

pH 响应性聚膦腈水凝胶的制备与表征

洪 挺, 刘志玲, 周圆圆, 蔡 晴, 金日光

(北京市新型高分子材料制备与加工重点实验室, 北京化工大学材料科学与工程学院, 北京 100029)

摘要 以 *N,N*-二甲基乙二胺为阳离子型取代基, 甲基丙烯酸羟乙酯或烯丙胺为共取代基, 制备了同时带有 pH 响应性侧基和不饱和双键侧基的聚膦腈. 该聚合物的结构和组成经 $^1\text{H NMR}$ 和 FTIR 确认后, 通过自由基引发交联得到聚膦腈凝胶. 凝胶在不同介质中的吸水率测试结果表明, 该阳离子型聚膦腈水凝胶的溶胀行为受聚合物侧基组成、介质 pH、离子强度和阴离子价态影响显著, 有望与葡萄糖氧化酶结合后实现对胰岛素的葡萄糖响应释放.

关键词 聚膦腈; 水凝胶; pH 响应性

中图分类号 O631; O657.3

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2010)02-0413-05

对于长效药物控释制剂, 通常希望能将血药浓度稳定地保持在治疗浓度和中毒浓度之间, 理想状态是要求药物能按零级动力学从制剂中线性释放. 但对于胰岛素的给药, 则更需要其能在适当的时间(如进食后)给予准确的剂量以保证正常的血糖浓度. 因此, 能够根据实际需要自动作出反应的智能型药物控释体系是目前高分子药物载体研究的热点^[1]. 胰岛素的葡萄糖响应释放, 可以通过将葡萄糖酶和胰岛素共包埋在 pH 响应性高分子水凝胶中实现, 具体原理是利用葡萄糖酶将葡萄糖氧化成葡萄糖酸, pH 的下降使凝胶吸水膨胀, 从而释放出所包埋的胰岛素^[2]. 依据这种设计思想, 采用聚阳离子, 主要是甲基丙烯酸(*N,N*-二乙基)氨基酯和甲基丙烯酸羟乙(丙)酯的共聚物, 可以制备水凝胶膜进行胰岛素的控制释放^[3~5]. 如果采用丙烯酸共聚物聚阴离子, 则通常将葡萄糖氧化酶固定在多孔水凝胶膜中, 制成仓贮式胰岛素释放体系, 该水凝胶在 pH = 7 时溶胀, 葡萄糖氧化酶将葡萄糖氧化成葡萄糖酸, pH 下降导致凝胶塌陷, 孔径变大, 从而促使胰岛素从孔中扩散释放^[6~8]. 但这些聚合物都是不可降解的, 以植入体内的方式进行胰岛素的释放, 需在药物释放完毕后二次手术取出.

聚膦腈是氮、磷原子以交替的单键和双键构成主链, 有机基团作为侧基的高分子, 改变侧基的种类和比例, 可使其具有良好的生物降解性和生物相容性, 作为一类药物控释材料具有明显的优越性, 已引起人们的兴趣^[9~12]. 虽然聚膦腈微球已用于胰岛素的控制释放^[13], 但尚未见用聚膦腈水凝胶实现胰岛素的葡萄糖响应释放的研究报道. Allcock 等^[14~16]曾合成了能在碱性条件下发生响应的侧链带有羧基基团的聚膦腈, 利用二价阳离子交联形成了水凝胶, 研究了对大分子药物的控制释放和电学响应性. 但在酸性条件下发生响应的聚膦腈水凝胶未见报道. 本文通过在聚膦腈的侧链上引入含有叔氨基基团及带有双键的两种有机基团, 利用自由基引发交联制备了一种 pH 响应性聚膦腈水凝胶. 该水凝胶能在酸性条件下溶胀, 可结合葡萄糖氧化酶用于对胰岛素的葡萄糖响应释放研究.

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

六氯环三磷腈, 宁波博源新材料技术有限公司, 使用前用干燥正庚烷重结晶后, 在 50 °C 下减压升华; *N,N*-二甲基乙二胺(DMAEA), 99%, 上海嘉辰化工有限公司, 以 CaH_2 为干燥剂, 回流干燥后蒸出; 甲基丙烯酸羟乙酯(HEMA)(98%, 天津市化学试剂研究所)和烯丙基胺(99%, 山东邹平矿业总公

收稿日期: 2009-04-21.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 50873012)资助.

