

学校编码: 10384

分类号 _____ 密级 _____

学号: 24520061152670

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

纳米金/聚 N-异丙基丙烯酰胺复合纳米水凝胶的合成表征及应用

Preparation and Characterization of Au Nanoparticles and poly(N-isopropylacrylamide) Composite Nanogels

刘 雯

指导教师姓名: 任磊 教授

专 业 名 称: 生物医学工程

论文提交日期: 2009 年 月

论文答辩时间: 2009 年 月

学位授予日期: 2009 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2009 年 5 月

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

摘 要	I
Abstract	II
第一章 绪论	1
1.1 高分子水凝胶	1
1.2 纳米金	6
1.3 激光在生物学上的应用	7
1.4 温敏凝胶/纳米金复合材料的研究	9
1.5 本研究的背景和研究内容	10
参考文献	11
第二章 Au/pNIPAAm 复合纳米水凝胶的合成与表征	17
2.1 引言	17
2.2 实验试剂和仪器	17
2.3 实验方法	19
2.4 结果	24
2.5 讨论	37
2.6 本章小结	38
参考文献	39
第三章 Au/pNIPAAm 复合纳米水凝胶粒径的优化	41
3.1 引言	41
3.2 实验试剂和仪器	41
3.3 实验方法	42
3.4 结果	46
3.5 讨论	53
3.6 本章小结	54

参考文献.....	54
第四章 Au/pNIPAAm 复合纳米水凝胶温敏释药.....	55
4.1 引言.....	55
4.2 实验试剂和仪器.....	55
4.3 实验方法.....	57
4.4 结果.....	63
4.5 讨论.....	76
4.6 本章小结.....	78
参考文献.....	78
第五章 Au/pNIPAAm 复合纳米水凝胶光敏释药.....	80
5.1 前言.....	80
5.2 材料和方法.....	80
5.3 实验方法.....	81
5.4 结果与讨论.....	85
5.5 本章小结.....	91
参考文献.....	92
全文结论及展望.....	94
硕士期间发表论文情况.....	96
致 谢.....	97

Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract in English	II
Chapter 1 Reviews	1
1.1 Polmer hydrogel.....	1
1.2 Nanogold.....	6
1.3 Laser for biomedical applications	7
1.4 Thermosensitive hydrogel/nanogold composite.....	9
1.5 Proposal and content of this study	10
References	11
Chapter 2 Preparation and characterization of Au/pNIPAAm nanogel	17
2.1 Introduction	17
2.2 Materials and Instruments	17
2.3 Experimental.....	19
2.4 Results.....	24
2.5 Discussion	37
2.6 Conclusions	38
References	39
Chapter 3 The size optimization of Au/pNIPAAm nanogel	41
3.1 Introduction	41
3.2 Materials and Instruments	41
3.3 Experimental.....	42
3.4 Results.....	46
3.5 Discussion	53
3.6 Conclusions	54
References	54
Chapter 4 The drug release from Au/pNIPAAm nanogel under	

thermal stimulation	55
4.1 Introduction	55
4.2 Materials and Instruments	55
4.3 Experimental	57
4.4 Results	63
4.5 Discussion	76
4.6 Conclusions	78
References	78
Chapter 5 The drug release from Au/pNIPAAm nanogel under laser irradiation	80
5.1 Introduction	80
5.2 Materials and Instruments	80
5.3 Experimental	81
5.4 Results and Discussion	85
5.5 Conclusions	91
References	92
Summary and future works	94
Publications	96
Acknowledgements	97

摘要

本文旨在通过一种新型的方法将具有温敏性的聚异丙基丙烯酰胺 (pNIPAAm) 水凝胶和具有光敏性的纳米金复合, 制备得到可应用于光热控释的药物递送系统。本文工作主要包括以下四个方面:

1. 以丙烯酰胺单体修饰纳米金颗粒, 并与异丙基丙烯酰胺共聚, 用乳液聚合的方法制得了 Au/pNIPAAm 复合纳米水凝胶。通过傅里叶红外光谱、X 射线衍射图谱、透射电子显微镜、X 射线光电子能谱、热失重分析、差热扫描分析以及可见分光光谱等方法对 Au/pNIPAAm 复合纳米水凝胶的结构和性能进行了表征, 探讨了 Au/pNIPAAm 复合纳米水凝胶的合成机制。
2. 研究了 Au/pNIPAAm 复合纳米水凝胶合成过程中反应温度、交联剂 N,N'-亚甲基双丙烯酰胺 (BIS) 和引发剂过硫酸铵 (APS) 的用量对产物粒径的影响, 实现了对 Au/pNIPAAm 复合纳米水凝胶粒径的可控, 并进一步阐明了 pNIPAAm 在纳米金表面的生长机理。
3. 以 5-氟尿嘧啶和罗丹明 B 作为药物模型, 考察了药物投入量、交联剂 BIS 和引发剂 APS 的用量对 Au/pNIPAAm 复合纳米水凝胶药物包封率的影响; 并通过正交实验, 获得了最优化药物包封率的实验条件; 考察了交联剂 BIS、引发剂 APS 与单体用量的摩尔比以及温度、释药介质等对 Au/pNIPAAm 复合纳米水凝胶释药能力的影响。
4. 确定了用于光控释的连续激光器激光照射波长以及适合于人宫颈癌细胞体系上激光器的照射强度, 并初步得到了波长为 514.5 nm 激光照射下 Au/pNIPAAm 复合纳米水凝胶药物的释放曲线; 建立了波长为 514.5 nm 激光与纳米金相互作用以及纳米金与水凝胶相互作用的模型, 阐明了 Au/pNIPAAm 复合纳米水凝胶在激光照射下释药机理。

关键词: N-异丙基丙烯酰胺; 纳米金; 温敏性; 光敏性; 药物载体

Abstract

A novel kind of photothermal-triggered Au/poly(*N*-isopropylacrylamide) (Au/pNIPAAm) nanogels were investigated as drug release carriers. The following four aspects were discussed in this paper:

1. Acrylamide was grafted onto the surface of the Au NPs to copolymerize with NIPAAm, based on which a growth of pNIPAAm hydrogel was achieved through emulsion polymerization. FT-IR, XRD, TEM, XPS, TGA, DSC and UV-vis spectrophotometer analysis were used to characterize the Au/pNIPAAm nanogels, and the synthesis mechanism of the Au/pNIPAAm nanogels was also discussed.
2. The effects of the reaction temperature and the amount of the cross-linker (BIS) and the initiator (APS) on the particle diameter were respectively studied. The mechanism for the growth of the pNIPAAm on the surface of the Au NPs was further discussed as well.
3. Taking 5-Fluorouracil and Rhodamin B as model drugs, the effects of the amounts of the drug, the BIS, and the APS on the encapsulation efficiency were respectively studied. The encapsulation efficiency was improved through orthogonal experiment. The effects of temperature, release media as well as the amount of BIS and APS on the drug release from Au/pNIPAAm nanogels were also discussed.
4. The effects of laser irradiation wavelength and intensity on the cytotoxicity of HeLa cells were studied. The drug release curve of the Au/pNIPAAm nanogels under laser irradiation at wavelength of 514.5 nm was also achieved. The model of the interaction between Au/pNIPAAm nanogels and laser irradiation at wavelength of 514.5 nm was built to explain the mechanism of drug release from the Au/pNIPAAm under the laser irradiation.

Key words: *N*-isopropylacrylamide; Nanogold; Thermosensitive; Photosensitive;

Drug delivery

厦门大学博硕士学位论文摘要库

第一章 绪论

1.1 高分子水凝胶

自从1960年, Wichterle和Lim[1]第一次制备出羟乙基甲基丙烯酰胺(HEMA)水凝胶后, 因其具有良好的亲水性和生物相容性, 水凝胶引起生物材料学家们浓厚的兴趣。水凝胶是一种能在水中溶胀并保持大量水分而又不溶解的亲水性高分子聚合物。其由不同的亲水单体和疏水单体聚合而成, 由于具有三维网络结构, 水凝胶可以达到很大的相对分子质量, 其网络结构由交联的化学键、氢键或范德华力形成。在溶胀时, 溶液可以扩散到交联键之间的空间内。由于水凝胶的表面蛋白质粘附及细胞粘附很小, 所以在与血液、体液及人体组织相接触时, 表现出良好的生物相容性。1980年, Lim和Sun[2]成功运用海藻酸钙微胶囊包裹细胞, 之后科学家们就致力于研究水凝胶对细胞的包裹。近年来水凝胶的研究已经扩展到组织工程领域作为载体材料用于修复和重建组织, 并且在药物载体等领域也日益得到关注。

