

智能纳米凝胶的合成及其生物医学应用

李 威 王文锋 李荣群 姚思德

(中国科学院上海原子核研究所 上海 201800)

摘要 本文首先阐述了高分子微凝胶材料的研究概况、智能纳米微凝胶的研究进展及其应用前景;然后系统分析了微凝胶的合成方法及其特点、智能纳米高分子凝胶的合成方法及粒径控制;最后详细介绍智能纳米载药体系的特点、靶向与释放机制及其在基因工程治疗上的应用。

关键词 微凝胶,相转变,乳液聚合,纳米载药系统

中图分类号 O631.2

智能纳米凝胶是高分子微凝胶的一种,一般情况下它的粒径不大于 100nm,这种凝胶能够感应外界环境的变化并因此而发生相应的物理化学性质的变化。这些外界因素包括温度、离子强度、pH 值、溶剂以及光、电、磁、压强等。凝胶在感应这些外界刺激响应后的变化特性,在化妆品工业、涂料行业、印刷业,尤其是在生物医药行业的应用最为引人注目,如生物活体标记、免疫隔离细胞移植、基因治疗和药物定位缓释等^[1]。Flory 等^[2]早在 50 年代就对智能凝胶的溶胀变化作过理论上的研究。著名的凝结专家 Tanaka 的实验室发现凝胶的体积变化并给出其状态方程凝胶^[3]。近几年来,随着高分子科学与生物医药的交叉研究的兴起,生物医用高分子凝胶的研究已成为高分子研究的一大热点,生物医药应用凝胶要求具有一定的大小、交链结构、组成和生物相容性。本文主要综述凝胶材料的研究进展、纳米凝胶的合成及其在生物医药上的应用。

1 凝胶材料的研究进展全面

凝胶(Gel)及凝胶现象在大自然中普遍存在而且结构复杂,生物体的大部分由含水的柔软的凝胶状物质组成。但直到 90 年代 Keller 才在一篇综述中为广义上凝胶作了一个较为全面和准确的定义^[4]:凝胶是一种包含液体,能够自我维持稳定的分散体系,单链或大的分子聚集体构成了其中的连续的网络结构。Tanaka 曾合成出具有光响应的凝胶体系^[5],这种凝胶在光的作用下发生体积收缩,且在人造肌肉、恶劣环境下的作业等方面有应用前景,他还研究了聚酰胺凝胶的图案化现象^[6],利用不同凝胶的对同一刺激的不同响应产生了对光的不同折射产生图案。Hu 等人在 Science 上报道关于合成形状记忆凝胶与“凝胶智能手”^[7],主要是有不同聚合物凝胶对外界条件的变化产生的应力不同而发生定向的弯曲。香港中文大学的吴奇教授应用动(静态)态激光光散射手段研究单链和交联的微凝胶在外界条件变化时的相转变现象,并提出“coil-globe”理论模型^[8]。

合成智能微凝胶所用的材料主要有天然高分子、生物降解型高分子和非生物降解高分子三类。非生物降解高分子在合成智能高分子微凝胶中的应用广泛,最为典型的是聚酰胺及其

中国科学院知识创新工程领域前沿和上海市科委纳米科技与产业发展促进中心资助项目

第一作者:李威,男,1973 年 10 月出生,1997 年毕业于合肥工业大学,高分子化工专业,2002 年于中国科学院上海原子核所获硕士学位

收稿日期:2001-07-17,修回日期:2002-02-03

衍生物,由于些聚合物在外界环境的刺激下能够有体积或其他结构的变化。即最低临界溶解温度(lower critical solution temperature, LCST),外界温度高于 LCST 时,凝胶就会由溶胀状态转为塌陷的收缩状态,降低温度体系会自然恢复原来状态,LCST 附近的体积随温度的改变变化如图 1 所示^[9]。作用于智能微凝胶使其产生响应的外界因素除温度,还有很多^[10],如 pH 响应、光响应、电场响应和生化响应等。总之,各非生物降解型的凝胶的响应归根结底是由于凝胶的体积和结构的改变。

