

# PNIPA 类纳米水凝胶在药物缓控释研究中的应用

张 建, 陈海燕, 顾月清\*

(中国药科大学生命科学与技术学院, 南京 210038)

**摘要:**简要介绍了聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(Poly *N*-isopropylacrylamide, PNIPA)类纳米水凝胶的性质及智能响应机理, 并重点综述了近年来此类纳米水凝胶在药物缓控释研究中的应用: 作为脂溶性小分子药物的载体, 达到增溶及缓控释药物的效果, 并增强药物的稳定性及生物活性; 作为水溶性小分子药物的载体, 达到缓释该类药物的效果; 作为生物大分子药物(蛋白, 多糖)的载体, 克服直接用药时的弊端; 此外, 还可作为基因工程载体。

**关键词:**PNIPA; 纳米水凝胶; 温敏性; 缓释; 控释

PNIPA(聚 *N*-异丙基丙烯酰胺, Poly *N*-isopropylacrylamide)类纳米水凝胶是一种具有环境响应性的智能高分子, 是当前科学界研究的热点之一。1968 年, Dusek 和 Patterson 预言: 某些聚合物凝胶具有非连续体积相变。1978 年 Tanaka 发现凝胶的这些敏感效应在某些特定条件下特别明显: 即温度或 pH 值的微小变化都将引起凝胶体积的突然收缩或膨胀, 这一现象被称为相变。当相变由温度引起, 此时的温度称为最低临界溶解温度(Low Critical Solution Temperature, LCST), 之后 Pelton 等<sup>[1]</sup>于 1986 年首次报道了温敏性 PNIPA 水凝胶的制备方法 with 表征。

PNIPA 类纳米水凝胶是一类能在水溶液中溶胀而不溶解的介于液体与固体之间的三维交联的软湿性材料。当水凝胶受到外界环境的刺激, 如温度、溶液的组成、pH 值、电场等变化时, 其结构和性能(一般是体积)会随之发生突变, 呈现体积相转变行为, 从而具有智能功能。该项性能使其在活性酶包埋和蛋白质的分离<sup>[2~5]</sup>、生物传感和催化<sup>[6,7]</sup>、药物的靶向定位及缓控释放等<sup>[8~10]</sup>方面具有很大的应用前景。另外, 由于其 LCST 在 32~34℃, 接近于人体温度, 且无毒并能以多种方式与其他单体连接的优点, 因此其在生物医学方面的应用前景更为广阔。

本文将对 PNIPA 类纳米水凝胶的性质及智能响应机理作简要介绍, 然后重点综述近年来该类纳米水凝胶在药物缓控释研究中的应用及所取得的进展。

## 1 PNIPA 类纳米水凝胶的性质及环境响应的机理

PNIPA 类纳米水凝胶的温敏性主要是由于凝胶组成中同时含有一定比例的亲水基团和疏水基团, 二者的综合作用使得水凝胶在室温下能够以溶胀而不溶解的胶体状态均匀分散于水中。此时, 亲水基团与水分子之间形成氢键, 水凝胶呈溶胀构型, 水占据了孔状凝胶的空隙, 此时有较高的吸水能力, 吸水的重量可为凝胶自身重量的数十倍甚至数百倍。而当温度升高时, 因氢键被破坏导致凝胶与水之间的相互作用急剧下降, 与此同时凝胶中的疏水基团之间的疏水缔合作用增强, 水从空隙中排出, 凝胶粒子收缩, 形成硬球型结构, 水凝胶的收缩与溶胀产生了体积相转变<sup>[11]</sup>。因此在常温下, 水凝胶能溶于水中形成均匀的溶液, 当温度升高至 LCST 时, 溶液发生相分离。PNIPA 在 LCST 附近的体积相转变是一种温度敏感的可逆变化。

均聚的 PNIPA 为中性(非离子)凝胶, 其溶胀行为主要受溶液组成及温度的影响, 若把具有温敏性的 *N*-异丙基丙烯酰胺(NIPA)单体与电解质类单体如丙烯酸(Acrylic Acid, AA)和丙烯酰胺(Acrylamide AM)

**基金项目:**国家自然科学基金(30371362, 30672015);

**作者简介:**张建, 男, (1979—), 中国药科大学生命科学与技术学院硕士研究生, 主要研究对环境敏感的纳米粒子作为药物载体在体内的靶向特性。

\* 通信作者: E-mail: guyueqing@hotmail.com.

