

光交联羧甲基壳聚糖水凝胶的 制备及药物缓释性能研究

Preparation of photo-crosslinking carboxymethyl
chitosan hydrogel for sustained drug release

候冰娜¹, 李 进¹, 倪 凯¹, 韩超越¹, 沈惠玲¹,
赵琳琳², 李征征^{1,3,4,5}

(1 天津科技大学 化工与材料学院, 天津 300457;

2 天津理工大学 材料科学与工程学院, 天津 300457;

3 复旦大学 聚合物分子工程国家重点实验室, 上海 200433;

4 天津科技大学 天津市海洋资源与化学重点实验室, 天津 300457;

5 天津科技大学 天津市制浆造纸重点实验室, 天津 300457)

HOU Bing-na¹, LI Jin¹, NI Kai¹, HAN Chao-yue¹, SHEN Hui-ling¹,
ZHAO Lin-lin², LI Zheng-zheng^{1,3,4,5}

(1 School of Chemical Engineering and Materials, Tianjin University of
Science and Technology, Tianjin 300457, China; 2 School of Materials
Science and Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin
300457, China; 3 State Key Laboratory of Molecular Engineering
of Polymers, Fudan University, Shanghai 200433, China; 4 Tianjin
Key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, Tianjin
University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;
5 Tianjin Key Laboratory of Pulp and Paper, Tianjin University
of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

摘要: 羧甲基壳聚糖是一种壳聚糖衍生物,具有良好的生物相容性和可降解性,在生物医药领域具有广泛的应用。本研究合成一种可光交联的水溶性羧甲基壳聚糖衍生物。通过对羧甲基壳聚糖进行双键修饰,合成甲基丙烯酸缩水甘油酯改性的羧甲基壳聚糖(M-CMCS),并通过核磁共振氢谱(¹H-NMR)和傅里叶变换红外光谱(FT-IR)对 M-CMCS 的结构进行表征。通过光引发 M-CMCS 交联制备具有不同交联度的 M-CMCS 水凝胶。通过扫描电子显微镜(SEM)、流变仪和紫外-可见分光光度计(UV-Vis)分别对 M-CMCS 水凝胶的微观形态、黏弹性能、溶胀性能、酶促降解性能和体外药物释放性能进行了研究。结果表明:随着甲基丙烯酸缩水甘油酯与羧甲基壳聚糖的氨基摩尔比的增加,产物的接枝度逐渐增加。M-CMCS 水凝胶具有高度孔隙化且孔隙之间相互连通的结构特点,孔径在 1~20 μm 范围内。随着交联度的增大,M-CMCS 水凝胶的溶胀比减小。M-CMCS 水凝胶在溶菌酶作用下缓慢降解,随着交联度的增大,降解速率减慢。M-CMCS 水凝胶对抗癌药物吉西他滨具有缓释作用,药物释放时间可达 4 天。光交联 M-CMCS 水凝胶在药物释放及组织工程领域具有重要的应用前景。

关键词: 羧甲基壳聚糖;水凝胶;光交联;药物缓释

doi: 10.11868/j.issn.1001-4381.2020.000025

中图分类号: O63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-4381(2020)11-0076-09

Abstract: Carboxymethyl chitosan is an important chitosan derivative with good biocompatibility and degradability, and has a wide range of biomedical applications. In this study, water-soluble carboxymethyl chitosan derivative that can be photo-crosslinked by UV irradiation was synthesized. Methacrylated carboxymethyl chitosan (M-CMCS) was synthesized by N-methacrylation of carboxymethyl chitosan (CMCS). The chemical structures of M-CMCS were characterized by ¹H NMR and FT-IR. The M-CMCS hydrogels with different degrees of crosslinking was prepared by UV-

triggered photo-crosslinking. The microscopic morphology, mechanical properties, swelling properties, enzymatic degradation properties and *in vitro* drug release behaviors of M-CMCS hydrogels were investigated by SEM, rheometer, and UV-Vis spectroscopy, respectively. The results show that the degree of methacrylation is gradually increased as the molar ratio of glycidyl methacrylate to carboxymethyl chitosan increases. M-CMCS hydrogels have the structure of high porosity and interconnected pores with the pore size of 1-20 μm . The swelling ratio of M-CMCS hydrogels is decreased as the degree of crosslinking increases. M-CMCS hydrogel can be slowly degraded by lysozyme, and the degradation rate is decreased by increasing the degree of crosslinking. M-CMCS hydrogels show sustained release behavior for anticancer drug gemcitabine, and the drug release can be extended to 4 days. Photo-crosslinked M-CMCS hydrogels show great promise for drug release and tissue engineering.

Key words: carboxymethyl chitosan; hydrogel; photo-crosslinking; sustained drug release

水凝胶是一种由亲水性高分子通过化学或物理交联而形成的具有三维网络结构的聚合物,能够吸收并保持大量的水或生物流体^[1-3]。水凝胶具有与天然组织相似的微环境,都有较高的含水量(最高达 99%)^[4-5]。水凝胶具有良好的生物相容性,在生物医药领域有广泛的应用^[6],如伤口敷料^[7-8]、隐形眼镜^[9]、组织工程和药物递送领域^[10-11]。水凝胶的交联方式分为物理交联和化学交联,物理交联水凝胶基于氢键、离子键、范德华力等非共价键交联,一般具有较差的稳定性^[12-14]。相比于物理交联水凝胶,化学交联的水凝胶通过各种化学反应形成三维网络,具有更优异的力学性能,应用范围更加广泛。光交联是一种在低强度紫外光下使聚合物发生交联的方法,光交联反应条件温和、副产物少、反应效率高、反应过程易控制^[15-16]。光交联水凝胶被广泛用于生物医学领域,包括预防血栓形成、术后粘连形成、药物/细胞递送、生物传感器涂层和细胞移植等领域^[17]。通常,通过化学改性将可交联的双键引入聚合物分子链中,在紫外光照下通过光引发形成交联网络^[18]。Choi 等^[19]通过烯丙基修饰的海藻酸钠与 N-异丙基丙烯酰胺之间的光交联反应合成了多响应水凝胶,其对温度和金属离子具有双重响应,能够用作形状记忆材料。Yuan 等^[20]通过两步法合成了具有高力学性能的可注射水凝胶,氧化海藻酸钠的醛基和氨基明胶的氨基首先发生席夫碱反应形成一级网络,然后经紫外光引发甲基丙烯酸酯的自由基反应生成二级网络。光交联水凝胶具有增强的力学性能,良好的生物相容性和可控的降解速率,在生物医学领域具有潜在的应用价值。