联系人简介: 蔡 晴, 女, 博士, 副教授, 主要从事生物医用高分子研究. E-mail: caiqing@mail.buct.edu.cn

司)分别采用 KHCO_3 和 CaH_2 浸泡 3 d 后, 减压蒸出; 四氢呋喃(THF), 分析纯, 北京化工厂, 经金属钠回流干燥后蒸出; 吡啶, 分析纯, 广东汕头市西陇化工厂, 以 CaH_2 为干燥剂, 回流干燥后蒸出; 偶氮二异丁氰(AIBN), 分析纯, 北京试剂公司, 用无水乙醇重结晶. 其它试剂均为分析纯, 按常规方法干燥, 蒸馏.

德国 Bruker 公司 AV600 型核磁共振仪(NMR), 以 D_2O 为溶剂; Nicolet 公司 Nexus-670 型傅里叶红外光谱仪(FTIR).

1.2 聚二氯磷腈的合成

参照文献[17]方法, 将六氯环三磷腈真空封管后于 $260\text{ }^\circ\text{C}$ 熔融开环聚合 48 h 后取出, 依次经热石油醚洗涤, 苯溶解, G_2 砂芯漏斗过滤, 正庚烷沉淀, 获得聚二磷腈, 经真空干燥至恒重.

1.3 DMAEA 和烯丙胺共取代聚磷腈(Polymer A)的合成

将聚二氯磷腈(PNCl_2 , 0.014 mol)溶于 100 mL 干燥 THF 中, 置于冰水浴中, 于搅拌下向其中缓慢滴加溶有过量 DMAEA 和吡啶(摩尔比 1:1.2)的 THF 溶液(100 mL). 室温反应 5 d 后, 再加入溶有一定量烯丙胺和吡啶(摩尔比 1:1.2)的 THF 溶液(50 mL), 继续在室温反应 2 d. 过滤除去不溶物, 减压蒸除 THF 后, 粗产物用去离子水溶解, 并用 NaOH 稀溶液调整 pH 至 9 后, 置于透析袋(截留分子量 12000)中, 用去离子水透析纯化 3 d, 然后冷冻干燥得淡黄色固体产物, 产率约 60%.

1.4 DMAEA 和 HEMA 共取代聚磷腈(Polymer B)的合成

将 0.014 mol PNCl_2 溶于 100 mL 干燥 THF 中, 置于冰水浴中, 于搅拌下向其中缓慢滴加溶有一定量 HEMA 和吡啶(摩尔比 1:1.2)的 THF 溶液 50 mL. 室温反应 2 d 后, 再加入溶有过量 DMAEA 和吡啶(摩尔比 1:1.2)的 THF 溶液(100 mL), 继续在室温反应 5 d. 过滤除去不溶物, 减压蒸除 THF 后, 粗产物用去离子水溶解, 并用 NaOH 稀溶液调整 pH 值至 9 后, 置于透析袋(截留分子量 12000)中, 用去离子水透析纯化 3 d, 然后冷冻干燥得淡黄色固体产物, 产率约 45%.

1.5 水凝胶的制备

将一定量的 Polymer A 或 B 溶于氯仿, 按照侧基中双键的含量, 加入等量的 HEMA 单体和质量分数为 5% 的偶氮二异丁氰(AIBN), 于 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 反应 24 h, 然后用新鲜氯仿萃取 12 h 后, 干燥得干态凝胶.

1.6 水凝胶吸水率的测定

将一定量的干态凝胶置于不同的介质(去离子水、不同 pH 值水溶液、不同离子强度水溶液或含不同价态阴离子的水溶液)中, 室温浸泡 12 h 后取出, 用滤纸吸干表面游离水, 称重(W_1), 测定样品真空干燥至恒重时的重量(W_2), 则凝胶的吸水率 = $[(W_1 - W_2)/W_2] \times 100\%$.

2 结果与讨论

2.1 聚磷腈(Polymer A 和 B)的表征

在聚二氯磷腈的亲取代反应中, 虽然使用过量吡啶作为酸吸附剂来吸附生成的 HCl, 但仍无法避免 DMAEA 的叔氨基吸附 HCl, 因此在反应结束后需用 NaOH 调整溶液的 pH 值为 9 来消除叔氨基的质子化. Polymer A 的 $^1\text{H NMR}$ 和 FTIR 谱图见图 1. $^1\text{H NMR}$, δ : 2.22 [$-\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}-(\text{CH}_3)_2$], 2.41