等共聚<sup>[12,13]</sup>,形成的凝胶则为离子型凝胶,此时水凝胶溶胀行为除受温度响应外,还很大程度上依赖于溶液的 pH 值,具有温度和 pH 双重敏感性。这种水凝胶的 pH 敏感性和温度敏感性不是孤立的,而是互相影响的<sup>[14]</sup>。pH 和温度共同决定了水凝胶的存在状态(收缩或溶胀)。对于带有双重响应功能的固定结构的水凝胶,可以通过控制 pH 和温度来控制水凝胶的亲水、疏水性,从而将其相转变特点调节到所希望的状态。

## 2 PNIPA 类纳米水凝胶在药物缓控释研究中的应用

以 PNIPA 的温敏性为基础,采用不同的合成思路与方法,与不同的单体聚合,可以得到一系列具有不同特性的纳米水凝胶,因而可以上载不同的药物,实现各种不同的目的,如增加脂溶性药物的溶解性<sup>[11,15]</sup>,提高药物的体内稳定性和生物活性<sup>[16~19]</sup>,实现对药物的缓释<sup>[9,10]</sup>和靶向效果<sup>[8]</sup>,作为基因工程载体等<sup>[20]</sup>。

### 2.1 作为小分子药物的载体

2.1.1 作为脂溶性小分子药物的载体 由于许多脂溶性药物存在溶解度小,制剂时分散性和均匀性不够,溶出度不好,生物利用度低,体内不够稳定等缺点,使得药物无法发挥最大治疗效果。而将这些药物上载到水凝胶体系内,可以在一定程度上改善这些弊端。

2.1.1.1 实现增溶及缓释效果 Liu 等<sup>[11]</sup>将 AA 及 DMAEMA(*N,N*-dimethylaminoethyl methacrylate)连接到温敏性的 PNIPA 链上,然后再将疏水性的 PEA(poly ethyl acrylate, PEA)通过互穿网络技术(interpenetrating polymer network, IPN)与之形成聚合物,PEA 部分上载模型药物黄豆苷元,可以实现增溶缓释的效果。另外,杨华等<sup>[15]</sup>采用辐射法制得 NIPA 与 NVP(*N*-乙烯基吡咯烷酮)共聚水凝胶,以脂溶性药物乙酰水杨酸为模型药物,进行药物释放研究。经研究发现当 NVP 比例增加时,水凝胶的溶胀度增加,LCST 升高,LCST 的范围亦变宽;实验中还比较了均聚水凝胶与共聚水凝胶对药物的释放速率的影响,发现均聚水凝胶载药后,在前 6h 内累积释药总量不足 20%,之后释放加快,而共聚水凝胶除初始的 1h 外,类似均匀释放,且释放速率要快得多。杨华等对载药量及缓释效果等因素进行综合考虑,得到最佳试样制备条件为:辐照剂量 30 kGy,  $m(\text{NIPA})/m(\text{NVP})=4$ ,此时的 LCST 为  $38\pm1^{\circ}\text{C}$ 。

2.1.1.2 实现控释效果 黄月文等<sup>[8]</sup>研究了包埋在具有温度及 pH 双重敏感性的 P(NIPA-*co*-AA)纳米水凝胶中的乙酰水杨酸的控释行为。实验中通过测定不同 pH 及温度下的凝胶溶胀曲线,证明其确为 pH 及温度双重敏感水凝胶,且在包埋药物后,仍具有上述双重敏感特性。该研究此后又测定了不同 pH 及温度下载药后的水凝胶体系的释药行为,结果发现 pH=7.4 时,12 h 内药物的释放可达 40%以上,而在 pH=1.0 时却不到 20%,且温度越高(37℃和 25℃),这种差别越明显。即在此种水凝胶体系的释药速率随温度升高或/和 pH 增大而加快。其原理可解释为温度升高,凝胶收缩,将小分子药物驱出凝胶外;pH 值增大,羧基以阴离子形式存在的含量增大,电荷间的静电排斥作用使凝胶溶胀,释放出小分子药物,羧基含量越高,电荷密度越大,这种排斥作用更明显,小分子药物更易从凝胶中扩散出来。由于其在温度恒定(37℃),pH=7.4 的介质中乙酰水杨酸的释放比 pH=1.0 快得多,因此可将乙酰水杨酸大部分定向到肠中释放。

