

医药与日化原料

# NIR 光响应型 PNIPAM-co-AA/GO 复合体系的制备及药物释放

朱敬洋, 周益名\*, 付志威, 黄倩

[浙江理工大学 纺织科学与工程学院 (国际丝绸学院), 浙江 杭州 310018]

**摘要:** 采用乳液聚合法将 *N*-异丙基丙烯酰胺 (NIPAM) 与丙烯酸 (AA) 聚合为 PNIPAM-co-AA 微凝胶, 并进一步与氧化石墨烯 (GO) 超声共混得到 PNIPAM-co-AA/GO 复合体系, 将其应用于药物释放研究。采用 FTIR、TEM、DLS、UV-Vis 对微凝胶及复合体系的结构和性能进行了表征与测试。结果表明, PNIPAM-co-AA 微凝胶的粒径为 458.7 nm, 最低临界相转变温度 (LCST) 为 40 °C, 具有温度敏感性和 pH 敏感性。GO 的存在将 PNIPAM-co-AA/GO 复合体系的温度响应控制转化成了近红外 (NIR) 响应。复合体系受到 NIR 光照射, 可在 3 min 内将 NIR 光能转化为热能达到微凝胶的 LCST, 多次循环后光热转化性能稳定。药物释放实验结果表明, 有 NIR、pH 7.4, 25 °C 条件下, PNIPAM-co-AA/GO [AA 含量为 5% (以 NIPAM、BIS 和 SDS 物质的量之和为基准, 下同), GO 含量为 5% (以 PNIPAM-co-AA 质量为基准, 下同)] 对 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 在 24 h 的累积释放率为 77.24%。

**关键词:** PNIPAM 微凝胶; 氧化石墨烯; 温度敏感性; pH 敏感性; 近红外光热转化; 药物释放; 医药原料  
**中图分类号:** FQ460.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2022)11-2305-07

## Preparation and drug release of NIR photosensitive PNIPAM-co-AA/GO composite system

ZHU Jingyang, ZHOU Yiming\*, FU Zhiwei, HUANG Qian

[College of Textile Science and Engineering (International Institute of Silk), Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, Zhejiang, China]

**Abstract:** PNIPAM-co-AA/GO composite system was synthesized by ultrasonic blending of GO and PNIPAM-co-AA microgels which were prepared *via* emulsion polymerization of *N*-isopropylacrylamide (NIPAM) and acrylic acid (AA), and its *in vitro* drug release performances were investigated. Meanwhile, the microstructure and properties of PNIPAM-co-AA microgels and PNIPAM-co-AA/GO composite system were characterized by FTIR, TEM, DLS and UV-Vis. The results showed that the PNIPAM-co-AA microgels exhibited a particle size of 458.7 nm, lower critical solution temperature (LCST) of 40 °C, as well as temperature and pH sensitivity. The presence of GO transformed the temperature response control of PNIPAM-co-AA composite system into near infra-red (NIR) response. When irradiated by NIR light, the composite system, converting the NIR light energy into heat energy, could obtain the LCST of microgel within just 3 min, and the photothermal conversion performance was stable after several cycles. The drug release study revealed that under the conditions of NIR irradiation and pH 7.4, 25 °C, the cumulative release rate of PNIPAM-co-AA/GO [5% AA (based on the total mole of NIPAM, BIS and SDS), 5% GO (based on the mass of PNIPAM-co-AA)] to 5-fluorouracil (5-FU) within 24 h reached up to 77.24%.

**Key words:** PNIPAM-based microgels; graphene oxide; temperature sensitivity; pH sensitivity; NIR photothermal conversion; drug release; drug materials

收稿日期: 2022-03-14; 定用日期: 2022-06-06; DOI: 10.13550/j.jxhg.20220222

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (21908202); 中国博士后科学基金项目 (2020M671794)

作者简介: 朱敬洋 (1998—), 男, 硕士生。联系人: 周益名 (1985—), 女, 副教授, E-mail: 303547664@qq.com。

药物输送系统<sup>[1]</sup>是一种将人体内部(如 pH、温度等)、外部(如光、磁场等)环境的变化转变为药物载体的可控信号,从而实现药物智能输送的新型治疗技术。2010 年至今是药物输送系统发展的新时期,纳米技术<sup>[2]</sup>的发展使纳米药物载体在医药领域得到了大量的关注与研究。

智能微凝胶是一种能接收到外部环境刺激信号(如 pH、温度、光、磁场等)的变化而产生响应行为的纳米凝胶,响应行为通常表现为微凝胶的溶胀或内部溶剂的挤出,导致微凝胶的体积膨胀或收缩。区别于传统水凝胶的快速智能响应速率,使其在生物传感器<sup>[3]</sup>、催化剂<sup>[4]</sup>、废水处理<sup>[5]</sup>等领域都有应用,尤其在药物输送领域<sup>[6-7]</sup>得到了广泛关注。聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAM)微凝胶<sup>[8]</sup>是一种典型的温度响应型纳米颗粒,因接近于人体生理温度的最低临界相转变温度(LCST)<sup>[9]</sup>、快速温敏响应能力<sup>[10]</sup>以及纳米级尺寸带来的其他优势,使其成为可控药物输送系统的理想候选药物载体或构建模块。但在药物递送的过程中缺乏一定的可控性,如低于人体温度的 LCST,导致 PNIPAM 微凝胶可能还未达到目标释药部位便开始相转变,从而释放药物。因此,对微凝胶改性使其具有略高于人体温度的 LCST 或递送过程中的靶向作用是必要的<sup>[11-12]</sup>。