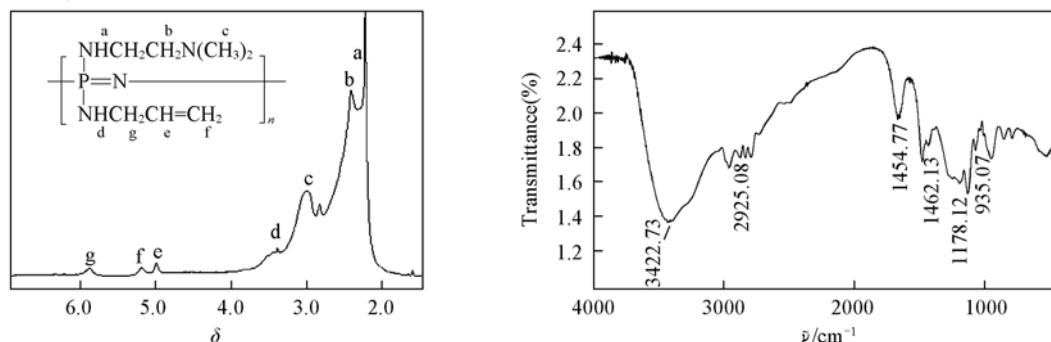


Fig. 1 $^1\text{H NMR}$ (A) and FTIR(B) spectra of polymer A

[—NCH₂CH₂N—(CH₃)₂], 3.00 [—NCH₂CH₂N—(CH₃)₂], 3.38 (—NHCH₂CH=CH₂), 4.99 和 5.18 (—NHCH₂CH=CH₂) 及 5.88 (—NHCH₂CH=CH₂). 在 FTIR 谱图中: 1178 cm⁻¹ 处为 —P=N— 的吸收峰, 代表磷脒主链; 1654 和 935 cm⁻¹ 处为 —C=C— 的吸收峰, 3422 cm⁻¹ 处为 —NH— 的特征吸收峰, 2925 及 1462 cm⁻¹ 处的峰则说明了甲基和亚甲基的存在. 上述结果证明, DMAEA 和烯丙基胺都已经成功接枝到聚磷脒主链上.

根据 ¹H NMR 中各峰的面积积分比, 可以计算出两种侧基的实际含量, 具体结果列于表 1. Polymer B 的 ¹H NMR 和 FTIR 见图 2. ¹H NMR, δ: 2.22 [—NCH₂CH₂N—(CH₃)₂], 2.34 [—NCH₂CH₂N—(CH₃)₂], 2.99 [—NCH₂CH₂N—(CH₃)₂], 1.90 [—OCH₂CH₂OC(O)C(CH₃)=CH₂], 3.70 [—OCH₂CH₂OC(O)C(CH₃)=CH₂], 3.93 [—OCH₂CH₂OC(O)C(CH₃)=CH₂], 6.10 和 5.56 [—OCH₂CH₂OC(O)C(CH₃)=CH₂]. FTIR 谱图中 1232 cm⁻¹ 处为 —P=N— 的吸收峰, 代表磷脒主链; 1051 cm⁻¹ 处为 P—O—C 的吸收峰; 1654 和 939 cm⁻¹ 处为 —C=C— 的吸收峰; 1715 cm⁻¹ 处为 —COO— 的吸收峰, 是 HEMA 的特征吸收; 3423 cm⁻¹ 处为 —NH— 的特征吸收峰. 证明 DMAEA 和 HEMA 都已经成功接枝到聚磷脒主链上. 但从峰 g, h 和峰 e, d 的面积比可以看出, 虽然 HMEA 的实际取代度比较高, 但双键比例却较低. 这可能是在聚二氯磷脒的亲取代反应中, 或是在用 NaOH 溶液处理去除叔氨基吸附的质子时, 引起了 HEMA 酯键的断裂, 造成双键含量的减少. 因此, 根据 ¹H NMR 中各个峰的面积积分比例, 可以计算出两种侧基和双键的实际含量, 结果列于表 1.

Table 1 Polyorganophosphazenes synthesized and used in this study

Polymer	Molar fraction of DMAEA in side groups [*] (%)	Co-substituted group	Content of C=C bond(%)	[η](dL·g ⁻¹)(H ₂ O, 30 °C)
A1	95.4	Allylamine	4.6	1.43
A2	92	Allylamine	8	2.9
B1	83	HEMA	1.4	0.53
B2	64	HEMA	3.5	0.13

* Determined and calculated from ¹H NMR data.

