

文章编号: 1000-4556(2007)03-0303-08

单甲氧基聚乙二醇—聚(己内酯-co-丙交酯) 嵌段共聚物的 NMR 表征

赵辉鹏, 查刘生*

(东华大学 分析测试中心, 上海 200051)

摘 要: 利用溶液¹³C NMR 和 HMBC 实验对 AB 型两亲性嵌段共聚物单甲氧基聚乙二醇—聚(己内酯-co-丙交酯)[MeOPEG-P(Cap-co-LL)]的嵌段结构以及聚(己内酯-co-丙交酯)[P(Cap-co-LL)]嵌段中 Cap 和 LL 的无规结构进行了表征. 研究发现, P(Cap-co-LL)中 Cap、LL 的组成对 P(Cap-co-LL)的无规度、Cap 和 LL 的酯交换程度以及不同组分的平均链长均有影响. 对 LL 中立体结构不同所产生的酯交换也进行了表征.

关键词: 核磁共振; 结构; 溶液碳谱; HMBC; 两亲性嵌段共聚物; 酯交换

中图分类号: O482.53 **文献标识码:** A

近年来, 可生物降解的脂肪族聚酯用于药物输送载体的研究受到越来越多的关注^[1]. 亲水链段为聚乙二醇(PEG)、亲油链段为脂肪族聚酯的两亲性嵌段共聚物, 在水中无需乳化剂的作用能自组装形成具有核壳结构的聚合物纳米粒子^[2]. 由脂肪族聚酯构成的疏水内核可包埋药物, 亲水的 PEG 链段位于纳米粒子表面, 对粒子分散在水中起立体稳定作用, 同时还延长纳米粒子在血液系统中的循环时间^[3]. 聚己内酯(PCL)和聚乳酸(PLA)是常用于药物输送载体的脂肪族聚酯, 但它们各有优缺点, PCL 对药物有很好的通透性, 但降解速度太慢; PLA 降解速度较快, 且降解产物乳酸是人体内三羧酸循环的中间代谢物, 但对药物的通透性较差. 如果将己内酯(Cap)单元和乳酸(LA)单元共聚形成无规共聚物, 就能得到综合性能优良的药物载体材料.

AB 型两亲性两嵌段共聚物是形成聚合物纳米粒子最常用的两亲性嵌段共聚物^[4].

收稿日期: 2006-11-17; 收修改稿日期: 2007-01-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(50573009), 东华大学科学技术发展基金资助项目(228100044404).

作者简介: 赵辉鹏(1979-), 女, 河南人, 助理研究员. 从事核磁共振在高分子结构中的应用研究. * 通讯联系人: 查刘生. 电话: 021-67792822, E-Mail: lszha@dhu.edu.cn.

通过开环共聚合成以单甲氧基聚乙二醇(MeOPEG)为亲水性的 A 段,聚(己内酯-co-丙交酯)[P(Cap-co-LL)]为亲油性的 B 段的两亲性 AB 型两嵌段共聚物单甲氧基聚乙二醇-聚(己内酯-co-丙交酯)[MeOPEG-P(Cap-co-LL)],期望通过自组装形成的聚合物纳米粒子具有可控的药物通透性和可生物降解性.核磁共振(NMR)是表征高聚物序列结构的有效手段之一^[5,6],为探讨 P(Cap-co-LA)链段中 Cap、LA 单元的序列分布和组成对聚合物纳米粒子的大小、生物降解速率和释药性能的影响,本文利用 HMBC 和液体¹³C NMR 方法对 MeOPEG-P(Cap-co-LA)的链结构以及 P(Cap-co-LA)链段形成过程中的酯交换行为进行了分析.

