

海藻酸钙/聚(N-异丙基丙烯酰胺) 互穿网络水凝胶的药物释放及抗菌性能

李冰,徐艺洲,魏巍,王际平

(浙江理工大学, a. 生态染整技术教育部工程研究中心; b. 先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室, 杭州 310018)

摘要:以海藻酸钠(Sodium alginate, SA)和N-异丙基丙烯酰胺(N-isopropylacrylamide, NIPAAm)为原料,采用氧化还原自由基聚合和物理交联的方法合成海藻酸钙/聚(N-异丙基丙烯酰胺)互穿网络结构水凝胶(Alginate-Ca²⁺/PNIPAAm IPN hydrogel)。利用红外光谱仪(FT-IR)、差示扫描量热仪(DSC)以及扫描电子显微镜(SEM)对制备的水凝胶材料进行理化性质表征;以SA/NIPAAm比例、药物浓度、载药方式和介质温度为实验变量,研究水凝胶的盐酸四环素释放行为,并以抑菌圈表征其抗菌性能。结果表明:N-异丙基丙烯酰胺比例越高,药物累积释放率越低;药物浓度越高,药物累积释放率也略有下降;采用直接包埋的方法可有效的延长药物缓释的时间,具有良好的药物释放性能;在37℃的介质温度下,药物的累积释放率远大于25℃,并且具有良好的抗菌效果。制备所得水凝胶在创伤敷料应用方面将具有良好的前景。

关键词:温敏水凝胶;海藻酸钠;聚(N-异丙基丙烯酰胺);药物释放;抗菌性能

中图分类号: O648.1

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2018)11-0715-08

0 引言

水凝胶是亲水性高分子通过共价键、氢键、范德华力或物理缠结形成的交联网络,其在水中溶胀而不溶解,并可保持原有形状^[1]。水凝胶敷料具有良好的生物相容、透湿、吸收组织渗出液以及阻隔外界细菌侵入等特性,为创面愈合提供了适宜的微环境^[2-3];此外,水凝胶敷料可敷贴于创面而不发生黏连,在更换敷料的过程中不会对新生组织造成损伤,在医疗卫生领域具有潜在的应用前景^[4]。充当药物载体和具备抗菌能力是水凝胶敷料所需具备的两项重要功能,其对于提高药物利用率、避免创面炎症等方面具有重要意义。

海藻酸钠是一种源自于褐藻的天然多糖类高分子,具有来源广泛、低毒性和良好生物相容性等特点^[5],而聚N-异丙基丙烯酰胺(N-isopropylacrylamide, PNIPAAm)是一种具有温度敏感特性的有机高分子,其在33℃左右具有一个转变温度,随着外界温

度的变化显示出良好的亲/疏水性变化^[6-7],由于其转变温度与体温较为接近,常作为温度敏感单元而被引入到生物医用水凝胶体系中,以实现药物的可控释放。盐酸四环素作为一种广谱抗生素,是四环素碱的盐酸盐^[8],具有分子量低、水溶性好、毒副作用小以及贮存期长等特点,在创面愈合过程中可实现快速抑菌的目的且效果显著。

本文以海藻酸钠(Sodium alginate, SA)和N-异丙基丙烯酰胺(N-isopropylacrylamide, NIPAAm)这两种高分子为原料,通过自由基聚合和物理交联的方法合成了海藻酸钙/PNIPAAm IPN温敏水凝胶,利用红外光谱仪、差示扫描量热仪和扫描电子显微镜研究水凝胶的化学结构、转变温度以及表面形貌;选取盐酸四环素为模型药物,以SA/NIPAAm比例、药物浓度、载药方式和介质温度为实验变量,通过紫外-可见分光光度法研究药物累积释放率,并通过抑菌圈法表征载药水凝胶的抗菌性能。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

试剂:海藻酸钠(Sodium alginate, SA, 粘度大于等于 2000 cP)、氯化钙(CaCl_2 , 分析纯), 均来自 Sigma-Aldrich 公司; N-异丙基丙烯酰胺(NIPAAm, 98%)、N,N-亚甲基双丙烯酰胺(MBAA, 99%)、过硫酸铵(APS, 99.99%)、N,N,N',N'-四甲基乙二胺(TEMED, 分析纯)、盐酸四环素(TCH, 96%), 均来自阿拉丁公司; 磷酸氢二钠(分析纯)、磷酸二氢钾(分析纯)、氯化钠(分析纯)、氯化钾(分析纯), 均来自天津市科密欧化学试剂有限公司; 营养琼脂(分析纯)、酵母浸粉(分析纯)、蛋白胨(分析纯), 均来自杭州百思生物技术有限公司; 大肠杆菌(*E. coli*)和金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)来自上海鲁微科技有限公司。

仪器: 电子天平(ML104/02, 瑞士梅特勒-托利多公司), pH计(FE-20, 瑞士梅特勒-托利多公司), 冷冻干燥机(FD-1C-50, 北京博医康实验仪器有限公司), 红外光谱仪(VERTEX70, 德国布鲁克公

