

水凝胶纳米粒及其在生物医药领域的应用

何晓华, 邓联东, 董岸杰^{*}

(天津大学化工学院, 天津 300072)

摘要: 作为环境响应性和纳米控释给药系统, 水凝胶纳米粒主要用于毒副作用大、生物半衰期短、易被生物酶降解的多肽类、蛋白质等生物大分子药物的给药, 在生物医药领域具有越来越广阔的应用前景。本文主要综述了水凝胶纳米粒的分类、制备方法及其在生物医药领域的应用。

关键词: 水凝胶纳米粒; 生物医药; 环境响应性; 温度敏感性; pH 敏感性

水凝胶纳米粒是一类具有亚微米结构的、在水中溶胀而不溶解的聚合物微粒。水凝胶纳米粒不仅具有水凝胶的环境响应性的特点, 而且具有独特的纳米特性如界面效应、表面效应、体积效应、尺寸效应、渗流效应等, 因此水凝胶纳米粒在许多领域如环境响应、生物医药、精细材料、化学分离等具有巨大的应用潜力和广阔的应用前景, 尤其在生物医药领域中应用的水凝胶纳米粒成为人们研究的一个热点。本文就水凝胶纳米粒的分类、制备方法及其在生物医药领域的应用进行了综述。

1 分类

水凝胶纳米粒一般按照两种方法进行分类。按照所携带基团的不同, 水凝胶纳米粒可分为非离子型水凝胶纳米粒和离子型水凝胶纳米粒, 离子型水凝胶纳米粒又分为阳离子型水凝胶纳米粒和阴离子型水凝胶纳米粒。按照环境响应性, 水凝胶纳米粒又分为温度敏感型、pH 敏感型以及温度和 pH 双重敏感型。

1.1 温度敏感型水凝胶纳米粒

温度敏感型水凝胶纳米粒是一类体积随着温度变化而变化的高分子凝胶。它一般含有一定比例的亲水基团和疏水基团, 温度的变化可影响这些疏水基团相互作用及氢键作用, 导致凝胶发生体积相转变。在高于某一温度时, 水凝胶疏水作用增强, 体积发生收缩; 而低于此温度时, 水凝胶可在水中溶胀, 称这一温度为低临界溶解温度(LCSTs)。温度敏感型水凝胶纳米粒可分为热胀温度敏感型水凝胶纳米粒和热缩温度敏感型水凝胶纳米粒; 如甲基丙烯酸(MAA)与丙烯酸(AA)共价交联聚合后形成的水凝胶纳米粒就属于热胀温敏型水凝胶; 而聚 *N*、*N*-二乙基丙烯酰胺、聚环氧乙烷(PEO)等水凝胶纳米粒属于热缩温敏型水凝胶^[1]。尤其是聚(*N*-异丙基丙烯酰胺)类水凝胶纳米粒^[2], 因其 LCSTs 在 32℃ 左右, 与人体温度较为接近, 成为目前研究较多的一类热缩温敏水凝胶。

1.2 pH 敏感型水凝胶纳米粒

pH 敏感型水凝胶纳米粒的大分子骨架中通常含有悬挂的可离子化基团, 如阴离子型水凝胶纳米粒可由 AA 及其衍生物单体与疏水性单体(如 MMA、EMA)或亲水性单体(如聚乙二醇)共聚来制备^[3,4], 其 pH 敏感性来源于-COOH。阳离子型水凝胶纳米粒一般为含有氨基的聚合物水凝胶, 如聚乙烯基吡啶、*N*-异丙基丙烯酰胺与氯化三甲基-3-丙烯酰胺丙基胺的共聚凝胶等, 其 pH 敏感性来源于聚合物分子链上氨基的质子化。由于这类凝胶具有 pH 响应性和一定的形状及机械强度, 故在药物释放、化学分离、化学智能开关和催化剂载体等方面有着广阔的应用前景, 成为人们研究的热点。

1.3 温度和 pH 双重敏感型水凝胶纳米粒

近年来, 随着多肽和蛋白质药物、基因药物的应用方面的需要, 人们对具有良好生物相容性的水凝

基金项目: 国家自然科学基金(30170227);

作者简介: 董岸杰(1964—), 女, 教授, 博士, 主要研究方向为可生物降解材料、药用高分子材料和大分子自组装等领域。

Tel.: 022-27890706, E-mail: ajdong@tju.edu.cn.