PNIPAM 基微凝胶的温敏性使其在药物输送领域中得到应用,但单一的刺激响应方式限制了其进一步的应用。多种刺激方式的协同响应在智能药物输送领域中受到了人们的广泛关注。光热转化<sup>[13]</sup>是指借助光热转化材料,将光能转化为热能,从而达到一定温度的技术。近年来,基于光热转化原理的新型医疗技术如光热疗法(PTT)、光动力治疗等不断发展。然而,紫外光和可见光对人体皮肤组织有较高的吸收和散射,且紫外光对皮肤组织有较高的损伤性。相比之下,近红外(NIR)光源具有更好的生物安全性和更深的组织穿透力<sup>[14]</sup>,还可利用其他方式如光纤<sup>[15]</sup>等增加 NIR 激光的穿透深度,达到光热转化的效果。诸多 NIR 光热转化剂如吡啶菁绿(ICG)<sup>[16]</sup>、聚多巴胺(PDA)<sup>[17]</sup>和氧化石墨烯(GO)<sup>[18]</sup>等已被应用于智能药物输送系统的研究,从而改善治疗效果<sup>[19]</sup>。其中,GO 具有特殊的二维结构,富有大量含氧官能团,且拥有良好的力学性能、生物相容性、亲水性等,目前已被广泛开发应用于生物医学领域<sup>[20-21]</sup>。GO 对 NIR 区域的光具有很高的吸收度和较高的热传导效率,常作为光热转化剂,应用在生物传感器、生物成像、PTT、光动力治疗等领域中<sup>[22-24]</sup>。研究表明,PNIPAM 和 GO 几乎不具有细胞毒性<sup>[25-27]</sup>,因此,两者经常分别应用于生物医学领域。但目前研究大多着力于单纯温度响应或 NIR

光热转换,对多级合作的智能响应体系的研究较少。

基于此,本文以丙烯酸(AA)改性的 PNIPAM 基微凝胶作为药物载体,提高微凝胶的 LCST;将 GO 纳米片共混于载药微凝胶悬浮液中,通过氢键结合的方式在不破坏微凝胶 3D 网络结构的同时,赋予体系 NIR 光响应能力,研究改性微凝胶的温度敏感性、pH 敏感性、体系的光热响应能力以及药物释放行为。NIR、pH 和温度多种刺激信号的联级作用,对光敏型智能药物输送系统的设计具有重要的潜在价值。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

*N*-异丙基丙烯酰胺(NIPAM,质量分数 98%)、AA(质量分数 99%)、5-氟尿嘧啶(5-FU),AR,上海阿拉丁生化科技股份有限公司; *N,N'*-亚甲基双丙烯酰胺(BIS)、过硫酸钾(KPS)、十二烷基硫酸钠(SDS)、氢氧化钠(NaOH)、稀盐酸,AR,麦克林生化科技公司;磷酸二氢钾,AR,天津市科密欧化学试剂有限公司;浓硫酸、正己烷,AR,杭州高晶精细化工有限公司;石墨粉、高锰酸钾(KMnO<sub>4</sub>)、硝酸钠(NaNO<sub>3</sub>)、过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,质量分数 30%),AR,浙江三鹰化学试剂有限公司。

Nicolet 5700 型傅里叶变换红外光谱仪,美国 Nicolet 公司;FEI Tecnai G2-20 型透射电子显微镜,美国 FEI 公司;Malvern Zetasizer Nano S 型激光粒度仪,英国 Malvern 公司;Cary 60 型紫外-可见分光光度计,美国 Agilent 公司;KQ-300B 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;QT CJ-20 小型去离子水机,上海泉瑞水处理设备有限公司。

### 1.2 PNIPAM 和 PNIPAM-co-AA 微凝胶的制备

采用乳液聚合法<sup>[12]</sup>制备 PNIPAM 微凝胶。NIPAM 由正己烷重结晶,取 1.48 g(13.02 mmol)重结晶后的 NIPAM、0.044 g(0.28 mmol)交联剂 BIS、0.04 g(0.14 mmol)表面活性剂 SDS,依次在室温下溶于 95 mL 去离子水中,搅拌至充分溶解后置于 250 mL 四口烧瓶中,通 N<sub>2</sub> 以除去体系中的溶解氧,随后升温至 65 °C。取 0.036 g(0.13 mmol)引发剂 KPS 溶解于 5 mL 去离子水中,将 KPS 溶液加入烧瓶引发聚合反应,整个反应在 N<sub>2</sub> 保护下持续反应 4 h,随后将烧瓶移至冰水浴以终止反应,得到 PNIPAM 微凝胶悬浮液。在相同步骤与条件下,在搅拌溶解过程中加入一定量的共聚单体 AA(AA 含量分别为 1%、5%和 10%,以 NIPAM、BIS 和 SDS 的物质的量之和计,下同),即可得到 PNIPAM-co-AA 微凝胶。取出反应混合液并置于透析袋(截留相对分子

质量为 8000~14000) 中透析 3 d 以除去未反应的物质, 得到纯化后的 PNIPAM 和 PNIPAM-co-AA $x$  ( $x$  分别为 1%、5%和 10%) 微凝胶, 采用烘箱干燥法测定悬浮液固含量后冷藏保存。

### 1.3 PNIPAM-co-AA/GO 复合体系的制备

采用改进后的 Hummers 法<sup>[28]</sup>制备 GO。取 1.0 g 石墨粉和 1.0 g NaNO<sub>3</sub> 加入 50 mL 浓硫酸中, 置于冰水浴中充分搅拌直至溶解后, 分次缓慢加入 8 g 强氧化剂 KMnO<sub>4</sub>, 搅拌至溶解; 将反应液升温至 35 °C 搅拌反应 1 h 进行氧化反应; 随后添加 40 mL 去离子水稀释反应液并升温至 90 °C 反应 0.5 h 持续氧化; 随后, 加入 100 mL 去离子水终止反应, 并加