壳聚糖是一种具有生物降解性和生物相容性的天然氨基多糖,具有较高的应用价值^[21],在食品、化工及生物医学等领域有广泛应用。然而,壳聚糖仅溶解于酸性溶液中,极大地限制了壳聚糖的应用。羧甲基壳

聚糖(CMCS)是一种水溶性的壳聚糖衍生物,具有良好的生物相容性和可降解性,在抗菌^[22]、重金属离子吸附^[23]、食品保鲜^[24]及药物载体^[25]等领域有着广阔的应用前景。Wahid 等^[26]通过在羧甲基壳聚糖基质中原位形成氧化锌(ZnO)纳米棒,成功制备了抗菌羧甲基壳聚糖/ZnO 纳米复合水凝胶。结果表明,CMCS/ZnO 水凝胶比 CMCS 水凝胶具有更优异的杀菌效果。随着水凝胶中 ZnO 纳米棒浓度的增加,杀菌作用增强,杀菌率最高可达 99%,证明 CMCS/ZnO 纳米复合水凝胶具有优异的抗菌活性。Luo 等^[27]以戊二醛为交联剂制备了羧甲基壳聚糖水凝胶,制得的水凝胶对钴离子(Co^{2+})具有一定的吸附作用,在最佳条件下每克羧甲基壳聚糖水凝胶能够吸附 72.84 mg 的 Co^{2+} ,表明羧甲基壳聚糖水凝胶具有良好的重金属吸附作用。

本工作通过对羧甲基壳聚糖进行改性,制备了一种可光交联的甲基丙烯酸缩水甘油酯改性的羧甲基壳聚糖(M-CMCS),并通过核磁共振氢谱($^1\text{H-NMR}$)和傅里叶变换红外光谱(FT-IR)对其结构进行了表征。考察了甲基丙烯酸缩水甘油酯与羧甲基壳聚糖的氨基摩尔比对产物甲基丙烯酸基含量和接触角的影响。通过紫外光交联合成了 M-CMCS 水凝胶,并考察了甲基丙烯酸缩水甘油酯用量和光照时间对水凝胶微观形态、黏弹性能、溶胀性能、降解性能及药物释放性能的影响。

1 实验材料与amp;方法

1.1 试剂

羧甲基壳聚糖(CMCS),取代度 $\geq 80\%$,上海麦克林生化科技有限公司;甲基丙烯酸缩水甘油酯(GMA),上海谱振生物科技有限公司;2-羟基-4-(2-羟

基乙氧基)-2-甲基苯丙酮(I2959),上海凯茵化工有限公司;鸡蛋清溶菌酶,上海阿拉丁试剂有限公司;吉西他滨,纯度>99%,上海伟进生物科技有限公司。

1.2 实验过程

称取 0.2 g 羧甲基壳聚糖粉末于烧杯中,加入 40 mL 去离子水,磁力搅拌至粉末完全溶解。按照甲基丙烯酸缩水甘油酯与羧甲基壳聚糖上氨基的摩尔比移取一定量的甲基丙烯酸缩水甘油酯,并在磁力搅拌下,缓慢滴加到烧杯中,反应 48 h。加入 HCl 水溶液(1 mol/L)中和反应溶液,使用渗析袋渗析 1 天,经冷冻干燥后,得到白色絮状甲基丙烯酸缩水甘油酯改性的羧甲基壳聚糖(M-CMCS)。

将 M-CMCS 溶于 4.0%(质量分数,下同)磷酸盐缓冲溶液(PBS)中,加入一定量的光引发剂 I2959(0.01%)。将上述混合水溶液倒入圆柱形模具中,然后在紫外光(100 W)下照射 5~30 min 以制备化学交联的 M-CMCS 水凝胶,经冷冻干燥后得到干凝胶。

1.3 测试与性能表征

1.3.1 M-CMCS 的表征

采用 JNM-AL400 核磁共振氢谱仪对 M-CMCS 样品进行核磁氢谱测定,将 M-CMCS 以 1.0% 的浓度溶解在重水 D₂O 中,测试条件为 400 MHz。采用 MAGNA560 傅里叶红外光谱仪对 M-CMCS 样品进行红外光谱测定,样品用 KBr 压片,波数范围为 500~4000 cm⁻¹,扫描 32 次,分辨率为 4 cm⁻¹。

1.3.2 M-CMCS 水凝胶的流变学研究

采用 RS6000 旋转流变仪研究 M-CMCS 水凝胶的流变行为。从圆柱形模具中取厚度为 1.0 mm 的水凝胶样品于行板之间,调节板间距为 1.0 mm,测试 M-CMCS 水凝胶的储能模量(G')与损耗模量(G'')随应变(γ)的变化曲线,测试条件为频率 1 Hz,温度 37 ℃。

1.3.3 M-CMCS 水凝胶的溶胀曲线

称取一定量的 M-CMCS 干凝胶,在 37 ℃ 下浸入磷酸盐缓冲溶液中,一段时间后取出水凝胶,去除过量的磷酸盐缓冲溶液后称重。所有实验进行 3 次取其平均值。溶胀比 S_w 由水凝胶质量(m_{wet})与干凝胶质量(m_{dry})确定,如式(1)所示:

$$S_w = m_{wet}/m_{dry} \quad (1)$$

1.3.4 M-CMCS 水凝胶的形态学研究

通过 SU9000 扫描电子显微镜观察水凝胶的形态结构,将冷冻干燥后的 M-CMCS 水凝胶样品在液氮中淬冷 30 s,制成切片,然后进行喷金处理,喷金时间为 5 min,观察 M-CMCS 水凝胶的微观结构。

