

新型自组装胶束的制备及其 药物释放性能的研究

曹小红^{1,2}, 刘云海^{1,2}, 彭道锋², 谢宗波^{1,2}, 孟令芝³

(1. 东华理工大学核资源与环境教育部重点实验室, 江西 南昌 330013; 2. 东华理工大学应用化学系, 江西 抚州 344000; 3. 武汉大学化学与分子科学学院, 湖北 武汉 430072)

摘要:设计并合成了由亲水链段与疏水链段所组成的新型两亲星形嵌段共聚物。在水溶液中, 该星形共聚物能够自组装形成具有核壳结构的纳米胶束粒子。当环境的 pH 分别为 5、7.4、9 时, 共聚物胶束相应的低临界溶液温度(LCST)分别为 32.0、36.6、39.5℃。由于亲水链段具有的温度和 pH 双响应特性, 载药的自组装共聚物胶束也显示出了温度和 pH 双重响应的药物释放行为。

关键词:两亲聚合物; 刺激响应; 控制释放

中图分类号: TQ460.4

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2009)10-0058-03

Preparation of a novel self-assembled star copolymer and its performance in thermo and pH dual-responsive drug release

CAO Xiao-hong^{1,2}, LIU Yun-hai^{1,2}, PENG Dao-feng², XIE Zong-bo^{1,2}, MENG Ling-zhi³

(1. Key Laboratory of Nuclear Resources and Environment of the Ministry of Education, East China Institute of Technology, Nanchang 330013, China; 2. Department of Applied Chemistry, East China Institute of Technology, Fuzhou 344000, China; 3. College of Chemistry and Molecular Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: A novel star copolymer composed of a hydrophilic block and a hydrophobic block is synthesized. The star copolymer can self-assembly to micellar nanoparticles with a core/shell structure and thermo/pH dual-sensitivities. The dual-responsive drug release on the assembled drug-loaded nanoparticles with diameters ranges from 80 to 120 nm is investigated. The test shows that the drug release can be accelerated by the thermo-trigger at pH 7.4, as with the pH-trigger at 37℃.

Key words: amphiphilic polymer; stimuli response; drug release

在选择性溶剂中两亲聚合物能够自组装形成多种形态的纳米聚集体, 尤其是由疏水内核及亲水外壳所组成的球形胶束^[1-2], 在药物载体中有着重要应用。其疏水内核可以作为装载疏水药物的容器^[3-4], 而亲水外壳则可以防止胶束聚集^[5]。由于在许多病理区域(如发炎、肿瘤等)都会表现出温度升高或 pH 下降^[6], 因此刺激响应(如温度或环境 pH 等)激发药物载体的应用将会是增强病理区域药物活性的有效途径。近年来已有许多制备具有双刺激响应的药物载体的报道^[7-8]。笔者制备了一种新型的两亲共聚物, 该聚合物纳米粒子表现出了温度和 pH 响应的药物释放行为, 且药物释放行为的变化可以通过温度或 pH 的调控来达到。

1 实验部分

1.1 主要试剂

N,N-二甲基胺乙基甲基丙烯酸甲酯(DMAEMA, 98%), Arcos 公司, 使用前经减压蒸馏提纯; *N*-异丙基丙烯酰胺(NIPAAm), Arcos 公司, 使用前经甲苯/正己烷重结晶提纯; 其余试剂和溶液均为市售, 未经处理直接使用。

1.2 星型两亲共聚物的制备

将甲基丙烯酸甲酯(90 mmol)、巯基乙酸(2.2 mmol)以及偶氮二异丁腈(0.45 mmol)溶于 40 mL 二甲基甲酰胺(DMF)中, 通入氮气鼓泡除氧 30 min, 升温至 60℃, 搅拌聚合 8 h。反应完成后, 将反应液

收稿日期: 2009-06-03

基金项目: 国防基础科研项目(A3420060146); 江西省自然科学基金(2008GQH0051); 江西省教育厅科技项目(GJJ09528); 东华理工大学应用化学创新团队项目

作者简介: 曹小红(1974-), 女, 博士, 副教授, 主要从事电化学分析的研究, 0794-8258320, xhcao@ecit.edu.cn; 刘云海(1976-), 男, 博士, 副教授, 主要从事功能高分子材料的研究, 通讯联系人, 0794-8258861, yhliu@ecit.edu.cn。