入适量 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 调节反应液颜色从深棕色到金黄色, 以除去过量的氧化剂和硫酸分解产生的不溶性离子; 获得的金黄色反应液加入稀盐酸和去离子水多次离心洗涤后装入透析袋 (截留相对分子质量为 8000~14000), 在去离子水中透析 7 d 以除去未反应的物质, 透析结束后超声 (功率 300 W) 剥离 40 min 得到 GO 悬浮液, 冷冻干燥保存备用。

分别按  $m(\text{GO}) : m(\text{PNIPAM-co-AA}) = 1 : 100$ 、2.5 : 100、5 : 100、10 : 100 超声 (功率 300 W) 共混 20 min 得到 PNIPAM-co-AA/GO ( $w$  分别为 1%、2.5%、5%和 10%) 复合体系, 其释药过程示意图如图 1 所示。

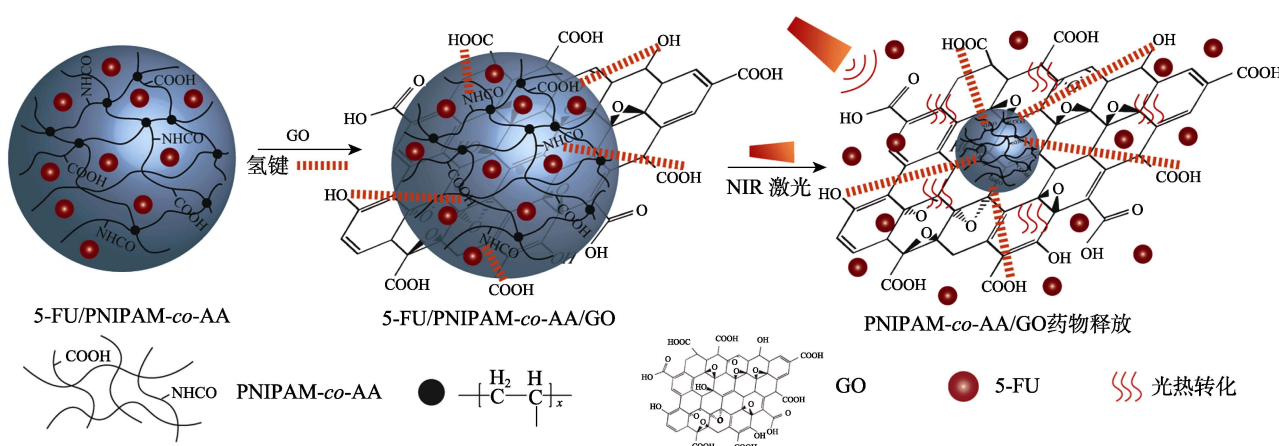


图 1 PNIPAM-co-AA/GO 复合载药体系释药过程示意图

Fig. 1 Schematic illustration of drug delivery of PNIPAM-co-AA/GO composite system

### 1.4 表征

FTIR: 采用溴化钾 (KBr) 压片法测试, 波数范围 4000~500  $\text{cm}^{-1}$ 。TEM: 工作电压 200 kV, 用去离子水配制质量浓度为 0.1 g/L 的悬浮液, 滴在铜网上风干制样。DLS: 设置折射率为 1.445, 吸光度为 1.000, 分散介质为水, 取质量浓度为 0.01 g/L 的样品水溶液在 25 和 50 °C 下进行测试。UV-Vis: 将样品分散至水中, 在一定温度和波长范围内进行测试。

### 1.5 药物释放性能测试

药物负载: 选用水溶性抗癌药物 5-FU 为模型药物, 配制质量浓度为 1 g/L 的 5-FU 水溶液, 将微凝胶悬浮液 (固含量采用烘箱干燥法测定) 配成质量浓度为 5 g/L 的悬浮液, 与 5-FU 水溶液等体积共混, 使用恒温气浴振荡器在室温下振荡 24 h 进行药物的负载, 负载后的混合液置于透析袋 (截留相对分子质量为 8000~14000), 在 200 mL 去离子水中彻底透析以除去未负载上的 5-FU, 即得到载药微凝胶。为测定载药微凝胶的载药率 (LC) 和包封率 (EE), 取 3 mL 透析完成后的透析液, 利用紫外-可见分光光度计在 265 nm 处测定透析液的吸光度, 根据标准

曲线法计算未负载的 5-FU 的质量浓度, 然后根据下式计算微凝胶药物负载的 LC 和 EE:

$$\text{LC} / \% = (M_0 - \rho V) / (M + M_0 - \rho V) \times 100 \quad (1)$$

$$\text{EE} / \% = (M_0 - \rho V) / M_0 \times 100 \quad (2)$$

式中:  $M_0$  为投药量, g;  $M$  为微凝胶质量, g;  $V$  为透析液体积, L;  $\rho$  为透析液中药物的质量浓度, g/L。

表 1 药物释放实验条件

Table 1 Experimental conditions of drug release

组别	PNIPAM-co-AA	PNIPAM-co-AA/GO
1	pH 2、25 °C	pH 2、25 °C、无 NIR
2	pH 2、40 °C	pH 2、25 °C、有 NIR
3	pH 7.4、25 °C	pH 7.4、25 °C、无 NIR
4	pH 7.4、40 °C	pH 7.4、25 °C、有 NIR