2.1.1.3 增强药物稳定性和生物活性 Dufresne 等<sup>[16]</sup>制成了以 PNIPA 为基础的并对 pH 敏感的胶束体系,然后将有荧光探针性质的抗癌抗生素阿霉素加载到胶束内疏水部分处,并用鼠癌模型来评价其细胞毒性。在评价其体外抗癌活性时,Dufresne 等比较了阿霉素标准品和载药胶束在体外对鼠结肠癌 C26 细胞的毒性,发现载药胶束的体外活性更强;在评价其体内抗癌活性时,同样用阿霉素标准品和载药胶束做比较,当药物剂量为 0.25  $\mu\text{mol/kg}$  时,由于二者都能使肿瘤组织消退,无法分辨其优劣;当药物剂量为 0.05  $\mu\text{mol/kg}$  时,载药胶束组显示出了更强的生物活性,虽然从肿瘤的体积来看并不明显,但在随后的光敏疗法中载药胶束组的肿瘤治愈率为 36%,远高于阿霉素标准品组的 10%。体内外生物活性实验都证明该载药胶束体系能有效增强阿霉素的抗癌活性。Zeng 等<sup>[17]</sup>也做了相似的实验,以 BAC(*N,N*-bis(acryloyl)-cystamine)为交联剂合成了以 PEO-*b*-PNIPA(poly(ethylene oxide)-*b*-PNIPA)为核心的胶束,同样以

阿霉素为模型药物,同时还考察了体系的稳定性,发现即使在稀水溶液中,胶束内的药物在室温下放置 14 d 依然不降解。此外,Roux 等<sup>[18]</sup>将具有 pH 响应性的脂质体通过氢键缔合作用与 PNIPA 结合起来,合成了以 PNIPA 为基础的 pH 敏感脂质体,并用荧光光谱测定法考查了脂质体与聚合物的相互作用,另外还考查了其 pH 响应性以及在人血清中的稳定性等。之后又将阿糖胞苷作为模型药物包埋其中,体外做阿糖胞苷的细胞毒性实验。实验结果表明该载药体系能明显增强药物阿糖胞苷的稳定性和生物活性。另外,曾宏波等<sup>[19]</sup>合成并表征了 NIPA 与 CHA (丙烯酸胆甾醇酯)的共聚物 P(NIPA-co-CHA)。并将疏水化合物胆甾醇作为模拟药物包埋在胶束的疏水核中进行研究,通过动态激光光散射法测定样品载药前后的粒径分布,根据分布图可证明胆甾醇确已被包埋在 P(NIPA-co-CHA)的疏水内核中。该研究还对此载药体系的稳定性进行了考察,发现样品在 25℃ 恒温稳定 24 h 后,溶液中无不溶物质生成,且放置一个月后仍无沉淀物出现。

2.1.2 作为水溶性小分子药物的载体 水溶性小分子药物具有溶解性好,易吸收,生物利用度高等优点。但也正是这些优点使得水溶性药物往往难以达到缓释效果。此类药物的应用研究报道较少,主要集中在缓释方面。

