

Research on the Preparation Technology of Pirfenone Polyvinyl Alcohol Hydrogel

Zhuo Du¹ Cuiqiong Kuang^{2,3} Yufang Mo^{2,3} Tao Wang^{1,4} Fang Liu¹ Liping Chen¹ Jialiang Guo^{1*}

1. School of Pharmaceutical Engineering, Foshan University, Foshan, Guangdong, 528000, China

2. Department of Pharmacy, The First People's Hospital of Foshan, Foshan, Guangdong, 528000, China

3. Foshan Hospital Affiliated to Sun Yat-sen University, Foshan, Guangdong, 528000, China

4. The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Foshan, Guangdong, 510080, China

Abstract

Objective: To explore the influence of different factors on the properties of polyvinyl alcohol (PVA) hydrogel. **Methods:** The PVA hydrogel was prepared by invert freezing-thawing method. **Results:** It showed that physical properties and mechanical properties of the PVA hydrogel made by repeated freezing-thawing at -25 °C could get special properties compared with other test temperature. It could get a stable state of a relatively low swelling: smaller density of 1.03g/cm³ and low water content of 77.8%, the tensile modulus of approximately 0.221MPa. To further explore the relationship between number of freezing-thawing and properties of PVA hydrogel, it found that with the increase of the number of freezing-thawing density of PVA hydrogel, the equilibrium swelling ratio decreases, the tensile modulus increased. The release profile of pirfenidone Polyvinyl Alcohol Hydrogel featured a rapid release at the initial stage followed by smooth and sustained-release for fifty hours. **Conclusion:** The regular changes is benefit for the pirfenidone Polyvinyl Alcohol Hydrogel used as drug delivery system.

Keywords

pirfenidone; polyvinyl alcohol hydrogel; freezing and thawing; physical property; mechanical property

Fund Project

National Natural Science Foundation of China (NO.81872832, NO.81503031).

吡非尼酮聚乙烯醇水凝胶的制备工艺研究

杜卓¹ 邝翠琼^{2,3} 莫玉芳^{2,3} 王涛^{1,4} 刘芳¹ 陈丽萍¹ 郭嘉亮^{1*}

1. 佛山科学技术学院医药工程学院, 中国·广东 佛山 528000

2. 佛山市第一人民医院药学部, 中国·广东 佛山 528000

3. 中山大学附属佛山医院, 中国·广东 佛山 528000

4. 中山大学附属第一医院, 中国·广东 佛山 510080

摘要

目的: 探讨不同因素对聚乙烯醇(PVA)水凝胶性质的影响。**方法:** 利用冷冻—融化法制备聚乙烯醇水凝胶, 检测反复冻融所制备的PVA水凝胶的物理性质和力学性能, 并分析冻融次数对聚乙烯醇水凝胶性质的影响。**结果:** 检测反复冻融所制备的PVA水凝胶的物理性质和力学性能, 发现-25℃条件下较其它测试温度所得到的水凝胶相比, 拥有较小的密度(可达1.03g/cm³)、较低含水量(77.8%)、较强的拉伸模量(0.221MPa), 可保持在溶胀程度相对低的稳定状态。分析比较冻融次数对聚乙烯醇水凝胶性质的影响, 发现随着冻融次数增多PVA水凝胶的密度呈增加趋势, 平衡溶胀率呈减小趋势, 拉伸模量呈增加趋势。制备吡非尼酮聚乙烯醇水凝胶释放实验显示: 初期速释后呈现缓慢释放至50h。**结论:** 采用本研究优化参数制备的PVA水凝胶表现出良好的物理、力学性能和稳定性, 制备吡非尼酮聚乙烯醇水凝胶具有良好的缓控释能力。

关键词

吡非尼酮; 聚乙烯醇水凝胶; 冷冻—融化法; 物理性能; 力学性质

基金项目

国家自然科学基金(NO.81872832、NO.81503031)。

1 引言

水凝胶是一类具有强烈吸水性质,在水中只能溶胀而无法溶解具有三维网络结构的聚合物^[1]。从20世纪60年代初日本、美国就已对合成高分子水凝胶进行研究并加以利用^[2],而对其研究则始于80年代初^[3]。聚乙烯醇(Poly(Vinyl Alcohol), PVA)是由聚醋酸乙烯酯水解而成的一种水溶性聚合物。作为一种较早开始研究的合成水凝胶,PVA具有稳定的理化性质,材料毒性甚小,生物相容性良好,可显著促进创面愈合,减轻瘢痕增生,被广泛应用于医药化工等领域^[4]。PVA水凝胶含水量高、易于加工,日益受到人们的重视。然而PVA水溶液室温下通过氢键所形成的水凝胶因力学性质差、降解周期短而较大限制了其应用^[5]。研究表明^[6-9]通过反复冻结可方便快捷促进PVA物理交联,从而在一定程度上提高力学强度。虽PVA水凝胶的研究较为充分,然而冷冻温度与冻融次数对其性质的影响还有待深入探讨。