药物释放: 根据表 1 所示实验条件, 将微凝胶和微凝胶/GO 复合体系分别装入透析袋, 在不同条件下的磷酸盐 (PBS) 缓冲溶液 (由磷酸二氢钾和 NaOH 配制) 中进行药物释放实验, 按照预定时间间隔取样, 每次取样 3 mL 同时向体系补充等体积的新鲜 PBS 缓冲溶液, 在 265 nm 处测定释放样品中

5-FU 的吸光度并通过标准曲线方程计算其质量浓度, 每组进行 3 次重复实验, 根据下式计算累积药物释放率 ( $R, \%$ ):

$$R/\% = \{[\rho_n \times V_{\text{总}} + V_{\text{取}}(\rho_{n-1} + \rho_{n-2} + \dots + \rho_1)]/M_{\text{载}}\} \times 100 \quad (3)$$

式中:  $\rho_n$  为第  $n$  次取样时体系中药物质量浓度,  $\text{g/L}$ ;  $V_{\text{总}}$  为体系总体积,  $\text{L}$ ;  $V_{\text{取}}$  为每次取样的体积,  $\text{L}$ ;  $M_{\text{载}}$  为微凝胶中负载的药物质量,  $\text{g}$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 FTIR 分析

各样品的红外光谱图如图 2 所示。

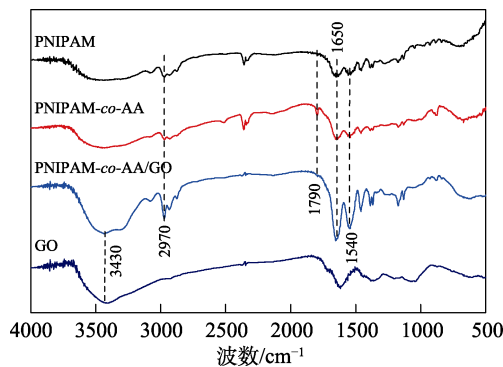


图 2 样品的 FTIR 谱图  
Fig. 2 FTIR spectra of samples

由图 2 可以看出, 在 PNIPAM-co-AA 微凝胶中,  $1650 \text{ cm}^{-1}$  处为酰胺基 ( $-\text{CONH}$ ) 的伸缩振动吸收峰,  $1540 \text{ cm}^{-1}$  处为  $\text{C}-\text{N}-\text{H}$  的面内弯曲振动吸收峰, 均是微凝胶中 PNIPAM 的特征吸收峰, 且在复合样品中也有呈现。而在  $1790 \text{ cm}^{-1}$  处的吸收峰则是由 AA 提供的羧基 ( $-\text{COOH}$ ) 中  $\text{C}=\text{O}$  的伸缩振动引起的, 证实了 PNIPAM 与 AA 发生共聚反应。在 GO 中,  $3430 \text{ cm}^{-1}$  处有一个较宽、较强的羟基 ( $-\text{OH}$ ) 伸缩振动吸收峰; 此外,  $1726 \text{ cm}^{-1}$  处对应的  $\text{C}=\text{O}$  伸缩振动峰、 $1623 \text{ cm}^{-1}$  处对应的  $\text{C}-\text{OH}$  伸缩振动峰和  $1065 \text{ cm}^{-1}$  处对应的  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  伸缩振动峰, 均属于 GO 的特征吸收峰。而在 PNIPAM-co-AA/GO 复合体系中, 羟基和羧基的吸收峰透过率下降, 可能是 GO 的含氧官能团与微凝胶中的酰胺基与羧基形成氢键缔合作用导致的, 证实了 PNIPAM-co-AA/GO 的成功制备。

### 2.2 TEM 分析

微凝胶和 PNIPAM-co-AA/GO 复合体系的 TEM 图如图 3 所示。由图 3a 可以看出, 微凝胶呈圆球状, 干燥后的微凝胶平均粒径约  $25 \text{ nm}$ , 粒径均一, 分散性良好; 从图 3b 可以清晰地看到, 复合体系具有片层状结构的 GO 纳米片, 且微凝胶在 GO 纳米片上分布较为均匀, 这可能是 GO 中的含氧官能团与

PNIPAM-co-AA 中酰胺基和羧基的氢键缔合作用而产生的结合。经复合后的微凝胶基本保持了原有的球状形貌, 表明 GO 的存在未对微凝胶的形貌产生影响, 两者的结合不会明显破坏微凝胶的形貌。

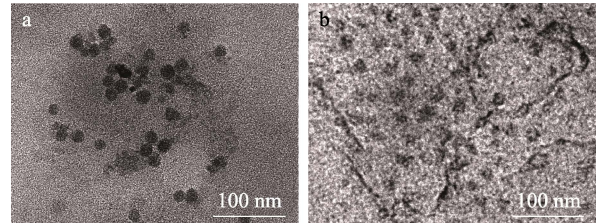


图 3 PNIPAM-co-AA (a) 及 PNIPAM-co-AA/GO 复合体系 (b) 的 TEM 图

Fig. 3 TEM images of PNIPAM-co-AA (a) and PNIPAM-co-AA/GO composite system (b)

### 2.3 温度敏感性分析

图 4 为微凝胶在  $25$  和  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  下的粒径分布曲线。

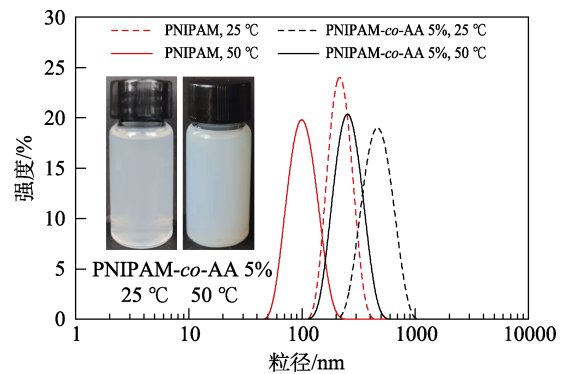


图 4 样品的 DLS 曲线 (插图为不同温度的悬浮液照片)  
Fig. 4 DLS curves of samples (The illustration is photos of suspensions at different temperatures)