胶,特别是对具有温度和 pH 双重敏感性水凝胶的研究越来越深入^[5,6],这类水凝胶通常由互穿聚合物网络(IPN)技术制备,也可由交联的均聚物或共聚物构成。目前在双重敏感水凝胶研究的基础上,增加其它响应性能的研究也呈现出一定的趋势^[6,7]。但是关于纳米级温度和 pH 双重敏感水凝胶的研究报道还很少见。

2 水凝胶纳米粒的制备

2.1 乳液聚合法

水凝胶纳米粒可由乳液聚合法制备,即在乳化剂、交联剂作用下,单体经聚合生成粒径在 20~300 nm 之间水凝胶纳米粒。但这种方法由于需要进一步除去具有一定毒性的未反应单体等物质,因此这对于生产安全、无毒的药物产品来说还具有挑战性。另外,由于目前的凝胶纳米粒大多是凭借经验,通过多次不同方案制备得到的,对于其形成机制的了解还很少,对此 Tobita^[8]用苯乙烯、二乙烯基苯、甲基丙烯酸丙烯酸酯制备了水凝胶纳米粒,对乳液聚合法制备水凝胶纳米粒提出了新的见解,指出在乳液聚合初期聚合物的交联密度就很高;重均分子量同单体转化率呈线性关系且分子量分布较窄。

Vinogradov 等^[9]采用乳液聚合法制备出了 PEO 与聚乙烯亚胺(PEI)共聚物 PEO-cl-PEI 水凝胶纳米粒,它是一种由阳离子链 PEI 与亲水性非离子链 PEO 组成的典型的分散共聚网络。PEO-cl-PEI 水凝胶纳米粒具有膨胀的聚电解质网络和亲水性非离子网络的复合特性,即聚电解质链能吸附反离子或大分子,使凝胶收缩,同时非离子亲水性链能抑制凝胶收缩,并使颗粒稳定分散于连续相中。PEO-cl-PEI 水凝胶纳米粒可与许多物质反应(包括阴离子表面活性剂、聚核苷酸等),并能固定负电荷生物活性组分,如类维生素 A 酸、消炎痛、寡核苷酸或疏水性分子等。

2.2 辐射聚合法

辐射聚合法是一种利用 γ 射线或电子射线辐射引发单体聚合来制备水凝胶纳米粒的方法,该方法不需要引发剂,可在低温下进行,控制方便,不需添加其它助剂或添加量非常小,具有无毒、安全等特点,该法适合于制备数量小、纯度高的生物医用材料。Ulański 等^[10]通过动力学研究发现,许多水溶性聚合物,如聚乙烯醇(PVAL)、PEO 等,在这种辐射条件下都会产生分子间的交联,并在聚合过程中重均分子量几乎保持恒定,而大分子的旋转半径显著下降,最终得到预期的内部交联的分子结构。该法同样适用于聚丙烯酸^[11]和聚乙烯吡咯烷酮^[12]水凝胶纳米粒的制备。Rosiak 等^[13]对一系列已除氧的聚合物水溶液中的线性聚合物分子施以短暂而强烈的脉冲,发现同样在每个大分子上同时产生许多自由基,分子内交联促使了水凝胶纳米粒的生成。这种方法已成功地应用到一些水溶性聚合物水凝胶纳米粒的制备过程中,通过控制过程参数,可获得具有特定分子量的纳米到微米级水凝胶。

2.3 分散聚合法

分散聚合是一种特殊类型的沉淀聚合,即反应前单体、分散剂和引发剂都溶解在介质中形成均相体系,随反应进行,聚合物链达到临界链长,此时不溶解在介质中的聚合物沉析出来,并借助于分散剂稳定地悬浮在介质中,形成稳定分散体系。该法制备水凝胶纳米粒的方法简单,且产物性能安全,有相对较大的药物负载能力。Capek^[14]通过分散聚合制备出了梳型、星型、接枝共聚纳米凝胶,分析了引发剂、温度、PEO 大分子类型、以及表面吸附剂等对吸附-解附平衡、胶体稳定性等的影响,同时还提出动力学模型,为进一步研究分散聚合机理提供了良好的依据。Leobandung^[15]在聚(*N*-异丙基丙烯酸酰胺-co-甲基丙烯酸聚乙二醇酯)水凝胶纳米粒上载入等量胰岛素后,研究分析了温度、剪切力对胰岛素变性的影响,结果表明纳米粒在高温、高剪切力条件下对胰岛素起到保护作用,即在流化床涂层技术中,该纳米粒有望成为胰岛素良好的载体。