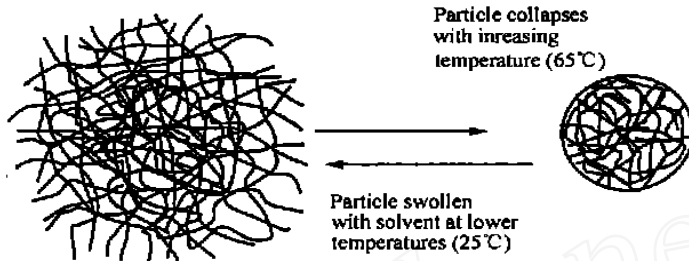


图 1 凝胶的体积相转变示意图

Fig. 1 Scheme illustration on the volume changes of the nanogel at above and below the LCST

2 纳米智能凝胶的合成

智能微凝胶的合成方法比较多,不同的合成方法产生具有不同的粒径和表面结构的凝胶,从而具有不同的用途。高分子微凝胶的制备可以归结为物理和化学两种方法^[11],如图2所示。从图中可以看到,路线2主要是物理方法,该方法的特点是预先合成一定分子量的高分子

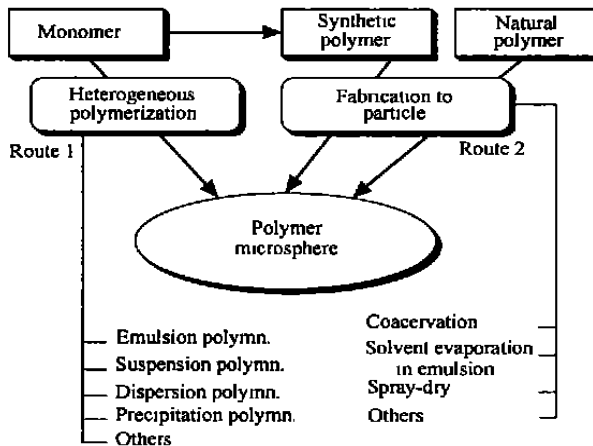


图 2 高分子微球的物理和化学制备方法

Fig. 2 Chemical and physical methods of polymeric microspheres synthesis

或利用具有一定分子量的天然高分子,然后运用物理的方法使粒子细微,这种方法得到的微球粒径分布较宽、粒径较大。路线 1 则是高分子化学合成方法,利用不同的合成方法得到不同粒径的微凝胶。从图 3 中可以看出,合成方法与微凝胶粒的关系很大,但是我们可以通过改变实验体系和合成条件实现对粒径的控制。根据凝胶的微结构可以将其分为三大类:互穿聚合物网络微凝胶,又称乳液互穿聚合物网络(Latex Interpenetrating Polymer Networks, LIPN),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微凝胶;核壳

结构微凝胶,这种结构的微凝胶一般最少具有两组分,通常有核壳型、草莓型和夹心型等。Bittin^[12]等合成了复杂的聚氧化乙烯-聚二甲基乙酰胺-聚(2-吗啉)乙基异丁烯三元核壳结构共聚物微凝胶。复合型微凝胶,这类微凝胶一般指无机有机复合结构的微凝胶,其中的无机化合物大多为具有磁场或电场效应纳米微粒。如南开大学的何炳林等将磁性纳米无机颗粒包裹在聚合物凝胶内部,通过磁场效应对微凝胶进行导向,获得磁响应微凝胶^[13]。