由图 4 可以看出, 改性前后两种温度下的粒径分布都呈尖峰形分布, PDI 值 (指粒径归一化的标准差, 值越小, 粒径分布越均匀) 均低于  $0.1$ , 显示出微凝胶粒径分布均一, 且有较好的分散性。 $25 \text{ }^\circ\text{C}$  下, PNIPAM 的峰值粒径为  $220.6 \text{ nm}$ , 而 PNIPAM-co-AA 的峰值粒径为  $458.7 \text{ nm}$ , 表明 AA 的共聚结合使微凝胶的粒径增大。当温度升至  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  后平衡  $60 \text{ s}$ , 粒径分别减小至  $103.9$  和  $255.0 \text{ nm}$ , 根据计算, 微凝胶的体积  $60 \text{ s}$  内分别收缩了  $89.6\%$  和  $82.8\%$ , 表明微凝胶因温度升高产生体积相转变, 且响应时间短。由图 4 插图可清晰看出,  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  下微凝胶悬浮液明显比  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  下微凝胶悬浮液更不透明, 表明微凝胶具备快速的温敏响应能力。

图 5 为不同 AA 含量的微凝胶在不同温度下的紫外透过率 ( $800 \text{ nm}$  处)。

由图 5 可见, 当 AA 含量分别为  $1\%$ 、 $5\%$  和  $10\%$  时, 最低临界相转变温度分别为  $35$ 、 $40$  和  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ ,



均比 PNIPAM 的 32 °C<sup>[29]</sup>要高, 这是因为在微凝胶结构中引入了亲水基团羧基, 提高了共聚物中亲、疏水比例, 从而提高了 PNIPAM 微凝胶的 LCST。其中, 最低临界相转变温度 35 °C 低于人体生理温度 37 °C, 难以控制载体释药部位与时间, 最低临界相转变温度 50 °C 又过高, 不适合于人体内的药物释放。而 40 °C 稍高于人体生理温度, 通过利用 NIR 光热转化, 能方便且迅速提高至该温度, 达到相对精确的药物释放。因此, 选择 AA 含量为 5% 的微凝胶复合体系进行后续的药物释放实验。

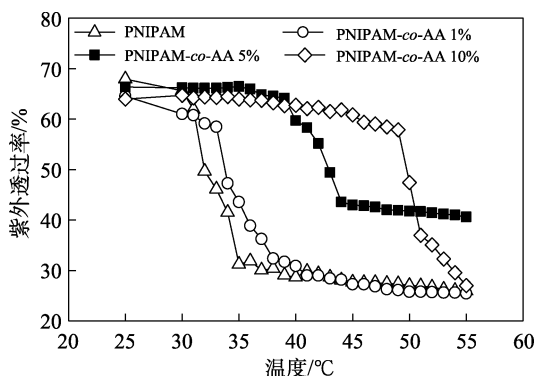


图 5 不同 AA 含量微凝胶样品在不同温度下的紫外透过率  
Fig. 5 UV transmittance of microgel samples with different AA content at different temperatures

## 2.4 pH 敏感性分析

图 6 为不同 AA 含量的微凝胶在不同 pH 环境下的平均粒径变化。

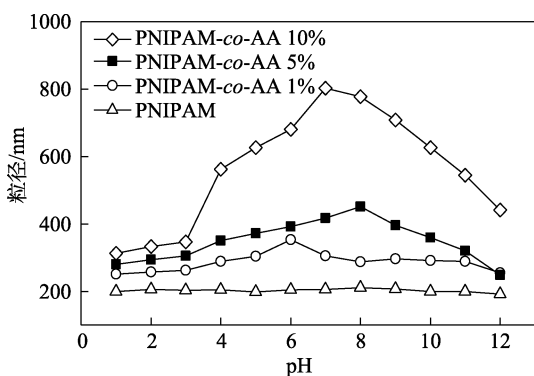


图 6 不同 AA 含量的微凝胶样品在不同 pH 下的平均粒径  
Fig. 6 Average size of microgel samples with different AA content at different pH

由图 6 可以看出, PNIPAM 微凝胶在不同的 pH 环境下粒径几乎不发生变化, 表明不具备 pH 敏感性。而不同 AA 含量微凝胶的粒径均随着 pH 的升高呈现出先增大后减小的趋势, 显示出 PNIPAM-co-AA 的 pH 敏感性。这是因为, 在酸性环境中, 骨架中羧基的质子化使复合体系内部静电排斥力减弱, 微凝胶结构收缩; 而在中碱性环境中 (pH 7~8), 羧基去质子化, 离子基团之间的静电排斥作用增大, 宏

观上表现为微凝胶溶胀, 粒径增大。而 AA 含量越高, 微凝胶的溶胀性越好。在更高的 pH 环境中 (pH 8~12), 体系中羧基因高 pH 而大量解离, 过度的解离导致微凝胶结构开始崩解, 尺寸逐渐变小。