1.1.1 智能型水凝胶

1996年, 美国麻省理工学院(MIT)的物理学家Toyochi Tanaka因发现智能型水凝胶(Intelligent Hydrogel)而获当年探索者杂志新技术发现奖[3]。所谓智能型水凝胶是指对于外界微小的物理化学刺激, 如温度、电场、磁场、光、pH、离子强度、压力等能够感知并在响应过程中有显著的溶胀行为或响应性[4-8]。这类材料对外来刺激的可逆响应性使其在分子器件, 调光材料, 生物活性物质的温和、高效分离, 酶和细胞的智能固定化以及药物可控释放等高新技术领域有广泛应用。下面则简要概述了几类常见的智能型水凝胶。

pH敏感性水凝胶是一种体积能随环境pH、离子强度变化的高分子水凝胶[4, 8, 9]。一般情况下, 具有pH响应性的水凝胶交联形成大分子的网络中均含有酸性或碱性基团。随着介质中pH值、离子强度的改变, 这些基团发生电离, 导致网络内大分子链段间氢键的解离, 引起不连续的溶胀体积变化[8]。

光敏感性水凝胶是一种通过光刺激引发水凝胶体积变化的高分子水凝胶[4]。该水凝胶网络中的聚合物链上所含的发色团经光辐照发生光异构化反应，转变成异构体，从而引起高分子链构型的变化。该反应过程常常伴随着发色团物理和化学性质的变化，如偶极矩和几何结构的改变，因此导致了水凝胶体积溶胀等方面的改变[10]。常见的异构化反应有无色三苯基甲烷衍生物解离和偶氮基团的顺反异构。

智能型水凝胶常被用作药物载体，其释药机制因智能型水凝胶应答方式的不同而异，如表1-1所示。

表 1-1 几种智能水凝胶在药物释放上的应用[11]

Table 1-1 Effects of various external stimuli on drug release from various stimuli-responsive hydrogels [11]

Stimulus	Hydrogel type	Release mechanism
pH	Acidic or basic	A change in pH causes swelling of the hydrogel.
Ionic strength	Ionic	Change in ionic strength causes a change in the concentration of ions inside the gel. This causes a change in swelling.
Chemical species	Electron-accepting groups	Electron-donating compounds cause charge transfer. This causes a change in swelling.
Enzyme substrate	Immobilized enzymes	When a substrate is present enzymatic conversion occurs. The product causes swelling.
Magnetic	Magnetic particles in microspheres	An applied magnetic field causes a change in pores in gel. This results in change in swelling.
Thermal	Thermo-responsive	Change in temperature causes a change in polymer-polymer and water-polymer interactions. This causes a change in swelling.
Electrical	Polyelectrolyte	Applied electric field causes membrane charging. Electrophoresis of charged drug changes swelling.
Ultrasound	Ethylene-vinyl alcohol	Ultrasound irradiation causes temperature increase.

在众多智能水凝胶中，温敏性水凝胶是较重要的一种。下文将对其加以着重介绍。

温度敏性水凝胶在某一温度下，当外界温度发生微小变化时，凝胶的体积发生突变而发生体积相转变。而且溶胀与收缩强烈地依赖于温度，而溶胀度随温度的变化并不是连续的[11-13]。温敏水凝胶的主要结构特点在于其高分子链上不仅含有亲水基团，还含有一些疏水基团，例如，甲基、乙基和丙基等[14]，由于高分子链上这些基团与水在分子内、分子间在不同温度相互作用力不同而引起相转变。

1.1.2 温度敏感性水凝胶的分类及温度响应机理

温度敏感水凝胶一般分为热缩型凝胶、热胀型凝胶。

热胀型温敏水凝胶具有上临界温度（Higher critical solution temperature or upper critical solution temperature, 简称HCST或者UCST。即当温度低于临界温度，高分子呈现疏水性；当温度升高到临界温度以上，高分子呈现出亲水性。而对于热胀型水凝胶的温敏原理，一般认为是随着存放时间的增长，交联网上的酰胺基部分水解为羧基，而羧基被认为是与凝胶的敏感性有关[15]。如，丙烯酰胺，甲基丙烯酸，丙烯酸等经共价交联聚合后形成的水凝胶均具有热胀敏感性。Wang[16]等人合成了 β -环糊精接枝的聚丙烯酸与聚丙烯酰胺互插网络水凝胶，就具有良好的温敏性。

