

核壳结构葡萄糖敏感微凝胶的制备*

关 英 罗巧芳 张拥军**

(南开大学化学学院高分子化学研究所 功能高分子材料教育部重点实验室 天津 300071)

摘 要 用先合成聚 *N*-异丙基丙烯酰胺 (PNIPAM) 微凝胶核再包一层 *N*-异丙基丙烯酰胺/丙烯酸共聚物 (P(NIPAM-co-AA)) 壳的办法合成了一系列核壳结构微凝胶. 微凝胶壳层厚度随投入的壳储备溶液的增加而增加. 研究了 pH = 3.5 时核壳微凝胶的温敏体积相转变行为. 由于 PNIPAM 核和 P(NIPAM-co-AA) 壳的相转变温度很接近, 因此只观察到一个相转变. 在 EDC 催化下使 3-氨基苯硼酸与壳层中的羧基反应, 将苯硼酸基 (PBA) 引入微凝胶, 得到核为 PNIPAM、壳为 P(NIPAM-co-AMPBA) 的核壳结构微凝胶. 改性后的微凝胶表现出 3 个体积相转变过程. 其中第一个对应于 P(NIPAM-co-AMPBA) 壳层的体积相转变. 第二和第三个则是 PNIPAM 核的相转变过程. 由于在沉淀聚合时交联剂 BIS 反应性更大, PNIPAM 核结构不均一, 形成 BIS 含量高的“核”和 BIS 含量低的“壳”. BIS 含量低的“壳”被一层疏水的 P(NIPAM-co-AMPBA) 壳包裹, 拉大了其与“核”的相转变温度的差别, 因此随着温度升高表现出两个相转变过程. PBA 改性的微凝胶同样表现出葡萄糖敏感性, 但在葡萄糖存在下溶胀度的改变较小.

关键词 聚 *N*-异丙基丙烯酰胺, 微凝胶, 核-壳结构, 葡萄糖敏感

可自我调节的胰岛素可控释放体系 (self-regulated insulin delivery) 能根据人体血糖水平自动调节胰岛素的释放量, 是最理想的胰岛素释放体系^[1]. 葡萄糖敏感材料在设计制备此类体系中扮演关键的角色. Kataoka 等^[2]曾设计制备了以苯硼酸为葡萄糖敏感基元的葡萄糖敏感水凝胶. 与大块凝胶相比, 属于胶体粒子范畴的微凝胶具有响应速度快, 可注射给药等优点, 是很有潜力的新型药物释放载体^[3]. 我们最近制备了一种含苯硼酸基团的聚 *N*-异丙基丙烯酰胺微凝胶 (P(NIPAM-co-AMPBA))^[4]. 研究表明这种微凝胶能对葡萄糖做出响应, 其流体力学半径随体系中葡萄糖浓度的升高而增加, 因此有望被用于可自我调控的胰岛素控释体系.

根据 Lyon 等的研究, 聚 *N*-异丙基丙烯酰胺 (PNIPAM) 微凝胶负载胰岛素时胰岛素主要是物理包埋在凝胶网络的间隙中^[5]. P(NIPAM-co-AMPBA) 微凝胶常温下处于收缩状态, 因此作为胰岛素释放载体可能存在负载量低的缺点^[4]. 本文设计制备了一系列具有核壳结构的微凝胶, 其中核为 PNIPAM, 壳为葡萄糖敏感的 P(NIPAM-co-AMPBA). PNIPAM 核在常温下处于

溶胀状态, 可作为胰岛素负载部位, 而葡萄糖敏感的 P(NIPAM-co-AMPBA) 壳层则可用于控制胰岛素的释放速度. 新的核壳结构微凝胶可望提高胰岛素的负载量.