司), 差示扫描量热仪(Q2000, 美国 TA 公司), 扫描电子显微镜(JSM-5610LV, 日本电子株式会社), 紫外可见分光光度计(Lambda35, 美国珀金埃尔默公司), 高压灭菌锅(MLS-3751L, 日本松下电器产业株式会社), 台式恒温振荡箱(TQZ-312, 上海精宏实验设备有限公司), 隔水培养箱(GHP-9080, 上海一恒科技有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 干态浸泡法制备载药水凝胶

无氧条件下向洁净的试管中依次加入一定量的 SA、NIPAAm、交联剂 MBAA, 并用 20 mL 去离子水使其充分溶解; 接着加入引发剂 APS 和促进剂 TEMED, 密封试管中 25 °C 反应 12 h。反应结束后, 将试管中的样品浸泡于 1.0% (w/v) 的氯化钙溶液中 24 h, 得到海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶。随后将冷冻干燥后的干态凝胶浸泡于一定浓度的盐酸四环素水溶液 48 h 以达到溶胀平衡的状态; 最后再次将载药后的水凝胶冷冻干燥至恒重, 等待测试。干态浸泡法制备载药水凝胶的实验流程如图 1 所示, 原料配比列于表 1。

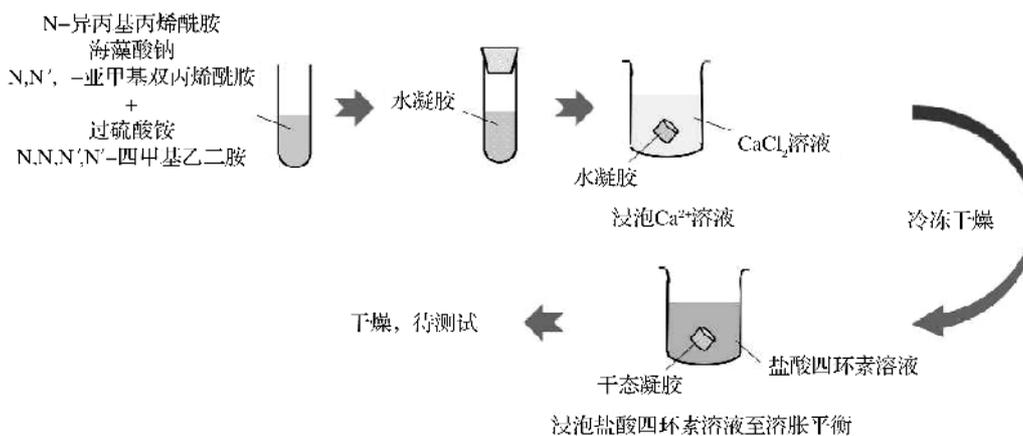


图 1 干态浸泡法制备载药水凝胶的实验流程示意

表 1 海藻酸钙/聚(N-异丙基丙烯酰胺)互穿网络结构温敏水凝胶制备的原料配比

| 样品编号 | SA/g | NIPAAm/g | MBAA/mg | APS/mg | TEMED/ μL | 去离子水/mL |
|------|------|----------|---------|--------|----------------------|---------|
| 1 | 0.2 | 0.5 | 6.8 | 20 | 6.0 | 20 |
| 2 | 0.2 | 1.0 | 13.6 | 20 | 6.0 | 20 |
| 3 | 0.2 | 2.0 | 27.2 | 20 | 6.0 | 20 |

1.2.2 直接包埋法制备载药水凝胶

用 20 mL 去离子水将 SA、NIPAAm、交联剂 MBAA 和一定量的盐酸四环素充分溶解, 随后加入引发剂 APS(20 mg)和促进剂 TEMED(6.0 μL), 密闭试管后在 25 °C 的水浴中反应 12 h。反应结束后, 将样品浸泡在氯化钙和盐酸四环素的混合

溶液中 24 h, 得到载药水凝胶, 其中, 氯化钙浓度为 0.01 g/mL, 盐酸四环素浓度与第一步相同。载药水凝胶的干燥方式与干态浸泡法一致, 待干燥至恒重后密闭保存, 等待后续实验测试。直接包埋法制备载药水凝胶的流程如图 2 所示, 原料配比与表 1 一致。

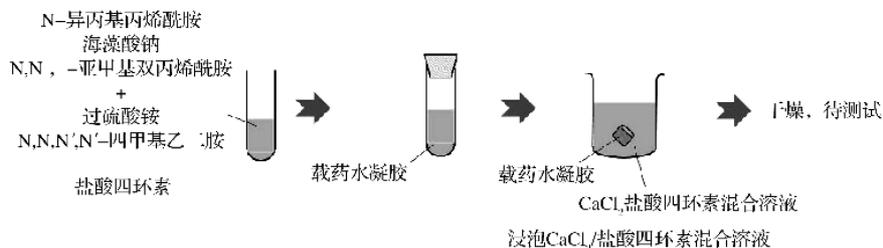


图2 直接包埋法制备载药水凝胶的实验流程示意

1.3 测试与表征

1.3.1 海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶化学结构的表征

利用红外光谱仪表征水凝胶样品的官能团组成,扫描范围为 $4000 \sim 500 \text{ cm}^{-1}$,扫描次数为 64 次,分辨率为 4 cm^{-1} 。