2.4 自组装法

从生物学角度出发,自组装法是指由分子或亚基自发形成超分子结构的过程,不需要额外的能量,而生物分子良好的识别性能为可逆网络结构的组装提供了一个可靠的控制机制,同时通过分子自组装形成的水凝胶更能模拟精细的生物和天然大分子体系,是真正意义的仿生材料,它在生命大分子领域中的应

用也日趋增强。如 Gu 等^[16]将 3 个特定结构的脱氧核糖核酸(DNA)低聚体自组装成三官能团的三元连结体(three-way junction),该连结体的末端单链再同生物素/肽核酸(PNA)链互补,以此制备出的 DNA-PNA 双螺旋结构可用来研究热可逆性纳米凝胶。

2.5 互穿聚合物网络(IPN)法

互穿聚合物网络(IPN)水凝胶纳米粒是指由两种共混的聚合物分子链相互贯穿并以化学键的方式各自交联而形成的网络结构纳米凝胶,该技术也是制备水凝胶纳米粒的方法之一。如 Shin 等^[17]在 NIPAAm、N,N-亚甲基双丙烯酰胺(NMBA)形成的均相体系中加入四甲基正硅酸盐(TMOS),TMOS 加水分解形成纳米多孔硅土,紫外照射下使 NIPAAm、NMBA 反应形成 PNIPAAm 凝胶,由此制备出了互穿结构的复合水凝胶纳米粒。研究表明当温度升高时,聚合物水凝胶收缩,迫使药物进入多孔的通道中。同时,当对外界开放孔结构时,药物缓慢的从孔隧道中分散出去,整体释放速率受控于水凝胶纳米粒的固含量。

3 在生物医学方面的应用

目前,作为环境响应性及纳米控释给药系统,水凝胶纳米粒在生物医药方面的应用受到广泛关注。高分子智能水凝胶纳米粒作为药物载体,具有减少服药次数,屏蔽药物的刺激性气味、通过外界条件可人为控制药物剂量、提高药物疗效并降低药物的成本等优点^[18],主要用于毒副作用大、生物半衰期短、易被生物酶降解药物的给药,如胰岛素、抗癌药物等,另外水凝胶纳米粒在食疗等领域也有所应用。

3.1 蛋白模拟控释药物

近年来,在生物技术领域,关于各种异源系统中具有生物活性的重组蛋白的研究倍受关注。在活的生物体中,蛋白重折叠时,分子蛋白伴侣有选择性地限制退热蛋白或它们的中间体以防止由大分子主(分子蛋白伴侣)-客(蛋白质)相互作用而形成的不可逆聚集。然后在三磷酸腺苷(ATP)及另一蛋白伴侣协助下,主蛋白伴侣再将其释放蛋白重折叠。为了模拟分子蛋白伴侣的这种功能,Nomura 等^[19]用两性自组装水凝胶纳米粒作为客蛋白的主蛋白,即利用疏水性聚糖类,如抗胆固醇出芽短梗孢糖(CHP)可在水中通过内部大分子自发结合形成水凝胶纳米粒来实现主蛋白模拟。这种水凝胶纳米粒在水中可与多种可溶性蛋白或酶形成复合物,如它能与热变性蛋白形成比原蛋白(分子蛋白伴侣)更强的复合物,并能在环糊精存在条件下,依靠水凝胶纳米粒的离解,有效释放以蛋白天然构象重新折叠的蛋白复合物,从而使水凝胶纳米粒显示出与分子蛋白伴侣机械性能类似的热激蛋白的活性,它的作用机理同分子伴侣相似。

CHP 水凝胶纳米粒可与多种疏水性物质及不溶性蛋白作用,因而它也能应用于胰岛素和抗癌疫苗的给药。目前 Lee 等^[20]已经观察到存在 β -环葡聚糖时去折叠作用显著,并显示出类似蛋白伴侣活性,在此过程中 β -环葡聚糖的疏水性空腔通过疏水内部作用快速筛过伴随着 CHP 分子的胆固醇组分。这种疏水敏感性材料可用于在疏水环境下的分子靶向及控释,如在受伤或慢性疾病状况下,去折叠的 CHP 分子能通过疏水表面形成亲水性出芽短梗孢糖层来增强非凝血酶原作用。