1 实验部分

1.1 试剂

N-异丙基丙烯酰胺 (NIPAM)、*N,N'*-亚甲基双丙烯酰胺 (BIS)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳酰二亚胺盐酸盐 (EDC)、3-氨基苯硼酸半硫酸盐 (APBA) 以及十二烷基硫酸钠 (SDS) 购自 ACROS. 过硫酸铵 (APS)、丙烯酸 (AA) 和葡萄糖购自天津化学试剂批发公司. NIPAM 在正己烷/丙酮中重结晶. AA 经减压蒸馏.

1.2 核壳微凝胶的合成

2.800 g NIPAM、0.060 g BIS 以及 0.116 g SDS 溶于 200 mL 水中, 通氮除氧并加热到 70℃. 1 h 后加入 5.0 mL 0.06 mol/L APS 引发聚合. 反应在 70℃ 进行 5 h. 水中透析 1 周. 产物即为 PNIPAM 微凝胶核溶液.

将 1.400 g NIPAM、0.030 g BIS 和 0.113 g AA 溶于 50.0 mL 水, 配成壳储备溶液, 0.570 g

* 2009-02-24 收稿, 2009-04-13 修稿; 科技部国际科技合作项目 (基金号 2007DFA50760) 和教育部博士点基金新教师项目 (基金号 20070055079) 资助项目; ** 通讯联系人, E-mail: yongjunzhang@nankai.edu.cn

SDS 溶于 50.0 mL 水配成 SDS 储备溶液. 按表 1 中的配方将不同量的微凝胶核溶液、SDS 和水混合, 通氮除氧并加热到 70℃, 然后加入预热的壳储备溶液, 继续通氮 30 min 后加入 5.0 mL 0.06 mol/L APS 引发聚合. 反应持续 5 h. 水中透析 1 周纯化. 产物即为核为 PNIPAM、壳为 NIPAM-AA 共聚物 (P(NIPAM-co-AA)) 的核壳结构微凝胶 CSM1 ~ 3.

Table 1 Recipe for the synthesis of core-shell microgels with different shell thickness

Sample	Core solution (mL)	Water (mL)	SDS solution (mL)	Shell solution (mL)	0.06 mol/L APS (mL)
CSM1	25	58.75	10	6.25	5
CSM2	25	52.5	10	12.5	5
CSM3	25	40	10	25	5

冰水浴中, 将 0.233 g APBA 和 0.239 g EDC 溶于 45 mL 水中, 再滴加 5 mL PNIPAM (core)/P(NIPAM-co-AA) (shell) 核壳微凝胶. 反应在冰水浴中持续 4 h. 透析纯化 2 天. 和 CSM1 ~ 3 对应的苯硼酸改性的核壳微凝胶分别标记为 CSBM1 ~ 3.

另用二阶段投料的方法合成了核壳微凝胶. 具体步骤是将 0.700 g NIPAM、0.015 g BIS 及 0.057 g SDS 溶于 100 mL 水中, 通氮除氧并加热到 70℃. 1 h 后加入 1.0 mL 0.060 mol/L APS 引发聚合. 另配 100 mL 含 0.700 g NIPAM、0.050 g AA、0.015 g BIS、0.057 g SDS 及 0.04 g APS 的储备溶液, 通氮除氧备用. 反应在 70℃ 下进行 4 h 后将储备溶液分批加入, 每次加 10 mL, 1 h 加完. 加完后在 70℃ 继续进行 4 h. 纯化和改性操作同上. 所得改性核壳微凝胶标记为 CSBM4.

1.3 表征

在 Brookhaven 90Plus 激光粒度仪上用动态光散射法测定微凝胶的流体力学半径 R_h . 散射角为 90°.

2 结果与讨论

根据 Lyon 等^[6]提出的方法, 我们先制备了 PNIPAM 核, 然后在 PNIPAM 核上加一层 P(NIPAM-co-AA) 壳, 得到核壳结构微凝胶. 改变制备过程中加入的壳储备溶液的量, 就可得到不同壳层厚度的核壳结构微凝胶. 用这种方法制备了具有相同的 PNIPAM 核和不同厚度的

P(NIPAM-co-AA) 壳的一系列核壳结构微凝胶 CSM1 ~ 3.