1.3.2 海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶转变温度的表征

利用差示扫描量热仪测试水凝胶样品的转变温度,升温范围为 $25 \sim 40 \text{ }^\circ\text{C}$,升温速率为 $3 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$,氮气流速为 $50 \text{ mL}/\text{min}$ 。

1.3.3 海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶表面形貌的表征

利用扫描电子显微镜观测所得水凝胶样品的表面形貌,测试前样品表面需进行喷金处理。

1.3.4 海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶药物释放行为的表征

以 pH 值为 7.4,浓度为 $0.01 \text{ mol}/\text{L}$ 的 PBS 缓冲液作为释放介质,在 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 或 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 的恒温水浴中进行药物释放实验。释放过程如下:将载药的干态水凝胶放入含有 30 mL 释放液(PBS, pH=7.4)的锥形瓶中,恒温振荡($75 \text{ r}/\text{min}$),定时移取 3 mL 释放液用于测定药物释放率,并补充上等体积的新鲜空白 PBS 缓冲液。采用紫外可见分光光度法测定盐酸四环素在介质中的浓度,工作曲线为 $c = (A + 0.0436)/0.0355$,计算并绘制药物累积释放曲线图,其中:A 为吸光度;c 为盐酸四环素浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

1.3.5 海藻酸钙/聚(N-异丙基丙烯酰胺)水凝胶抗菌性能的表征

将 3.3 g 营养琼脂溶于 100 mL 去离子水中,加热融化, $120 \text{ }^\circ\text{C}$ 高压灭菌 30 min ,待冷却到 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 左右倒入培养皿中,冷却形成固体培养基。移取 0.1 mL 菌液(菌种浓度为 $10^5 \text{ CFU}/\text{mL}$)均匀涂覆于固体培养基上,利用打孔法注入载药水凝胶样品,于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 或 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 下恒温培养 18 h ,观察抑菌圈大小,并以抑菌环直径评价水凝胶样品的抗菌性能^[9],计算公式如式(1)所示:

$$D' = D - d \quad (1)$$

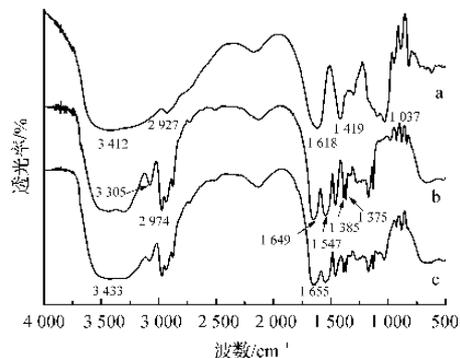
式中: D' 为抑菌环直径; D 为抑菌圈外径; d 为被测样品直径。

2 结果与讨论

2.1 海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶的理化性质表征

2.1.1 红外谱图分析

图3为海藻酸钙、PNIPAAm 以及海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶的红外光谱图。从图3中曲线 a 可以看出, 3412 cm^{-1} 处为 $-\text{OH}$ 的伸缩振动吸收峰, 2927 cm^{-1} 处为 $-\text{CH}$ 的伸缩振动吸收峰, 1618 cm^{-1} 和 1419 cm^{-1} 处为海藻酸钙中 $-\text{COO}^-$ 的对称和反对称伸缩振动峰, 1037 cm^{-1} 处则为吡喃环中 $\text{C}-\text{O}$ 的伸缩振动吸收峰;曲线 b 中, $3600 \sim 3200 \text{ cm}^{-1}$ 处为 $\text{N}-\text{H}$ 的伸缩振动吸收峰, 1649 cm^{-1} 和 1547 cm^{-1} 处存在酰胺 I 带和酰胺 II 带的特征吸收峰,分别为 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动峰, $\text{N}-\text{H}$ 面内弯曲振动与部分 $\text{C}-\text{N}$ 伸缩振动耦合产生的吸收峰^[10], 1385 cm^{-1} 和 1375 cm^{-1} 处则为 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 的特征吸收峰;而曲线 c 中,海藻酸钙与 PNIPAAm 的特征吸收峰同时存在,其中在 3433 cm^{-1} 处出现的强而宽的峰为海藻酸钙中的 $-\text{OH}$ 的伸缩振动吸收峰与 PNIPAAm 中的 $\text{N}-\text{H}$ 的伸缩振动吸收峰相互叠加的结果, 1655 cm^{-1} 处则为 PNIPAAm 组分酰胺中 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动吸收峰。



a. 海藻酸钙水凝胶; b. 聚(N-异丙基丙烯酰胺)水凝胶;
c. 海藻酸钙/聚(N-异丙基丙烯酰胺)互穿网络结构水凝胶

图3 水凝胶的红外光谱图

2.1.2 转变温度分析

图4为海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶的 DSC 曲线图。依据文献[11],PNIPAAm 分子链中存在着亲/疏水平衡,当外界温度低于转变温度时,高分子链呈现亲水性,当温度高于转变温度时,分子链剧烈收缩并相互缠结,呈现疏水性,发生相分离现象,并同时伴随着相应的放热行为。从图4中可以看出,每条曲线均存在一个明显的吸热峰(峰值定义为转变温度),并且随着 SA/NIPAAm 比例的变化,水凝胶的转变温度均分布在 34.35~35.54 °C 的狭小区间范围内,与纯 PNIPAAm 的转变温度(34.73 °C)较为接近。这是由于在互穿网络结构体系中,海藻酸钙和 PNIPAAm 网络之间无化学键结合,相对保持独立,导致 PNIPAAm 仍可保持着自身的温敏性质;另一方面,与纯 PNIPAAm 相比,海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶的吸热峰尖锐程度下降,峰宽变宽,表明海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶的温敏响应速率比纯 PNIPAAm 略有降低。

