

超声刺激下水凝胶疏水药物释放行为研究

王有朋*, 李 薇, 石星丽, 吕维华, 张歆婕

(兰州石化职业技术学院石油化学工程学院, 兰州 730060)

摘要: PVA 水溶液与溶解疏水药物的硅油混合后经冷冻解冻处理可制得一种高韧性物理水凝胶。荧光显微镜发现这种水凝胶具有良好的结构稳定性, 硅油在水凝胶中以小液滴形式分散, 五周以后观察不到液滴聚集或明显的相分离。水凝胶的机械性能随着硅油含量增加而增大, 表明硅油不仅作为药物储存器来封装疏水性药物, 还与 PVA 链疏水界面产生强吸附性能。本研究系统考察了复合水凝胶超声控制下的疏水药物的释放行为, 超声刺激能明显加快速水凝胶的药物释放速率。超声引发药物释放机理表明, 超声机械效应是诱导疏水药物释放的主要原因。

关键词: 超声; 水凝胶; 控制释放; 疏水药物; 聚乙烯醇

引言

高分子水凝胶具有良好的生物相容性、生物降解性、封装亲水性药物等优势, 在生物医药领域中具有很大的应用潜力^[1~3]。作为药物载体, 单位体积水凝胶能容纳大量的亲水性药物, 可通过调整聚合物链间的尺寸和物理化学性质, 提供一种从数小时到数天可控的释放特性^[4]。然而, 由于固有的不相容性, 将疏水性药物封装到水凝胶中是一个挑战。目前解决措施包括共聚疏水性单体或接枝疏水性链段, 将疏水性位点或结构引入到聚合物网络中与药物形成聚集体, 例如, 用含疏水空腔的环糊精化合物来捕获疏水分子, 将含疏水性药物的脂质体或胶束嵌入水凝胶, 而这些方法通常需要复杂的制备步骤, 导致水分含量降低和生物相容性降低, 不能有效控制疏水性药物释放^[5~7]。另一方面, 刺激响应型水凝胶对环境如 pH、温度、压力、离子强度等作出响应。在这些刺激方式中, 超声具有定时、定位的便捷性, 在医学上被广泛应用, 作为刺激方式能诱导药物从聚合物胶束、脂质体和固体基质载体中释放^[8,9]。材料在超声波辐照下可以被迅速加热, 热扩散系数的增加能使负载药物释放^[10], 超声波传播中产生的空化效应能破坏的化学键或自组装结构, 诱导药物载体的药物释放。水凝胶网络内渗透的水分子促进了药物分子的自由扩散, 超声处理只是加速了药物的释放过程, 并不是真正意义上的药物可控释放^[11~13]。

本研究以聚乙烯醇(PVA)为基体构建水凝胶, 将 PVA 水溶液和能溶解疏水药物的硅油均匀混合, 经冷冻解冻处理得到相对稳定和宏观均匀的复合水凝胶。疏水性药物以小液滴的形式封装在水凝胶的网络结构中, 不涉及任何化学方法^[14~16]。从水凝胶冷冻时间、水凝胶含水量、超声强度等方面系统考察了超声控制下布洛芬药物的释放行为, 提出了超声刺激下疏水药物释放的可能机理。

1 实验部分

1.1 实验原料

PVA(99% 水解, M_w : 83,600~92,400), 布洛芬(>98%), 均购于成都博瑞特化学技术有限公司;

10.14028/j.cnki.1003-3726.2021.11.009

收稿: 2020-09-26; 修回: 2021-04-24;

基金项目: 甘肃省高等学校科研项目(2020A-194), 兰州石化职业技术学院科研项目(KJ2019-02), 甘肃省科技重点研发计划项目(19YF3GA002), 甘肃省高等学校产业支撑计划项目(2020C-33);

作者简介: 王有朋(1980-), 男, 博士, 副教授, 主要从事刺激响应聚合物研究;

* 通讯联系人, E-mail: wangyoupeng1@163.com.

