

新型温度敏感性自组装胶束 P(NiPAAm-co-DMAA)-co-P(L-Ala) 的合成和性能

王海青, 俞 玫, 鲍军波, 宋存先

(中国医学科学院北京协和医学院, 生物医学工程研究所, 天津市生物材料重点实验室, 天津 300192)

摘要 通过原子转移自由基聚合(ATRP)合成了一种带有活性-NH₂基团的温度敏感性亲水型共聚物 P(NiPAAm-co-DMAA), 并将其作为引发剂, 合成了 P(NiPAAm-co-DMAA)-co-P(L-Ala), 其分子量分布(PDI)在1.3左右. 聚合物通过自组装形成纳米胶束. 透射电镜(TEM)结果表明, 胶束大小200~300 nm, 具有明显的核壳结构. 共聚物的最低临界溶解温度(LCST)为45.5 °C. 温度低于LCST时, 聚合物溶解形成胶束; 高于LCST时, 胶束解离, 聚合物不溶. 聚合物对温度的响应是快速而可逆的.

关键词 温度敏感; 自组装胶束; P(NiPAAm-co-DMAA)-co-P(L-Ala)

中图分类号 O631.3

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2009)01-0212-03

近年来纳米技术在药剂学领域的应用已展现巨大潜力. 如何通过外部刺激触发药物释放, 实现纳米制剂可控释药, 成为药物制剂领域的一大挑战. 通过温度敏感性两亲性药物载体制备缓控释药物制剂是其中的研究热点. 例如 Liu 等^[1]用具有 pH 和温度敏感性的 P(NiPAAm-co-DMAAm-co-AMA)-b-PUA, 通过亲水片段上的氨基接枝叶酸, 包载阿霉素, 可以提高肿瘤部位的阿霉素含量. Lopez 等^[2]则将 PNiPAAM(85%), PBA(10%)和 PMAA(5%)共聚, 制成 pH/温度敏感性材料, 用于透皮释药. Xu 等^[3]通过 ATRP 合成具有 pH 和温度双重响应的 P(DMAEMA-co-HEMA)-b-P(NiPAAm)-b-P(DMAEMA-co-HEMA), 但转变温度较低(31~32 °C). Wei 等^[4]合成了具有低转变温度的共聚物 P(10-Undecenoic acid-b-NiPAAm), 当温度低于 LCST(30.8 °C)时形成胶束, 但无 pH 敏感性; 当温度高于 LCST 时无法形成胶束, 但具有 pH 敏感性. 本文合成了一类窄分子量分布的具有温度敏感性的两亲性聚合物 P(NiPAAm-co-DMAA)-co-P(L-Ala), 可通过自组装形成温度敏感纳米胶束. 通过 GPC 研究聚合物的分子量分布, 利用透射电镜(TEM)研究胶束的粒径和形态, 并研究其温度敏感性能.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

甲基丙烯酰氯(化学纯, 纯度98.5%)为北京三盛腾达科技有限公司生产; 2-溴丙酰溴(分析纯, 纯度99%)和三(2-氨基乙基)胺(分析纯, 纯度96%)由 Alfa 公司生产; *N,N*-异丙基丙烯酰胺为实验室自制; 丙氨酸为生化试剂; 其余试剂为分析纯. Waters 600E 凝胶渗透色谱(GPC)由南开大学化学学院高分子研究所提供, 飞利浦 T-20 透射电子显微镜由南开大学化学学院提供.

1.2 实验过程

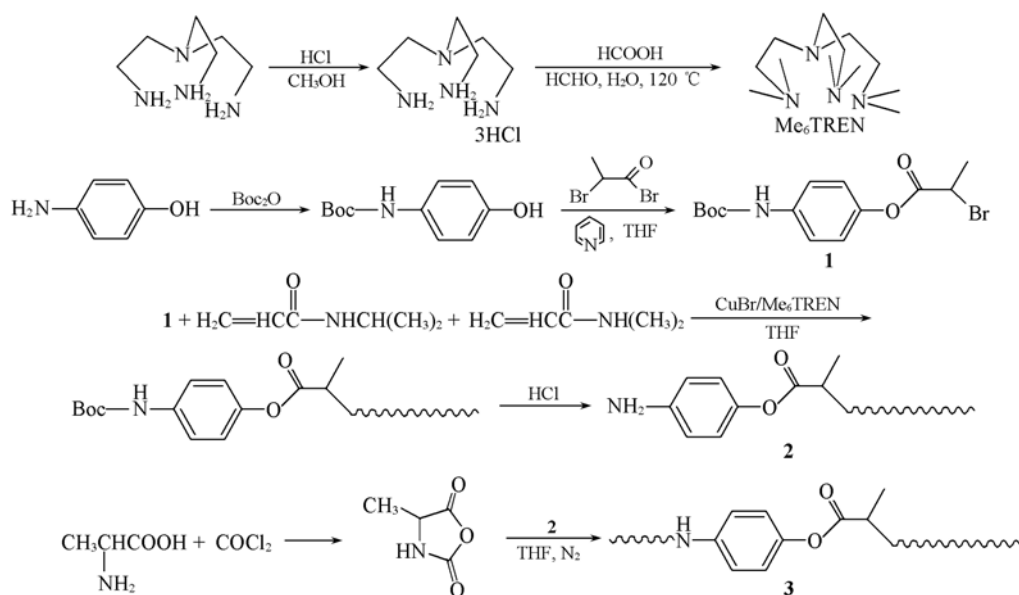
合成路线见 Scheme 1. 配基三-(*N,N*-二甲氨基乙基)胺(Me₆TREN)按文献[5]方法合成. 引发剂 1 按文献[6]方法合成. *N*-羧基-*L*-丙氨酸-环内酸酐(NCA)按文献[7]方法合成.