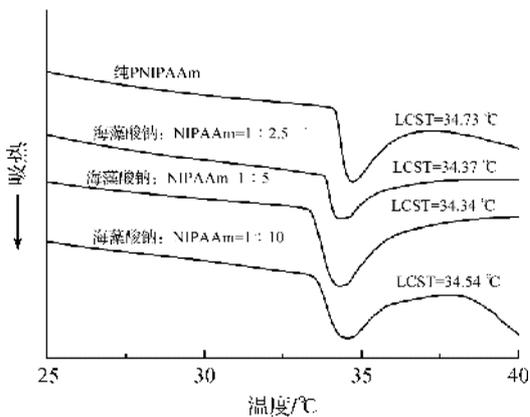
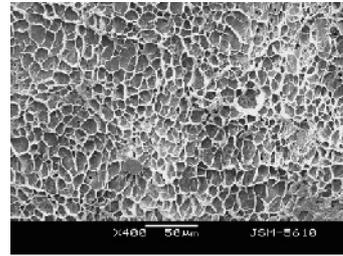


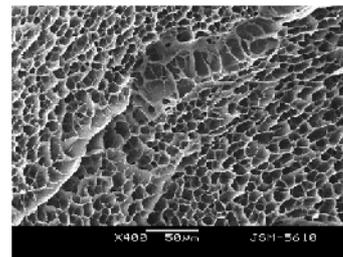
图4 海藻酸钙/聚(N-异丙基丙烯酰胺)互穿网络结构温敏水凝胶的 DSC 曲线

2.1.3 表面形貌分析

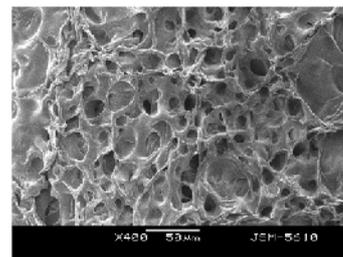
图5为不同 SA/NIPAAm 比例时的海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶表面形貌图。从图5中可以看出,水凝胶均存在着明显的孔洞结构,这种孔洞结构的形成主要是由于溶剂的存在以及孔壁取向的结果,同时,在水凝胶的合成过程中,SA 中 $-\text{COO}^-$ 存在着的静电斥力作用也可导致网络之间形成一定的空间而形成孔洞结构^[12]。另一方面,随着 SA/NIPAAm 比例中 NIPAAm 组分的增加,水凝胶表面的孔洞结构从蜂窝状逐渐转变为不规则状。这是因为在一定的 NIPAAm 比例范围内,随着水凝胶中 NIPAAm 含量的增加,有效交联密度增加,水凝胶孔洞的蜂窝状结构逐渐变得规整;然而,随着 NIPAAm 含量的继续增加,孔洞开始被填埋,由规则蜂窝状结构(图5(b))又逐渐转变为了不规则状(图5(c))。



(a) 1 : 2.5



(b) 1 : 5



(c) 1 : 10

图5 不同 SA/NIPAAm 比例的海藻酸钙/聚(N-异丙基丙烯酰胺)互穿网络结构温敏水凝胶的表面形貌图

2.2 海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶的药物释放行为分析

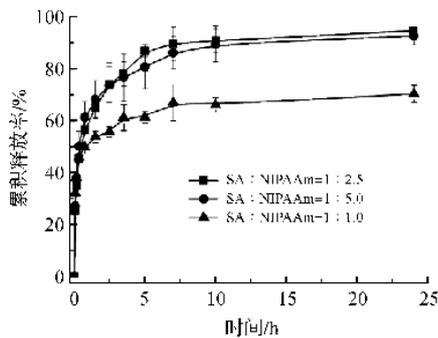
2.2.1 SA/NIPAAm 比例对药物释放行为的影响

采用干态浸泡法负载盐酸四环素,并研究海藻酸钠/NIPAAm 比例对药物释放行为的影响。结果表明,SA/NIPAAm 比例与水凝胶的载药量存在着密切联系,当 SA/NIPAAm 比例为 1:2.5、1:5 和 1:10 时,水凝胶的载药量分别为 346.3、326.9 $\mu\text{g/g}$ 和 280.7 $\mu\text{g/g}$ 。图6则为海藻酸钠/NIPAAm 比例不同时载药水凝胶药物释放曲线图。从图6中可以看出,水凝胶的盐酸四环素累积释放率在前期迅速增加,后逐渐趋于平缓,并且在 24 h 附近达到释放平衡状态。这是由于在释放前期,水凝胶内外的盐酸四环素存在着显著的浓度差,随着时间的延长,浓度差趋于减小,并最终达到了内外浓度差的平衡状态;同时,由于作为阳离子聚电解质的盐酸四环素与海藻酸钙中的 $-\text{COO}^-$ 之间存在着静电引力,两方面的共同作用导致累积释放率最终逐渐趋于稳定。另一方面,相同释放时间下,样品的累积释放率随着 NIPAAm 比例的增加而降低。这是因为海藻酸钙/PNIPAAm