1. 实验部分

1.1 样品制备

单甲氧基聚乙二醇(MeOPEG)由 Fluka 公司供应,供应商提供的分子量是 5 000,用前放在装有 P₂O₅ 的真空干燥器中干燥过夜;己内酯由 Aldrich 公司供应,重蒸后使用;d,l-丙交酯(无旋光性的丙交酯)由 Purac 公司供应,用乙酸酯重结晶两次. AB 型 MeOPEG-P(Cap-co-LL)两亲性嵌段共聚物采用本体开环聚合方法制得^[4];以 MeOPEG 为起始剂,加入一定量的 d,l-丙交酯,70 °C 下抽真空 1 h,然后再加入一定量的己内酯,辛酸亚锡为催化剂,在 160 °C 温度下反应 4 h.维持 d,l-丙交酯和己内酯的质量和与 MeOPEG 的质量比(8 : 1)不变,改变 d,l-丙交酯和己内酯的质量比(实验中所用的分别是 3 : 7, 5 : 5, 7 : 3),可得到系列亲油链段组成不同的 MeOPEG-P(Cap-co-LL),分别标记为 MP37, MP55, MP73.反应产物冷却至室温后,用一定量的二氯甲烷溶解,再用过量的无水甲醇沉淀,以除去未反应的 MeOPEG,过滤后得到白色沉淀物.沉淀物再溶解在二氯甲烷中,倒入过量的乙醚中沉淀,除去未反应的己内酯或聚己内酯均聚物.产物放入真空烘箱中,40 °C 下干燥至恒重,用于 NMR 分析.产物的结构式如图 1 所示.产物的分子量和亲油链段中 LL 单元与 CL 单元的质量组成比的测定结果^[7]列在表 1 中.由表 1 的数据可以看出,产物中 LL 单元与 CL 单元的质量组成比与投料比一致,表明在我们使用的反应条件下,LL 和 CL 的转化率接近 100%.

表 1 MeOPEG-P(Cap-co-LL)的分子量和己内酯单元与乳酸单元的组成比的测定结果^[7]

Table 1 The molecular weights and compositions of MeOPEG-P(Cap-co-LL) block copolymers determined by ¹H NMR

samples	$M_{n,cal}^a$	$M_{n,c}^c$	feed ratio of lactide to caprolactone (mass ratio)	ratio of LL units to Cap units in the copolymer determined by ¹ H NMR (mass ratio)
MP37	47061	52660	3 : 7	2.88 : 7.12
MP55	47061	50964	5 : 5	5.06 : 4.94
MP73	47061	51786	7 : 3	7.04 : 2.96

^a $M_{n,cal}$: 根据投料比计算出的数均分子量; ^c $M_{n,c}$: 利用溶液¹H 谱测定出的分子量.

的峰及序列结构归属^[8],从谱中可以看出,在共聚物中 MeOPEG 的峰没有发生裂分,为单峰;而 Cap 和 LL 的羰基峰则发生了裂分,出现了无规共聚引起的不同序列的峰,由此可以判断,在所用的实验条件下合成的 MeOPEG-P(Cap-co-LL) 共聚物中 MeOPEG 和 P(Cap-co-LL) 是嵌段的,在 P(Cap-co-LL) 嵌段中, Cap 和 LL 单元是无规共聚的。

为了进一步确定 MeOPEG-P(Cap-co-LL) 的结构,我们做了相同样品的 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC,图 3 是 MP55 中 Cap、LL 的羰基碳原子与质子相关部分的 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC 放大图 (a) 和 MeOPEG 的亚甲基碳原子与质子相关部分的 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ HMBC 放大图 (b),对质子谱的归属^[7]如图中所示(不同基团的编号见图 1)。由图可以看出, MeOPEG 只与它本身的亚甲基的质子有相关峰, Cap 和 LL 的羰基碳原子和 MeOPEG 的亚甲基的质子无相关峰。对 P(Cap-co-LL) 嵌段, Cap 的羰基碳原子(i)的峰不仅和它本身单元中 f 处亚甲基的质子峰有相关峰,而且与 LL 链段中 g 处次甲基的峰有相关峰; LL 的羰基碳原子(j)的峰除了和它本身 g 处次甲基的峰有相关峰,与 Cap 链段中 f 处亚甲基的质子峰有相关峰,且 Cap 链段和 LL 链段之间的相关峰的位置与图 2 ^{13}C 谱中的序列结构归属一致。这进一步确定了在使用的反应条件下合成的共聚物是两嵌段 AB 型共聚物,其中 A 嵌段为 MeOPEG, B 嵌段为 P(Cap-co-LL)。在 P(Cap-co-LL) 嵌段中, Cap 和 LL 是无规共聚。这些结果与文献[4]中 GPC 和热分析的测定结果一致。