倾入水中,析出白色沉淀,水洗过滤。将得到的白色固体溶于 DMF 中,再在水中沉淀,反复 3 次,产品真空干燥至恒重,得到聚合物 A。

单体 NIPAAm 和 DMAEMA 的共聚合反应,在以铈-醇为引发剂的氧化还原体系中进行。将 NIPAAm(30 mmol)、DMAEMA(6 mmol)以及三羟甲基胺(1.5 mmol)和 70% 硝酸溶液 1 mL 溶解于 70 mL 去离子水中,然后将混合溶液通入氮气流除氧 30 min。加热至 55℃,搅拌 1 h。加入溶有 6 mol 硝酸铈铵(IV)的 0.5 mol/L 硝酸溶液 3 mL 继续搅拌反应 8 h,然后冷却至室温。反应液移入透析袋中,在蒸馏水中透析 4 d,以除去未反应的单体,冷冻干燥得到聚合物 B。

将以上制备的共聚物 B 1.0 g、A 0.5 g 及 *N*-羧基琥珀酰亚胺 0.6 mmol 溶于 10 mL 二氧六环中。在氮气保护下往上述溶液中逐滴加入含有 DCC(0.6 mmol)的二氧六环 5 mL。滴加完毕后,室温下搅拌反应 48 h。产物在大量的乙醚中沉淀以除去未参与反应的聚合物 A。产物在真空中干燥至恒重,其结构如图 1 所示。

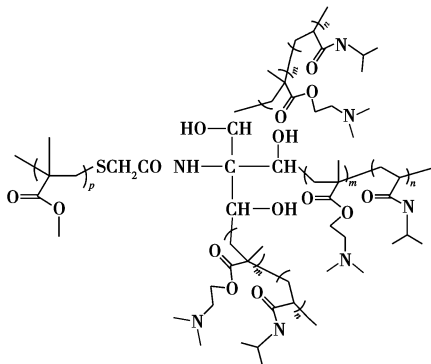


图 1 星型共聚物的结构

1.3 聚合物的表征和体外药物释放行为

所得聚合物分子质量的测定使用 Waters 2690D 凝胶渗透色谱进行;核磁共振氢谱($^1\text{H-NMR}$)用 Varian VX-300 Mercury(300 MHz)核磁共振仪测定;

溶液光学透过率测定使用配有循环水浴夹套的 UV-8500 紫外光谱仪测定;用 JEM-100CX II 透射电镜观察聚合物胶束在溶液中的尺寸和形态。

将 8 mg 共聚物和 8 mg 氨甲蝶呤(MTX)溶于 4 mL 二甲酰胺中。溶液移入透析袋中,在 1 000 mL 蒸馏水中透析 24 h。将载药聚合物溶液过滤,除去不溶物,然后冷冻干燥,得到载药聚合物粉末。将一定质量的载药聚合物粉末溶于二甲酰胺中,用紫外光谱标准曲线法测定药物的量,吸收波长 371 nm。实验测得该共聚物的载药率约为 31.5%(质量分数)。

通过透析装载药物后,将透析袋直接浸入 400 mL 具有不同 pH 或温度的释放介质中,搅拌。每隔一定时间,从蒸馏水中移取 3 mL 溶液,测定药物浓度。每次取完样后,补加 3 mL 的释放介质,以保持溶液体积恒定。从聚合物胶束中释放出的药物浓度用紫外吸收光谱法测定。

2 结果与讨论

2.1 共聚物胶束的形成

比较了共聚物分别在 CDCl_3 和 D_2O 溶剂中的 $^1\text{H-NMR}$ 图谱(图 2)。结果表明在 CDCl_3 溶剂的图谱中,出现了共聚物中所有组成链段的共振峰,然而在 D_2O 溶剂的图谱中,只出现了 PNIPAAm 和 PDMAEMA 链段的共振峰而 PMMA 链段特征的 CH_3O 的共振峰($\delta = 3.55$)未出现。这表明在水溶液中共聚物中疏水的 PMMA 链段被亲水的链段所包裹,形成了具有疏水核/亲水壳结构的共聚物胶束。