吡非尼酮(pirfenidone),化学名为5-甲基-1-苯基-2(1H)吡啶酮,是一种具有广谱抗纤维化和抗炎作用的新药。吡非尼酮最早用于特发性肺间质纤维化的治疗,作为临床上治疗特发性肺纤维化唯一特效药取得了良好的临床效果。在肾纤维化、肺纤维化动物实验研究和终末期肺纤维化患者的临床治疗中,吡非尼酮具有阻止甚至逆转细胞外基质积聚的作用。

目前临床上仅有胶囊剂型,给药剂量较大并且给药时间长达数月甚至半年,临床使用中发现有胃肠道及光敏反应等毒副作用。本研究探讨制备聚乙烯醇水凝胶剂最佳冻融次数和冷冻温度,并制备获得释药性能较为优良的吡非尼酮PVA凝胶剂,该药物制剂已获得中国发明专利的授权证书^[10]。新开发吡非尼酮凝胶剂具有减少给药剂量,从而降低毒副作用,其临床开发的价值与新药申报的前景均较好。

2 材料和方法

2.1 材料

实验选用白色粉状聚乙烯醇1788型(上海晶纯生化科技股份有限公司)作为原料,其平均聚合度为 1750 ± 50 ,醇解度为87.0%~89.0%,通过反复冻融形成物理交联法制备PVA水凝胶。

实验用到的器械包括:恒温磁力搅拌器;恒温水浴锅;

精密控温冷阱;电子分析天平以及恒温干燥箱等。

2.2 方法

2.2.1 聚乙烯醇水凝胶试样的制备

取一定量的聚乙烯醇溶于定量的双蒸水中,80℃恒温震荡水槽中加热溶解6h,配置出质量分数为20%。将上述样品装入圆形模具中并置于精密控温冷阱冰箱中冷冻6h成型,温度分别为-10℃,-15℃,-20℃,-25℃,-30℃。取出样品室温下融化2h,反复冻-融3次后样品待测。

对于冻融次数对凝胶性质的影响实验,选取-20℃的冻融温度,另制备冻融次数为2、4、5作为对照组。

2.2.2 聚乙烯醇水凝胶的密度测试:

在27℃,湿度45%的室内环境下,测量采用2.2.1方法在不同浓度和冷冻条件下制备聚乙烯醇水凝胶样品的质量及等体积下水的质量,相应聚乙烯醇水凝胶样品的密度计算方法式(1):

$$\rho / \rho' = m / m' \quad (1)$$

式中: ρ :水凝胶密度, g/cm^3 ; m :水凝胶的质量, g ; ρ' :水的密度, g/cm^3 ; m' :同等体积下水的质量, g 。3组样品平行测试,算出标准误差标注于图1中。

2.2.3 聚乙烯醇水凝胶的含水率测试

以2.2.1方法在不同浓度和冷冻温度下制备的聚乙烯醇水凝胶样品平铺,置于与样品相同条件下干燥至恒重的扁形称量瓶中,精密称重 m_0 ;在105℃干燥至恒重,精密称重 m_1 ;由减失的质量和取样量计算得出样品的含水量。计算公式为:

$$\omega = (m_0 - m_1) / m_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中表示聚乙烯醇水凝胶的含水率, m_0 :聚乙烯醇水凝胶的初重, g ; m_1 :聚乙烯醇水凝胶的干重, g 。3组样品平行测试,算出标准误差标注于图2中。

2.2.4 聚乙烯醇水凝胶的溶胀动力学测试

用20℃双蒸水浸泡用2.2.1方法在不同冷冻温度下制备聚乙烯醇水凝胶样品(干燥至恒重, W),每隔一定时间从溶胀介质中取出PVA水凝胶,用滤纸擦拭表面水分,称重得溶胀凝胶的质量(W_s^t)。不同时间凝胶的溶胀比按下式计算:

$$Q = W_s^t / W \quad (3)$$

3组样品平行测试,算出标准误差标注于图3中。

2.2.5 水凝胶粘弹性测试

采用材料万能试验机 (E42 电子万能试验机 (5 N-5 kN)) 测试采用以 1.2.1 方法制备 PVA 水凝胶的力学性能。测试材料的应变速率为 10 mm/min, 样品厚度约 5 mm, 记录形变 50% 时模量等, 具体见图 4、图 5、图 6、图 7。