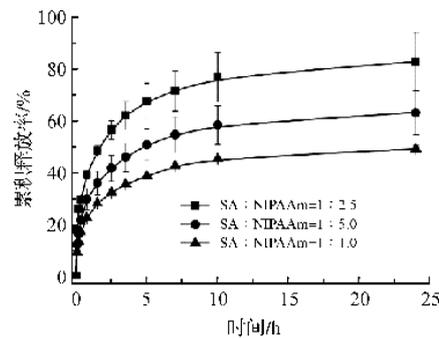
IPN 水凝胶网络中含有 NIPAAm 的 $-\text{CONH}-$ 和海藻酸钙残留端 $-\text{OH}$ 这两个亲水基团, 盐酸四环素作为水溶性模型药物, 其能够进入凝胶网络中, 并与这些亲水基团以氢键形式相结合^[13-14], NIPAAm 比例越高, 有效交联密度越高, 水凝胶的溶胀性能越差, 载药量也相应越低, 造成释放过程中水凝胶内部的药物浓度差减小, 从而导致相同释放时间下的累积释放率降低; 此外, 水凝胶的多孔网络结构作为盐酸四环素扩散的通道, 随着 NIPAAm 比例的增加, 孔洞结构从蜂窝状变为无规则状, 并且孔洞深度随之逐渐变浅, 这也是导致盐酸四环素的累积释放率随着 NIPAAm

比例的增加而降低的一个原因。

比较 37 °C 和 25 °C 时的药物累积释放率可知, 37 °C 时的盐酸四环素累积释放率大于 25 °C。这是由于 25 °C 低于海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶的转变温度, 水凝胶网络呈溶胀状态, 盐酸四环素的释放主要依赖于内外浓度差, 通过水凝胶内部的多孔网络由内而外实现释放; 当介质温度为 37 °C 时, PNIPAAm 中疏水基团的缔合作用增强^[15], 孔洞结构发生坍塌, 水凝胶开始收缩, 溶胀程度较小, 致使盐酸四环素被挤出, 挤压和内外浓度差的共同作用导致累积释放率的增加。



(a) 37 °C 的药物累积释放率



(b) 25 °C 的药物累积释放率

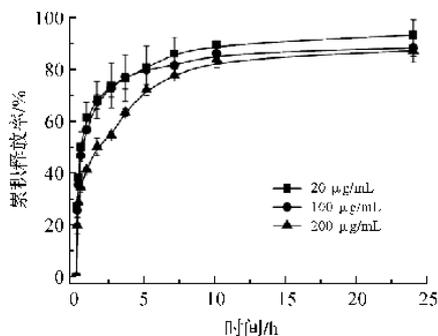
图 6 海藻酸钠/N-异丙基丙烯酰胺比例不同时水凝胶药物释放曲线

2.2.2 药物浓度对药物释放行为的影响

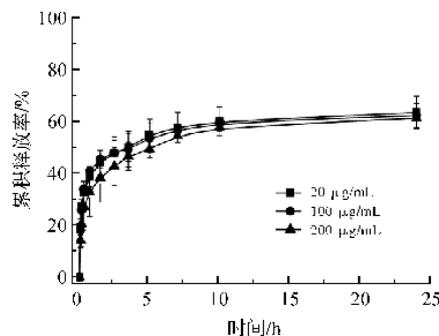
以 SA : NIPAAm = 1 : 5 的比例制备海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶为研究对象, 以干态浸泡法负载盐酸四环素, 实验选取的盐酸四环素浓度为 20、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 三个梯度, 其载药量分别为 334.4、1382.4 $\mu\text{g}/\text{g}$ 和 3100.7 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。图 7 则为盐酸四环素浓度不同时水凝胶药物释放曲线。与图 6 相类似, 药物累积释放率在初期迅速增加, 然后趋于平缓, 并最终在 15~25 h 内达到释放平衡。其次, 盐酸四环素浓度越低, 累积释放率略有增加。盐酸四环素作为阳离子聚电解质, 与海藻酸钙分子中的 $-\text{COO}^-$ 之间存在着静电引力的作用, 随着盐酸四环素载药量的增加, 药物分子与水凝胶高分子之间的静电引力增加, 导致累积释放率随