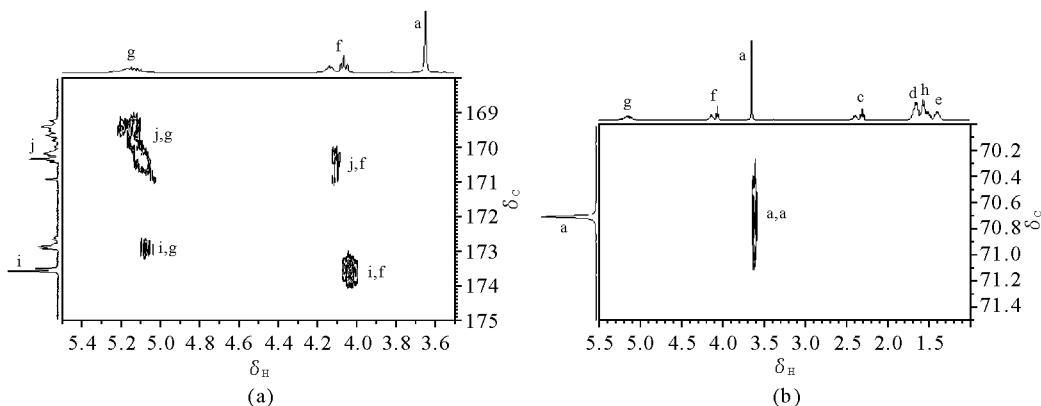


图 3 MP55 的 HMBC 图,羰基区域(a)和 MeOPEG 的亚甲基区域(b)

Fig. 3 HMBC spectrum of MP55, regions of carbonyl carbon atoms (a) and methene carbon atoms of MeOPEG

2.2 MeOPEG-P(Cap-co-LL) 中 P(Cap-co-LL) 嵌段的表征

Kasperczyk 等人的研究表明^[8,9], Cap 和 LL 共聚时会发生酯交换,如果反应过程中丙交酯(LL)不断裂产生乳酸(L)单元,则定义为一级酯交换;如果反应过程中 LL 断裂生成 L 单元,则会产生新的如 CapLCap、CapCapLCap、CapLCapLL 等的序列结构,定义为二级酯交换。将图 2 中 Cap 和 LL 的羰基峰及序列结构归属与文献中的谱图比较可以发现, P(Cap-co-LL) 嵌段中存在新的如 CapLCap、CapCapLCap 等的序列结构,这表明 Cap 和 LL 的酯交换为二级酯交换。根据 Kasperczyk^[9] 报道的计算方法,二级酯交换的产率(T_{II})可由(1)式求出

$$T_{II} = [\text{CapLCap}]/[\text{CapLCap}]_R \quad (1)$$

[CapLCap]代表实验中得出的 CapLCap 序列在 P(Cap-co-LL)嵌段中的浓度. 可通过¹³C 谱图中不同序列的积分值计算得出. [CapLCap]_R代表基于 Bernoulli 统计理论计算出的完全无规分子链中 CapLCap 序列的浓度. [CapLCap]_R的计算方法如下:

假定 Cap 和 L 的摩尔比为 k , 即 $[\text{Cap}]/[\text{L}] = k$, 则 P(Cap-co-LL)嵌段中中乳酸单元和己内酯的浓度分别为

$$[\text{L}] = 1/(k + 1) \quad (2)$$

$$[\text{Cap}] = k/(k + 1) \quad (3)$$

基于 Bernoulli 统计理论, 在完全无规的分子链中, CapLCap 序列的浓度为

$$[\text{CapLCap}]_R = k^2/(k + 1)^3 \quad (4)$$

在完全酯交换情况下, 理论上的丙交酯和己内酯的平均链长($l_{\text{LL}}^R, l_{\text{Cap}}^R$)可由式(5), (6)计算得出

$$l_{\text{LL}}^R = (k + 1)/2k \quad (5)$$

$$l_{\text{Cap}}^R = k + 1 \quad (6)$$

另外, 利用¹³C NMR 谱中不同序列的积分值可计算出实际上丙交酯和己内酯的平均链长($l_{\text{LL}}^e, l_{\text{Cap}}^e$), 定义系数

$$R = l_{\text{LL}}^R/l_{\text{LL}}^e = l_{\text{Cap}}^R/l_{\text{Cap}}^e \quad (7)$$