图 1 比较了 pH = 3.5 时核壳结构微凝胶 CSM1-3 以及其母核微凝胶的体积相转变行为. 可以看到, 不论是在完全溶胀状态还是在完全收缩状态, 一般的规律是微凝胶的流体力学半径随制备过程中加入的壳储备溶液量的增加而增大. 在完全溶胀状态下这一规律更明显些, 而在完全收缩状态微凝胶粒径的差距则比较小. CSM1 与母核的粒径差别很小, 在完全收缩状态测得的数据甚至比母核还小, 表明其壳层厚度很薄. 从图 1 还可看到, 母核的相转变温度约为 31℃, 与之相比, 核壳颗粒的相转变温度略有降低. 这是因为当 pH 低于丙烯酸基的 pK_a (约为 4.25) 时, 微凝胶中的羧酸基团处于未解离状态, 羧酸基团与酰胺基团间存在的氢键使 P(NIPAM-co-AA) 壳层的相转变温度略微降低. 因为核与壳层的相转变温度非常接近, 从图 1 我们只能观察到一个相转变过程.

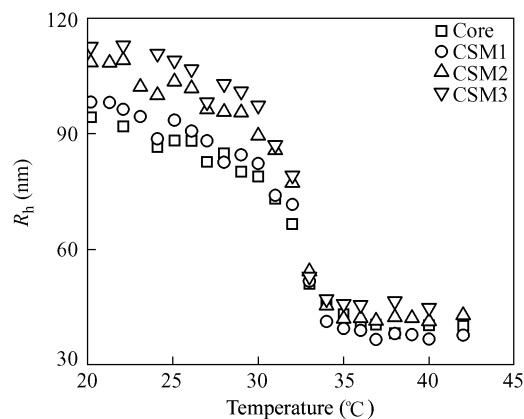


Fig. 1 Phase transition of the PNIPAM core microgel and PNIPAM (core)/P(NIPAM-co-AA) (shell) microgel at pH = 3.5

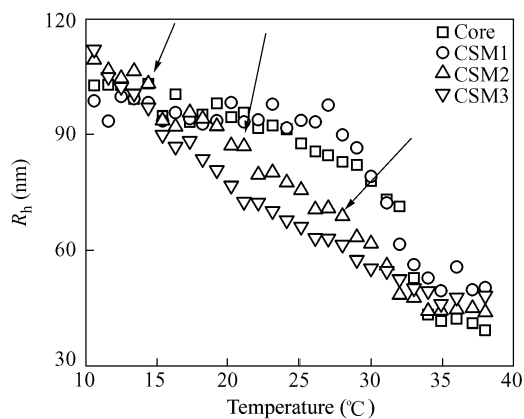
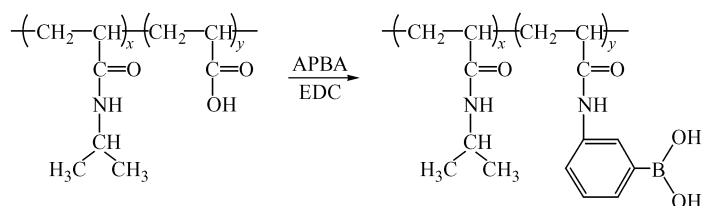


Fig. 2 Phase transition of the core microgel and PNIPAM (core)/P(NIPAM-co-AMPBA) (shell) microgel at pH = 3.5

利用壳层中的羧酸基可以将苯硼酸基团引入



我们在前文中已经证明,上述反应中羧酸根的转化率几乎是 100%^[4]. 引入苯硼酸基团后核壳颗粒的核仍是 PNIPAM, 而壳层则实际上是 NIPAM 和 3-丙烯酰胺基苯硼酸的共聚物 P(NIPAM-co-AMPBA). 由于苯硼酸基疏水性很强, 这一基团的引入将导致壳层相转变温度的大大降低. 前文中报道同样组分的微凝胶相转变温度约为 17℃.

