

分别称取 0.2g BSA 和 0.005g MH 各溶于 10mL 蒸馏水中,搅拌至完全溶解后,分别加入 0.3g 羧甲基壳聚糖、10mL 5% PVA 溶液,混匀抽气,后将混合溶液倒入成型板中,按 1.2 方法制作复合水凝胶,冷冻循环 4 次,干燥后得到载药 PVA-CMCS 水凝胶。

1.5.2 复合水凝胶释药行为研究

取 0.1g 含 BSA 的 PVA-CMCS 复合水凝胶,放入锥形瓶中,加入 50mL SGF,37℃,80r/min 恒温振荡,每隔 0.5h 取样 1mL,同时补充 1mL SGF 溶液,2h 后将 SGF 溶液换为 SIF,按相同的方法进行取样测试。BSA 样品按考马斯亮蓝法于 595nm 波长进行紫外检测(MH 检测波长为 233nm)。根据标准曲线计算 BSA 含量,以累积释药率和时间的

变化绘制出释药曲线^[5]。累积释药率计算见式(2)。

$$Mn(\%) = [(V_a C_i + V \sum C_{(i-1)}) / W] \times 100\% \quad (2)$$

式中, Mn 为释药率, %; W 为载药量, g; C_i 为第 i 次取样时样液中的药物浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$; V 为取样体积, 1mL ; V_a 为体系总体积, 即 50mL 。

2 结果与讨论

2.1 复合水凝胶的表征分析

2.1.1 水凝胶的形貌表征

无 GP、冻融 4 次的 PVA-CMCS 复合水凝胶的实物图见图 1。

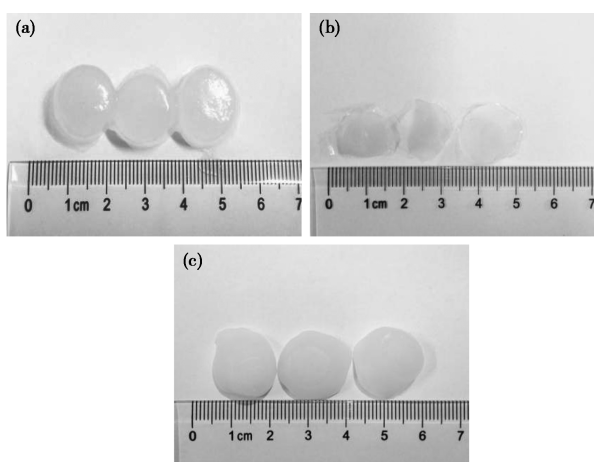


图 1 PVA-CMCS 复合水凝胶的外观形貌图

[(a) 新制状态; (b) 风干状态; (c) 溶胀状态]

由图可见, 新制状态下的水凝胶呈乳白色圆柱状, 这是因为该复合水凝胶主要是靠 PVA 冻融成胶, 冻融过程中凝胶结晶度变大使其透明性会变差^[6]。风干后的水凝胶呈微黄扁平状。溶胀后的水凝胶呈乳白色圆柱状, 因溶胀后的水凝胶其内部网络体系被溶剂撑开, 凝胶恢复成新制状态。

PVA-CMCS 复合水凝胶添加 GP 前后的 SEM 图见图 2。

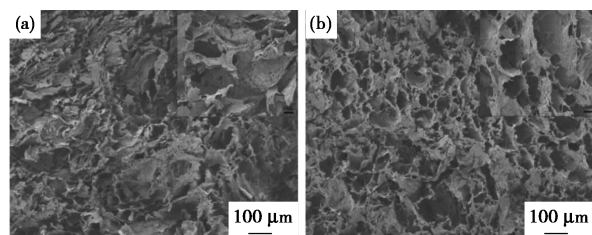


图 2 无 GP 的 PVA-CMCS(a) 和含 0.3g GP 的 PVA-CMCS 复合水凝胶(b) 的 SEM 图

(插图为高倍放大 SEM 图)

由图可见, 水凝胶的内部为不规则多孔结构^[7],

而且在同种放大倍数下, 无交联剂的复合水凝胶内部较疏松, 有交联剂的复合水凝胶内部孔径更为致密, 说明复合水凝胶的交联程度不同, 会造成其内部孔径大小不一, 因此对分子量不同的药物释放会起到不同的阻滞作用。