R 是表征 P(Cap-co-LL)嵌段中 Cap 和 LL 的无规程度的参数, 当 Cap 和 LL 为嵌段共聚时 R 为 0, 当 Cap 和 LL 为完全无规共聚(交替共聚)时 R 为 1. 式(8)~(17)是 l_{LL}^e 和 l_{Cap}^e 的计算方法:

$$l_{\text{LL}}^e = \frac{1}{2}(\text{LLL} + \text{LLC} + \text{CLL} + \text{CLC})/\{\text{CLC} + \frac{1}{2}(\text{LLC} + \text{CLL})\} \quad (8)$$

$$\text{LLL} = \frac{1}{2}[\text{CapLLLL}] + \frac{1}{2}[\text{LLLLCap}] + \frac{1}{3}[\text{CapLLLCap}] + [\text{LLLLLL}] \quad (9)$$

$$\text{LLC} = \frac{1}{2}[\text{CapLLCap}] + \frac{1}{2}[\text{LLLLCap}] + \frac{1}{3}[\text{CapLLLCap}] \quad (10)$$

$$\text{CLL} = \frac{1}{2}[\text{CapLLCap}] + \frac{1}{2}[\text{CapLLLL}] + \frac{1}{3}[\text{CapLLLCap}] \quad (11)$$

$$\text{CLC} = [\text{CapCap}] \quad (12)$$

$$l_{\text{Cap}}^e = (\text{LCL} + \text{CCL} + \text{LCC} + \text{CCC})/\{\text{LCL} + \frac{1}{2}(\text{CCL} + \text{LCC})\} \quad (13)$$

$$\text{LCL} = [\text{LLCapLL}] + [\text{LLCapLCap}] + [\text{CapLCapLL}] + [\text{CapLCapLCap}] \quad (14)$$

$$\text{CCL} = [\text{CapCapLCap}] + [\text{CapCapLL}] \quad (15)$$

$$\text{LCC} = [\text{CapLCapCap}] + [\text{LLCapCap}] \quad (16)$$

$$\text{CCC} = [\text{CapCapCap}] \quad (17)$$

其中[序列]代表¹³C 谱中相应序列的积分面积. 利用上述方法计算得出 $l_{\text{LL}}^e, l_{\text{Cap}}^e, R$ 和 T_{II} , 结果如表 2 所示.

在我们的体系中使用的是 d,l-丙交酯, 在反应过程中, d-丙交酯和 l-丙交酯也能够发生酯交换, 图 4 是 MP55 中 LL 的次甲基的峰及序列结构归属^[8,10], 相邻两个立构中心是等规成对关系的, 标记为“i”(RR 或 SS), 若是间规成对关系的, 标记为“s”(RS 或 SR). 利用公式(18)对 d-丙交酯和 l-丙交酯的酯交换产率(T_{dl})进行计算, 结果也列在表

2 中.

$$T_{dl} = A_{iss} / A_{max} \quad (18)$$

其中 A_{iss} 代表实验中得到的当次甲基的总积分面积为 1 时 iss 序列的积分面积, A_{max} 代表根据 Bernoulli 统计理论计算出当次甲基的总积分面积为 1 时的 iss 序列的最大积分面积 $(0.125)^{[10]}$.