Zhang 等<sup>[9]</sup>用 5-氟尿嘧啶(5-Fu)作为模型药物于 25℃ 将之载入到 PNIPA 纳米水凝胶中,然后将载药的水凝胶装入透析袋形成温敏性药物释放系统(drug delivery system, DDS),实验中分别采用了快速响应性 PNIPA 纳米水凝胶和普通的 PNIPA 纳米水凝胶,二者都呈现出温敏释放模型;温度升高释药速率加快,温度下降释药速率变缓。Zhang 等还研究了同一温度下不同 DDS 的释药情况,结果表明,只需改变水凝胶体系的某些性质(如响应速度,溶胀率等),而不用改变体系的温敏释放模型,便可控制体系的释药速率及释药总量。该实验证明 PNIPA 纳米水凝胶体系能用于水溶性药物的可控释放,并且有较好的可控性。Camen 等<sup>[10]</sup>采用自由辐射聚合法得到了以 PNIPA 和壳聚糖为骨架的 IPN,由于双氯酚酸对其中的壳聚糖成分有特别的亲和力,故以其为模型药物来研究该释药体系。实验中发现 PNIPA 水凝胶对双氯酚酸几乎无任何亲和力,这表明载药的驱动力主要来自于药物的羧基与壳聚糖的氨基(或亚胺基)间的离子相互作用。因此壳聚糖中的氨基(及亚胺基)的数量以及 IPN 中壳聚糖的比例决定该体系的载药量。而体系的温敏性特征则主要由 PNIPA 部分决定。实验数据表明 PNIPA 含量越高,则缓释性越好,并且更接近于温敏释放模型;而壳聚糖成分越大,则载药量越大。该 IPN 载药体系能在 0.9% 的 NaCl 溶液或 pH=8 的磷酸盐缓冲液中持续释药 8h 以上。因而该体系可有效实现水溶性药物的缓释控制。

## 2.2 作为生物大分子药物的载体

目前学者们对大分子药物的研究主要集中在蛋白类,且大多为研究蛋白类药物在聚合物体系内的控释行为。另外还见有少量的作为多糖类物质以及基因工程载体的报道。

2.2.1 作为蛋白类药物的载体 庄银凤等<sup>[21]</sup>采用辐射聚合法制备了 PNIPA 均聚物、NIPA 与 HEMA (甲基丙烯酸-2-羟基乙酯)共聚物 P(NIPAM-co-HEMA)及 PNIPA/P(HEMA)IPN 水凝胶。载体合成后以木瓜蛋白酶作为模型药物,对载药后的水凝胶进行了释药测定。实验中分别用 P(NIPA-co-HEMA)和 PNIPA/P(HEMA)IPN 试样作药物载体,并于 37℃ 跟踪木瓜蛋白酶的释药过程。对于 IPN 载药体系,在开始 4~5 h 释放较快,此后类似均匀释放,8 h 后释放渐趋平衡。对于共聚物载药体系在 16 h 内类似均匀释放。实验中还通过改变单体配比和凝胶的结构,来调节水凝胶载药体系的药物可控释放,以满足不同的使用要求,得到较好的结果。

刘锋等<sup>[12]</sup>也做了类似的研究,合成了 P(NIPA-co-AA)类水凝胶,并同样以木瓜蛋白酶为模型药物,将其上载到纳米水凝胶上,在不同条件下比较了木瓜蛋白酶的生物活性。结果发现,当凝胶中羧基含量较高时,酶的活力较高;在 37℃、pH=1.0 的条件下,水凝胶处于收缩状态,药物释放很慢,而在 37℃、pH=7.4 的条件下,在一个较短的时间内(约 30 min)吸附在凝胶中的大部分木瓜蛋白酶便可释放出来。因此此类凝胶可望用于蛋白质的可控释放。此外,温度及 pH 双重敏感水凝胶还可用于胰岛素的控制释放。Chaaya 等<sup>[22]</sup>合成了具有不同分子量的 NIPA(温度敏感),甲基丙烯酸丁酯(BMA)和 AA 的三聚物水凝胶(pH 和温度双重敏感),并设计了以这些水凝胶为载体,以胰岛素为蛋白质模型药物的 DDS。另外,实验