硅油(粘度 1000mPa·s),杭州永盛有机硅化工有限公司;尼罗红(分析纯),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;超纯水,青岛富勒姆科技有限公司 FDY-1002-UV-P 超纯水机制备。

1.2 实验仪器

超声波破碎仪(美国 Qsonica Q700);动态粘弹谱仪(美国 TA 仪器 Q800);紫外光谱仪(美国热电 Evolution 220);激光共聚焦显微镜(日本奥林巴斯 FV1200);电子万能试验机(上海协强仪器 CTM2500);聚四氟乙烯模具(70mm×10mm×10mm)。

1.3 实验方法

1.3.1 PVA 水凝胶的制备 将 PVA 加入到定量超纯水中,加热至 95℃并在搅拌下使之完全溶解。将得到的 PVA 溶液冷却至 55℃后加入不同比例的含有疏水药物的硅油(尼罗红为疏水模型药物),充分搅拌 3h 以上使之与 PVA 水溶液完全混合。将混合好的 PVA 溶液灌注到聚四氟乙烯模具中,密封并将其冷却后放置至所需低温(-24℃)环境中冷冻一定时间,再将模具在室温解冻至少 6h,修边得到水凝胶。

1.3.2 超声实验 将圆盘状水凝胶样品(直径为 40mm,厚度约为 7mm)放在烧杯底部用 35mL 超纯水浸盖,超声波探头置于水凝胶样品的上方(距离约 5mm)。在每次超声辐照后,将水凝胶取出浸入等量的新水浴中,超声辐照后水溶液配成 0.4%氢氧化钠溶液,用紫外吸收分光光度计测定 264nm 处吸收度,根据标准曲线计算释放药物浓度。

2 结果与讨论

2.1 PVA 水凝胶的形成与超声刺激下药物释放机理

负载疏水性药物复合水凝胶的制备、结构及其超声控制释放行为如图 1 所示。PVA 链上羟基形成的氢键使 PVA 溶液呈现高粘性,溶解疏水药物甲基硅油滴加入到 PVA 溶液中,油性液滴可以悬浮在 PVA 溶液中,经冷冻/解冻处理制备得到稳定的物理水凝胶。在冷冻解冻处理过程中,PVA 链在低于冰点温度时,聚合物分子间形成微晶结构,以这些微晶为交联点形成水凝胶网络。当水凝胶在室温下解冻时,凝胶结构仍然稳定存在^[17]。控制冷冻时间和冻结温度可调控 PVA 水凝胶的结晶度。硅油在水凝胶体系中具有重要作用,如图 2 所示,尼罗红(NR)直接与 PVA 溶液混合,它会从体系中聚集沉淀而难以分散(如图 2a 所示),若先将尼罗红溶解在硅油中,再与 PVA 溶液混合,可获得均匀的红色液体混合物(如图 2b 所示),冷冻/解冻处理可形成复合水凝胶(如图 2d 所示),该水凝胶有良好的结构稳定性,5 周后没有观察到相分离或硅油液滴的聚集(如图 2e 所示)。没有进行冷冻解冻处理的样品在 5 周后出现明显的分层,从图 2c 可看到含有尼罗红的硅油层漂在 PVA 液体上。图 2f、2g 表明硅油以直径小于 50μm 的小液滴分散在水凝胶中,静置五周后,没有观察到液滴聚集,表明复合水凝胶具有良好的结构稳定性。

2.2 PVA 复合水凝胶的性能研究

应用动态力学分析研究硅油对 PVA 水凝胶粘弹性能的影响,所有水凝胶样品都被标记为 CH_x、CH_{x-y} 或 CH_{x-y-z},其中 x 是水的质量分数, y 为冷冻小时数, z 为水凝胶中添加硅油的质量分数。

如图 3a 所示,室温下在扫描的频率范围内,水凝胶的储能模量远高于其损耗模量,几种水凝胶样品的储能模量和损耗模量在设定参数范围内变化不大,表明冷冻法使聚合物链结晶形成稳定的物理网络结构。较高硅油含量的水凝胶具有更高的模量,说明硅油不仅能作为药物储存器,而且当水凝胶被施加外力时会参与网络的运动来消耗应变能。水凝胶机械性能的增强可能是因为 PVA 链段疏水表面具有强吸附效应,形成了 PVA 主链与硅油液滴表面相邻,羟基则被水分子包围着的特殊结构(如图 1 所示)^[16]。当水凝胶受外力作用时,PVA 主链和硅油液滴表面之间的疏水相互作用有利于机械能量的传递,类似结果在温度扫描中(如图 3b 所示)亦出现。所有样品模量随温度的升高而增加,可能由于水凝胶在升温中水份损失所引起。