1.3.5 M-CMCS 水凝胶的体外降解

通过测试在溶菌酶环境下 M-CMCS 水凝胶的质

量随时间的变化来评估水凝胶的体外酶促降解反应。将水凝胶样品冷冻干燥后称重(M),再将其浸于含有 10 mg/mL 鸡蛋清溶菌酶的 PBS 中培养。培养一定时间后,取出水凝胶样品用蒸馏水冲洗,并冷冻干燥称重(m),计算水凝胶的质量损失率 M_a ,如式(2)所示:

$$M_a = \frac{M-m}{M} \times 100\% \quad (2)$$

1.3.6 M-CMCS 水凝胶的体外药物释放

采用 Mini-1024 紫外-可见分光光度计测试 M-CMCS 水凝胶的体外药物释放性能。将 M-CMCS 和抗癌药物吉西他滨溶于 PBS 溶液中,M-CMCS 的浓度为 7.0%,吉西他滨的浓度为 10 mg/mL,加入光引发剂 I2959(0.01%)。在圆柱形模具中加入 1 mL 的 M-CMCS 溶液,在紫外灯下照射 15 min,制得 M-CMCS 载药凝胶。将 M-CMCS 载药凝胶浸泡于 20 mL PBS 中,再置于 37 ℃ 的恒温水浴摇床中进行培养,振荡速度为 20 r/min。经一定时间后,移取 1 mL PBS 溶液,并加入等体积的新鲜 PBS 来补偿释放介质。通过 Mini-1024 紫外-可见分光光度计测量释放介质中的药物浓度,绘制药物释放曲线。

2 结果与分析

2.1 M-CMCS 的合成和表征

在室温条件下,以羧甲基壳聚糖为原料,通过甲基丙烯酸缩水甘油酯的环氧基团与羧甲基壳聚糖的氨基反应合成了具有不同甲基丙烯酸基含量(D_M)的甲基丙烯酸缩水甘油酯改性的羧甲基壳聚糖(M-CMCS),反应式如图 1 所示。

如表 1 所示,通过改变甲基丙烯酸缩水甘油酯与羧甲基壳聚糖的进料摩尔比,合成具有不同甲基丙烯酸基含量(D_M)的 M-CMCS。M-CMCS 的甲基丙烯酸基含量随甲基丙烯酸缩水甘油酯的进料摩尔比增加而增大。除此之外,通过接触角测量仪测量了 M-CMCS 水溶液的接触角,M-CMCS 的接触角随甲基丙烯酸基含量的增大而升高,表明 M-CMCS 的疏水性随甲基丙烯酸基含量的增大而逐渐增强。

图 2 为不同反应条件下 M-CMCS 的核磁共振氢谱(¹H-NMR)。其中, $\delta=4.65$ 处是溶剂重水的质子吸收峰, $\delta=3.2\sim 4.0$ 处的重叠峰是吡喃葡萄糖基环上 H₂~H₇ 的质子吸收峰, $\delta=2.6$ 处是氨基的质子吸收峰,而 $\delta=5.65$ 和 $\delta=6.1$ 处是乙烯基的质子吸收峰, $\delta=1.85$ 处是甲基丙烯酸基上甲基的质子吸收峰。结果表明,与羧甲基壳聚糖相比,M-CMCS 谱图中氨

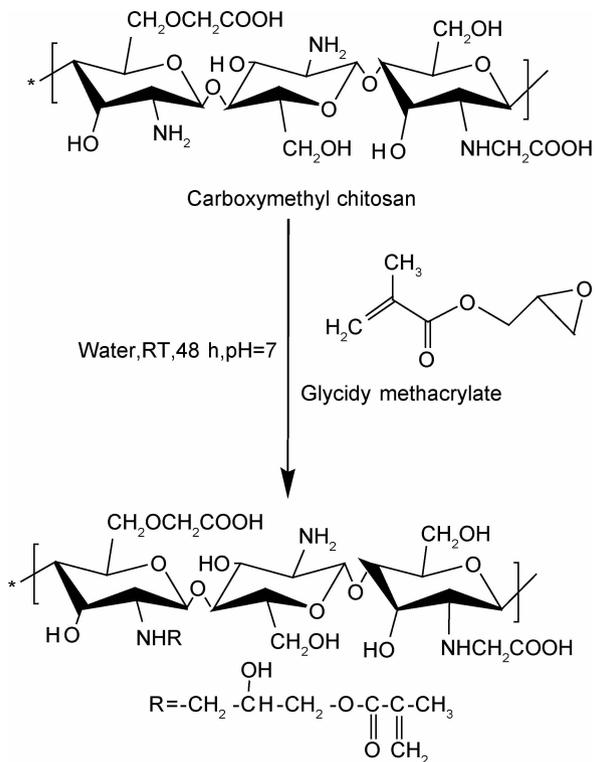


图 1 甲基丙烯酸缩水甘油酯改性羧甲基壳聚糖的合成路线
Fig. 1 Synthetic route of methacrylated carboxymethyl chitosan

表 1 M-CMCS 的合成配方

Table 1 Synthetic results of M-CMCS

Sample	GMA/ CMCS	$D_M/\%$	Contact angle/ $^\circ$	Yield/ $\%$
M-CMCS1	0.6	14	20.80	83
M-CMCS2	0.7	19	22.87	84
M-CMCS3	0.8	23	58.52	90

基的质子峰逐渐消失,而甲基丙烯酸基上乙烯基和甲基的质子峰逐渐明显,证实了甲基丙烯酸缩水甘油酯的环氧基团与羧甲基壳聚糖的氨基发生了反应。甲基丙烯酸基含量由 $\delta=1.85$ 处甲基质子峰(峰 c)相对于 $\delta=3.2\sim 4.0$ 处吡喃葡萄糖基质子峰(峰 d)的峰面积计算。