1.2.1 Boc 保护的 *N*-氨基酚的制备 将 1.1 g(10 mmol)对氨基酚、3.0 mL 三乙胺和 20.0 mL 甲醇加入圆底烧瓶中, 磁子搅拌 10 min, 使对氨基酚充分溶解. 加入 2.4 g Boc₂O(11 mmol), 22 °C 恒温 14 h. 减压蒸馏, 在剩余固体中加入 100 mL 0.25 mol/L HCl, 用 250 mL 乙酸乙酯分 3 次萃取. 无水 Na₂SO₄

收稿日期: 2008-04-17.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 50673100)资助.

联系人简介: 宋存先, 女, 教授, 博士生导师, 主要从事药物缓控释制剂研究. E-mail: songcx@bme.org.cn



Scheme 1 Synthetic routes for the preparation of P(NiPAAm-co-DMAA)-co-P(L-Ala)

干燥过夜, 抽滤, 旋干. 过柱分离, 得到浅棕色晶体(产率 30%).

1.2.2 温敏性片段 **2** 的制备 将 1.58 g (14 mmol) NiPAAm、0.62 mL DMAA (6 mmol)、0.0688 g 引发剂 **1** (0.2 mmol)、0.0572 g (0.4 mmol) CuBr 和 4 mL 苯甲醚装于 50 mL 三口瓶中, 机械搅拌使 NiPAAm 和引发剂 **1** 完全溶解. 液氮冷却、抽真空、充氮气、解冻, 反复操作 2 次. 然后边通氮气边注入 0.4 mmol Me₆TREN (溶于 2 mL 苯甲醚), 沉于瓶底的 CuBr 很快消失, 溶液颜色转为深蓝色. 液氮冷却、抽真空、充氮气、解冻后密封, 置于 90 °C 油浴中反应 24 h. 冷却至室温, 加入 100 mL 干燥 THF, 过中性 Al₂O₃ 柱, 蒸发浓缩滤液, 用硅胶柱分离, 得到白色粉末状固体(产率 35%). 将此固体溶于甲醇, 通入 HCl 气体 1 h, 蒸干甲醇, 得到温敏性片段 **2**.

1.2.3 温敏性两亲性聚合物 **3** 的合成和自组装 按 10:1 和 2.5:1 投料比分别称取 L-丙氨酸-NCA 和温敏性片段 **2**, 加入三口瓶中, 以无水 THF 为溶剂, 在 N₂ 气保护下室温反应 72 h, 有大量沉淀产生. 过滤, 用无水 THF 洗涤 3 次(每次 10 mL), 干燥, 得白色固体产物 **3**, 分别记为 Polymer-1 (产率 91%) 和 Polymer-2 (产率 62%). 称取 0.1 g 聚合物 **3**, 加入安培瓶中, 加入 10 mL 水, 剧烈振荡, 制备自组装胶束. 通过透射电镜考察胶束形态.

1.2.4 温度敏感实验 将自组装胶束溶液装入细玻璃管中, 浸于不同温度的水中, 观察溶液的变化.

2 结果与讨论

2.1 温敏性两亲性聚合物的分子量分布

为了得到性质良好的药物载体, 通过 GPC 考察了温敏性两亲性聚合物的分子量分布(表 1). 由 GPC 结果可知, 合成的高分子材料结构均匀, 分子量分布窄, 物理化学性质均一.

Table 1 PDI of P(NiPAAm-co-DMAA)-co-P(L-Ala)

Polymer	M_n	M_w	M_p	M_z	$M_z + 1$	PDI
Polymer-1	58737	74748	72441	93228	113022	1.27
Polymer-2	29846	41868	40354	54814	67557	1.40

2.2 温敏性两亲性聚合物在水溶液中的自组装

由图 1 可以看出聚合物在水溶液中自组装形成直径为 200 ~ 300 nm 的纳米胶束, 形态规整, 有明显的核壳结构, 内层为疏水的聚丙烯酰胺链段, 外层为亲水的 P(NiPAAm-co-DMAA) 片段.