拉伸试验表明硅油能增强 PVA 水凝胶的机械性能,水凝胶 CH90-3 的断裂应力和断裂应变的具体

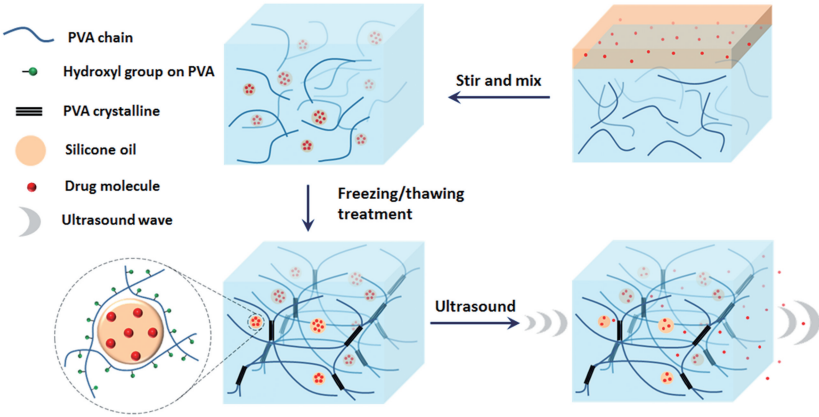


图 1 负载疏水药物的复合水凝胶的制备及其超声控制释放行为示意图

Figure 1 Illustration of the formation of the hydrophobic drug loaded composite hydrogel and its ultrasonic controlled drug delivery behavior

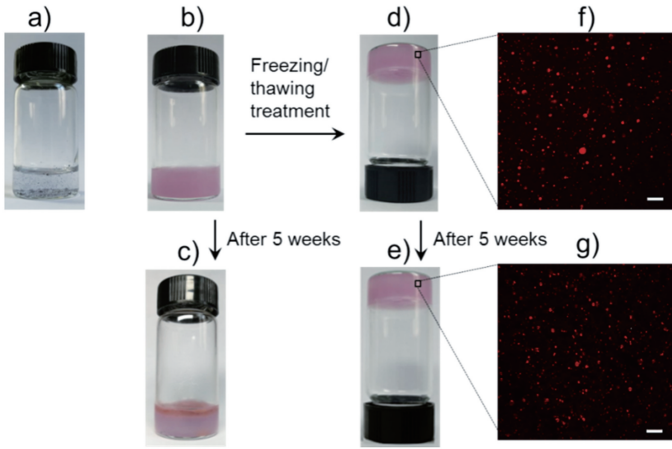


图 2 复合水凝胶的形成和结构稳定性观察。(a)尼罗红直接与 PVA 溶液混合;(b)尼罗红溶解在硅油中与 PVA 溶液混合;(c)5 周后的混合液;(d)冷冻/解冻处理形成复合水凝胶;(e)5 周后的复合水凝胶;(f)复合水凝胶荧光显微图片;(g)复合水凝胶 5 周后荧光显微图片

Figure 2 Formation of the composite hydrogel and its structural stability investigation. (a)Directly mixing NR into PVA solution; (b) NR dissolved silicone oil with PVA aqueous solution; (c) Mixed liquor after 5 weeks; (d) Composite hydrogel; (e) The composite hydrogel after 5 weeks; (f) Fluorescent microscopy images of the composite hydrogel; (g) Fluorescent microscopy images of the composite hydrogel after 5 weeks

数值随硅油含量的增大而增加(如图 4a 所示)。CH90-3-0 的抗拉强度为 0.036MPa,断裂伸长率约为 270%;样品 CH90-3-5、CH90-3-10 和 CH90-3-20,机械性能随着硅油含量增加而相应增大,拉伸强度分别提高到 0.040MPa、0.046MPa 和 0.057MPa,每个样品的断裂伸长率也分别增大到 298%、370%和 440%。不同冻结时间和水含量的水凝胶也得到了相似的结果,具体见图 4b-c,证明硅油液滴在水凝胶形变过程中参与了凝胶网络的运动,硅油含量高的水凝胶具有更好的机械性能,增大抗拉强度和断裂伸长率,极大提高了水凝胶的韧性。

2.3 超声刺激下复合水凝胶疏水药物释放行为

采用循环超声刺激水凝胶释放药物,超声波以脉冲的方式运行 4min,即水凝胶先超声辐照 10s,再暂停 10s,以此往复操作。图 5a 为不同冷冻时间的 CH80-y-20 系列水凝胶超声刺激下的药物释放行为。结果表明,开启超声后负载药物会迅速释放,关闭超声仪器药物释放基本停止,与超声开启药物释放相