图 3 为不同反应条件下 M-CMCS 的红外谱图。3400 cm^{-1} 处的宽吸收峰为羟基伸缩振动峰和亚氨基伸缩振动峰的重叠峰。2900 cm^{-1} 处的吸收峰则归因于亚甲基基团,1427 cm^{-1} 和 1624 cm^{-1} 处的吸收峰是羧甲基壳聚糖上氨基的弯曲振动峰和羰基的伸缩振动峰。与羧甲基壳聚糖谱图相比, M-CMCS 谱图在 1710 cm^{-1} 处出现了甲基丙烯酸基上 C=C 双键的伸缩振

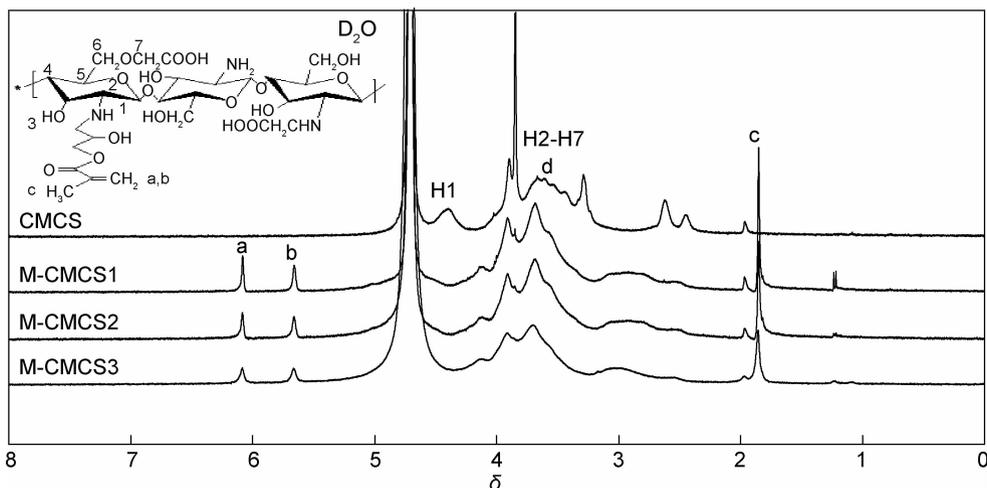


图 2 CMCS 和 M-CMCS 的核磁共振谱图

Fig. 2 $^1\text{H-NMR}$ spectra of CMCS and M-CMCS

动吸收峰,而 1427 cm^{-1} 处的氨基吸收峰逐渐减弱,表明羧甲基壳聚糖分子链上的氨基与甲基丙烯酸缩水甘油酯发生了反应,成功制备了 M-CMCS。

2.2 M-CMCS 水凝胶的光交联

通过紫外光引发碳-碳双键发生自由基聚合形成交联结构,合成了 M-CMCS 水凝胶。将 M-CMCS 溶液在紫外光下分别照射 5, 15 min 和 30 min, 获得了具有不同交联度的水凝胶。光交联 M-CMCS 干凝胶的红外光谱图如图 4 所示,在 1710 cm^{-1} 处振动峰的减小是由于 C=C 双键发生反应消失所致。M-CMCS

水凝胶的红外谱图表明,随着光照时间的增长,双键的伸缩振动吸收峰逐渐减少,表明 M-CMCS 发生了光交联反应。

2.3 M-CMCS 水凝胶的黏弹行为

如图 5 所示,通过流变学实验研究了光交联 M-CMCS 水凝胶的黏弹行为。图 5 显示了不同甲基丙烯酸缩水甘油酯改性的 M-CMCS 水凝胶的储能模量 (G') 和损耗模量 (G'') 随应变的变化曲线。在整个应变范围内, M-CMCS 水凝胶的储能模量都高于损耗模量,表明 M-CMCS 光交联水凝胶具有很好的弹性。

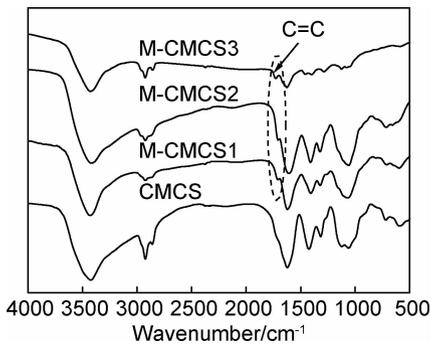


图3 不同反应条件下 M-CMCS 的红外谱图

Fig. 3 FT-IR spectra of M-CMCS with different reaction conditions

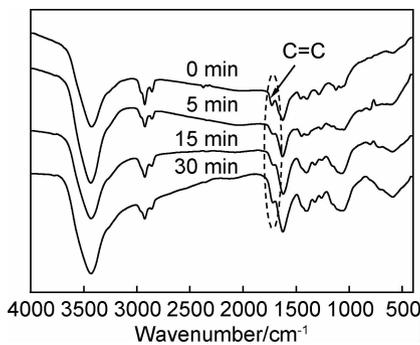


图4 光交联 M-CMCS3 水凝胶的红外谱图

Fig. 4 FT-IR spectra of photo-crosslinked M-CMCS3 hydrogels

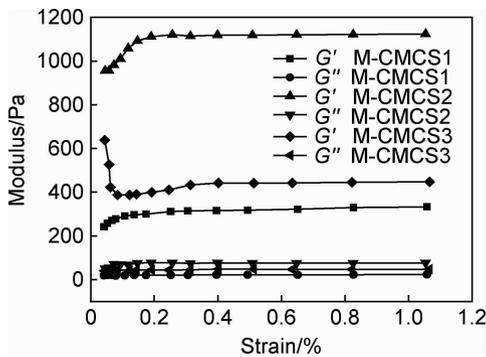


图5 光照 15 min 的 M-CMCS 水凝胶的黏弹性性能

Fig. 5 Viscoelastic properties of M-CMCS hydrogels with 15 min of irradiation

M-CMCS2 水凝胶的 G' 值比 M-CMCS1 和 M-CMCS3 水凝胶的 G' 高, 而 M-CMCS3 水凝胶的 G' 值高于 M-CMCS1 水凝胶, 这是由 M-CMCS 水凝胶的交联密度所决定的。M-CMCS2 比 M-CMCS1 含有更多的甲基丙烯酸基, 导致其水凝胶的交联密度要高于 M-CMCS1 水凝胶, 从而弹性更好。但 M-CMCS3 水凝胶的 G' 值低于 M-CMCS2 水凝胶的 G' 值, 这可能是由于 M-CMCS3 水凝胶的交联密度过高反而使其弹性变差。结果表明, 适度交联能够增强 M-CMCS 水凝胶的