中还在低 pH 值及低温度(三聚物的 LCST 以下),制备含有 0.2%胰岛素的三聚物水溶液,然后将此水溶液在 LCST(35℃)以上滴入油浴中。采用这种方法可保持胰岛素的稳定性,并可提高载药量。研究发现在 pH=7.4,温度为 37℃时,胰岛素的释放与三聚物的分子量有关:在低分子量时,胰岛素的释放由三聚物的溶解度控制,而在高分子量时,胰岛素的释放则由水凝胶的溶胀及药物扩散共同控制。所以,此药物控释系统,在低分子量时,可用于蛋白质药物在十二指肠的立即释放;在中等分子量时,可使蛋白质药物在小肠靶向释放;而在高分子量时,则可使蛋白质药物在结肠靶向释放。Ramanan 等<sup>[23]</sup>还采用辐射聚合方法以光敏交联剂 PEGDA(poly(ethylene glycol)diacrylate)与温敏性的 PNIPA 为原料合成纳米水凝胶,进而形成 IPN,并以 BSA(牛血清蛋白,bovine serum albumin)为模型药物来研究该体系性质。由于该体系中的 PNIPA 对温度敏感,可用于载药以实现药物的温敏控释,而 PEGDA 则对光敏感可用于体内定位。当聚合物的粒径为 100 nm 时载药量最大(可达  $32.25 \pm 2.45\%$ ),同时有很明显的缓释效果,且在 37℃(LCST 以上)时的释药速率比 25℃(LCST 以下)时要快,呈温敏释放模型。因而此体系可用于蛋白类大分子的缓控释研究。

2.2.2 作为多糖类药物的载体 Huang 等<sup>[13]</sup>合成了单分散的 P(NIPA-co-Allylamine)及 P(NIPA-co-AA),之后又在室温及中性条件下,分别用戊二醛和己二酸二氢氯噻嗪将此两种共聚物通过共价方式连接成具有三维空间结构的网状凝胶,然后将不同分子量的右旋糖苷标准品作为大分子模型药物载入其中,进行药物控释研究。通过改变各种物理参数如温度,右旋糖苷分子量以及纳米粒子的孔径和粒径等,来研究该模型的控释规律。然后对该体系上载不同分子量(分别为 10,000、40,000 和 70,000)的葡聚糖后分别于 21℃及 37℃测定各组的累积释放率,发现当右旋糖苷分子量相同时,在 21℃时的释药速率均比 37℃时快,且分子量越小差别越明显。另外,此研究还发现在所采用的网状凝胶体系中,当葡聚糖分子量较小时,室温或 37℃下体外释放均接近恒速,显示出了一种非温敏性的释放模型;当分子量增大时,则释放减慢,并呈现出温敏释放模型。实验中还发现如果凝胶孔径太小或载入的葡聚糖分子量太大则药物根本不释放。因此只有控制好各种物理参数(如温度,药物分子量,纳米粒子的孔径和粒径等),才能实现对多糖药物的可控释放。另外 Xia 等<sup>[24,25]</sup>也合成了同类型的凝胶,除右旋糖苷外还做了 BSA 相关实验,得到了相似的结果。

2.2.3 作为基因工程的载体 Twaites 等<sup>[20]</sup>通过接枝共聚法,将 PEI[poly ethyleneimine]和 PEIOA[poly-(ethyleneimine)-Octanamide]接枝到 PNIPA 上合成了具有 pH 及温度双重敏感的水凝胶,并将质粒 DNA 连接到其上形成 polymer-DNA 复合物体系应用于基因工程。实验结果表明,该复合物体系的凝胶阻留行为及粒径的变化均随温度的变化而变化,呈现出温度敏感性;另外还做了对鼠肌肉 C2C12 细胞进行转染实验,发现该体系能有效地将质粒 DNA 转染至细胞核中。

### 3 展望

PNIPA 类纳米水凝胶是近 20 年发展起来的一类新型智能材料,是所有纳米水凝胶中研究最热的几种之一,其独特的性能及其潜在的应用价值已吸引了众多的研究者。目前关于此类水凝胶基础理论研究以及应用研究的报道越来越多,相信随着基础理论的不断突破,应用研究工作的进一步深入,将会制备出有更快响应速度和更优异性能的 PNIPA 类纳米水凝胶,特别是具有温度及 pH 双重敏感的水凝胶。其研究应用范围也将从单纯的药物缓控释扩大到医药、化工、环境工程等多个行业。