着盐酸四环素浓度的增加而略有减小。

比较 37 °C 和 25 °C 时的药物累积释放率可知, 随着盐酸四环素的浓度从 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 增加至 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 其在两个温度条件下达到释放平衡时的平衡累积释放率之差分别为 29.89%、25.97% 和 25.94%, 数值略有减小。当介质温度从 25 °C 升高至 37 °C 时, 盐酸四环素分子的运动相对剧烈, 削弱了盐酸四环素分子与水凝胶基材之间的相互作用力, 同时在水凝胶网络坍塌收缩的作用下, 盐酸四环素易于被挤出; 同时, 由于水凝胶中的 NIPAAm 含量相同, 水凝胶基材本身的疏水性接近, 然而, 盐酸四环素浓度越高, 其与基材之间的静电引力越大, 静电引力的作用导致了 37 °C 和 25 °C 两温度之间的平衡累积释放率之差略微有所减小。



(a) 37 °C 的药物累积释放率



(b) 25 °C 的药物累积释放率

图 7 盐酸四环素浓度不同时水凝胶药物释放曲线

2.2.3 载药方式对药物释放行为的影响

图8为直接包埋法和干态浸泡法下的盐酸四环素释放曲线。从图8中可知,直接包埋法具有更好的缓释效果。以20 μg/mL为例,在37℃的介质温度下,采用直接包埋法的样品在10 h时仅有56%的累积释放率,而采用干态浸泡法样品的累积释放率则已达到89%;同时,与干态浸泡法相比,采用直接包埋法的样品在24 h时仍未达到释放平衡。药物的释放速率主要由两个连续的过程所决定的,即水分子从外部介质向水凝胶内部迁移以及药物从凝胶内部向外扩散并释放。干态浸泡法的冷冻干燥过程易于对水凝胶的孔洞结构造成一定程度的破坏,加快了水分子的迁移和盐酸四环素小分子的扩散,促进了药物的向外释放;与之相反,采用直接包埋法的水凝胶样品结构和力学性能均保持完好,有利于减缓盐酸四环素的释放速率。

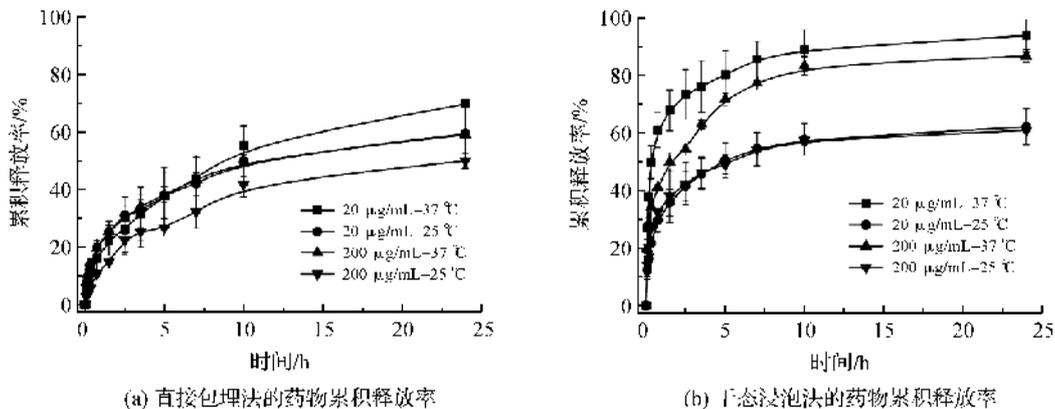


图8 药物装载方式不同的水凝胶药物释放曲线图

表2 海藻酸钙/聚(N-异丙基丙烯酰胺)互穿网络结构温敏水凝胶的药物释放速率常数

| 药物装载方式 | 不同温度时的浓度 /(μg·mL ⁻¹) | 速率常数 <i>k</i> | 药物装载方式 | 不同温度时的浓度 /(μg·mL ⁻¹) | 速率常数 <i>k</i> |
|--------|-------------------------------------|---------------|--------|-------------------------------------|---------------|
| 直接包埋法 | 20(37℃) | 0.216 | 干态浸泡法 | 20(37℃) | 0.570 |
| | 20(25℃) | 0.201 | | 20(25℃) | 0.297 |
| | 200(37℃) | 0.203 | | 200(37℃) | 0.441 |
| | 200(25℃) | 0.113 | | 200(25℃) | 0.324 |

2.3 海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶的抗菌性能评价

以未载药水凝胶(记作0)作为空白样,以直接包埋浓度为20、100 μg/mL和200 μg/mL盐酸四环素的水凝胶(分别记作1、2和3)作为对照样,对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌进行抗菌性能测试,结果如图9所示,抑菌圈尺寸列于表3。从图9可知,在37℃的培养温度下,1、2和3号水凝胶样品的周围均出现明显的抑菌圈,而0号样品则无抑菌圈存在。这是37℃的环境温度高于海藻酸钙/PNIPAAm

利用Korsmeyer-Peppas模型^[16]进一步研究载药方式不同的药物释放速率,其公式如式(2)所示:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (2)$$