2.2 温度和 pH 敏感的共聚物胶束结构变化

PNIPAAm 是具有低临界溶液温度(LCST)的聚合物,而且通过 NIPAAm 单体与不同比例的亲水或疏水单体进行共聚合,可以在一定范围内调节 PNIPAAm 的 LCST 值。图 3 给出了不同 pH 条件下共聚物的 LCST 值,表明随着温度的升高,共聚物胶束的亲水链结构由伸展的亲水链转变为收缩的疏水

(上接第 59 页)

- [3] Pintar A, Levec J. Catalytic oxidation of organics in aqueous solutions [J]. J of catalysis, 1992(135): 345 - 375.
- [4] 杜鸿章,房廉清,江义,等. 难降解高浓度有机废水催化湿式氧化净化技术[J]. 水处理技术, 1997, 23(2): 83 - 87.
- [5] 景晓燕,于学清,张密林. 纳米 $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ 的制备研究[J]. 应用科技, 2004, 31(9): 56 - 58.
- [6] 刘琰,孙德智. 常温常压催化湿式氧化工艺处理染料废水的研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2006.

- [7] Santos A C S F, Damyanova S, Teixeira G N R, et al. Effect of ceria content on the performance of Pt/CeO₂/Al₂O₃ catalysts in the Partial oxidation of methane[J]. APPL Catal: A, 2005, 290(1/2): 123 - 132.
- [8] Teschner D, Wootsch A, Roder T, et al. Ceria as a new support of noble metal Catalysts for hydrocarbon reactions: Chemisorption and catalytic studies[J]. Solid State Ionics, 2001, 141/142(1): 709 - 713.
- [9] Pintar A, Levec J. Catalytic oxidation of organics in aqueous solutions: Kinetics of phenol oxidation[J]. Journal of Catalysis, 1992, 135: 345 - 354.
- [10] 王鹏,孙柳. 催化湿式氧化法处理高浓度染料废水的研究[J]. 染料与染色, 2006, 43(5): 45 - 46. ■

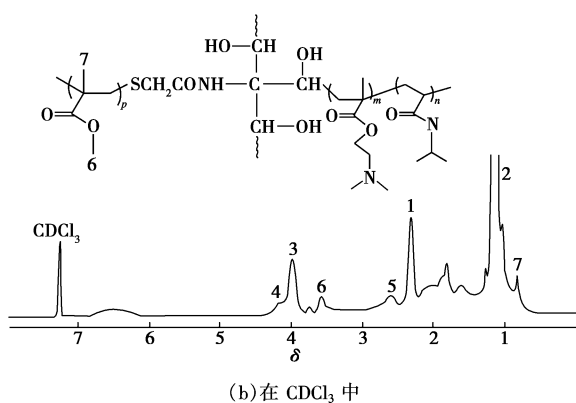
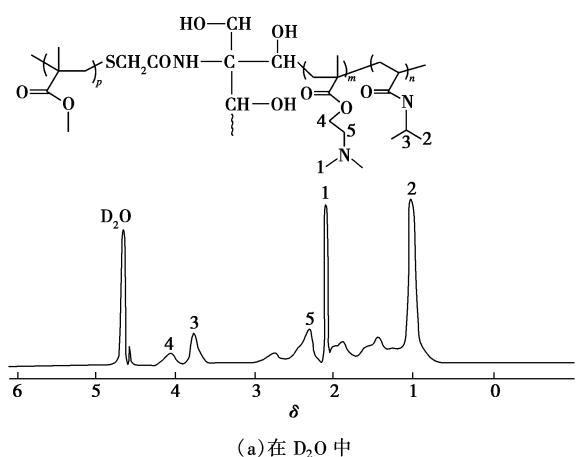


图 2 共聚物在 D₂O 和 CDCl₃ 中的 ¹H-NMR 图

聚集体。随着温度的变化,亲水外壳链结构的改变也破坏了稳定的聚合物胶束。更为重要的是聚合物胶束显示出了 pH 相关的温度响应特性,对应于 pH = 5、7.4、9,共聚物 LCST 值分别为 32.0、36.6、39.5℃。这是由于在聚合物链段中,亲水/疏水链段的比例随着 pH 的变化而变化,从而影响了共聚物的 LCST 值:pH 升高则疏水链段比例增加、LCST 值下降,反之亦然。