弹性, 扩大了其在生物医学领域方面的应用。

图 6 是不同光照时间下 M-CMCS2 水凝胶的储能模量 (G') 和损耗模量 (G'') 随应变的变化曲线。从图中可以看出 M-CMCS2 水凝胶的储能模量要高于损耗模量, 表明不同光照时间下的水凝胶都具有很好的弹性。随着光照时间的延长, M-CMCS2 水凝胶的 G' 值逐渐升高, 表明其弹性增强。这是因为随着光照时间的增长, 水凝胶的交联密度逐渐增大, 从而导致水凝胶的弹性升高。

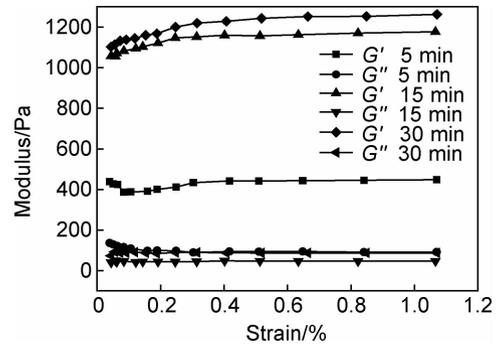


图6 不同光照时间下合成的 M-CMCS2 水凝胶的黏弹性性能

Fig. 6 Viscoelastic properties of M-CMCS2 hydrogels with different time of irradiation

2.4 M-CMCS 水凝胶的溶胀性能

图 7 显示了甲基丙烯酸缩水甘油酯用量和光照时间对光交联 M-CMCS 水凝胶的溶胀性能影响。如图 7(a) 所示, 在光照 15 min 条件下, 光交联 M-CMCS 水凝胶的溶胀比随时间延长而逐渐升高并最终趋于平缓, 在浸泡 48 h 后, M-CMCS1 水凝胶的溶胀比达到 21.8, M-CMCS2 水凝胶的溶胀比达到 19.5, M-CMCS3 水凝胶的溶胀比达到 18.5, 结果表明 M-CMCS 水凝胶具有一定的吸水及保水能力, 且不同交联密度的 M-CMCS 水凝胶表现出不同的溶胀比, 具有较低交联密度的 M-CMCS1 水凝胶显示出比 M-CMCS2 和 M-CMCS3 水凝胶稍高的溶胀比。此外, 光照时间能够影响 M-CMCS 水凝胶的溶胀比, 如图 7(b) 所示。M-CMCS 水凝胶在光照 5 min 时的溶胀比最高, 分别为 24.9, 21.9 和 17.8, 而光照 15 min 的水凝胶溶胀比降低。这是由于光照时间延长导致水凝胶的交联密度增大, 溶胀比降低。然而, 光照 30 min 的水凝胶溶胀比并没有进一步降低, 这可能是由于在长时间的光照下通过光诱导产生的自由基将不再被碳-碳双键消耗, 而是引起聚合物链的断裂^[17]。

2.5 M-CMCS 水凝胶的微观形态

为研究光交联 M-CMCS 水凝胶的微观形态特征, 通过 SEM 观察了冻干 M-CMCS 水凝胶样品的横截面形态。图 8 所示为不同甲基丙烯酸缩水甘油酯用量

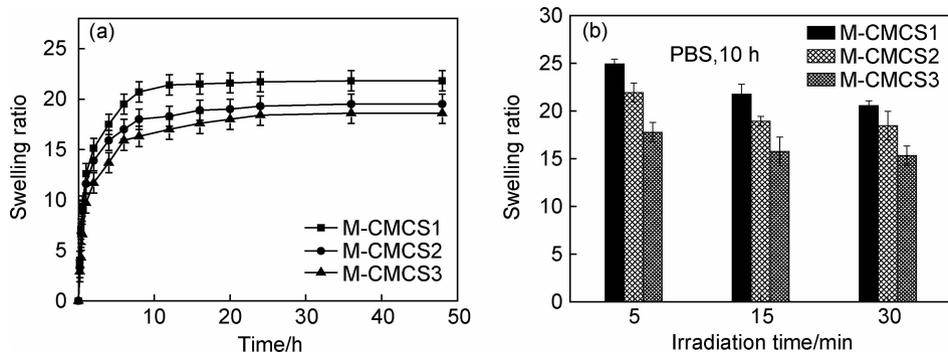


图 7 光照 15 min(a)和不同光照时间下(b) M-CMCS 水凝胶的溶胀速率图

Fig. 7 Swelling rate of photo-crosslinked M-CMCS hydrogel after 15 min of irradiation (a) and with different time of irradiation(b)