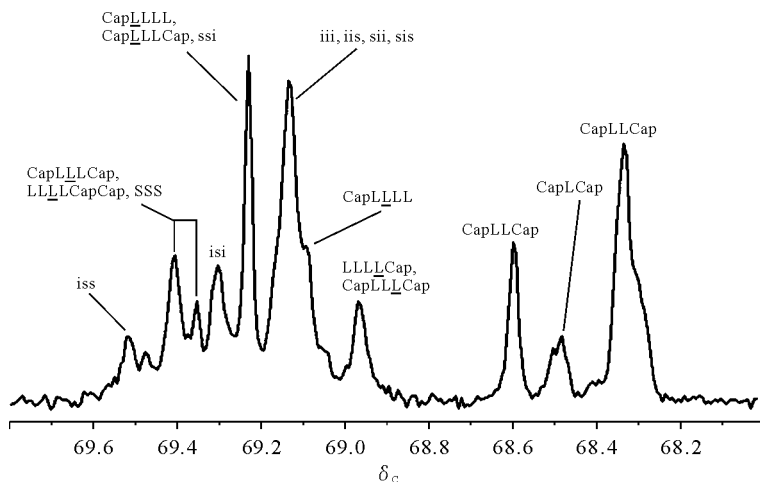


图 4 MP55 的 ^{13}C NMR 中丙交酯单元的次甲基峰及其归属

Fig. 4 ^{13}C NMR spectrum and assignments of lactidyl units (methine region) in MP55

表 2 共聚物 MeOPEG-P(Cap-co-LL) 中 P(Cap-co-LL) 嵌段的测定结果

Table 2 The results of P(Cap-co-LL) block in MeOPEG-P(Cap-co-LL) copolymers determined by NMR

samples	$F_{LL}(\%)$	l_{LL}	l_{Cap}	R	$T_{II}(\%)$	$T_{dl}(\%)$
MP37	23	1.23	4.13	0.65	35	47.6
MP55	43	1.70	2.23	0.74	52	49.2
MP73	64	3.42	1.91	0.67	35	44.6

F_{LL} : 利用 ^1H 谱测定的 P(Cap-co-LL) 嵌段中丙交酯的摩尔百分含量; l_{LL} , l_{Cap} : 实验上得出的丙交酯和己内酯的平均链长; R : P(Cap-co-LL) 嵌段的无规度; T_{II} : 己内酯和 d,l-丙交酯的二级酯交换产率; T_{dl} : d-丙交酯和 l-丙交酯的酯交换产率.

由表 2 中的数据可得出以下结论: 在 P(Cap-co-LL) 嵌段中, (1) Cap 和 LL 的组成变化对 Cap、LL 之间的酯交换程度 (T_{II}) 和 P(Cap-co-LL) 的无规度有明显影响, 当 LL 和 Cap 的质量比接近 1:1 时, 酯交换程度最大, 无规度最高; (2) Cap 和 LL 的组成变化对 LL 本身的酯交换程度 (T_{dl}) 影响较小, 当 Cap 和 LL 的质量比接近 1:1 时, LL 本身的酯交换程度略高于另外两个比例; (3) 随着 LL 含量增加, LL 的平均链长增加, Cap 的平均链长减小.

通过以上分析及结果可以看出, AB 型两亲性嵌段共聚物 MeOPEG-P(Cap-co-LL) 的合成条件, 对亲油链段 P(Cap-co-LL) 中 Cap 和 LL 的组成分布有重要影响, 对其结构

进行分析和认识,找出与性能之间的关系,对于深入理解反应过程,通过控制反应来得到符合实际需求的共聚物,有着重要的指导意义。

参考文献:

- [1] Zha Liu-sheng(查刘生), Gao Hai-feng(高海峰), Yang Wu-li(杨武利), *et al.* Polymer nanoparticles for drug delivery system(聚合物纳米粒子用于给药载体)[J]. Polym Bull(高分子通报), 2002, (3): 24-32.
- [2] Kataoka K, Harada A, Nagasaki Y. Advanced block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance[J]. Adv Drug Deliver Rev, 2001, 47: 113-131.
- [3] Rosler A, Vandermeulen G W M, Klok H A. Advanced drug delivery devices via self-assembly of amphiphilic block copolymers[J]. Adv Drug Deliver Rev, 2001, 53: 95-108.
- [4] Zhang Y, Wang C, Yang W, *et al.* Tri-component diblock copolymers of poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone-co-lactide): synthesis, characterization and loading camptothecin[J]. Colloid Polym Sci, 2005, 283: 1 246-1 252.
- [5] Liu Song-bai(刘松柏), Chen Qun(陈群), Yang Guang(杨光), *et al.* ^{13}C high-resolution spectrum of poly(N-isopropylacrylamide) as assigned with the aid of Gaussian98 quantum chemical calculation(量子化学计算辅助聚(N-异丙基丙烯酰胺)溶液碳谱的归属)[J]. Chinese J Magn Reson(波谱学杂志), 2001, 18(2): 135-141.
- [6] Zhou Qin(邹琴), Zhao Xin(赵新), Sun Wan-fu(孙万赋). ^{60}Co γ Irradiation induced polymerization of acrylonitrile studied by NMR spectroscopy(丙烯腈 γ 辐射聚合的 NMR 研究)[J]. Chinese J Magn Reson(波谱学杂志), 2006, 23(2): 187-192.
- [7] Zhao Hui-peng(赵辉鹏), Zhang Yan(张琰), Zha Liu-sheng(查刘生), *et al.* The determination of molecular weight and composition of biodegradable amphiphilic diblock copolymer by NMR(用 NMR 分析可生物降解的两亲性嵌段共聚物的分子量和组成)[J]. J Instml Anal(分析测试学报), 2006, 25: 6-10.
- [8] Kasperczyk J, Bero M. Coordination polymerization of lactides, 2 microstructure determination of poly[(L, L-lactide)-co-(ϵ -caprolactone)] with ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. Makromol Chem, 1991, 192: 1 777-1 787.
- [9] Kasperczyk J, Bero M. Coordination polymerization of lactides, 4 The role of transesterification in the copolymerization of L, L-lactide and ϵ -caprolactone[J]. Makromol Chem, 1993, 194: 913-925.
- [10] Bero M, Kasperczyk J, Jedlinski Z J. Coordination polymerization of lactides, 1 structure determination of obtained polymers[J]. Makromol Chem, 1990, 191: 2 287-2 296.

Structural Characterization of Methoxy-Poly(ethylene glycol)-poly(ϵ -caprolactone-co-d,l-lactide) by NMR

ZHAO Hui-peng, ZHA Liu-sheng*

(Research Center for Analysis and Measurement, Donghua University, Shanghai 200051)

Abstract: In this paper, a AB type of amphiphilic diblock copolymer, composed of methoxy-poly(ethylene glycol) (MeOPEG) as the hydrophilic block and poly(ϵ -caprolactone-co-d,l-lactide) (P(Cap-co-LL)) as the hydrophobic block were synthesized by bulk ring-opening copolymerization using MeOPEG as initiator and LL and Cap as comonomers. The chemical structure of the diblock copolymer MeOPEG-P(Cap-co-LL) was studied by ^1H NMR, ^{13}C NMR and HMBC. It was found that random copolymerization of Cap and LL occurred in the formation of P(Cap-co-LL) blocks. The transesterification behavior between the Cap units and the LL units and that between the d-lactide unit and the l-lactide unit in P(Cap-co-LL) were investigated. The yield of the transesterification, the randomness of P(Cap-co-LL) blocks and the average length of caproyl segments and lactidyl segments were calculated using the Bernoulli statistics theory and ^{13}C NMR spectra. It was found that both the yield of the transesterification and the randomness of P(Cap-co-LL) block were the highest when the mass ratio of LL to Cap was close to 1 : 1. It was also shown that the synthesis condition and the feeding ratio of P(Cap-co-LL) segments have important influences on the transesterification extent, randomness of P(Cap-co-LL) blocks and the average length of caproyl segments and lactidyl segments.

Key words: NMR, chain structure, HMBC, amphiphilic diblock copolymer, transesterification

* Corresponding author: Zha Liu-sheng, Tel: 021-67792822, E-Mail: lszha@dhu.edu.cn.