2.1.2 复合水凝胶的 XRD、FT-IR、TG 和 DTG 分析

复合水凝胶的 XRD、FT-IR、TG 和 DTG 分析结果见图 3。

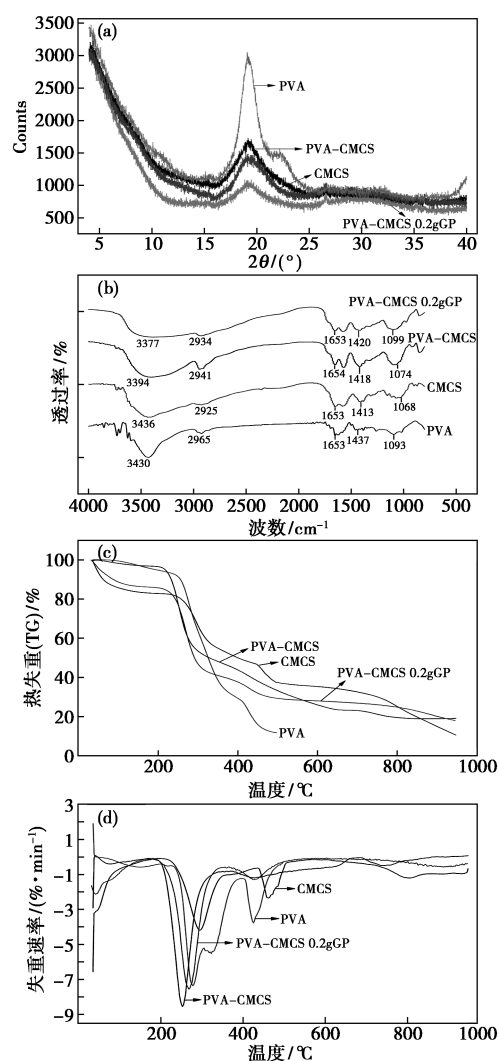


图 3 PVA、CMCS 和 PVA-CMCS 复合水凝胶的 XRD 谱图(a)、FT-IR 谱图(b)、TG 曲线图(c)和 DTG 曲线图(d)

从图 3(a) 可见, PVA 在 39.2° 处有尖锐的衍射峰, CMCS 在此处也有尖锐峰, 但较 PVA 峰弱。将两种材料制备成复合材料后, 由于两分子间的氢键作用会削弱 PVA 分子链间的氢键作用^[8], 从而使 PVA 的结晶度降低, 峰形变缓。复合水凝胶在交联剂的作用下, 原有晶型破坏更大, 结晶峰进一步

降低。

从图 3(b) 可见, PVA-CMCS 复合水凝胶的 FT-IR 谱图与纯 PVA 及纯 CMCS 有类似的羟基、甲基和羰基特征^[9-11], 但峰形比之前的更宽更强, 说明复合水凝胶交联后, CMCS 中的氨基与 PVA 中的羟基有很强的氢键作用^[12], 缔合作用增强。且三者的 FT-IR 谱图中没有新的吸收峰出现, 验证了复合水凝胶的交联反应是较稳定的物理反应。

从图 3(c-d) 可见, 随着体系温度逐渐增加, 曲线都有逐渐下降的趋势, 这是由于被检测的水凝胶样品中仍含有自由水、中间水和结合水这 3 种状态的水分子, 升温会导致样品连续的脱水失重^[1]。PVA 和 CMCS 的失重温度大概都在 270℃, 复合水凝胶的失重温度在 250℃, 其热稳定性较 PVA 和 CMCS 的稳定性低, 这可能是由于复合材料的体系结构不稳定造成的^[8]。

2.2 复合水凝胶的溶胀性能分析

制备条件对 PVA-CMCS 复合水凝胶溶胀性能的影响见图 4。

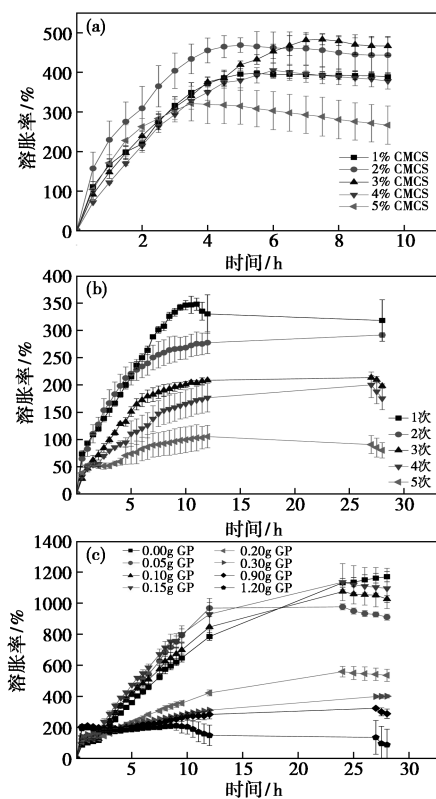


图 4 制备条件对 PVA-CMCS 复合水凝胶溶胀性能的影响

[(a) CMCS 浓度; (b) 冷冻解冻循环次数; (c) GP 用量]