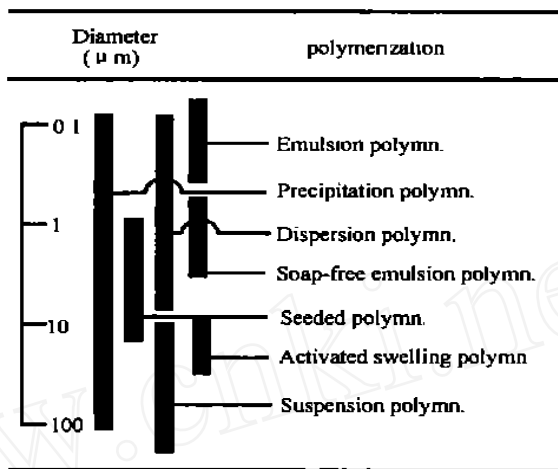


图 3 制备方法和凝胶粒径的关系

Fig. 3 Schematic presentation the relation of the diameter and synthetic method

我们实验室运用无皂乳液聚合和反向微乳液聚合合成 20—100nm 的微凝胶粒子。无皂乳液聚合是指完全不含乳化剂或只含微量的乳化剂的乳液聚合,其中乳化剂所起的作用与传统的乳液聚合不同,其粒子的形成机理和粒子的稳定条件不同于传统的乳液聚合,乳胶粒主要是通过结合在聚合物上的离子基团、亲水基团和分子间的范德华力稳定。引入这些基团的途径有三种,一是引发剂分解产生的碎片,二是聚合体系中加入离子型的共聚单体,三是体系中的亲水性的单体的存在,这些基团在微凝胶离子的表面形成一层保护层,它们之间的位阻效应是稳定粒子的根本所在。微乳液是由油、水、乳化剂和助乳化剂组成的各向同性、热力学稳定的透明或半透明的胶体分散体系,其分散尺寸为纳米级,比可见光短,所以一般为透明或半透明。微乳液和乳液聚合的本质区别主要在两方面:一是微乳液是热力学稳定体系,可以自动形成而不用外界的作用,而乳液聚合则是动力学稳定体系,只有在外界的搅拌作用下才能形成;二是微乳液聚合所得到的粒子粒径小于 100nm,而乳液聚合的最终粒子的粒径均一般在 100nm 以上。

无皂乳液聚合实验中所加入的乳化剂的量一般小于乳化剂的临界胶束浓度(CMC),其作用是在反应过程中阻止粒子由于热运动和搅拌而产生的相互凝并,其本质是增加微凝胶表面的双电层的电量和空间位阻。Wayne^[14]等用十二烷基硫酸钠(SDS)改进无皂乳液聚合合成聚 N-异丙基丙烯酰胺的微凝胶,并研究了 SDS 的浓度与微凝胶粒子的粒径的关系,得到与我们实验相似的结果,如图 4,当乳化剂增加到一定的浓度后微凝胶的粒径将不再降低而趋向于稳定。微乳液聚合由于体系中加入大量的乳化剂,所以是由胶束来控制微凝胶粒子的大小,其主要影响因素为乳化剂、单体和反应介质的匹配。

引发方式对微凝胶的粒径也有一定的影响,而且它还影响微凝胶的表面性质。目前常用

热、光、氧化还原等引发聚合的微凝胶表面有大量残留引发剂碎片,这限制了它在生物医学上的应用。本实验室采用辐射引发反应,体系中不需加引发剂和交链剂,通过射线与单体作用,产生自由基引发反应和交链。由此合成出一系列具有光、温度和 pH 响应的纳米微凝胶。图 5 和 6 是静态激光光散射的表征结果,从图可以看出,我们所合成的微凝胶比较适合在生物医学上应用。

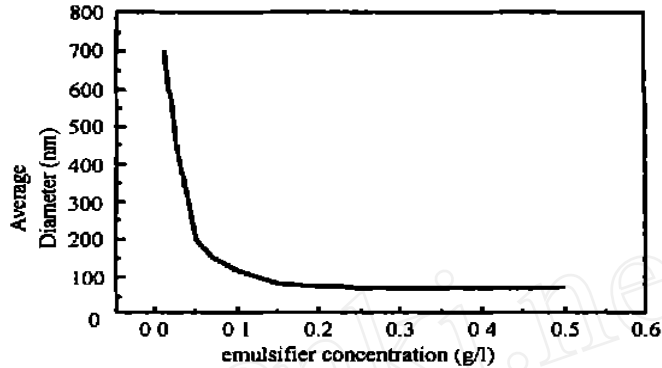


图 4 凝胶粒径和乳化剂浓度关系(25 °C 光散射表征)

Fig. 4 Average diameter of the nanogel as a function of emulsifier concentration results were from laser light scattering at 25 °C