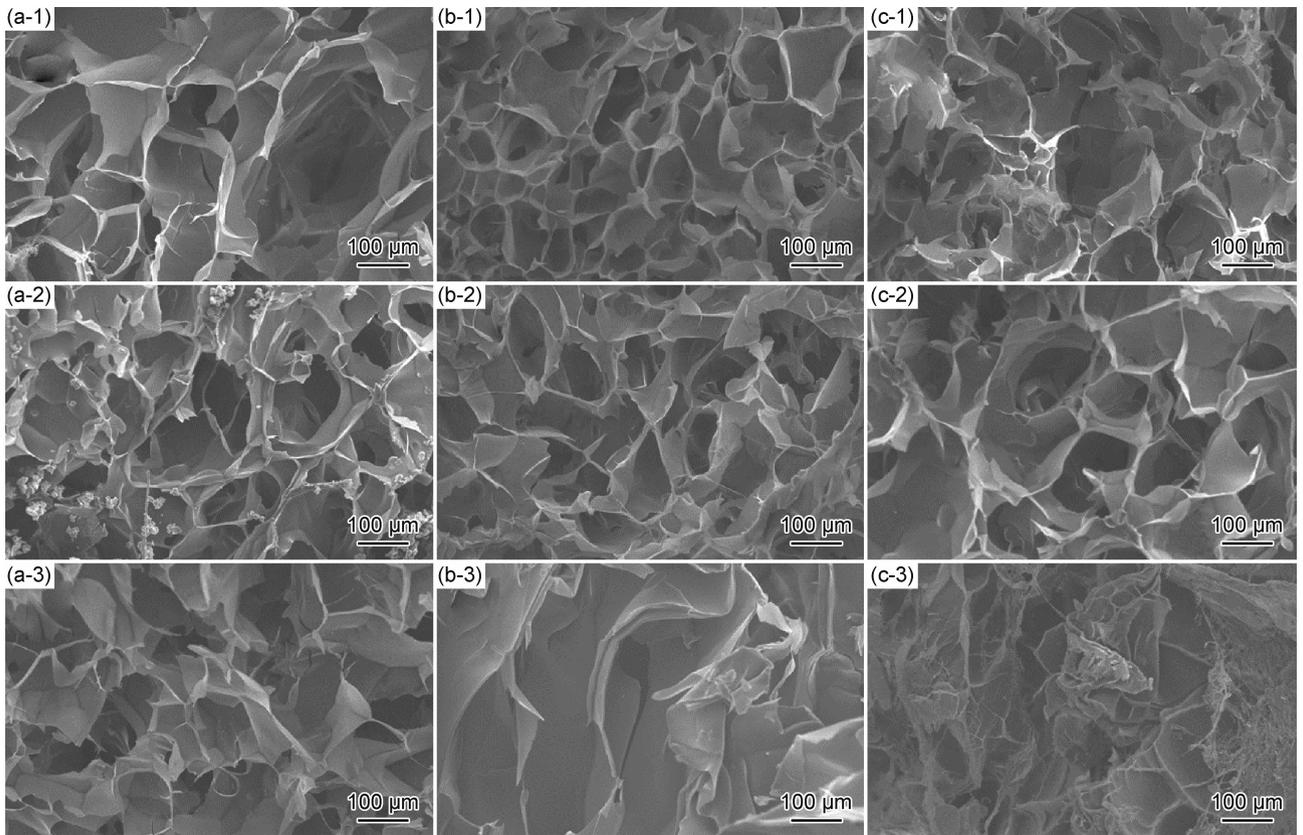


图 8 M-CMCS1 (a), M-CMCS2 (b)和 M-CMCS3 (c)水凝胶的 SEM 照片
(1)5 min;(2)15 min;(3)30 min

Fig. 8 SEM images of M-CMCS1 (a), M-CMCS2 (b) and M-CMCS3 (c) hydrogel
(1)5 min;(2)15 min;(3)30 min

和光照时间条件下 M-CMCS 水凝胶的 SEM 照片。M-CMCS 水凝胶具有孔隙彼此相连的微孔结构,孔径在 $1\sim 20\ \mu\text{m}$ 范围内。从 SEM 图像观察, M-CMCS 水凝胶的孔径随甲基丙烯酸缩水甘油酯用量的增大而减小,这种差异是由于交联密度造成的,甲基丙烯酸缩水甘油酯用量增大导致 M-CMCS 接枝的双键增多从而使水凝胶的交联密度增加,使其孔径逐渐缩小,孔隙分布逐渐变密。此外,随着紫外光照射时间的延长, M-

CMCS 水凝胶的交联密度增大, M-CMCS 水凝胶的孔径逐渐减小。M-CMCS 水凝胶的微孔结构为其作为药物载体提供了可能性。

2.6 M-CMCS 水凝胶的体外生物降解

壳聚糖在溶菌酶作用下可以发生降解,溶菌酶会使连接壳聚糖 D-氨基葡萄糖和 D-乙酰氨基葡萄糖的糖苷键断裂^[28]。为研究光交联 M-CMCS 水凝胶的体外降解,将 M-CMCS 水凝胶样品在含有溶菌酶

(10 mg/mL)的 PBS 溶液中进行培育,培育温度为 37 ℃。如图 9 所示,M-CMCS 水凝胶在培养期间质量逐渐损失。交联度较低的 M-CMCS1 水凝胶的降解速率最快,在一天内质量损失约为总质量的 20%。M-CMCS3 水凝胶表现出比 M-CMCS1 和 M-CMCS2 水凝胶更慢的降解行为。在降解 15 天后,M-CMCS3 水凝胶的质量损失达到 63%,M-CMCS2 水凝胶的质量损失达到 78%,M-CMCS1 水凝胶的质量损失达到 87%。M-CMCS 水凝胶的降解曲线表明,由于交联网络的形成增加了分子的空间位阻效应,交联结构能够延缓降解速率。因此,通过控制 M-CMCS 水凝胶的交联程度能够调节 M-CMCS 水凝胶的酶促降解反应。M-CMCS 水凝胶的生物降解性能够用于药物载体和组织工程等领域。

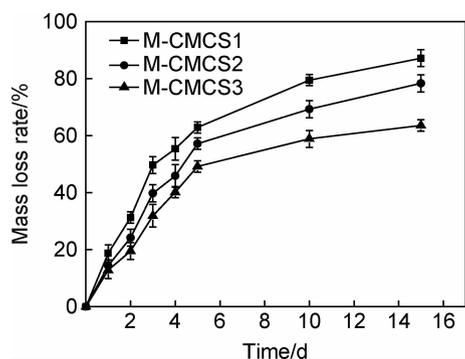


图 9 M-CMCS 水凝胶的体外降解图(PBS, 37 ℃)

Fig.9 *In vitro* degradation of M-CMCS hydrogels in PBS containing 10 mg/mL lysozyme at 37 ℃

2.7 M-CMCS 水凝胶的体外药物释放

M-CMCS 载药凝胶的累积药物释放率随时间的变化情况如图 10 所示。由药物释放曲线可知,在释放初期,会出现吉西他滨释放速率快速增长的现象,且药物释放率小于 30%,这一现象有利于控制肿瘤的生长。而随着释放时间的延长,吉西他滨释放速率逐渐