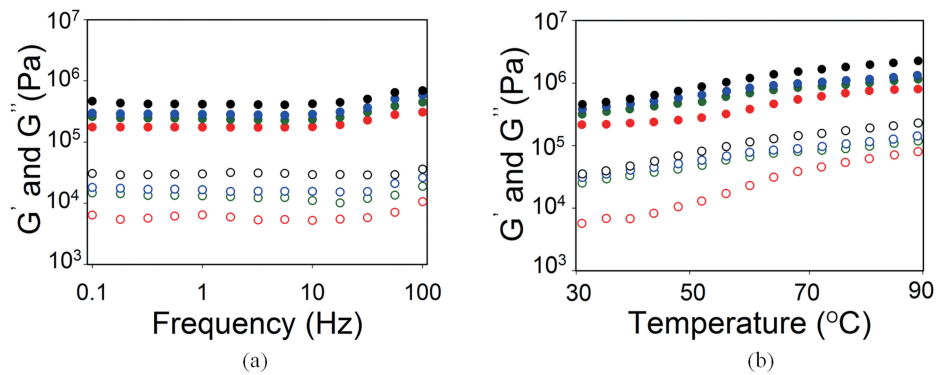


图 3 不同硅油含量水凝胶 CH80-3-0(红色)、CH80-3-5(绿色)、CH80-3-10(蓝色)和 CH80-3-20(黑色)的储能模量(G' , 实心标记)和损耗模量(G'' , 空心标记)随:
(a)室温下不同频率变化;(b)1Hz 频率下不同温度变化

Figure 3 Storage modulus (G' , solid symbols) and loss modulus (G'' , open symbols) of hydrogel CH80-3-0(red), CH80-3-5(green), CH80-3-10(blue) and CH80-3-20(black) (a) vs frequency at room temperature; (b) vs temperature at fixed frequency of 1Hz, respectively

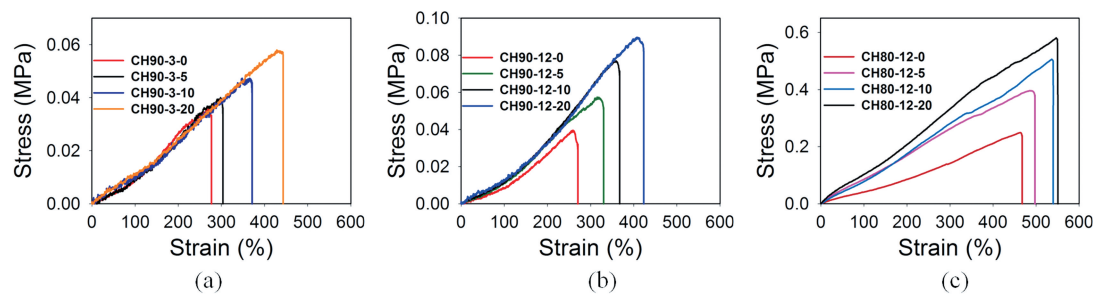


图 4 不同 PVA 和硅油含量复合水凝胶的拉伸行为:(a)CH90-3; (b)CH90-12; (c) CH80-12
Figure 4 Tensile behaviors of the composite hydrogel (a) CH90-3; (b) CH90-12; (c) CH80-12 with different silicone oil content

比,关闭超声的药物释放量可以忽略不计。对于样品 CH80-1-20,每一个周期的开-关药物释放比分别是 61.2、31.0、25.2、18.0、18.6 和 7.1,平均开-关药物释放比是 26.9;样品 CH80-3-20 平均释放比 18.2;样品 CH80-12-20 药物平均释放比是 13.4,说明较长冷冻时间使 PVA 分子链形成更多网状结晶区域,保护硅油液滴不受超声波影响,药物释放越来越低。