2.2.6 吡非尼酮 PVA 凝胶的体外释药实验

将吡非尼酮溶解于乙醇按一定比例与质量分数为 20% PVA 水溶液混合溶解后, 以 2.2.1 方法低温冷冻室温融化, 反复多次后制得吡非尼酮 PVA 凝胶。

精密称取自制药物含量为 18.5% 的吡非尼酮 PVA 凝胶装入透析袋中, 两端密封透析袋后放进装有 PBS 溶液 20mL 的锥形瓶中。置于振荡器中, 以 $(94 \pm 4) \text{ min}^{-1}$ 频率振荡, 恒定温度 $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ 。到取样时间点即倒出全部 PBS 释药介质, 换上相同体积的新鲜 PBS 继续振荡, 每个时间点取 3 个样液测定并计算平均值。采用紫外分光光度计在 317nm 波长测定释药介质 PBS 中吡非尼酮浓度, 计算释药量和累积释药百分比, 绘制其在 PBS 溶液的释药曲线^[11-13], 见图 8。

3 结果

3.1 冷冻温度对聚乙烯醇水凝胶性质的影响

3.1.1 对凝胶密度影响

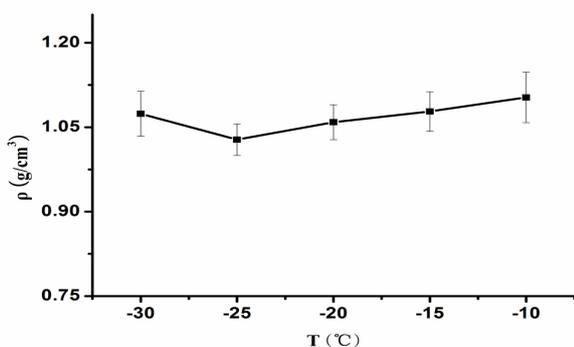


图 1 冷冻温度对凝胶密度的影响 (冻融 3 次处理)

分别给予 -30°C 、 -25°C 、 -20°C 等不同的冷冻温度, 质量分数为 20% 的 PVA 凝胶冻融 3 次后所测得的凝胶浓度如图 1 所示。结果显示: 冷冻温度对 PVA 水凝胶的密度影响显著, -25°C 下冻融 3 次所得到的 PVA 水凝胶的密度最小, 约为 1.03 g/cm^3 ; -10°C 冻融后所得到的 PVA 水凝胶的密度最大, 约 1.11 g/cm^3 。密度随冻融温度升高整体变化规律是先下降后升高。

3.1.2 对含水量的影响

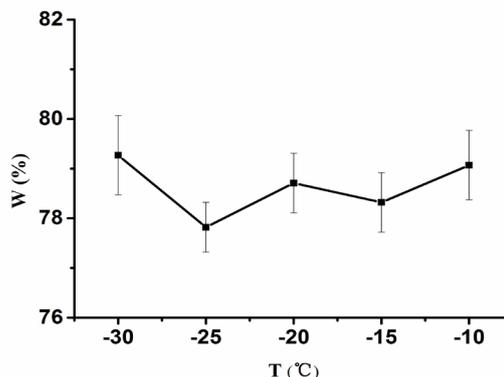


图 2 冷冻温度对含水率的影响 (冻融 3 次处理)

不同的冷冻温度下, 质量分数为 20% 的 PVA 凝胶冻融 3 次后所测得的凝胶浓度如图 2 所示。结果显示: 不同冷冻温度下制备的 PVA 水凝胶的含水量在 77%–80% 之间。其中 -25°C 下所得到的水凝胶的含水率最低, 约为 77.8%。

3.1.3 溶胀动力学

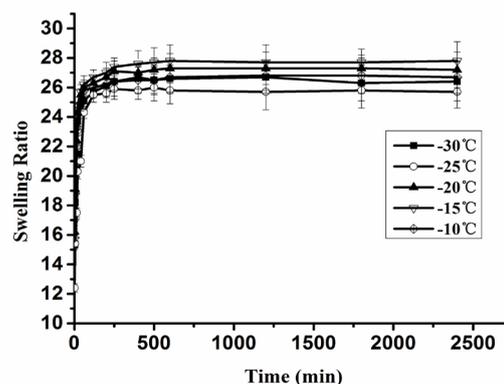


图 3 冷冻温度对溶胀行为的影响 (冻融 3 次处理)