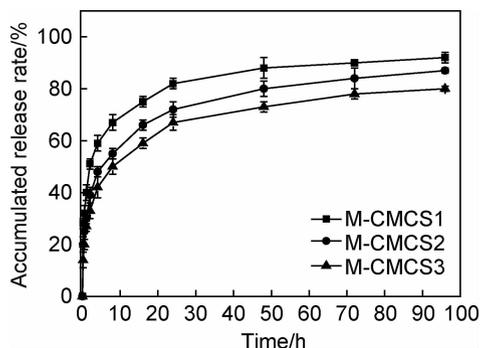


图 10 M-CMCS 载药凝胶的药物释放曲线

Fig.10 Drug release curves of gemcitabine loaded M-CMCS hydrogels

减小,直至释放速率趋近于零,表明 M-CMCS 水凝胶的吉西他滨释放达到了平衡。吉西他滨释放达到平衡后,M-CMCS1 水凝胶的药物释放率为 92%,M-CMCS2 水凝胶的药物释放率为 87%,M-CMCS3 水凝胶的药物释放率为 80%。M-CMCS 载药凝胶释放药物是由于吉西他滨在水凝胶内外存在浓度差和渗透压差,浓度差和渗透压差驱使吉西他滨通过水凝胶孔洞中的水向外扩散^[29-30]。此外,水凝胶的交联度也会影响药物的释放,交联度升高会使高分子网络变得紧密,阻碍分子链段的运动与松弛,从而使水凝胶内部溶解药物的水分子较难向外扩散,限制药物的释放^[31-32],因此 M-CMCS 载药凝胶的药物释放率随交联度的增大而降低。在药物释放初期,M-CMCS 载药凝胶出现吉西他滨快速释放的现象,在 10 min 内 M-CMCS1, M-CMCS2 和 M-CMCS3 水凝胶分别释放了 28%,20% 和 14% 的药物。随着时间的延长,M-CMCS 载药凝胶内部的吉西他滨向外扩散释放,吉西他滨的浓度梯度逐渐降低,释放速率逐渐减缓,在 24 h 内 M-CMCS1, M-CMCS2 和 M-CMCS3 水凝胶分别累积释放了 82%,72% 和 67% 的吉西他滨。在 24 h 后,吉西他滨的释放速率变得非常缓慢甚至趋近于零,在 24~96 h 内仅释放了 10%,15% 和 13% 的吉西他滨。M-CMCS 水凝胶的吉西他滨释放时间可达 4 天,表明 M-CMCS 水凝胶对吉西他滨具有缓释作用,有望成为一种新型抗癌药物载体。

3 结论

(1)通过甲基丙烯酸缩水甘油酯与羧甲基壳聚糖反应,合成了可光交联的甲基丙烯酸缩水甘油酯改性的羧甲基壳聚糖(M-CMCS),随着交联度的增大,M-CMCS 水凝胶的溶胀比减小。

(2)M-CMCS 水凝胶具有高度孔隙化且孔隙之间相互连通的结构特点。在溶菌酶作用下 M-CMCS 水凝胶缓慢降解,随着交联度的增大,降解速率变慢。

(3)M-CMCS 水凝胶对抗癌药物吉西他滨具有缓释作用,药物释放时间可达 4 天。基于这些优异性能,M-CMCS 水凝胶在药物传递及组织工程领域具有重要的应用价值。

参考文献

- [1] ASHRAF S, PARK H K, PARK H, et al. Snapshot of phase transition in thermoresponsive hydrogel PNIPAM: role in drug delivery and tissue engineering[J]. *Macromolecular Research*, 2016, 24(4):297-304.
- [2] KIM K, BAE B, KANG Y J, et al. Natural polypeptide-based