3.2 口服药物

寡核苷酸药性温和、口感良好,一些研究者试图将它制成口服类药物,但在实际应用中人们发现,寡核苷酸在到达肠胃时药性已经退化,其药效也很低(小于 1%)。因此这种口服药物在到达靶向目标之前药效的恒定还有待进一步提高。Vinogradov 等^[9]用极化的 Caco-2 细胞单分子层和标准的 Side-Bi-Side 两室装置作为肠胃上皮的体外模型,通过测量寡核苷酸通过肠上皮时的渗透性,研究寡核苷酸 PEO-cl-PEI 水凝胶纳米粒作为口服药物的可行性。分析结果表明,由于跨细胞传送路径的增强,与水凝胶纳米粒作用过的寡核苷酸,在穿过 Caco-2 细胞单分子层时的传递速率明显要比没有被修饰过的寡核苷酸快,而且在穿过肠细胞单分子层时固定在凝胶纳米颗粒中的寡核苷酸药性没有出现退化现象,可见此类方法在口服给药中有望得到应用。

另外,用于治疗的多肽和蛋白质具有灵敏的生物化学特性,目前只能用肌肉或静脉注射给药才能达到较好的药效。但是在生物流体中蛋白酶素会使它们的感受体退化,同时长时间、多剂量的药物注射也给病人带来了痛苦。作为当前研究趋势,复合型和 pH-敏感型水凝胶能引起较强的环境响应性而成为肽

类口服药物的合适“候选”。

3.3 大脑给药

带有生物活性组分的纳米凝胶颗粒经过多肽配合基体修饰,可用于感受体介质传输。Vinogradov 等^[9]证实了 PEO-*cl*-PEI 中固定的寡核苷酸能被细胞有效吸收并在细胞内部进行释放。寡核苷酸水凝胶纳米粒的形成使细胞模型中的寡核苷酸抗致敏性增强。这种传输体系能增强口部和脑部生物利用度。大脑作为给药系统潜在的靶向组织,最近引起了人们的重视,中枢神经系统的分离导致药物在大脑中的传输成为一项挑战。目前,有关药物能够通过血脑屏障(BBB)进行成功传递的报道还是很少见。BBB 是由紧密连接的脑毛细血管内皮细胞所构成,其外层由星形细胞的足突组成的一层坚韧的胶质膜所覆盖,使得血液中的物质不能从细胞连接的空隙中通过。就共聚物片断、聚合物胶束、脂质体和纳米颗粒而言,用水凝胶纳米粒来实现到大脑的给药是最有吸引力的。Vinogradov 等^[9]将牛脑微管内吞细胞作为体外 BBB 模型进行了研究,表明与 PEO-*cl*-PEI 水凝胶纳米粒中寡核苷酸内部作用使得寡核苷酸穿过细胞单层时的作用显著上升。当寡核苷酸经过胰岛素或转铁递蛋白向导(transferrin vectors)修饰后,这种作用更为明显,它们都能通过受体介导胞吞转运作用,穿过 BBB 进入大脑进行给药。然而使用水凝胶纳米粒时寡核苷酸能提高大脑生物利用度还有待进一步证实。

3.4 关节滑液

Rosiak 等^[13]发现水凝胶纳米粒比线性分子具有更好的防止自由基引起的老化的性能,并能刺激透明质胶的粘弹性。如在一些炎症中,关节滑液的天然聚合物-透明质胶将会退化而不再提供正常的粘弹性,用注射透明质胶的手段治疗时,费用昂贵且效果不长久。而水凝胶纳米粒作为智能纳米药物载体,具有很好的靶向性、环境自我调节性以及比较适宜的药物释放半衰期,本身又具有良好的耐老化性能,因而能提供长期的令人满意的效果。

3.5 凝胶食疗产品

目前,肥胖被认为是导致多种疾病的根源而成为医学及社会问题。通常肥胖者通过物理运动、合理饮食就能达到减肥效果,同时通过使用药物或食物添加剂的方法也能达到此目的。Rosiak 等^[13]就此研制出了凝胶食疗产品。它由两种活性成分:一种是由辐射交联而获得的生物相容干燥水凝胶纳米粒;另一种是阳离子脂肪结合剂,并将它们嵌入可食用无糖基质中。在消化道中,基质缓慢释放活性组分;而凝胶在胃中溶胀(一般为干体积的 100 倍左右),从而给人一种饱的感觉,而脂肪结合剂可消除脂肪酸,减少它们在肠中的吸收,达到真正减肥的目的。这种产品还处于实验室研究阶段。