不同的冷冻温度下, 质量分数为 20% 的 PVA 凝胶冻融 3 次后所测得的凝胶溶胀动力学结果如图 3 所示。结果显示, 各样品具有相似的溶胀行为, 在 250 min 左右的时间达到溶胀平衡, 随后维持基本稳定的状态, 可达到 25–28 倍。其中, -25°C 冷冻所得到的凝胶最先达到溶胀平衡且具有相对小的溶胀率, 约为 26 倍。

3.1.4 对模量影响

图 4 所示是质量分数为 20% PVA 凝胶经 3 次冻融处理后, 应变为 50% 时的瞬时拉伸模量随冷冻温度的变化规律。其中 -25°C 下冷冻制备水凝胶具有相对较小的模量, 约为 0.221 MPa。

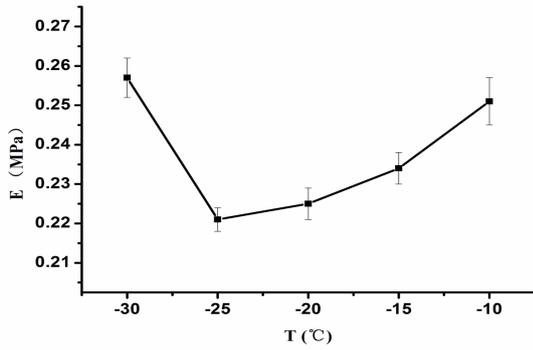


图4 冷冻温度对凝胶拉伸模量的影响(冻融3次处理,应变50%)

3.2 冻融次数对聚乙烯醇水凝胶性质的影响

3.2.1 对密度影响

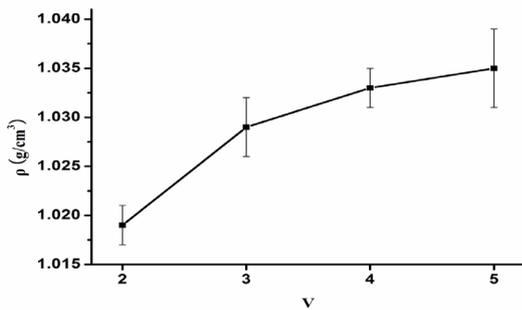


图5 冻融次数对凝胶密度的影响

图5为-25度下不同冻融次数对质量分数为20% PVA水凝胶密度的影响结果。图示显示,随着冻融次数增多PVA水凝胶的密度呈现变大趋势。冻融2次所得到的凝胶密度约为1.018 g/cm³,冻融3次增加到1.028 g/cm³,随冻融次数增加,密度涨幅呈降低趋势。