- supramolecular nanogels for stable noncovalent encapsulation[J]. *Biomacromolecules*, 2013, 14(10):3515-3522.
- [3] 张青松, 彭喆, 赵义平, 等. 不同种类水凝胶对结晶紫染料的吸附性能研究[J]. *材料工程*, 2011(12):20-24.
- ZHANG Q S, PENG Z, ZHAO Y P, et al. Adsorption characteristics of crystal violet dye by different types of hydrogels[J]. *Journal of Materials Engineering*, 2011(12):20-24.
- [4] PATEL P, MANDAL A, GOTE V, et al. Thermosensitive hydrogel-based drug delivery system for sustained drug release[J]. *Journal of Polymer Research*, 2019, 26(6):131-141.
- [5] KIM Y M, POTTA T, PARK K H, et al. Temperature responsive chemical crosslinkable UV pretreated hydrogel for application to injectable tissue regeneration system *via* differentiations of encapsulated hMSCs[J]. *Biomaterials*, 2017, 112:248-256.
- [6] 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.
- [7] SACCO P, SECHI A, TREVISAN A, et al. A silver complex of hyaluronan-lipoate (SHLS12): synthesis, characterization and biological properties[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 136:418-426.
- [8] MUKHERJEE D, AZAMTHULLA M, SANTHOSH S, et al. Development and characterization of chitosan-based hydrogels as wound dressing materials[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2018, 46:498-510.
- [9] DUTTA D, KAMPHUIS B, OZCELIK B, et al. Development of silicone hydrogel antimicrobial contact lenses with Mel4 peptide coating[J]. *Optometry and Vision Science*, 2018, 95(10):937-946.
- [10] HUANG J, DENG Y, REN J, et al. Novel *in situ* forming hydrogel based on xanthan and chitosan re-gelifying in liquids for local drug delivery[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 186:54-63.
- [11] SUTAR P B, MISHRA R K, PAL K, et al. Development of pH sensitive polyacrylamide grafted pectin hydrogel for controlled drug delivery system[J]. *Journal of Materials Science Materials in Medicine*, 2008, 19(6):2247-2253.
- [12] ZHANG G, CHEN Y, DENG Y, et al. Dynamic supramolecular hydrogels: regulating hydrogel properties through self-complementary quadruple hydrogen bonds and thermo-switch[J]. *ACS Macro Letters*, 2017, 6(7):641-646.
- [13] GUO Y, ZHOU X, TANG Q, et al. A self-healable and easily recyclable supramolecular hydrogel electrolyte for flexible supercapacitors[J]. *Materials Chemistry A*, 2016, 4(22):8769-8776.
- [14] LI P, KIM N H, HUI D, et al. Improved mechanical and swelling behavior of the composite hydrogels prepared by ionic monomer and acid-activated laponite[J]. *Applied Clay Science*, 2009, 46(4):414-417.
- [15] HU Y, REN G, DENG L, et al. Degradable UV-crosslinked hydrogel for the controlled release of triclosan with reduced cytotoxicity[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2016, 67:151-158.
- [16] 陈阳娟, 钟世安, 师琼. 可降解光交联聚酸酐与聚酰胺-甲基丙烯酸酰胺凝胶的合成及药物控释[J]. *高等学校化学学报*, 2011, 32(5):1194-1199.
- CHEN Y J, ZHONG S A, SHI Q. Synthesis of degradable poly (polyamidoamine-methacrylamide-ganhydride) photocrosslinked gels and their controlled drug release behavior[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2011, 32(5):1194-1199.
- [17] CHO I S, CHO M O, LI Z Z, et al. Synthesis and characterization of a new photo-crosslinkable glycol chitosan thermogel for biomedical applications[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 144:59-67.
- [18] 刘云鸿, 李光吉, 罗熙雯, 等. UV 光引发表面接枝两性离子水凝胶层的制备及抗细菌黏附性能[J]. *高等学校化学学报*, 2013, 34(6):1527-1535.
- LIU Y H, LI G J, LUO X W, et al. Preparation of the zwitteronic hydrogel layer by UV-initiated surface grafting and its antibacterial adhesion performance[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2013, 34(6):1527-1535.
- [19] CHOI E J, HA S, LEE J, et al. UV-mediated synthesis of pNIPAM-crosslinked double-network alginate hydrogels: enhanced mechanical and shape-memory properties by metal ions and temperature[J]. *Polymer*, 2018, 149:206-212.
- [20] YUAN L, WU Y, GU Q, et al. Injectable photo crosslinked enhanced double-network hydrogels from modified sodium alginate and gelatin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 96:569-577.
- [21] CERRUTTI B M, LAMAS J C, FROLLINI E J, et al. Carboxymethyl chitosan: preparation and use in colloidal ceramic processing[J]. *Journal of Polymers and the Environment*, 2012, 21(3):816-825.
- [22] MOHAMED R R, SEOUDI R S, SABAA M W. Synthesis and characterization of antibacterial semi-interpenetrating carboxymethyl chitosan/poly (acrylonitrile) hydrogels [J]. *Cellulose*, 2012, 19(3):947-958.
- [23] 宋庆平, 王崇侠, 高建纲. N-羧甲基壳聚糖的制备及其对重金属离子吸附研究[J]. *离子交换与吸附*, 2010, 26(6):559-564.
- SONG Q P, WANG C X, GAO J G. Study on preparation of N-carboxymethyl chitosan and its adsorption to heavy metal ions[J]. *Ion Exchange and Adsorption*, 2010, 26(6):559-564.
- [24] NOIWAN D, SUTENAN K, YODWEINGCHAI C, et al. Postharvest life extension of fresh-cut mango (*Mangifera indica* cv. fa-lun) using chitosan and carboxymethyl chitosan coating [J]. *Journal of Agricultural Science*, 2018, 10(8):438-446.
- [25] 朱寿进, 刘法谦, 王璟朝, 等. 新型羧甲基壳聚糖水凝胶的合成与表征[J]. *高等学校化学学报*, 2014, 35(4):863-868.
- ZHU S J, LIU F Q, WANG J C, et al. Synthesis and characterization of novel carboxymethyl chitosan hydrogel[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2014, 35(4):863-868.
- [26] WAHID F, YIN J J, XUE D D, et al. Synthesis and characterization of antibacterial carboxymethyl chitosan/ZnO nanocomposite hydrogels[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 88:273-279.
- [27] LUO W, BAI Z, ZHU Y. Comparison of Co(II) adsorption by a crosslinked carboxymethyl chitosan hydrogel and resin: behaviour and mechanism[J]. *New Journal of Chemistry*, 2017, 41

- (9);3487-3497.
- [28] 王刚,李晓萍,王进. 植入壳聚糖体内降解的机理研究[J]. 当代医学,2015,21(34):11-14.
WANG G, LI X P, WANG J. Study on the mechanism of chitosan implantation *in vivo* degradation[J]. Contemporary Medicine, 2015, 21(34):11-14.
- [29] DAS D, DAS R, GHOSH P, et al. Dextrin cross linked with poly (HEMA): a novel hydrogel for colon specific delivery of ornidazole[J]. RSC Advances, 2013, 3(47):25340-25350.
- [30] BACAITA S E, CIOBANU B C, POPA M, et al. Phases in temporal multiscale evolution of drug release mechanism from IPN-type chitosan based hydrogels [J]. Physical Chemistry Chemical Physics, 2014, 16(47):25896-25905.
- [31] WANG Y, WANG J, YUAN Z, et al. Chitosan cross-linked poly (acrylic acid) hydrogels; drug release control and mechanism[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2017, 152; 252-259.
- [32] SINGH B, BALA R, CHAUHAN N. *In vitro* release dynamics of model drugs from psyllium and acrylic acid based hydrogels for the use in colon specific drug delivery[J]. Journal of Materials Science Materials in Medicine, 2008, 19(8):2771-2780.
-
- 基金项目:**2018年度天津市教委科研计划项目(2018KJ110);天津市海洋资源与化学重点实验室(201706);天津市制浆造纸重点实验室开放基金资助项目(201809);国家自然科学基金(51703163)
- 收稿日期:**2020-01-06;**修订日期:**2020-07-06
- 通讯作者:**李征征(1984—),女,副研究员,博士,主要从事智能高分子水凝胶及其生物医用研究,联系地址:天津滨海新区经济技术开发区第13大街29号天津科技大学泰达校区化工与材料学院(300457),E-mail: li.z.z@tust.edu.cn
- (本文责编:解 宏)