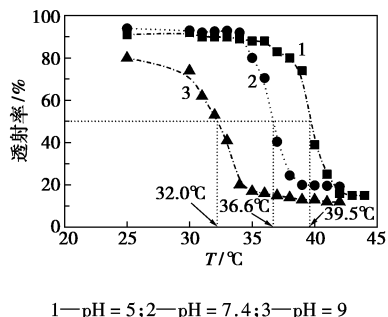


图 3 共聚物水溶液的透射率随温度的变化曲线

2.3 纳米胶束粒子的形态

直径小于 200 nm 的球形胶束粒子是抗肿瘤药物载体的最佳尺寸^[9]。图 4 是在 pH 7.4 条件下聚合物胶束的电镜图片,聚合物胶束能够在水溶液中

分散成为孤立的具有球形的纳米胶束粒子,纳米粒子尺寸在 100 nm 左右。

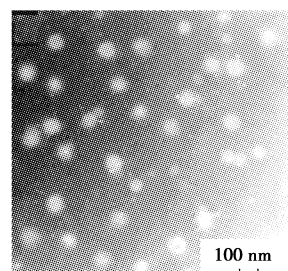


图 4 纳米胶束粒子的 TEM 图

2.4 温度和 pH 响应的体外药物释放行为

该共聚物胶束的药物包封率为 31.5%,较传统的聚合物胶束而言,该共聚物胶束显示出了更高的载药能力,这可能是由于形成胶束的共聚物具有特殊的星形结构^[10],增强了疏水内核与药物的相互作用能力。笔者考察了在药物释放过程中改变释放介质的温度或 pH 时,药物释放行为的变化。图 5(a)显示了在 pH 7.4 的条件下,温度触发的药物加速释放行为。这是由于温度升高,载药共聚物胶束由稳定的核壳型胶束(25℃)转变为不溶聚集体(37℃)的缘故。与此相似,图 5(b)显示了在 37℃ 的条件下,pH 触发的药物加速释放行为。结果表明,在接近人体生理环境的共聚物胶束释放药物过程中,温度或 pH 的改变都会引起药物释放行为的变化。因此,笔者认为这种具有温度和 pH 双重响应的纳米共聚物粒子能够作为温度和 pH 触发的定位药物载体,它将能够通过目标区域的温度或 pH 的变化,增强药物在靶向病理区域的积累从而提高药物的治疗效率。

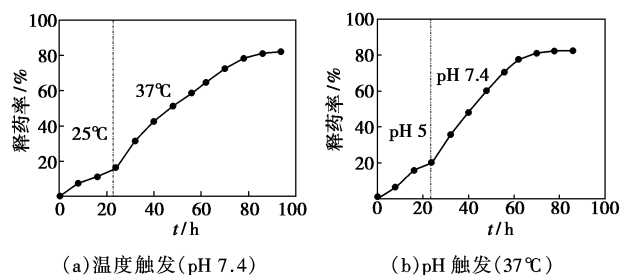


图 5 温度触发和 pH 触发的加速药物释放曲线

3 结语

合成了新型两亲星形嵌段共聚物,该星形共聚物在水溶液中能够自组装形成具有核壳结构的纳米胶束粒子,当环境的 pH 分别为 5、7.4、9 时共聚物胶束相应的 LCST 分别为 32、36.6、39.5℃。由于亲水 (下转第 62 页)

对于气相单独通过规整通道接触器来说,通常不存在分配不均匀问题,而液相的均匀分配则难度较大。Satterfield 等^[13]研究了 3 种不同的液相分配器的液相分布效果。第 1 种液相分布器为在平板上均匀分布 37 根毛细管道。结果表明液相分配并不均匀,阻力降重复性较差。第 2 种液相分布器采用直径为 4 mm 的小球,堆积在规整通道接触器入口,同时保留第 1 种分布器为预分布器,此时阻力降重复性有所改善,但在高液相流量时会出现液泛现象,甚至会有小球堵塞规整通道进口。第 3 种分配器由 27 片 3 mm 厚的规整通道薄片组成,堆叠在规整通道接触器入口,压力波动较小,重复性较好,表明分布效果较好。

Irandoost 等^[14]采用不同规格的冲孔板对液体进行分配。他们发现液相分布效果与穿过冲孔板的阻力降相关,当阻力降低于 1 ~ 2 kPa 时,液相分布较差。当冲孔直径远小于规整反应器单孔直径时,可以得到非常好的分布效果。后来 Cybulski 等^[15]得到类似结论,Cybulski 等认为规整通道反应器截面上方喷淋的液滴直径应远小于微通道直径,才会得到较好的分布效果。