3.2.2 对平衡溶胀率影响

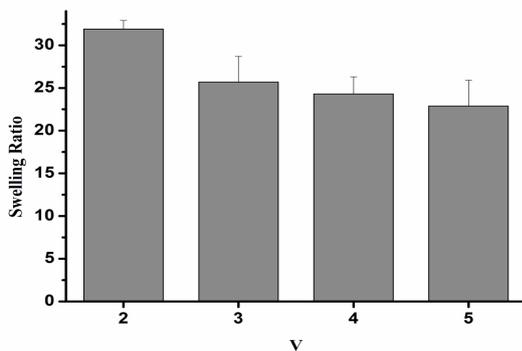


图6 冻融次数对凝胶平衡溶胀率的影响

图6为-25度下不同冻融次数对质量分数为20% PVA

水凝胶平衡溶胀率的影响结果。图示显示:随着冻融次数的增多PVA水凝胶的平衡溶胀率呈现减小趋势。

3.2.3 对模量影响

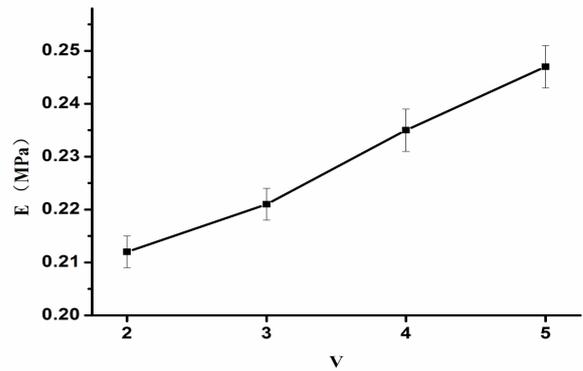


图7 冻融次数对凝胶拉伸模量的影响

图7为-25度下不同冻融次数对质量分数为20% PVA水凝胶拉伸模量的影响结果。图示显示:随着冻融次数增多PVA水凝胶的拉伸模量呈现变大趋势。冻融2次、3次、4次、5次所得到的凝胶的拉伸模量分别为0.212 MPa, 0.221 MPa, 0.235 MPa, 0.247 MPa, 增加幅度呈上升趋势。

3.3 吡非尼酮聚乙烯醇水凝胶的释药性

3.3.1 吡非尼酮标准曲线的建立

吡非尼酮在PBS(pH7.4)中λ=317nm处测得最大吸收峰,取吡非尼酮的浓度为0.5、1、2、5、10、30、40 μg/mL测其对应的吸光度,将浓度(C)对吸光度(A)进行回归,得吡非尼酮的标准曲线方程为: A=0.02687A+0.003 (R=0.99996)。结果表明:本品在0.5~40μg/mL浓度范围内,其浓度与吸光度均成良好的线性关系,符合 Lambert-Beer 规则。

3.3.2 PVA水凝胶对吡非尼酮的控制释放

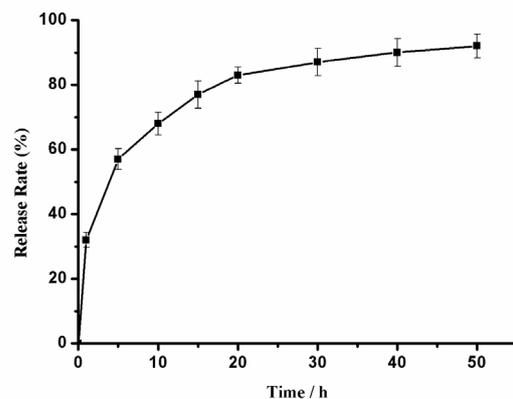


图8 PVA水凝胶对吡非尼酮的控制释放

图8为经3次冻融处理质量分数为20% PVA凝胶在室温(28℃)下对吡非尼酮的释放曲线,初期表现出一定的突释现象,前5h释放约56%,随后呈现缓慢释放至约50h。表明经过冻融处理制备的PVA水凝胶对吡非尼酮具有一定控制释放的效果。

4 讨论

反复冻融物理作用是制备PVA水凝胶常用方法,其中冷冻温度和循环次数对凝胶性能的影响被广泛研究且应用临床^[14-16]。本研究通过实验证实冻融温度在-25℃时制备聚乙烯醇水凝胶拥有更低密度、含水率和模量。这是因为PVA水凝胶由三部分组成,即PVA分子组成非晶区域、PVA分子间和分子内由羟基之间结合形成氢键,而组成的结晶区及三维网状内部包含大量自由水。-25℃下冷冻凝胶中,参与氢键的水分较多而自由水分较少,因此冻融过程中失水较少得到凝胶浓度较小;同时因结合到PVA非晶区域或参与结晶区的水分较多,而这部分水分较为稳定不容易挥发,同时冻融后体系不再容易与自由水分相结合,对于凝胶网络完善及性能保持具有很大意义,故其含水率较其它温度得到的凝胶更小。PVA凝胶是一种粘弹性材料,凝胶的弹性来源于PVA非晶区域和结晶区,而粘性特征则来源于网络内部大量自由水。因此,自由水分更少的、网络更为完善的凝胶表现出较好的弹性特征。其分子轻度交联的网络结构内部含有大量自由空间,在考察相同的变形量(50%)作用下,这些自由空间能够使聚合物链段对外部应力的作用可以做出快速反应并进行重排,从而使得所需要的应力最小,表现出低模量特点。

冷冻处理次数对凝胶性能也有较大影响,冷冻对于凝胶中自由水分有较大影响。每增加一次冻融,凝胶中自由水分将挥发部分,导致凝胶密度有所增加。冻融2次所得凝胶平衡溶胀率约为32,冻融3次减小到25,随冻融次数增加,减小幅度呈降低趋势。这说明凝胶的网络与水分子作用均趋于完善,凝胶变得更为稳定。从微观角度可以解释如下:PVA凝胶的非晶部分因分子排布不规则,含有微小孔穴。冻融次数的增加除使自由水减少导致凝胶浓度的增加外,也使结晶区和非晶区的分子间作用力增加,分子缠结能力增强,进一步导致微小空穴数量和无序部分的减少,凝胶的网络结构更加紧密,单位体积内的网络间隙减少,凝胶宏观表现为密度