苯硼酸改性后的核壳颗粒 CSBM1 ~ 3 的体积相转变行为如图 2 所示. 可以看到壳层越厚核壳颗粒的相转变行为就越偏离母核的行为. 由于壳层和核各自的相转变温度相差较大(壳层约 17℃, 核为 31℃), 预期改性后的核壳颗粒将表现出分别对应于核和壳层各自相转变的两个相转变过程. 然而结果证明并非如此. 如图 2 所示, 3 种核壳颗粒似乎都没有出现明显的两个相转变过程. 粗略地看, 对壳层厚度较大的 CSBM2 和 CSBM3, 粒子的流体力学半径随着温度的升高持续减小, 直到处于完全收缩状态. 对于壳层厚度很小的 CSBM1, 其相转变行为则与母核非常相近.

仔细观察则发现, 核壳颗粒的相转变实际上是由 3 个不明显的相转变过程组成. 例如对于 CSBM2 我们可以分辨出分别在约 15℃、21℃ 和 28℃ 存在着 3 个小的相转变, 如图 2 中箭头所示. 这 3 个小的相转变相对都很宽, 因此整个相转变粗看起来似乎是一直下降的直线.

Richtering 等^[7]用 DSC 研究温敏核壳微凝胶相转变行为的时候也曾发现个别核壳微凝胶出现了 3 个相转变过程, 然而作者并未对这一现象作出可信的解释. 我们认为在升温过程中出现的第一个相转变过程可归结为 P(NIPAM-co-AMPBA) 壳层的相转变, 而第二和第三个转变过程则可归结为 PNIPAM 核的相转变. PNIPAM 核的两个相转变过程反映了其结构的不均匀性.

本文采用的交联剂是常用的 BIS. 已有很多作者证明^[8], 由于 BIS 反应活性高于 NIPAM,

到核壳颗粒的壳层中, 反应如下式所示.

PNIPAM 微凝胶中 BIS 含量由内向外逐渐降低. 这种不均匀结构可以近似地用核壳结构描述, 即含 BIS 少的“壳”和 BIS 含量高的“核”. “壳”的相转变温度应低于“核”, 但是这种差别很小, 因此普通的 PNIPAM 微凝胶只出现一个相转变. 我们曾发现葡萄糖能扩大 P(NIPAM-co-AMPBA) 微凝胶中“核”和“壳”的区别并使其出现两个相转变^[4]. 这里“核”“壳”的差别则被 P(NIPAM-co-AMPBA) 壳层放大. P(NIPAM-co-AMPBA) 壳层对与其直接相连的“壳”存在两个方面的作用. 其一由于 P(NIPAM-co-AMPBA) 壳层的塌陷而产生的机械挤压作用, 其二则是疏水性的 P(NIPAM-co-AMPBA) 壳的诱导作用. 这两方面的作用都使“壳”层中的 PNIPAM 链更易于聚集, 导致其相转变温度降低, 并拉大了同“核”的差距, 因此“核”和“壳”分别表现出一个相转变过程. PNIPAM (核)/P(NIPAM-co-AMPBA) (壳) 核壳微凝胶的结构如图 3 所示.

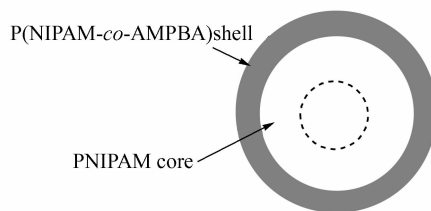
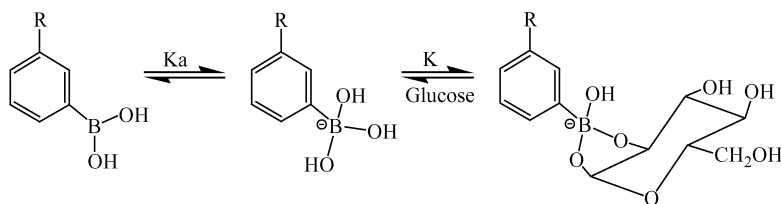


Fig. 3 Schematic illustration of the structure of PNIPAM (core)/P(NIPAM-co-AMPBA) (shell) microgel particles. The PNIPAM core can be further divided as a BIS-rich “core” and a BIS-poor “shell”.