4 展望

水凝胶尤其是智能型水凝胶在许多方面潜在很大的应用前景。如特定响应的水凝胶,既可用于生物传感器也可用于药物释放体系;一些环境响应水凝胶用于药物释放、生物分离、细胞固化载体等。但实际应用时这些响应性水凝胶往往响应时间较长,生物相容性较差,因此制备较薄和较小的水凝胶,如水凝胶纳米粒,是解决上述问题的一个最简单的方法。但这种水凝胶的机械强度、持久性总不能令人满意。因此,制备出优异性能的智能型水凝胶纳米粒具有极大的挑战性。

参考文献:

- [1] 郭锦堂,李雄勇,李伶.化学通报,2004,3:118~204.
- [2] Ma X M, Cui Y J, Zhao X, et al. J Colloid Interface Sci, 2004, 276: 53~59.
- [3] 朱雪燕,陈明清,刘晓亚,等.江南大学学报(自然科学版),2004,3(1):383~86.
- [4] Madine T L, Nicholas A, Peppas J Nanoparticle Res, 2002, 4: 73~81.
- [5] Hee K J, So Y K, Young M L. Polymer, 2001, 42: 6851~6857.
- [6] Zhai M L, Zhang Y Q, Ren J, et al. Carbohydr Polym, 2004, 58: 35~39.
- [7] Liu Y Y, Fan X D. Polymer, 2002, 43: 4997~5003.
- [8] Tobita H, Kumagai M, Aoyagi N. Polymer, 2000, 41: 481~487.

(下转第 57 页)

The Synthesis of Microgels in Solution

LIU Lian-ying, SUN Yu-feng, HE Chen-feng, YANG Wan-tai *

(Key Laboratory of Science and Technology of Controllable Chemical Reactions, Ministry of Education,
College of Material Science and Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: Synthesizing microgels in solution is typically characterized with very low initial monomer concentration and quite incomplete conversion, which are disadvantageous to practice. In order to overcome these shortcomings, various attempts have been made in recent years. In this review, the latest investigations on the synthesis of microgels through polymerization of monomer or macromonomer in a concentrated solution, or cross-linking linear macromolecules directly in solution were overviewed and the research work need to be done in future was discussed.

Key words: Solution; Microgel; Synthesis

(上接第 13 页)

[9] Vinogradov S V, Bronich T K, et al. Adv Drug Delivery Rev, 2002, 54; 135~147.
[10] Ulański P, Janik I, Rosiak J M. Radiat Phys Chem, 1998, 52(1-6); 289~294.
[11] Ulański P, Kadlubowski S, Rosiak J M. Radiat Phys Chem, 2002, 63; 533~537.
[12] Ulański P, Rosiak J M. Nucl Instr Meth in Phys Res B, 1999, 151; 356~360.
[13] Rosiak J M, Janik I, Kadlubowski S, et al. Nucl Instr Meth in Phys Res B, 2003, 208; 325~330.
[14] Capek I. Adv Colloid Interface Sci, 2000, 88; 295~357.
[15] Leobandung W, Ichikawa H, Fukumori Y, et al. J Control Release, 2002, 80; 357~363.
[16] Gu Z Y, Patterson G, Cao R, et al. J Polym Sci, Part B: Polym Phys, 2003, 41; 3037~3046.
[17] Shin Y, Chang J H, Liu J, et al. J Control Release, 2001, 73; 1~6.
[18] 李威, 王文峰, 李荣群, 等. 核技术, 2002, 25(8); 624~630.
[19] Nomura Y, Ikeda M, Yamaguchi N, et al. FEBS Lett, 2003, 553; 271~276.
[20] Lee I, Akiyoshi K. Biomaterials, 2004, 25; 2911~2918.

Biomedical Application and Preparation of
Hydrogel Nanoparticles

HE Xiao-hua, DENG Lian-dong, DONG An-jie *

(School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: As a kind of environmentally sensitive and controlled drug release systems, hydrogel nanoparticles have shown more and more potential application in the field of biomedicine. They were mainly used in the delivery of biomacromolecules such as polypeptide, protein etc., which have the properties as strong toxicity and side effect, short biological half-life time, easily degraded by bioenzyme. This review mainly summarizes the classification, preparation of hydrogel nanoparticles and their application in the field of biomedicine.

Key words: Hydrogel nanoparticles; Biomedicine; Environmentally sensitive; Temperature sensitive; pH sensitive