增大,平衡溶胀率降低,拉伸模量增大。

5 结论

PVA水凝胶是一种粘弹性高分子材料。不同冷冻温度及冻融次数对所制备PVA水凝胶的物理性质影响极大。实验结构表明:-25℃下反复冻融所制备的PVA水凝胶的物理性质和力学性能较其它测试温度所得到的水凝胶相比,拥有较小的密度可达1.03g/cm³、较低含水量为77.8%、拉伸模量约为0.221MPa及保持在一个相对低的溶胀的稳定状态。随着冻融次数增加PVA水凝胶的物理性质呈现规律性的变化,冻融次数在一定范围内增加,密度呈增大趋势、平衡溶胀率呈减小趋势、模量呈增大趋势。并且通过模型药物在吡非尼酮PVA水凝胶的体外释药实验表明:PVA水凝胶对药物具有突释及缓释作用。这些研究成果为进一步优化PVA水凝胶作为药物释放体系参数提供研究基础及参考数据。

参考文献

- [1] Shreyas S Rao, Jessica De Jesus, Aaron R Short, Jose J Otero, Atom Sarkar, Jessica O Winter. Glioblastoma Behaviors in Three-Dimensional Collagen-Hyaluronan Composite Hydrogels[J]. ACS Appl. Mater. Interfaces, 2013(19):9276-9284.
- [2] Hyon S H, Cha W I, Ikada Y. Makromol. Chem. 1992(08):1913-1925.
- [3] 邹新禧. 超强吸水剂[M]. 化学工业出版社. 1989:132. 23.
- [4] 韩领军, 杨荣杰. 聚乙烯醇(PVA)水凝胶研究进展[J]. 材料导报, 1997(2):43-45.
- [5] 潘育松, 熊党生, 陈晓林. 聚乙烯醇水凝胶的制备及性能[J]. 高分子材料科学与工程, 2007(23): 228-231.
- [6] 陈立奇, 张德坤, 张劲松, 等. 冷冻温度对聚乙烯醇水凝胶性能的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007(48):9679-9682.
- [7] 李海东, 程凤梅, 肖静. 医用聚乙烯醇水凝胶的制备及性能[J]. 长春工业大学学报, 2006(3): 188-191.
- [8] 巍召阳. 苏州大学放射治疗硕士论文, 2012, 24. 12.
- [9] Hyon SH, Cha WI, Ikade Y. Preparation of transparent poly(vinylalcohol) hydrange1[J]. Pdymer Bulletin, 1989, 22: 119-122.
- [10] 杜卓, 王涛, 刘芳, 等. 吡非尼酮PVA水凝胶的制备方法及其吡非尼酮PVA水凝胶: 中国, ZL201611036132.5 [P]. 2019-12-06.
- [11] 杜卓, 潘仕荣, 余巧, 等. 喜树碱核壳型纳米胶束的制备及体外性

- 能性能 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014 (4):1-4.
- [12] Zhuo Du, Shi-rong Pan, Chuanbin Wu. Paclitaxel-loaded nanoparticles composed of folate-poly (ethyleneglycol) and poly(γ -benzyl L-glutamate) diblock copolymers. *Colloids and Surfaces A*. 2010,353:140-148.
- [13] 杜卓, 潘仕荣, 余巧, 等. 紫杉醇纳米胶束冻干粉针剂的制备工艺研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2013(05): 510-514.
- [14] Iravani A, Mueller J, Yousefi AM. Producing homogeneous cryogel phantoms for medical imaging: a finite-element approach. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2014, 25(2):181-202.
- [15] Jiang H, Zuo Y, Zhang L, Li J, Zhang A, Li Y, Yang X. Property-based design: optimization and characterization of polyvinyl alcohol (PVA) hydrogel and PVA-matrix composite for artificial cornea. *J Mater Sci Mater Med*. 2014, 25(3):941-52.
- [16] Gonzalez JS, Ludueña LN, Ponce A, Alvarez VA. Poly (vinyl alcohol)/cellulose nanowhiskers nanocomposite hydrogels for potential wound dressings. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2014,34:54-61.