从图 2 还可以看到, 虽然在完全溶胀状态和完全收缩状态核壳微凝胶 CSBM2 和 CSBM3 都比其母核大, 但在中间的温度区间却比母核小. 在这一温度区间, P(NIPAM-co-AMPBA) 壳处于收缩状态, 虽然还没有达到核的相转变温度, 但是由于壳的限制, 核并不能完全溶胀. Lyon 等研究核壳微凝胶中壳对于核的溶胀行为的影响时也曾发现了类似的现象^[9]. 此外, 和自由的母核相比, 在核壳

颗粒中核的相转变温度下降很多,这是由于壳层的收缩使核中的 PNIPAM 链更容易聚集,是壳对于核的溶胀行为影响的又一体现.

苯硼酸基团作为葡萄糖敏感基团和葡萄糖的相互作用如下式所示:



可以看到由于与葡萄糖的作用,一部分疏水的苯硼酸基团将转化为亲水的带负电荷的苯硼酸酯,这将导致含苯硼酸基团的水凝胶或微凝胶溶胀度的提高^[2]. 核壳微凝胶 CSBM1 ~ 3 在不同浓度葡萄糖存在时的流体力学半径如图 4 所示. 壳层最薄的 CSBM1 的大小并未发生明显变化,而 CSBM2 和 CSBM3 则有一定程度的溶胀. 显然核壳颗粒含苯硼酸壳层越厚,葡萄糖导致的溶胀就越明显.

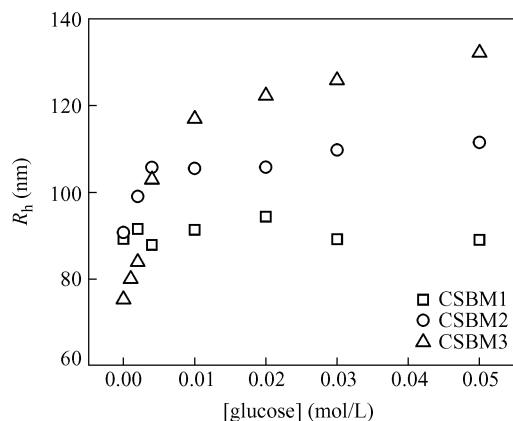


Fig. 4 Hydrodynamic radii of PNIPAM (core)/P(NIPAM-co-AMPBA) (shell) microgel CSBM1 ~ 3 in the presence of glucose at pH = 9.0 and 25°C

按照类似的方法我们合成了另一个核壳颗粒 CSBM4 并研究了葡萄糖对它的体积相转变行为的影响(图 5). 在没有葡萄糖存在时 CSBM4 的相转变行为类似 CSBM2 和 CSBM3,也可分辨出 3 个小的相转变过程. 在 0.004 mol/L 葡萄糖存在时,仍可分辨出 3 个小的相转变过程,但相转变温度都有所提高,显然是由于壳层溶胀度增加的结果. 进一步增加体系中葡萄糖的浓度,壳层物质自

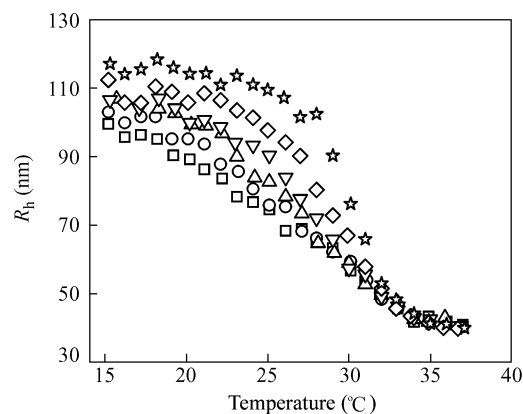


Fig. 5 Phase transition of PNIPAM (core)/P(NIPAM-co-AMPBA) (shell) microgel CSBM4 in the presence of glucose at pH = 9.0