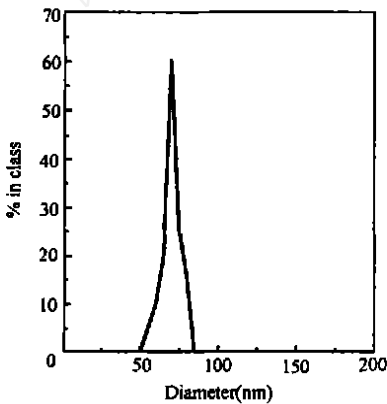


图 5 无皂乳液合成纳米凝胶的表征结果

Fig. 5 Characterization of the nanogel synthesized by the soapless emulsion polymerization

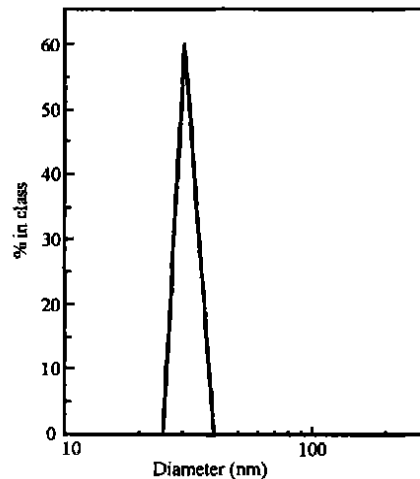


图 6 反向微乳液合纳米凝胶的表征结果

Fig. 6 Characterization of the nanogel synthesized by the inverse microemulsion polymerization

3 智能纳米微凝胶的生物医学应用

高分子微凝胶与无机材料微球或者生物脂质体相比具有很多优点,如价廉、对外界非响应因素的稳定性好、易功能化、制备简单等。目前高分子智能微凝胶在药物载体和基因工程治疗方面的应用已成为现代高分子科学发展的新方向。智能药物载体的单体主要按其作用机制来选则,而基因工程治疗上应用的材料一般为带有一定电性的高分子微凝胶。本实验室用 N-异丙基丙烯酰胺为单体,按不同的生物医学应用设计两种体系。一种是具有光和温度响应

的纳米微凝胶体系,光敏分子将微凝胶体系接受的一定波长的光能转化为热能,最终实现纳米凝胶的体积相变,可以用于药物的智能释放。另外一种是将离子型单体引入微凝胶,使其具有 pH 和温度双重响应,主要应用在基因的定向运输方面。

在生物制药上,传统的给药方式如使用片剂、胶囊及针剂等,给药后学药浓度起伏较大而且使用时间有限,只有频繁的小剂量给药,给患者造成极大不便。而以高分子智能微凝胶作为药物载体,可以减少服药次数,屏蔽药物的刺激性的气味,通过外界条件人为控制药物计量、提高药物疗效,并且可以降低药物的成本等。这种载药体系在体内的作用效果与传统的服药方式的比较见图 7,被称为纳米载药系统(Nano-based drug delivery systems, NDDS)。纳米载药系统主要是将药物分子与天然或合成高分子载体通过化学键合、物理吸附或包裹,在不降低原有药效并抑制其副作用的情况下,以合适的浓度和时间将控释系统导向至患病的部位,然后体系通过一系列的物理、化学及生物控制,将药物等以最佳剂量和时间释放出来,达到定时、定位、定量发挥药物的疗效^[15]。

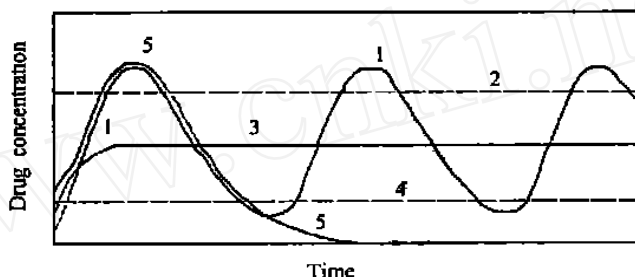


图 7 纳米载药体系和传统药物在体内的释放曲线

1) 控制释放, 2) 所需的最大剂量, 3) 缓释, 4) 所需的最小剂量, 5) 传统释放

Fig. 7 Curve of drug releasing conducted by nano drug delivery system and conventional method

1) Controlled release, 2) Max dose, 3) Sustainable release, 4) Min dose, 5) Conventional release