由图 4(a) 可见, CMCS 浓度对复合水凝胶溶胀

影响较大, 溶胀率随着 CMCS 浓度的增加先增加后减小, 5% CMCS 的复合水凝胶溶胀率最差, CMCS 浓度为 3% 时制备的复合水凝胶溶胀最好。

由图 4(b) 可见, 冻融次数会影响溶胀率, 且冻融次数越多溶胀率越小, 原因是冻融次数的增加, 会使凝胶内部形成氢键的能力增强, 交联得越紧密, 致使溶胀时三维网络空间不易被撑开, 溶胀性能下降, 但能增加凝胶的机械性能。

由图 4(c) 可见, 复合水凝胶的溶胀率随 GP 用量的增加而减小, GP 用量对复合水凝胶溶胀性能的影响很大, 不加 GP 的溶胀率可达 1200% 左右, 而 GP 量为 1.2g 时, 水凝胶溶胀只有 120% 左右, 这是因为交联剂很多时, 与 CMCS 形成的交联点也显著增多, 交联网络变得十分致密, 复合水凝胶的柔性变差, 影响水分子进入凝胶内部, 所以溶胀率变小^[13]。在 GP 交联和冻融交联的双重作用下, PVA-CMCS 复合水凝胶的溶胀时间延长至 30h。

综合考虑成形和溶胀率等因素, 选择最佳制备条件如下: 5% PVA 和 3% CMCS 等量混合、0.6g GP、冻融 4 次。以此条件制备的水凝胶进行后续的药物释放行为研究。

2.3 复合水凝胶释药过程分析

2.3.1 模拟 BSA 的释药过程分析

载 BSA 的 PVA-CMCS 复合水凝胶的释药曲线见图 5。

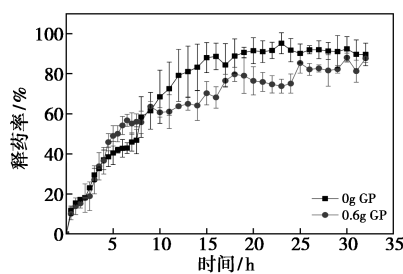


图 5 载 BSA 的 PVA-CMCS 复合水凝胶的释药曲线图

由图可见, 前 8h 两种凝胶的释药量相差不大, 8h 后无 GP 水凝胶释药量明显高于含 0.6g GP 的复合水凝胶的释药量。另外, 前 2h 内 BSA 的释放量低于 20%, 进入模拟肠液后 BSA 的释放量缓慢增加, 且在 32h 释药接近平衡, 说明该复合水凝胶具有优良的缓控释效果, 可在体内长时间发挥作用。

2.3.2 模拟 MH 的释药过程分析

载 MH 的 PVA-CMCS 复合水凝胶的释药曲线见图 6(a)。进一步考察 pH 对其释药性能的影响,

结果见图 6(b),采用单一模拟胃液和单一模拟肠液模拟不同 pH,其中模拟胃液 pH 为 1.2,模拟肠液 pH 为 7.4。

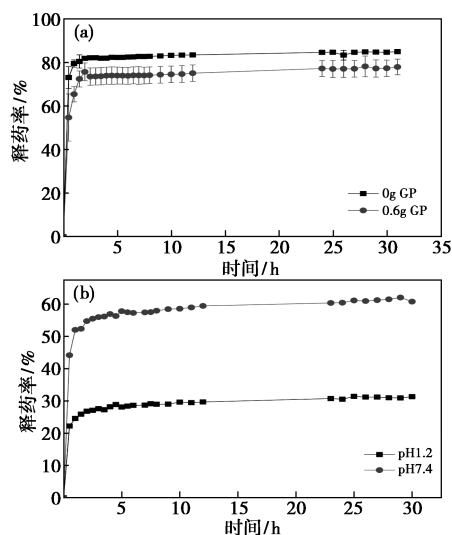


图6 载MH的PVA-CMCS复合水凝胶的释药曲线图

[(a)模拟胃肠液环境,前2h为模拟胃液,后为模拟肠液;