### 参考文献:

- [1] Pelton R H, Chibante P. Colloids and Surfaces, 1986, 20: 247~256.
- [2] Yakup A M, Avni ? H, Zeki ?, et al. Polymer International, 1999, 48: 879~894.
- [3] Cicek H, Tuncel A. J Polym Sci, Part A: Polym Chem, 1998, 36: 543~552.
- [4] Zhuang Y F, Chen L W, Zhu Z Q, et al. Polym Adv Technol, 2000, 11: 192~197.
- [5] Yang H, Song W Q, Zhuang Y F, et al. Macromolecular Bioscience, 2003, 3: 400~403.
- [6] Yasu M, Shiroya T, Fujimoto K, Kawaguchi H. Colloid and Surf B: Biointerfaces, 1997, 8: 311~319.

- [ 7 ] Clinton D J, Lyon L A. *Macromolecules*, 2000, 33; 8301~8306.
- [ 8 ] 黄月文, 罗宣干, 卓仁禧. *高分子材料科学与工程*, 1998, 14; 141~143, 147.
- [ 9 ] Zhang X Z, Zhuo R X, Cui J Z, et al. *Int J Pharm*, 2002, 235; 43~50.
- [10] Camen A L, Concheiroa A, Dubovikb A S, et al. *J Control Release*, 2005, 102; 629~641.
- [11] Liu Y Y, Shao Y H, Lü J. *Biomaterials*, 2006, 27; 4016~4024.
- [12] 刘锋, 卓仁禧. *高分子材料科学与工程*, 1998, 14; 54~57.
- [13] Huang G, Gao J, Hu Z B, et al. *J Control Release*, 2004, 94; 303~311.
- [14] Brazel C S, Peppas N A. *Macromolecules*, 1995, 28; 8016~8020.
- [15] 杨华, 庄银凤, 朱仲祺等. *河南大学学报(自然科学版)*, 2001, 31; 67~70.
- [16] Dufresne M H, Garrec D L, Sant V, et al. *Int J Pharm*, 2004, 277; 81~90.
- [17] Zeng Y, Pitt W G. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2005, 16; 371~380.
- [18] Roux E, Francis M, Winnik F M, et al. *Int J Pharm*, 2002, 242; 25~36.
- [19] 曾宏波, 李耀邦, 张昊宇, 等. *高分子学报*, 2004, 3; 327~332.
- [20] Twaites B R, Alarcón C H, Cunliffe D, et al. *J Control Release*, 2004, 97; 551~566.
- [21] 庄银凤, 杨华, 王国伟, 等. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2004, 22; 266~270.
- [22] Chaaya R G, Liu F, Baudys M, et al. *J Control Release*, 1999, 59; 287~298.
- [23] Ramanan R M K, Chellamuthu P, Tang L P, et al. *Biotechnol Prog*, 2006, 22; 118~125.
- [24] Xia X H, Hu Z B. *Langmuir*, 2004, 20; 2094~2098.
- [25] Xia X H, Hu Z B, Marquez M. *J Control Release*, 2005, 103; 21~30.

## Application of PNIPA Nano-hydrogels for Controlled and Sustained Drug Release

ZHANG Jian, CHEN Hai-yan, GU Yue-qing<sup>\*</sup>

(*School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China*)

**Abstract:** In this article, the properties and the responsive mechanism of PNIPA nano-hydrogels were briefly introduced. And then more emphasis was placed on the application of PNIPA nano-hydrogels as drug carriers for controlled and sustained drug release. They provide liposoluble drugs with stability, solubility, bioactivity. And hydrosoluble drugs entrapped in PNIPA nano-hydrogels can be sustainedly released. They can also be used as carriers for biomacromolecule drugs to avoid disadvantage in application. PNIPA nano-hydrogels are also favourable gene engineering carriers.

**Key words:** PNIPA; Nano-hydrogel; Thermosensitive; Sustained release; Controlled release