活性组分(药物、生物活性材料等)与载体纳米凝胶的结合方式主要有三种:第一为贮存式结构,药物集中在内层,外层为高分子材料纳米凝胶薄膜;第二种结构是基体式,药物均匀的分散于微凝胶内;第三种是化学结合式,主要通过化学键将药物连接在微凝胶载体上。载药体系的靶向作用是设计合成纳米微凝胶体系的关键问题之一。根据载体的结构可以将其靶向分为三种:一是主动靶向,载药体系能识别与病变部位的组织或细胞的特定抗原或受体,通常在载体表面接上特定的单克隆抗体、某些细胞因子或配体蛋白。第二是被动靶向机理,具有一定的粒径范围和表面性质的载体载体内循环时被特定的组织或器官捕获。如静脉注射后,要达到人脑、骨髓等组织细胞的载体粒径一般必须小于 50nm;100—200nm 的微凝胶粒子被网状内皮系统的吞噬细胞内吞,主要到达底肝、脾组织;而粒径大于 1000nm 的载体则被第一毛细血管网摄取,或被肺机械性截留,因此主要集中在肺部^[16]。最后一种是物理靶向,这种靶向的原理是利用病变部位与正常组织在温度、酸度等血液微环境的不同,或利用电场、磁场、光等外界因素作用于载药系统,实现其靶向移动。

当纳米微凝胶载药系统到达病变组织或细胞,如何控制释放以及释放剂量是另一个关键问题。药物的释放途径主要有三个方面:随微凝胶的降解性而释放、通过微凝胶的膨胀扩散释放,微凝胶载体表面化学释放。其中第一个因素只跟生物降解型纳米微凝胶的体系有关。根据系统对信号是否响应可以将纳米微凝胶的释放分程序式药物脉冲释放系统(programmed pulsed-release system, PPRS)和智能式药物脉冲释放系统(intelligent pulsed-release system,

IPRS)。其中 PPRS 释放模式由预先设定的载体结构来实现,利用高分子降解性能控制药物释放的滞后时间及其释放所持续的时间。如 Butun 等^[12]设计了一种类似于核壳型的释放系统,体系由交替的含药骨胶原和不含药的骨胶原(在体液中骨胶原可以逐步降解)组成,其中药物的脉冲持续时间、释放时间及脉冲次数由骨胶原的组成和分层厚度决定。而 IPRS 则需要外界的刺激和载体的响应共同完成,智能式药物脉冲释放系统根据信号的来源可以分为外部调节和自身调节。外部调节式智能式药物脉冲释放系是由外界的光、电、磁等因素调节体系的药物释放,本实验室合成的光响应纳米微凝胶的调节方式属于此类。自调节智能式药物脉冲释放系统是由体系自身感应病变组织的刺激而实现对药物的释放,如我们合成的温敏型的纳米微凝胶就是利用体内病变部位的温度的细微变化刺激载体,控制药物的释放计量和释放速度。

智能纳米高分子微凝胶也可以用于基因工程治疗,到目前为止大多以病毒为载体,但这却有可能内病毒的重组、致癌等负效应^[17]。以非病毒的高分子材料为载体的基因治疗克服这一问题,这种载体主要是高分子聚电解质(polyelectrolyte),或者是离子型单体的共聚物,使凝胶表面带上一一定的电荷。然后通过载体与 DNA 片段、碱基等物质吸附、包裹或形成配合物实现定向输送,达到特定位置后按各种响应机制释放出来,具体作用机理与纳米载药系统基本相同。Francos G. 等^[18]用苯乙烯和乙烯基苯甲酰胺通过无皂乳液聚合合成胶化的核壳型粒子。研究体系在不同的 pH 和离子强度下与单链脱氧核甘酸的吸附及吸附量的关系,同时证明了疏水作用在吸附的过程中起到重要的作用。用天然高分子作为基因治疗载体的研究也比较多,如壳聚糖和半乳糖等形成带有季胺盐的微凝胶粒子,可以和 DNA 形成聚电解质配合物实现 DNA 的定向运输。其他的化学分子也可以实现载体的导向和治疗,如张蓉颖等^[19]利用博来霉素(Bleomycin, BLM)作为头、颈及鳞状细胞癌 DNA 定向切割治疗的载体;还有一些方法是对微凝胶表面功能基团进行修饰,引入转铁蛋白、半乳糖等,再与 DNA 片段等形成具有靶向和治疗功能的复合体。基因工程治疗用纳米凝胶载体粒径要求比较小,一般只有纳米级才顺利地进入细胞内部。而且载体的表面要进行化学修饰,减少载体被体内其他的组织细胞捕获的机会。