固定冷冻时间为 3h,改变水凝胶中水的含量得到了相似的实验结果,如图 5b 所示,样品 CH90-3-20 每一个周期的药物平均释放比是 22.8,样品 CH80-3-20 和 CH70-3-20 得到的平均释放比分别为 18.2 和 16.8。说明平均释放比随着水凝胶含水率的降低而降低,高密度凝聚网络不利于超声引发的药物释放,因为高浓度 PVA 溶液有利于邻近高分子链间的接触,分子间的作用力增大,分子之间排列整齐,冷冻解冻后形成更多结晶交联点水凝胶。超声强度也是控制药物输送的重要参数。对比两种不同超声功率下 CH90-3-20 的药物控制释放行为,结果见 5c 所示。水凝胶样品 CH90-12-20 在超声强度 14W 刺激下一个周期的平均释放比是 15.4,当增大超声强度至 21W 时,药物平均释放比增大至 25.0,说明高功率的超声波振动能加速负载水凝胶的药物释放。图 5d 用荧光显微镜观察的复合水凝胶 CH90-3-20 在超声前后的微观形态变化,超声处理前,包裹尼罗红的硅油以直径小于 $50\mu\text{m}$ 的小液滴均匀分散在水凝胶网络结构中。当被 14W 强度的超声波辐照 20min 或 30min 后,从荧光显微图像中没有观察到明显的形态变化,表明超声辐照并没有导致硅油液滴的聚集或运动,但硅油液滴的红色荧光强度降低,而且超声时间越长

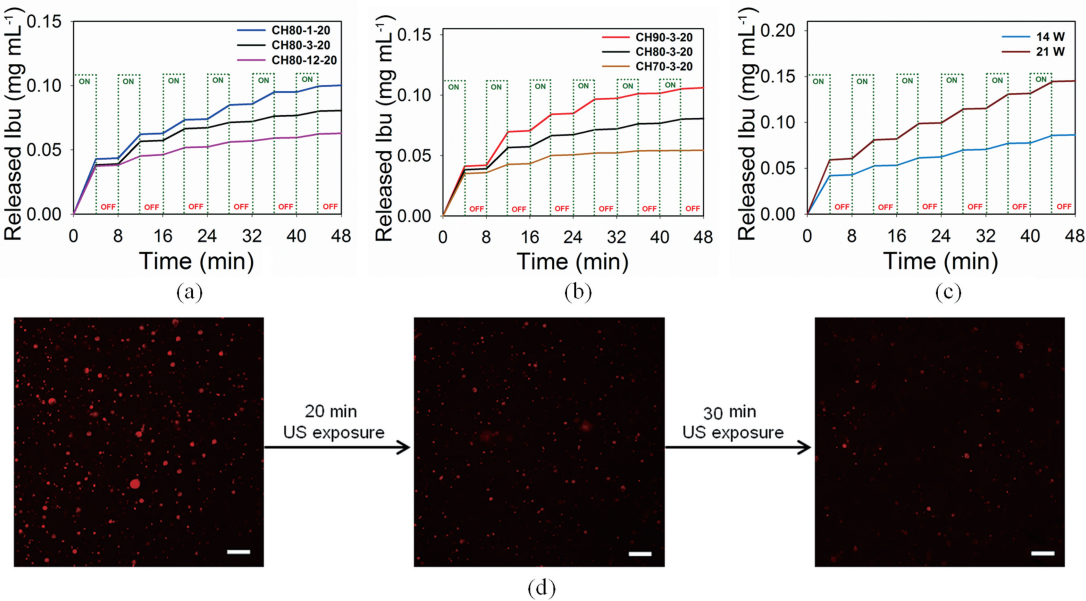


图5 (a)不同冷冻时间的水凝胶超声控制下药物释放;(b)不同水含量水凝胶超声控制下药物释放;
(c)CH90-12-20 在不同输出功率下水凝胶超声控制下药物释放;(d)CH90-3-20 水凝胶超声辐照前、
超声辐照 20 分钟和超声辐照 30 分钟的荧光显微镜图像. 图中标尺代表 100μm

Figure 5 Ultrasonic controlled hydrophobic drug release from the composite hydrogel. (a) Treated with different freezing time; (b) Composite hydrogel with different water content; (c) CH90-12-20-involved controlled drug release at different output power; (d) Fluorescent microscopy images of CH90-3-20 before and after 20 and 30 minutes ultrasonic exposure, respectively. The scale bars in the images represent 100μm

荧光强度降低越明显,说明硅油液滴中的尼罗红分子在超声波的机械振动下从凝胶基体中释放出来,浓度越来越低。综上所述,超声刺激下负载疏水药物水凝胶药物释放随水凝胶冷冻时间、含水率、超声强度等因素可控变化,水凝胶冷冻时间越短、含水率越高、超声强度越高时疏水药物释放量越多。