式中: M_t 和 M_∞ 分别代表水凝胶在 t 时刻的药物释放量和药物总量; n 为扩散指数; k 为速率常数,表征药物释放速率。

表2为海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶的药物释放速率常数。从表2中可知,采用直接包埋法的水凝胶药物释放速率常数 k 分布在0.113至0.216的区间范围内,远远小于采用干态浸泡法的水凝胶药物释放速率常数(k 分布在0.297~0.570的范围), k 的数值越小,表明盐酸四环素的缓释效果越好^[17],这一实验结果与图8所得结果相一致,即直接包埋法比干态浸泡法具有更好的药物缓释效果。

IPN 温敏水凝胶的转变温度,水凝胶网络坍塌并收缩,盐酸四环素被释放并扩散至固体培养基中,从而形成了抑菌圈^[18]。另一方面,从表3可知,抑菌环直径随着水凝胶中盐酸四环素浓度的增加而增大,水凝胶抗菌性能的强弱与抑菌环直径大小紧密相关,随着盐酸四环素浓度的增加,对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑制作用均有所增加;同时,载药水凝胶对金黄色葡萄球菌的抑制作用略高于大肠杆菌,这是因为金黄色葡萄球菌作为革兰氏阳性菌,其细胞壁中只含有肽聚糖成分,盐酸四环素可通过抑制

肽聚糖中肽链的增长和影响蛋白的合成而产生抑菌作用,表现出良好的抗菌效果,而大肠杆菌作为革兰氏阴性菌,其细胞壁中除了肽聚糖外,还有存在脂多糖组分,脂多糖的保护作用导致盐酸四环素对大肠杆菌的抑制作用略低于金黄色葡萄球菌。与之相反,25℃的培养温度下,空白样和对照样均无抑菌

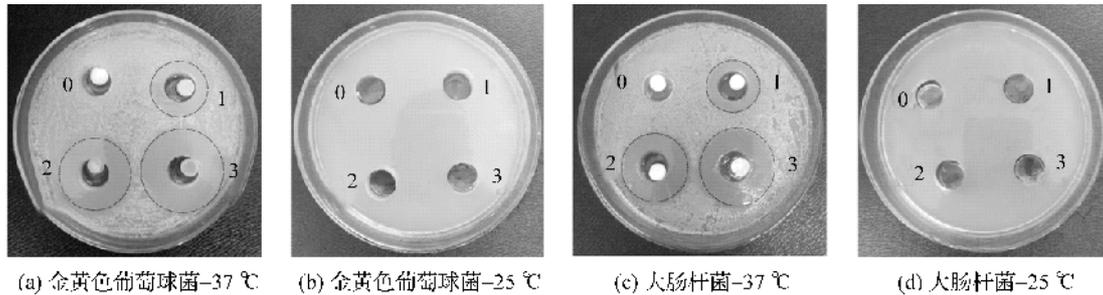


图9 金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌圈照片

表3 海藻酸钙/聚(N-异丙基丙烯酰胺)互穿网络结构温敏水凝胶的抑菌环直径

| 水凝胶样品 | 抑菌环直径/cm | |
|-----------------------|----------|------|
| | 金黄色葡萄球菌 | 大肠杆菌 |
| 空白样(0号) | 0.00 | 0.00 |
| 20 μg/mL 盐酸四环素样品(1号) | 3.04 | 2.87 |
| 100 μg/mL 盐酸四环素样品(2号) | 4.63 | 4.51 |
| 200 μg/mL 盐酸四环素样品(3号) | 4.69 | 4.53 |

3 结论

运用自由基聚合法合成了海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶,表征了其化学结构、转变温度和表面形貌等理化性质,以此为基础,着重分析了以SA/NIPAAm 比例、盐酸四环素浓度、载药方式和介质温度等因素下的药物释放行为,并表征了其抗菌性能,主要结果如下:

a) 运用自由基聚合法可成功制备海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶,且 SA 的用量对转变温度无影响,均保持在 34℃左右。

b) SA/NIPAAm 比例、药物浓度、载药方式以及介质温度均对药物累积释放率有一定的影响。SA 比例越高,海藻酸钙/PNIPAAm IPN 水凝胶的药物累积释放率越高;药物浓度越高,药物累积释放率略有下降;直接包埋法与干态浸泡法相比,具有更优异的缓释效果;同时,由于 PNIPAAm 组分在转变温度以上的收缩和挤压作用,海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶在 37℃时的药物累积释放率远大于 25℃。

c) 海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶在 37℃时对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均出现明显的抑菌

圈存在,这可能是由于以下两方面的原因造成的:首先,25℃非细菌生长繁殖的最适宜温度;其次,包埋海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶中的盐酸四环素在转变温度以下难以通过固-固界面的接触而实现释放。故海藻酸钙/PNIPAAm IPN 温敏水凝胶应用于创面敷料时具有良好的抗菌效果。

圈,并且抗菌性能随着盐酸四环素浓度的提高而提高。

因此,以海藻酸钠/NIPAAm IPN 温敏水凝胶为药物载体材料,可实现药物缓释的效果,达到提高药物利用效率的目的,在医用敷料领域的应用具有自身的潜在优势。

参考文献:

- [1] Kabiri K, Omidian H, Zohuriaan-Mehr M J, et al. Superabsorbent hydrogel composites and nanocomposites: A review[J]. Polymer Composites, 2011, 32(2): 277-289.
- [2] Murakami K, Aoki H, Nakamura S, et al. Hydrogel blends of chitin/chitosan, fucoidan and alginate as healing-impaired wound dressings [J]. Biomaterials, 2010, 31(1): 83-90.
- [3] Burdick J A, Prestwich G D. Hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications [J]. Advanced Materials, 2011, 23(12): H41-H56.
- [4] 柯林楠,冯晓明,王春仁. 医用敷料研究的现状与进展 [J]. 中国组织工程研究, 2010, 14(3): 521-524.
- [5] Sun J, Tan H. Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications [J]. Materials, 2013, 6(4): 1285-1309.
- [6] 刘晓华,王晓工,刘德山. 快速响应的温敏性聚(N-异丙基丙烯酰胺)水凝胶 I. 以 CaCO₃ 为成孔剂制备方法、表征及动力学研究 [J]. 高分子学报, 2002, 1(3): 354-357.
- [7] Zhang X Z, Wu D Q, Chu C C. Synthesis, characterization and controlled drug release of thermosensitive IPN-PNIPAAm hydrogels [J]. Biomaterials, 2004, 25(17): 3793-3805.
- [8] 丁曼,王华林,姜绍通. 载盐酸四环素壳聚糖缓释膜的制备 [J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(38): 7121-7125.
- [9] 周雯婷,郭吟竹,李兴茂,等. 键合型抗菌水凝胶敷料的

- 制备及性能[J]. 化工新型材料, 2016, 44(6): 226-229.
- [10] 程祥胜. 双重响应性微凝胶及其复合物的合成与性能研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2010.
- [11] Zhang J T, Bhat R, Jandt K D. Temperature-sensitive PVA/PNIPAAm semi-IPN hydrogels with enhanced responsive properties[J]. *Acta Biomaterialia*, 2009, 5(1): 488-497.
- [12] Liu M, Su H, Tan T. Synthesis and properties of thermo- and pH-sensitive poly(N-isopropylacrylamide)/polyaspartic acid IPN hydrogels[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 87(4): 2425-2431.
- [13] Ruel-Gariépy E, Chenite A, Chaput C, et al. Characterization of thermosensitive chitosan gels for the sustained delivery of drugs [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, 203(1): 89-98.
- [14] Ng L T, Ng K S. Photo-cured pH-responsive polyampholyte-coated membranes for controlled release of drugs with different molecular weights and charges[J]. *Radiation Physics & Chemistry*, 2008, 77(2): 192-199.
- [15] Shi J, Alves N M, Mano J F. Chitosan coated alginate beads containing poly(N-isopropylacrylamide) for dual-stimuli-responsive drug release [J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 2008, 84(2): 595-603.
- [16] Cerempei A, Muresan E I, Cimpoesu N. Biomaterials with controlled release of geranium essential oil[J]. *Journal of Essential Oil Research*, 2014, 26(4): 267-273.
- [17] Işıklan N, Küçükbalcı G. Microwave-induced synthesis of alginate-graft-poly(N-isopropylacrylamide) and drug release properties of dual pH- and temperature-responsive beads[J]. *European Journal of Pharmaceutics & Biopharmaceutics*, 2012, 82(2): 316-331.
- [18] Qi R, Guo R, Zheng F, et al. Controlled release and antibacterial activity of antibiotic-loaded electrospun halloysite/poly(lactic-co-glycolic acid) composite nanofibers[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, 110(10): 148-155.

Drug release and antibacterial property of drug-loaded alginate- Ca^{2+} /poly (N-isopropylacrylamide) interpenetrating network hydrogels

LI Bing, XU Yizhou, WEI Wei, WANG Jiping

(a. Engineering Research Center for Eco-Dyeing & Finishing of Textiles, Ministry of Education;
b. Key Laboratory of Advanced Textile Materials and Manufacturing Technology,
Ministry of Education, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: In this investigation, sodium alginate (SA) and N-isopropylacrylamide (NIPAAm) were used to synthesize alginate- Ca^{2+} /poly(N-isopropylacrylamide) interpenetrating network (IPN) hydrogels through a two-step reaction route of free radical polymerization and physical crosslinking. The physicochemical properties of prepared hydrogel material were characterized by infrared spectrophotometer (FT-IR), differential scanning calorimetry (DSC) and scanning electron microscopy (SEM). SA/NIPAAm ratio, drug concentration, drug loading method and medium temperature were used as experimental variables to study the release behavior of tetracycline hydrochloride of hydrogels, and the antimicrobial property was characterized by the inhibition zone. It was found that the cumulative drug release percentage decreased with the increase of NIPAAm content; the cumulative drug release percentage decreased slightly with the rise of drug concentration. The drug release time could be effectively lengthened by the direct embedding method, and the drug could have good release property. The cumulative drug release percentage was much greater than 25 °C under the medium temperature of 37 °C, and the hydrogel owned favorable antibacterial effect. Therefore, the prepared hydrogel will have very good prospect in the aspect of wound dressing material application.

Key words: thermo-responsive hydrogel; sodium alginate; poly(N-isopropylacrylamide); drug release; antibacterial property