4 结束语

生物医用高分子凝胶是最近发展起来的交叉研究领域,如具有仿生功能的凝胶,组织工程用高分子凝胶,以及是缓释、靶向制剂用的智能高分子纳米凝胶。以高分子微凝胶作为载体的智能药物制剂已经实现了商品化,如 1990 年美国上市的商品名为 Norplant 类固醇激素,商品名为 Ocusert 治疗青光眼的皮罗卡品等。相信随着高分子科学和生物医学的不断发展,新的智能纳米微凝胶载体和效果更佳生物医学工程药物制剂将会被研究出来。

参 考 文 献

- 1 Saunders B R, Brain V. *Advance in Colloid and Interface Sci*, 1999, **80**:1—25
- 2 Flory P.J. *Principles of Polymer Chemistry*. Ithca, New York: Cornell University Press, 1953
- 3 Tanaka T. *Phys Rev Lett*, 1978, **40**:820
- 4 Keller A. *Faraday Discuss*, 1995, **101**:1—49
- 5 Atsuh S, Tanaka T. *Nature*, 1990, **346**:345—346
- 6 Matsuo E S, Tanaka T. *Nature*, 1992, **358**:482
- 7 Hu Z B, Zhang, X M, Li Y. *Science*, 1995, **269**:525

8 WANG Xiaohui , QIU Xingping , WU Chi. *Macromolecules* , 1998 , **331** :2972 —2976

9 Robert P. *Advance in Colloid and Interface Sci* , 2000 , **85** :32 —33

10 何庆 , 盛京. *功能高分子学报* , 1997 , 118 —127

HE Qing , SHENGJing. *J Functional Polym* , 1997 , 118 —127

11 Robert C. *Macro Chem* , 1990 , **327** :35 —36

12 Butun V , Wang X S , Banez M V , *et al* , *Macro* , 2000 , **33**(1) :1 —3

13 赵勇 , 何炳林 , 哈润华. *高分子学报* , 2000 , 5 :550 —553

ZHAO Yong , HE Binglin , HA Runhua. *Acta Polymerica Sinica* , 2000 , 5 :550 —553

14 Wayne M. *J Colloid and Interface Sci* , 1998 , **156** :24 —30

15 Marty J , Oppenheim R C , Speiser P. *Pharm Acta Helv* , 1978 , **53** :17

16 Couvreur P , Kanate B. *J Pharm Bel* , 1980 , 35 —51

17 Veram I M , Somia N. *Nature* , 1997 , 389 —239

18 Francois G , Elaissari A , Pichot C , *et al*. *Langmuir* , 1997 , **B**:701 —707

19 张蓉颖 , 庞代文 , 蔡汝秀. *高等学校化学学报* , 1999 , **20** :1210 —1217

ZHANG rongying , PANG Daiwen , CAI Ruxiu. *Chemical Journal of Chinese University* , 1999 , **20** :1210 —1217

Synthesis and bio - medical application of the intelligent nanogels

LI Wei WANG Wenfeng LI Rongqun YAO Side

(*Shanghai Institute of Nuclear Research , the Chinese Academy of Sciences , Shanghai 201800*)

Abstract

This review presents a general view of the development in the field of intelligent nanogel and its bio - medical application , introduces the methods about synthesizing the nanogels and controlling the diameter size under 100nm. Finally focuses on the on - off mechanism of the Nano - based Drug Delivery System (NDDS) , and the bio - medical application such as gene therapy.

Key words Nanogel , Phase transition , Emulsion polymerization , Nano - based drug delivery system (NDDS)

CLC O631.2