热缩型水凝胶具有最低临界温度（Lower critical solution temperature, 简称LCST）[9]，即当温度低于临界温度，高分子呈现亲水性；当温度升高到临界温度以上，高分子呈现出疏水性。N-取代丙烯酰胺类水凝胶是最为常用的热缩型水凝胶，其单体的结构特点主要是以N-烷基单取代或双取代的丙烯酰胺，如图1-1。由于其亲水性的酰胺和疏水性基团的同时存在而具有温敏性。通过对单体外侧的R基团修饰后与其他化合物键合，可获得许多不同的性能的水凝胶[17]。因此，其在材料的研究领域备受关注。

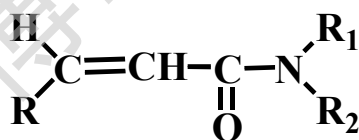


图 1-1 N-取代丙烯酰胺单体结构式

Figure 1-1 The monomer structure of N-substituted acrylamide

其中，异丙基丙烯酰胺（N-isopropylacrylamide, 简称NIPAAm），在 R_1 、 R_2 处分别是甲基取代。研究表明，pNIPAAm具有较高的温度响应性，LCST位于32 $^{\circ}\text{C}$ 附近，与人体体温相近[14]，而且在高分子链上引入丙烯酰胺（AAm）[18, 19]或N,N-二甲基丙烯酰胺[20, 21]等亲水性的单体，可以提高了其LCST。加之其良好的生物相容性，因此常被考虑在生物医学上的应用。除此之外，N,N-二乙基丙烯酰胺、N-乙基丙烯酰胺、N-正丙基丙烯酰胺等都是N-取代丙烯酰胺类水凝胶，均具有热缩温敏性。

也有些热缩型水凝胶不属于N-取代丙烯酰胺类水凝胶,例如聚2-羧基异丙基丙烯酰胺 (poly(2-carboxyisopropylacrylamide, 简称pCIPAAm) 的单体上不仅具有亲水基团和疏水基团, 而且还有pH敏感的羧基, 使其具有热响应的同时也具备了pH敏感[22]。聚(L)1-羟基-甲基丙基甲基酰胺 (poly(N-(L)-1-hydroxy methyl-propylmethacrylamide, 简称poly(L-HMPMAAm)), 由于高分子链上同时存在亲水基和疏水基且基团间形成共轭电子云, 使兼具温敏和紫外光敏性[23]。

热缩型温敏水凝胶目前应用比较广阔, 其温敏特性的机理也是人们最关心的问题之一。

热缩型温敏水凝胶的温敏机理目前较容易被人接受的观点是: 其温敏特性是由其高分子链上具有一定比例的疏水和亲水基团, 这些基团与水在分子内、分子间会产生相互作用的结果[24]。当单体聚合成高分子链而非水凝胶的情况下, 在LCST以下, 即当高分子链溶于水时, 由于氢键及范德华力的作用, 大分子链周围的水分子形成了由氢键连接的、有序化程度较高的溶剂化壳层, 并使高分子表现出伸展的线团结构。随着温度的升高, 高分子链与水之间的相互作用力突变, 部分氢键被破坏。由于疏水基团之间的相互作用是吸热的“熵驱动”过程, 即随温度升高, 聚合物溶液体系的熵增加, 疏水基团的缔合作用增强, 形成疏水层, 水分子从溶剂化层中排出表现为相变。此时高分子由疏松的线团结构变为紧密的胶粒状结构, 从而产生温敏性[14]。而经过交联的水凝胶温敏性相转变是由交联网络的亲水性与疏水性的平衡受外界条件变化而引起的, 是大分子链构象变化的表现。在较低温度下, 水分子向凝胶内部扩散与凝胶侧链上亲水基团形成氢键。当温度升高时, 氢键振动能增加, 破坏氢键的束缚, 使之断裂, 水凝胶溶胀比则明显减少。这是一个吸热过程, 因为大量的结合水从高分子骨架上脱离出来, 使水凝胶—水体系熵增加[13, 14]。

1.1.3 温度敏感水凝胶常用合成方法

目前, 温敏凝胶的合成方法主要集中在溶液聚合法和辐射聚合法上。

溶液聚合法是常见的制备水凝胶的方法[16, 25]。对一些水溶性的单体, 可采用自由基引发水溶液聚合法制备相应的水凝胶。引发剂可选用: (1) 无机过氧化物, 如过硫酸钾, 过硫酸铵等; (2) 水溶性氧化-还原引发体系, 氧化剂可

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库