图 7 为不同 AA 含量微凝胶的 Zeta 电位变化。由图 7 可见, 改性程度越高, 结构中羧基含量越高, 其 Zeta 电位越低。

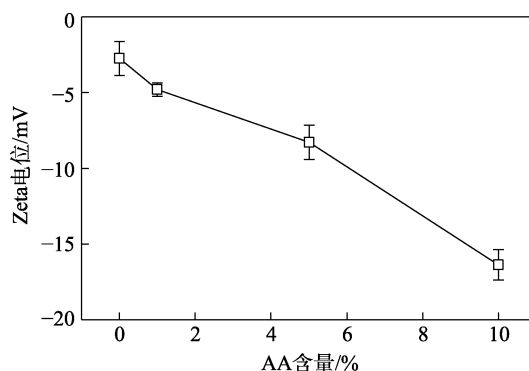


图 7 不同 AA 含量的微凝胶样品的 Zeta 电位  
Fig. 7 Zeta potential of microgel samples with different AA content

## 2.5 NIR 响应性分析

以 PNIPAM-co-AA 的质量为基准, 配制 GO 含量分别为 1%、2.5%、5% 和 10% 的 PNIPAM-co-AA/GO 复合体系。图 8 为 NIR 光照射不同时间下, 不同 PNIPAM-co-AA/GO 复合体系的紫外透过率。可以看出, 当接收到 NIR 光信号后, 复合体系的紫外透过率逐渐下降, 随后达到平衡, 不同含量 GO 所产生的光热转化效率不同。当 GO 含量为 1% 和 2.5% 时, 样品的紫外透过率约在 90 s 时快速降低, 表明此时 GO 所产生的光热效应足以使微凝胶达到 LCST 从而引起相转变。而当 GO 含量为 5% 时, 在 60 s 时体系发生最大相转变。体系最大相转变时间的提前, 表明在一定的范围内, 体系内 GO 含量越高, 光热转化效率越高, 微凝胶能够更快地达到 LCST 而产生相转变。紫外光透射率的平衡, 说明在 3 min 内不同的悬浮液体系的温度均达到微凝胶的 LCST, 且此时微凝胶的相转变已经完成。而 GO 含量为 10% 的复合体系因过高的 GO 含量, 导致其原始透过率过低。考虑到 GO 的细胞毒性和生物相容性等因素, 选择 GO 含量为 5% 的复合体系进行后续实验。

图 9 为 PNIPAM-co-AA/GO 复合体系在受到多次 NIR 激光照射下的温度变化曲线, 在前 5 min 打开 NIR, 后 5 min 将复合体系放入冰水浴中降温, 循环 5 次以测试体系的光热转化稳定性<sup>[30]</sup>。由图 9 可知, 体系温度快速上升, 且 5 次循环无明显变化, 表明该复合体系的光热转化稳定性好。

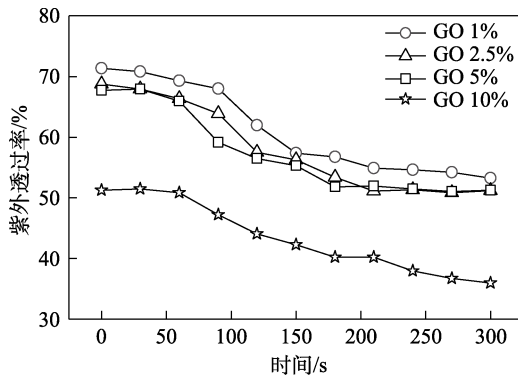


图 8 NIR 光照下的 PNIPAM-*co*-AA/GO<sub>w</sub> 复合体系在不同时间的紫外透过率  
Fig. 8 UV transmittance of PNIPAM-*co*-AA/GO<sub>w</sub> composite system at different times under NIR illumination

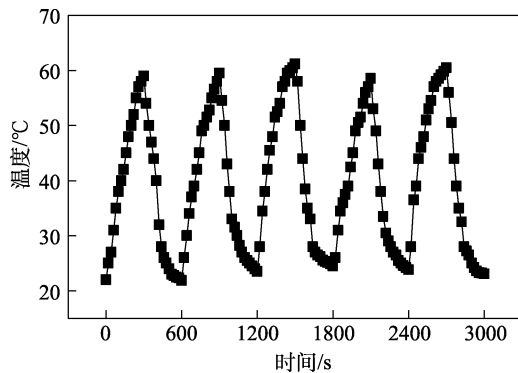


图 9 PNIPAM-*co*-AA/GO 的光热转化温度曲线  
Fig. 9 Photothermal conversion temperature curves of PNIPAM-*co*-AA/GO composite system

### 2.6 药物释放性能分析

为研究温度与环境 pH 对 PNIPAM-*co*-AA 微凝胶载药体系的影响, 在不同条件下对微凝胶进行药物释放实验。图 10 是 PNIPAM-*co*-AA 微凝胶、PNIPAM-*co*-AA/GO 复合体系在不同条件下对 5-FU 的累积释放率曲线。通过式 (1) 和式 (2) 计算得到微凝胶的 LC 和 EE 约为 10% 和 29%, 均处于相关药物释放实验的正常范围内<sup>[31]</sup>。

由图 10a 可知, 在 pH 7.4 的 PBS 缓冲溶液中, 24 h 后在 40 和 25 °C 条件下, 5-FU 的累积释放率分别达 97.45% 和 49.21%, 40 °C 下的累积释放率比 25 °C 下高 48.24%。表明温度对该载药体系的释药行为有较大的影响, 提高温度能够促进微凝胶的药物释放。而在 pH 2 的 PBS 缓冲溶液中, 24 h 后在 40 和 25 °C 下, 5-FU 的累积释放率分别达 30.60% 和 20.57%, 远低于 pH 7.4 环境, 因为 AA 改性的微凝胶具有 pH 敏感性, 结构中的羧基在 pH 2 环境中很难电离, 静电排斥作用减弱, 微凝胶疏水从而形成了一个致密的疏水壳层, 阻碍了 5-FU 的释放, 而在 pH 7.4 中羧基的去质子化促进了微凝胶的溶胀, 更