2.3 自组装胶束的温度敏感性

以 Polymer-1 为例考察自组装胶束的温度敏感性, 结果列于表 2. 可见自组装胶束具有明显的温度敏感性, 其 LCST 为 45.5 °C. 当温度高于 45.5 °C 时, 外层温敏性的 P(NiPAAm-co-DMAA) 片段收缩,

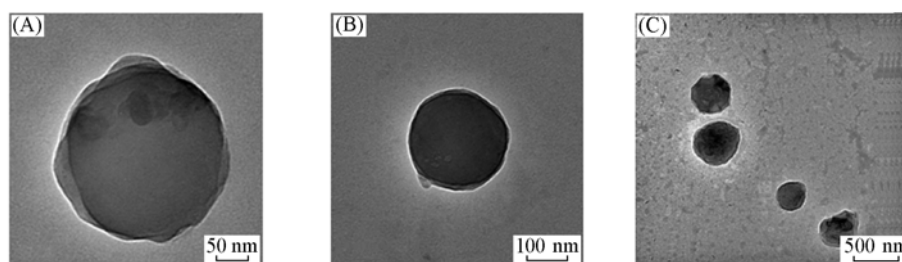


Fig. 1 TEM images of polymer-1 (A) and polymer-2 (B, C) block copolymer micelles

疏水性增强, 胶束解离, 形成不溶性的白色固体沉淀, 澄清透明的溶液在 5 s 之内变成白色浑浊状态。当温度再次降低时, 外层的温敏性的 P(NiPAAm-co-DMAA) 片段在水中舒展, 亲水性增强, 沉淀溶解重新形成稳定的胶束, 同样是在 5 s 之内溶液再次恢复澄清。说明胶束对温度的响应迅速且可逆的。

Table 2 Temperature sensitivities of polymer-1

$t/^\circ\text{C}$	42	45.4	45.5	48	45.4	42
Solution	Colorless, transparent	Colorless, transparent	White, turbid	White, turbid	Colorless, transparent	Colorless, transparent
Polymer	Micelle	Micelle	Precipitate	Precipitate	Micelle	Micelle

综上所述, P(NiPAAm-co-DMAA)-co-P(L-Ala) 聚合物具有以下优点: (1) 结构规整, 分子量分布窄; (2) 在水溶液中可以迅速通过自组装的方式形成纳米胶束, 胶束形态好; (3) 随温度的变化不仅迅速敏锐, 而且可逆。因此此类温敏性两性亲水自组装胶束非常适合用作温敏性控释药物载体。

参 考 文 献

- [1] Liu Shao-qiong, Wiradharma Nikken, Gao Shu-jun, *et al.*. *Biomaterials*[J], 2007, **28**(7): 1423—1433
- [2] Castro Lopez V., Hadgraft J., Snowden M. J.. *International Journal of Pharmaceutics*[J], 2005, **292**(1/2): 137—147
- [3] Xu Fu-jian, Kang En-tang, Neoh Koon-gee. *Biomaterials*[J], 2006, **27**(14): 2787—2797
- [4] Wei hua, Zhang Xian-zheng, Cheng han, *et al.*. *Journal of Controlled Release*[J], 2006, **116**(3): 266—274
- [5] Giampolini M., Nardi N.. *Inorganic Chemistry*[J], 1966, **5**: 41—44
- [6] Dios Alfonso D. E., Tiejiao L. I., Martin-cabrejas Luisa Maria, *et al.*. *Ureido-pyrazole Derivatives and Their Use as Kinase Inhibitors*, EP1609789[P], 2005-12-28
- [7] ZHANG Guo-Lin(张国林), MA Jian-Biao(马建标), WANG Yi-Nong(王亦农). *Chem. J. Chinese Universities*(高等学校化学学报)[J], 2006, **27**(4): 767—770

Synthesis and Properties of Novel Temperature-sensitive Self-assemble Nanomicelles of P(NiPAAm-co-DMAA)-co-P(L-Ala)

WANG Hai-Qing, YU Mei, BAO Jun-Bo, SONG Cun-Xian*

(*Institute of Biomedical Engineering, Chinese Academy of Medical Sciences*

Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

Abstract A novel temperature-sensitive amphiphilic copolymer of P(NiPAAm-co-DMAA) with active $-\text{NH}_2$ group was synthesized by ATRP, which was used as initiator of amino acid polymerization. The PDI of P(NiPAAm-co-DMAA)-co-P(L-Ala) is about 1.3. This polymer could form temperature-sensitive micelle by self-assembly. The diameter and distribution of micelle were observed by TEM. The results show that the size of micelle is about 200—300 nm and the micelle has obvious core-shell structure. LCST of copolymer is 45.5 $^\circ\text{C}$. When temperature is under LCST, the copolymer is soluble and form temperature-sensitive micelle. When temperature is above LCST, the micelle dissociate and copolymer is insoluble. Its response to temperature is quickly and reversible.

Keywords Temperature-sensitive; Self-assembly micelle; P(NiPAAm-co-DMAA)-co-P(L-Ala)

(Ed.: H, J, Z)