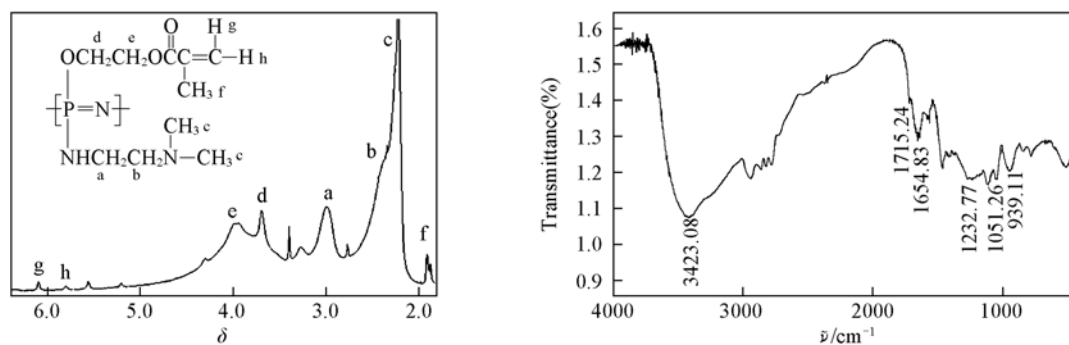


Fig. 2 ¹H NMR (A) and FTIR (B) spectra of polymer B

2.2 聚磷脒水凝胶的制备

我们曾经尝试过多种方法制备 Polymer A 和 B 的水凝胶. 考虑到 HEMA 具有光聚合性, 首先采用紫外光照射进行交联, 未获成功, 可能是双键比例不够高所致. 将 Polymer A 和 B 分别配成水溶液, 以过硫酸钾或过硫酸钾-次磷酸钠氧化还原体系为引发剂进行交联, 仍未获成功, 除了双键比例低的影响外, 可能双键均聚活性也不够高. 因此, 我们选择加入 HEMA 作为共聚单体, AIBN 为引发剂成功制备了 Polymer A 和 B 的凝胶(图 3). 但由于 HEMA 单体的聚合活性明显高于聚磷脒侧链上的双键, 所加入的 HEMA 单体并不能完全与聚合物发生交联反应, 也会有部分 HEMA 发生自聚, 因此在交联反应结束后, 用新鲜溶剂萃取得到的凝胶, 以除

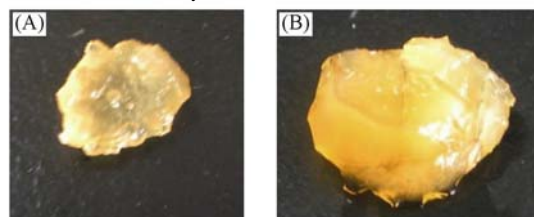


Fig. 3 Digital photos of polyorganophosphazene gel made from polymer A2 (A) and polymer B2 (B) using HEMA as comonomer and AIBN as initiator

去未参与交联反应的 HEMA 单体和聚磷腈分子及可能生成的 HEMA 均聚物, 是必不可少的纯化步骤. 从萃取液中回收物质的红外谱图(文中没有给出)发现, 聚磷腈聚合物基本没有溶出, 而 HEMA 的信号峰十分明显, 说明确有 HEMA 单体的残留或均聚物的生成.

2.3 水凝胶在去离子水中的溶胀平衡

图 4 为不同浸泡时间下 Polymer A2 和 B2 凝胶的水溶胀度. 可以看到, 两者在初期的溶胀速度都很快, 但因为 Polymer B2 凝胶的交联程度低于 Polymer A2, 而且 Polymer A2 中有许多因 HEMA 酯键水解而产生的羟乙基, 使其亲水性能高于以烯丙胺为共取代基的 Polymer B2, 因此, Polymer A2 水凝胶达到溶胀平衡的时间(~ 3 h)短于 Polymer B2 水凝胶(>6 h), 但前者的平衡吸水率(580%)只略高于后者的(540%).