有利于 5-FU 的释放, 这表明该微凝胶体系更适用于人体肠部环境 (pH ≈ 7.4) 中的药物释放。

根据图 8 可知, GO 的存在可使 NIR 光能转换成热能, 从而在短时间内达到微凝胶的 LCST。因此, 在有、无 NIR 光照射的条件下进行了药物释放实验, 研究 NIR 光对 PNIPAM-*co*-AA/GO 复合体系释药行为的影响。从图 10b 可知, 在 pH 7.4, 有 NIR 光照条件下, 24 h 后的累积释放率达 77.24%, 比相同条件下无 NIR 光照下的累积释放率高 38.08%, 表明温度对药物释放行为的影响转化成为 NIR 光对释放行为的影响。在有 NIR, pH 7.4 环境中的累积释放率比 pH 2 环境高 55.09%, 表明 GO 的存在不会影响到微凝胶的 pH 响应性。从图 10b 中还可以看出, 微凝胶具有突释的释药行为, 不同条件下均在 2 h 左右达到平衡, 而 PNIPAM-*co*-AA/GO 复合体系在 pH 7.4 环境中 24 h 的累积释放率为 77.24%, 比未加入 GO 的微凝胶体系减少 20.21%, 且药物释放行为出现缓释现象, 释药平衡时间延后至 7 h 左右, 可见 GO 的存在对 5-FU 的释放具有一定的延缓作用, 表现出一定的药物缓释行为, 这可能是因为 GO 与 PNIPAM-*co*-AA 之间的氢键缔合作用阻碍了微凝胶的收缩, 间接降低了相同时间内 5-FU 的释放量, 更有助于针对肠部用药的药物控制释放。

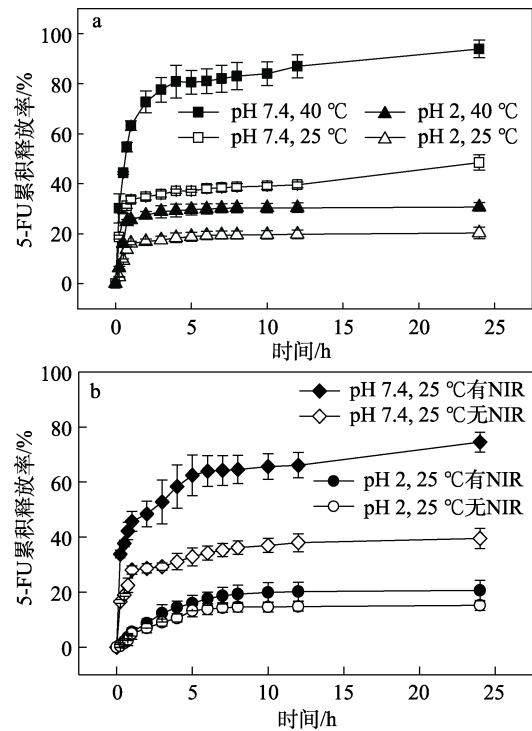


图 10 PNIPAM-*co*-AA 微凝胶体系 (a)、PNIPAM-*co*-AA/GO 复合体系 (b) 在不同条件下的药物释放行为  
Fig. 10 Drug release behavior of PNIPAM-*co*-AA (a) and PNIPAM-*co*-AA/GO composite system (b) under different conditions

### 3 结论

(1) 采用乳液聚合法制备了不同 AA 含量的 PNIPAM-co-AA 微凝胶, 其均具有灵敏的温度敏感性和 pH 敏感性, PNIPAM-co-AA 5% 的 LCST 为 40 °C。

(2) 在微凝胶中引入 GO 制备得到 PNIPAM-co-AA/GO 复合体系, 该体系具有 NIR 响应性能, 光热转化性能稳定。

(3) PNIPAM-co-AA/GO (AA 与 GO 含量均为 5%) 复合体系在 pH 7.4, 25 °C, 有 NIR 光条件下, 24 h 后累积释放率达到 77.24%, 且 GO 的存在使释药平衡时间滞后, 更有利于药物的控制释放。

(4) PNIPAM-co-AA/GO 复合体系的药物输送基于 pH、NIR、温度多种刺激方式的联级合作响应, 相对于单一的 PNIPAM 微凝胶, 是一种可控、便捷的新型智能释药体系。关于复合体系在人体内外外的安全性问题还在进一步研究中, 后期工作将会深入进行探讨。