2.4 超声刺激下复合水凝胶疏水药物释放机理

超声波的震荡会对固体聚合物产生很强的热效应,由于水凝胶网络结构中存在大量水分子,这个影响会明显减小,但不容忽视。本文探讨了超声引发水凝胶药物释放中的热效应,实验方案如图 6a 所示,将热电偶水探针在水凝胶制备时插入 PVA 水溶液的中心位置再进行冷冻/解冻处理。

超声处理的水凝胶热效应实验结果如图 6b 所示。在超声波以脉冲方式运行的 4min 内,凝胶内部温度轻微升高且呈现典型锯齿曲线,并在第三个循环中达到最高温度 38.2℃,说明超声波对水凝胶产生一定的热效应。为了考察温度对复合水凝胶药物释放比的影响,将 CH80-3-20 浸入 35mL 左右水中,研究水凝胶在不同温度下的自然释放行为,结果如图 6c 所示。当水凝胶在水浴中静止 1h 后,四种温度下的药物释放量都有适度增加,在 30℃、35℃和 40℃温度下累积释放量与 25℃相比仅为 1.08、1.25 和 1.36 倍。说明温度变化不是超声控制药物释放的主要原因。水凝胶样品在不同温度下的吸水情况如图 6d 所示,水凝胶 25℃、30℃、35℃和 40℃下吸水 60min 的吸水率分别为 7.1%、7.7%、9.9%和 11.9%。说明高温下高吸水会导致凝胶的网络溶胀,硅油液滴更容易受到超声波刺激。上述结果表明,热效应可以影响超声引发的水凝胶药物释放,但不是引发释放的主要原因,而是超声引发的机械效应。

3 结论

(1)以一种简单、新颖的方法制备了负载疏水药物的复合水凝胶。将溶解有疏水药物的硅油与和 PVA 水溶液混合,基于冷冻解冻法获得物理水凝胶,荧光显微镜发现这种水凝胶具有良好的结构稳定

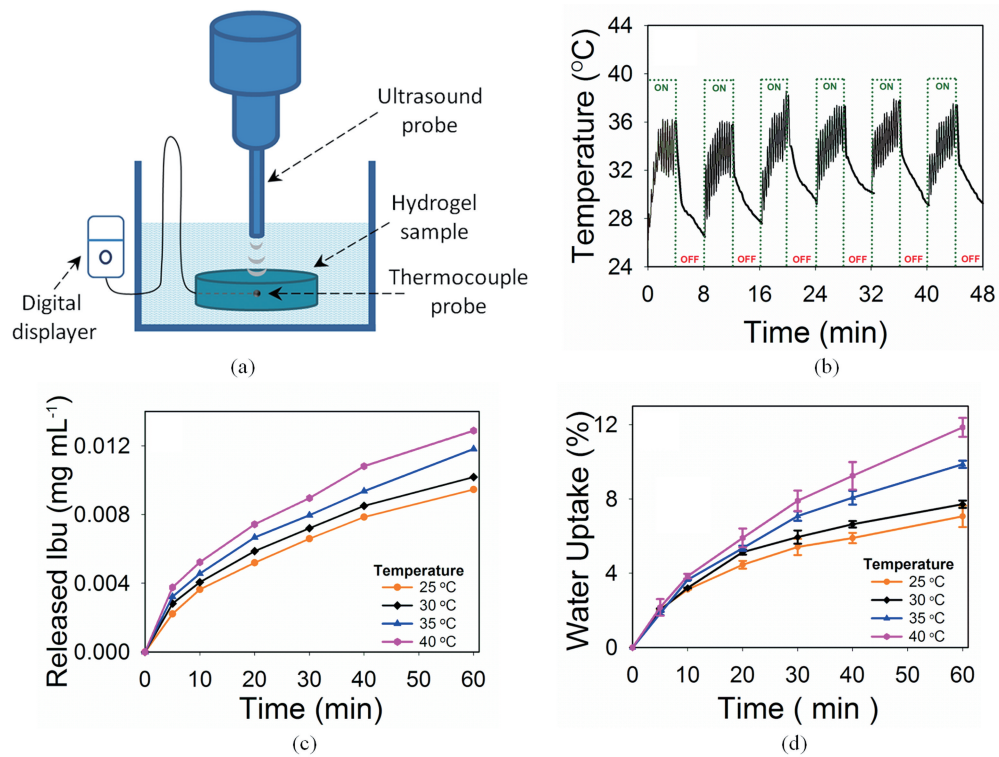


图 6 (a)超声热效应和机械效应对控制疏水药物输送示意图;(b)超声辐照下水凝胶温度的变化;