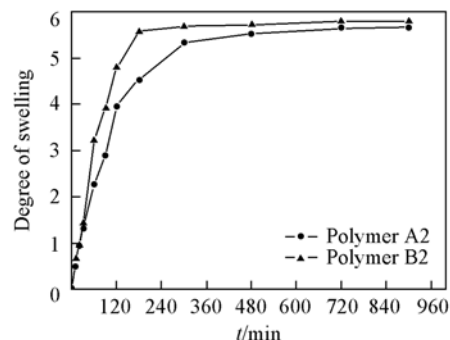


Fig. 4 Influence of time on the swelling equilibrium of polyorganophosphazene hydrogel

2.4 水凝胶在不同 pH 值介质中的溶胀平衡

图 5 为不同组成的聚磷腈凝胶在不同 pH 值介质中的平衡吸水率比较. 由图 5 可以看到, 所有的凝胶都呈现出 pH 响应性, 即随着介质 pH 值的降低, 凝胶的吸水率呈上升趋势. 这是因为叔胺基在酸性介质中被质子化, 基团之间的静电排斥使得高分子链段更加舒展, 有利于水分子的渗透. 对于 Polymer A 凝胶, 叔胺基在侧基中的比例越高, 其吸水率也越高; 而 Polymer B 的凝胶正相反, HEMA 比例的升高使凝胶更加亲水. 因为烯丙胺侧基相对疏水, 而 HEMA 侧基由于部分酯键水解生成了更加亲水的羟乙基. 但 Polymer B 凝胶对 pH 值的响应性要明显高于 Polymer A 凝胶. 可能是 Polymer B 中的双键密度低于 Polymer A, 因此 Polymer B 凝胶的交联程度相对较低, 更有利于分子链的运动和水分子的进入.

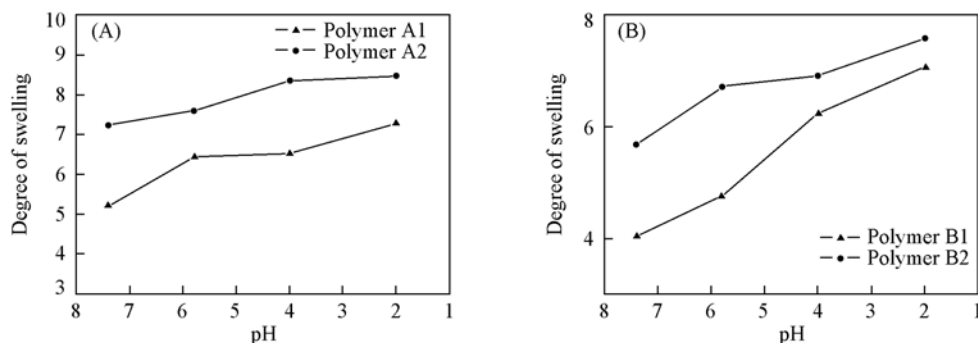


Fig. 5 Effect of pH on the equilibrium degree of swelling of the polymers A (A) and B (B)

2.5 离子强度和离子价态对水凝胶溶胀平衡的影响

图 6 给出了两种聚磷腈凝胶在不同离子强度介质中的平衡吸水率比较. 由图 6 可以看到, 随着溶

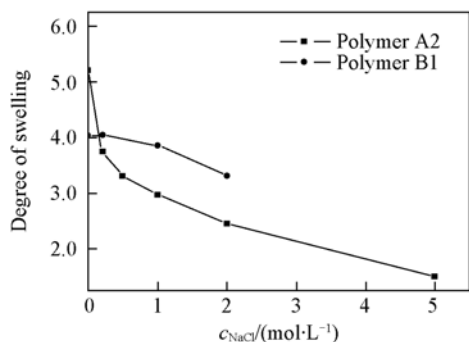


Fig. 6 Effect of ionic strength on the swelling equilibrium of polyorganophosphazene hydrogel

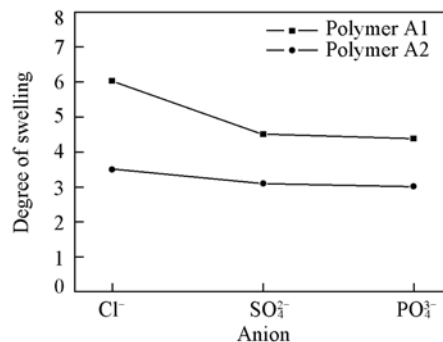


Fig. 7 Effect of anionic charge on the swelling equilibrium of polyorganophosphazene hydrogel

液中 NaCl 浓度的升高, 聚膦腈凝胶的吸水率显著下降, 其中以 Polymer A 凝胶的下降趋势更为明显. 显然, 溶液浓度的增加会导致水渗透压的改变, 抑制了水分子由外部环境向凝胶内部的渗透, 导致凝胶的溶胀程度下降, 但对介质离子强度改变的敏感度与聚膦腈的侧基组成相关.