(b)单一pH环境,pH=1.2或7.4]

由图 6(a)可见,前 2h,无论有或没有加 GP,药物都大量释放。这是因为 MH 为小分子药物,而复合水凝胶的孔径太大,无法有效滞留药物,但是加入 GP 后的复合水凝胶 MH 释药量又明显小于无 GP 时。

由图 6(b)可见,MH 在 PVA-CMCS 复合水凝胶中释放较快,并且,模拟肠液中 MH 的释药量远大于在模拟胃液中。

因此,PVA-CMCS 复合水凝胶具有 pH 敏感性和药物缓控释放的效果。药物在碱性溶液中的释药量远大于在酸性溶液中,相对于小分子药物,该复合水凝胶更适合作为大分子药物载体,这是因为复合水凝胶中的三维网状结构对大分子药物的释放能够起到有效的阻滞作用,对小分子药物的阻滞作用较弱。而且复合水凝胶的药物释放量会随着交联剂 GP 用量的增加而减少,说明交联剂会使凝胶内部变得更紧密,增强了药物释放的阻滞作用,从而控制药物的释放速度。所以 PVA-CMCS 复合水凝胶更适合作为肠道吸收方面的大分子药物输送载体。

3 结论

通过采用两种物理交联方法,制备了一种兼有 pH 敏感性和互穿网络结构的 PVA-CMCS 复合水

凝胶。该复合水凝胶解决了 PVA 水凝胶溶胀率低和 CMCS 水凝胶成形难的问题,优化了单一水凝胶性能。通过物理化学性能表征、溶胀和释药实验,发现该复合水凝胶溶胀率可达 1200%,溶胀时间长达 30h 左右,还可以控制不同药物在不同环境中的释放速度,因此该复合水凝胶适用于作为大分子药物缓控释载体。该复合水凝胶制备方法简便而温和,在今后医药业的发展中具有潜在的应用前景。

参考文献

- [1] Hendrawan H, Khoerunnisa F, Sonjaya Y, et al. Physical and chemical characteristics of alginate-poly (vinyl alcohol) based controlled release hydrogel [J]. Chem Eng J, 2016, 4: 4863-4869.
- [2] 李万海,程艳洁,齐爱玖,等.羧甲基壳聚糖的制备及应用[J].吉林化工学院学报,2008,25(1):7-10.
- [3] 孙立苹,杜予民,陈凌云,等.羧甲基壳聚糖水凝胶制备及其在药物控释中的应用[J].高分子学报,2004(4):191-194.
- [4] Chen L, Tian Z, Du Y. Synthesis and pH sensitivity of carboxymethyl chitosan-based polyampholyte hydrogels for protein carrier matrices [J]. Biomaterials, 2004, 25 (17): 3725-3732.
- [5] 吴芳,陈连剑,李成,等.紫外分光光度法测定复方盐酸二甲双胍片中盐酸二甲双胍的含量[J].中国药房,2005,16(11):854-855.
- [6] 高大千,周新钦,武振旭,等.磺胺嘧啶银/聚乙烯醇水凝胶复合材料的制备及性能表征[J].复合材料学报,2017,34(12):2668-2673.
- [7] 刘权,左琴华,何留民,等.海藻酸-羧甲基壳聚糖/聚乙烯醇水凝胶的制备及对蛋白药物释放的探讨[J].中国科技论文,2014(2):256-260.
- [8] 高永康.功能性 PVA 基复合水凝胶的制备与性能研究[D].厦门:华侨大学,2007.
- [9] 崔莉,贾军芳,熊子豪,等.羧甲基壳聚糖/海藻酸钠半互穿网络水凝胶的制备及性能研究[J].高分子学报,2014(3):361-368.
- [10] 王胜,杨黎明,陈捷,等.温度及 pH 敏感性聚乙烯醇/羧甲基壳聚糖水凝胶的制备与性能研究[J].化学世界,2006,47(3):149-152.
- [11] 薛飞.PVA 复合水凝胶的制备及其性能研究[D].成都:西南石油大学,2016.
- [12] 王珊,高奕红,高丰琴.新型明胶/壳聚糖/PVA 水凝胶的制备及性能[J].皮革与化工,2016(1):22-28.
- [13] Yang J A, Yeom J, Hwang B W, et al. In situ-forming injectable hydrogels for regenerative medicine[J]. Prog Polym Sci, 2014, 39: 1973.

收稿日期:2019-01-08

修稿日期:2019-03-04