(c)水凝胶 CH80-3-20 不同温度下的自然释放;(d)水凝胶 CH80-3-20 不同温度下的吸水性

Figure 6 (a)Investigation on the ultrasonic thermal effect and the mechanical effect on controlled hydrophobic drug delivery; (b) Results of temperature changes of the hydrogel under ultrasonic exposure; (c) Free diffusion drug release; (d) water uptake of CH80-3-20 at different temperatures

性,硅油在水凝胶基质中以微小的液滴形式分散;

(2)硅油可用作药物载体来封装疏水性药物,复合水凝胶的机械性能随着硅油含量增加而相应增大;

(3)系统研究了负载疏水药物的水凝胶在超声下能药物释放行为。以水凝胶冷冻时间、水含量、超声强度等因素考察超声控制下布洛芬的释放过程。机理研究表明超声热效应会加速药物释放,但超声诱导的机械效应是超声控制药物输送的主要原因。

参考文献:

[1] Caló E, Khutoryanskiy V V. Eur Polym J, 2014, 65: 252~267.
[2] Seliktar D. Science, 2012, 336:1124~1128.
[3] Ward M A, Georgiou T K. Polymer, 2011, 3:1215~1242.
[4] Li J, Mooney D J. Nat Rev Mater, 2016,1:71~87.
[5] Zhang P, Cheetham A G, Lin Y, et al. ACS Nano, 2013,7: 5965~5977.
[6] Mateen R, Hoare T. J Mater Chem B, 2014, 2: 5157~5167.
[7] Thatiparti T R, Shoffstall A J, Recum H A. Biomaterials, 2010, 31: 2335~2347.
[8] Zhao Y, Stoddart J F. Langmuir, 2009, 25:8442~8446.
[9] Mitragotri S. Nat Rev Drug Discov, 2005, 4:255~260.
[10] Zhang H J, Xia H S, Wang J, et al. J Control Release, 2009, 139:31~39.
[11] Cheng R, Meng F H, Deng C, et al. Biomaterials, 2013, 34:3647~3657.
[12] Li Y W, Tong R, Xia H S, et al. Chem Commun, 2010, 46, 7739~7741.
[13] Li G, Zhang H J, Fortin D, et al. Langmuir, 2015, 31: 11709~11716.

- [14] Li G, Yan Q, Xia H S, et al. ACS Appl Mater Inter, 2015, 7:12067~12073.
- [15] 嵇锡南, 欧康康, 董霞等. 材料科学与工程学报, 2019, 3:436~441
- [16] Kozlv M, Mccarthy T. Langmuir, 2004, 20:9170~9176.
- [17] Li G, Fei G X, Xia H S, et al. J Mater Chem, 2012, 22:7692~7696.

The Research of Hydrogel Controllably Release Hydrophobic Drugs under Ultrasound

WANG You-peng^{*}, LI Wei, SHI Xing-li, LV Wei-hua, ZHANG Xin-jie

(School of Petrochemical Engineering, Lanzhou Petrochemical College of Vocational Technology,
Lanzhou 730060, China)

Abstract: Use freezing/thawing treatment prepared a high toughness composite hydrogel from hydrophobic drug-loaded silicone oil dispersed in poly(vinyl alcohol) solution. The hydrogel owned a relatively stable structure through fluorescent microscopy, silicone oil was dispersed and permeated in the hydrogel matrix as microdroplets, no aggregation or migration were observed when the hydrogel sample was placed stationary after 5 weeks. The mechanical properties of hydrogel enhanced proportionally with increasing the silicone oil content, indicating silicone oil not only act as drug reservoirs dispersed within the hydrogel matrix, but also improved the mechanical properties for strong adsorption effect of PVA chains on hydrophobic surfaces. Ultrasound is used to control trigger the hydrophobic drug release from the hydrogel, the result showed the drug were instantly and rapidly released under ultrasound exposure. Mechanism of ultrasound controlled drug release is studied in this paper, and the results indicate the mechanical effect is the main reason.

Key words: Ultrasound; Hydrogel; Controlled release; Hydrophobic drug; PVA