#### 参考文献:

- HOFFMAN A S. The origins and evolution of "controlled" drug delivery systems[J]. *Journal of Controlled Release Official Journal of the Controlled Release Society*, 2008, 132(3): 153-163.
- PARK K. Facing the truth about nanotechnology in drug delivery[J]. *ACS Nano*, 2013, 7(9): 7442-7447.
- MUTHARANI B, RANGANATHAN P, CHEN S M. Temperature-reversible switched antineoplastic drug 5-fluorouracil electrochemical sensor based on adaptable thermo-sensitive microgel encapsulated PEDOT[J]. *Sensors and Actuators*, 2020, 304(2): 127361.
- TZOUNIS L, DOÑA M, LÓPEZ-ROMERO J M, *et al.* Temperature-controlled catalysis by core-shell-satellite AuAg@pNIPAM@Ag hybrid microgels: A highly efficient catalytic thermoresponsive nanoreactor [J]. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2019, 11(32): 10073.
- HUANG J, GENG X, TISSUE B M, *et al.* Microgels from hydrophobic solid monomers *via* miniemulsion polymerization for aqueous lead and copper ion removal[J]. *Reactive and Functional Polymers*, 2018, 133(12): 136-142.
- WEI M L, GAO Y F, LI X, *et al.* Stimuli-responsive polymers and their applications[J]. *Polymer Chemistry*, 2017, 1(8): 127-143.
- LIU J R (刘俊任), WANG F (王锋), PAN Y F (潘远凤). Multi-responsive nanogels for doxorubicin hydrochloride delivery[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2020, 37(12): 2554-2561.
- PELTON R H, CHIBANTE P. Preparation of aqueous latices with *N*-isopropylacrylamide[J]. *Colloids and Surfaces*, 1986, 20(3): 247-256.
- MATSUMURA Y, WAI K. Thermo-responsive behavior and microenvironments of poly(*N*-isopropylacrylamide) microgel particles as studied by fluorescent label method[J]. *Colloid Interface*, 2006, 296(1): 102-109.
- TANAKA T, FILLMORE D. Kinetics of swelling of gels[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1979, 70(3): 1214-1218.
- LI P H, XU R Z, WANG W H, *et al.* Thermosensitive poly(*N*-isopropylacrylamide-co-glycidyl methacrylate) microgels for controlled drug release[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, 1(101): 251-255.
- METAWEA O R M, ABDELMONEEM M A, HAIBA N S, *et al.* A novel 'smart' PNIPAM-based copolymer for breast cancer targeted therapy: Synthesis, and characterization of dual pH/temperature-responsive lactoferrin-targeted PNIPAM-co-AA[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2021, 202: 111694.
- YIN W Y, YAN L, YU J, *et al.* High-throughput synthesis of single-layer MoS<sub>2</sub> nanosheets as a near-infrared photothermal-triggered drug delivery for effective cancer therapy[J]. *ACS Nano*, 2014, 8(7): 6922-6933.
- LAI Y (来旒). Construction of near-infrared light nanotransducers for biomedical applications[D]. Shanghai: East China Normal University (华中师范大学), 2021.
- MIAO H, SHEN R, ZHANG W, *et al.* Near-infrared light triggered silk fibroin scaffold for photothermal therapy and tissue repair of bone tumors[J]. *Advanced Functional Materials*, 2021, 31(10): 1-9.
- YAO S T, JIN X K, WANG C, *et al.* ICG/5-Fu coencapsulated temperature stimulus response nanogel drug delivery platform for chemo-photothermal/photodynamic synergetic therapy[J]. *Journal of Biomaterials Applications*, 2021, 36(4): 1-14.
- WEI C, WANG P, HUANG Z, *et al.* Construction of surface-modified polydopamine nanoparticles for sequential drug release and combined chemo-photothermal cancer therapy[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2021, 18(3): 1327-1343.
- HAO L Y, SONG H J, ZHAN Z X, *et al.* Multifunctional reduced graphene oxide-based nanoplatfor for synergistic targeted chemo-photothermal therapy[J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2020, 3(8): 5213-5222.
- KIM Y S, KIM M A, LEE C M. Controlled drug release from PNIPAM-incorporated melanin nanovesicles by photo-stimulation[J]. *Materials Technology*, 2019, 34(11): 639-644.
- MAIO A, PIBIRI I, MORREALE M, *et al.* An overview of functionalized graphene nanomaterials for advanced applications[J]. *Nanomaterials*, 2021, 11(7): 1717-1749.
- JAIN V P, CHAUDHARY S, SHARMA D, *et al.* Advanced functionalized nanographene oxide as a biomedical agent for drug delivery and anti-cancerous therapy: A review[J]. *European Polymer Journal*, 2020, 142(1): 110124.
- FANG L, LI F, WANG L L, *et al.* A model for photothermal conversion of graphene-filled nanocomposites under NIR irradiation [J]. *Smart Materials and Structures*, 2020, 29(12): 127001.
- SHI D, ZHUANG J Y, FAN Z X, *et al.* Self-targeting nanotherapy based on functionalized graphene oxide for synergistic thermochemotherapy[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2021, 603: 70-84.
- CAO Y, CHENG Y, ZHAO G. Near-infrared light-, magneto-, and pH-responsive GO-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/poly(*N*-isopropylacrylamide)/alginate nanocomposite hydrogel microcapsules for controlled drug release[J]. *Langmuir*, 2021, 37(18): 5522-5530.
- XU F, ZHANG B X, LUO Y L. Thermosensitive P(NIPAM-co-AM)-*b*-PLA block copolymer micelles for applications in intracellular drug delivery[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2014, 24(2): 136-142.
- ZHANG W L, AI S L, JI P, *et al.* Photothermally enhanced chemotherapy delivered by graphene oxide-based multiresponsive nanogels[J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2019, 2(1): 330-338.
- DEB A, VIMALA R. Camptothecin loaded graphene oxide nanoparticle functionalized with polyethylene glycol and folic acid for anticancer drug delivery[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2018, 43: 333-342.
- TUNG V C, ALLEN M J, YANG Y Y, *et al.* High-throughput solution processing of large-scale graphene[J]. *Nature Nanotechnology*, 2009, 4(1): 25-29.
- SÁNCHEZ-MORENO P, VICENTE J D, NARDECCHIA S, *et al.* Thermo-sensitive nanomaterials: Recent advance in synthesis and biomedical applications[J]. *Nanomaterials*, 2018, 8(11): 935-967.
- FU Z (付梓), ZHANG X J (张雪静), ZHU L M (朱利民). Preparation and *in vitro* drug release of functionalized boron dual drug-loaded nanocomposite[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2020, 37(4): 779-792.
- LIU L, ZENG J, ZHAO X B, *et al.* Independent temperature and pH dual-responsive PMAA/PNIPAM microgels as drug delivery system: Effect of swelling behavior of the core and shell materials in fabrication process[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2016, 526: 7-14.