图 7 显示了不同价态阴离子对阳离子型聚膦腈凝胶溶胀性能的影响. 考虑到离子强度对凝胶溶胀平衡的影响, 配制 NaCl, Na₂SO₄ 和 Na₃PO₄ 溶液的离子强度均为 1. 可以发现, 随着阴离子价态的升高, Polymer A 凝胶的溶胀程度降低, 而且叔胺基比例越大, 其受多价阴离子的影响越大. 这是由于多价阴离子可以和叔胺基形成离子键, 在一定程度上提高了凝胶的交联度, 从而降低了凝胶的溶胀性能.

综上所述, 本文所制备的带有不饱和键侧基的阳离子型聚膦腈可通过自由基引发交联得到聚膦腈水凝胶. 该水凝胶的溶胀行为具有 pH 响应性, 同时还受到聚合物组成、介质中离子强度和价态的影响. 该水凝胶与葡萄糖氧化酶结合后, 有望用于对胰岛素的葡萄糖响应控制释放.

参 考 文 献

- [1] Qiu Y. , Park K. . Adv. Drug Deliv. Rev. [J], 2001, **53**: 321—339
- [2] Miyata T. , Uragami T. , Nakamae K. . Adv. Drug Deliv. Rev. [J], 2002, **54**: 79—98
- [3] Traitel T. , Cohen Y. , Kost J. . Biomaterials [J], 2000, **21**: 1679—1687
- [4] Cartier S. , Horbett T. A. , Ratner B. D. . J. Membr. Sci. [J], 1995, **106**: 17—24
- [5] Albin G. W. , Horbett T. A. , Miller S. R. , *et al.* . J. Control. Release [J], 1987, **6**: 267—291
- [6] Zhang K. , Wu X. Y. . J. Control. Release [J], 2002, **80**: 169—178
- [7] Hassan G. M. , Doyle F. J. , Peppas N. A. . Macromolecules [J], 1997, **30**: 6166—6173
- [8] Parker R. S. , Doyle F. J. , Peppas N. A. . IEEE Trans. Biomed. Eng. [J], 1999, **46**: 148—157
- [9] Crommen J. , Vandorpe J. , Schacht E. . J. Control. Release [J], 1993, **24**: 167—180
- [10] Ibim S. M. , Ambrosio A. A. , Larrier D. , *et al.* . J. Control. Release [J], 1996, **40**: 31—39
- [11] Schacht E. , Vandorpe J. , Dejardin S. , *et al.* . Biotech. Bioeng. [J], 1996, **52**: 102—108
- [12] Lakshmi S. , Katti D. S. , Laurencin C. T. , *et al.* . Adv. Drug Deliv. Rev. [J], 2003, **55**: 467—482
- [13] Caliceti P. , Veronese F. M. , Lora S. . Inter. J. Pharm. [J], 2000, **211**: 57—65
- [14] Andrianov A. K. , Cohen S. , Visscher K. B. , *et al.* . J. Control. Release [J], 1993, **27**: 69—77
- [15] Alcock H. R. , Ambrosio A. M. A. . Biomaterials [J], 1996, **17**: 2295—2302
- [16] Fei S. T. , Phelps M. V. B. , Wang Y. , *et al.* . Soft Matter. [J], 2006, **2**: 397—401
- [17] ZHANG Teng(张腾), CAI Qing(蔡晴), JIN Ri-Guang(金日光). J. Polym. Sci. Polym. Chem. [J], 2005, **43**(11): 2417—2425

Preparation and Characterization of pH-Sensitive Polyorganophosphazene Hydrogel

HONG Ting, LIU Zhi-Ling, ZHOU Yuan-Yuan, CAI Qing*, JIN Ri-Guang
(Key Laboratory of Beijing City on Preparation and Processing & Novel Polymer Materials,
Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract Using *N,N*-dimethyl-ethylenediamine as cationic substitute and 2-hydroxyethyl methacrylate or allylamine as co-substitute, a kind of pH-sensitive polyorganophosphazenes bearing unsaturated side group was prepared. Their compositions and structures were confirmed by ¹H NMR and FTIR analysis. Polyphosphazene gels could be obtained by radical crosslinking the polymers. These gels exhibited different water absorption behavior significantly depending on chemical composition, environmental pH, ion strength and ionic charge. The results revealed the pH-sensitive polyorganophosphazene hydrogels could be good candidates for the study of glucose-mediated insulin release in combination with glucose oxidase.

Keywords Polyorganophosphazene; Hydrogel; pH-sensitive

(Ed. : W, Z)