Mewes 等^[16]采用喷嘴为分布器,研究了规整通道中的流体分布,结果表明增加液相流速,液相分布的质量提高。Heibel 等^[17]亦采用不同规格的喷雾嘴作为液相分布器,结果表明要想获得好的分布效果,关键是要选用合适的喷雾嘴并调整喷雾嘴的位置以

获得合适的高度。Kreutzer 等^[18]分别采用静态混合器及喷嘴对液相进行分配,结果表明采用静态混合器可以得到更好的分配效果,但其制作成本较高。

Behl 等^[19]通过在规整通道接触器上方堆叠氧化铝小球及管状分布器作为液相分布器,实验结果表明提高液相流速可以显著地提高分布均匀性,在低的液相流速下分布较差,当液相流速大时气速对分布影响较小。在高的气液表观流速下,管状分布器内气液之间的强烈湍动可以提供较好的分布效果。

以上分析可知,采用喷嘴将液相雾化后,可以实现规整通道接触器较好的液相分配。对于气液多流经规整通道接触器来说,良好的分配不仅包括液相的分配,也包括气相的分配。笔者对微通道接触器的放大做了初步的探索,通过对不同规模多通道接触器脱碳性能进行研究,重点考察大规模多通道接触器中不同气相分配器与液相分配器组合使用的脱碳效果,试图找到合适的微接触器脱碳放大模式。

1 实验装置及方法

多通道脱碳实验装置如图 1 所示。主要实验组件包括规整通道接触器、聚乙二醇二甲醚储罐、质量流量计、往复泵、压力表、液相稳流装置、气相色谱等。其中规整通道接触器分别采用孔密度为 400 cps (每平方英寸横截面上的孔道数,1.1 mm × 1.1 mm,下同)及 900 cps (横截面积为 0.8 mm × 0.8 mm)的蜂窝陶瓷。

(上接第 60 页)

链段具有的温度和 pH 双响应特性,载药的自组装共聚物胶束也显示出了温度和 pH 双重响应的药物释放行为。该共聚物纳米胶束粒子是一种具有极大潜在应用价值的智能药物传递载体,能通过环境温度或 pH 的微小改变,实现在目标病理区域的药物释放和积累,以提高药物的治疗效率,减小副作用。

参考文献

- [1] Gao Z, Eisenberg A. A model of micellization for block copolymers in solutions[J]. *Macromolecules*, 1993, 26: 7353.
- [2] Adama M L, Lavasanifar A, Kwon G S. Amphiphilic block copolymers for drug delivery[J]. *J Pharm Sci*, 2003, 92: 1343.
- [3] Gref R, Domb A, Quellec P, *et al.* The controlled intravenous delivery of drugs using peg-coated sterically stabilized nanospheres[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1995, 12: 215.
- [4] Hagan S A, Coombes A G A, Garnett M C. Polylactide-poly(ethylene glycol) copolymers as drug delivery systems: 1. Characterization of water dispersible micelle-forming systems[J]. *Langmuir*, 1996, 12: 2153.
- [5] Gao Z G, Fain H D, Rapoport N. Controlled and targeted tumor chemotherapy by micellar-encapsulated drug and ultrasound[J]. *J Control Release*, 2005, 102: 203.
- [6] Lee E S, Na K, Bae Y H. Polymeric micelle for tumor pH and floate-mediated targeting[J]. *J Control Release*, 2003, 91: 103.
- [7] Soppimath K S, Liu L H, Seow W Y, *et al.* Multifunctional core/shell nanoparticles self-assembled from pH-induced thermosensitive polymers for targeted intracellular anticancer drug delivery[J]. *Adv Funct Mater*, 2007, 17: 355.
- [8] Zhang L Y, Guo R, Yang M, *et al.* Thermo and pH dual-responsive nanoparticles for anti-cancer drug delivery[J]. *Adv Mater*, 2007, 19: 2988.
- [9] Harada A, Kataoka K. Supramolecular assemblies of block copolymers in aqueous media as nanocontainers relevant to biological applications[J]. *Prog Polym Sci*, 2006, 31: 949.
- [10] Soppimath K, Tan D, Yang Y. pH-Triggered thermally responsive polymer core-shell nanoparticles for drug delivery[J]. *Adv Mater*, 2005, 17: 318. ■