[glucose] = 0 mol/L (□), 0.002 mol/L (○), 0.004 mol/L (△), 0.01 mol/L (▽), 0.03 mol/L (◇) and 0.05 mol/L (☆), respectively pH = 9.0

身的相转变温度与核的相转变温度的差距进一步缩小,核壳颗粒就只表现出一个大的相转变过程.

3 结论

制备了一系列葡萄糖敏感的核为 PNIPAM、壳为 P(NIPAM-co-AMPBA)的核壳结构微凝胶,并对其体积相转变行为进行了研究. 由于核和壳层之间的相互作用,这些核壳结构微凝胶表现出 3 个体积相转变过程. 其中第一个对应于 P(NIPAM-co-AMPBA)壳层的体积相转变. 第二和第三个则是 PNIPAM 核的相转变过程,分别对应于 PNIPAM 核中 BIS 含量高的“核”和 BIS 含量低的“壳”. 这些壳层含 PBA 基团的核壳微凝胶同样表现出葡萄糖敏感性,但在葡萄糖存在下溶胀度的改变较小.

REFERENCES

- 1 Ravaine V, Ancla C, Catargi B. *J Controlled Release*, 2008, 132:2 ~ 11
- 2 Kataoka K, Miyazaki H, Bunya M, Okano T, Sakurai Y. *J Am Chem Soc*, 1998, 120:12694 ~ 12695
- 3 Oh J K, Drumright R, Siegwart D J, Matyjaszewski K. *Prog Polym Sci*, 2008, 33:448 ~ 477
- 4 Zhang Y J, Guan Y, Zhou S Q. *Biomacromolecules*, 2006, 7:3196 ~ 3201
- 5 Nolan C M, Gelbaum L T, Lyon L A. *Biomacromolecules*, 2006, 7:2918 ~ 2922
- 6 Jones C D, Lyon L A. *Macromolecules*, 2000, 33:8301 ~ 8306
- 7 Berndt I, Popescu C, Wortmann F J, Richtering W. *Angew Chem Int Ed*, 2006, 45:1081 ~ 1085
- 8 Varga I, Gilanyi T, Meszaros R, Filipcsei G, Zrinyi M. *J Phys Chem B*, 2001, 105:9071 ~ 9076
- 9 Jones C D, Lyon L A. *Macromolecules*, 2003, 36:1988 ~ 1993

SYNTHESIS OF GLUCOSE-SENSITIVE CORE-SHELL MICROGELS

GUAN Ying, LUO Qiaofang, ZHANG Yongjun

(Key Laboratory of Functional Polymer Materials, Ministry of Education, Institute of Polymer Chemistry,
College of Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071)

Abstract A series of core-shell microgels with a poly-(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAM) core and a poly-(*N*-isopropylacrylamide-*co*-acrylic acid) (P(NIPAM-*co*-AA)) shell were synthesized. The shell thickness increases with the increasing feeding of the shell solution. The thermosensitive phase transition behavior of these microgels was studied at pH = 3.5. Only one phase transition was observed because the volume phase transition temperature (VPTT) of the core was close to that of the shell. Phenylboronic acid (PBA) groups were introduced by EDC coupling of 3-aminophenylboronic acid with carboxylic acid in the shell of the microgel. Three phase transitions were observed in the PBA-modified core-shell microgels. The first one was attributed to the transition of the shell, while the second and the third transitions reflected a heterogeneous structure of the core which originated from the fast incorporation of the BIS crosslinker during precipitation polymerization. The VPTT difference between the BIS-rich “core” and the BIS-poor “shell” was enlarged by the coverage of the hydrophobic P(NIPAM-*co*-AMPBA) shell. The glucose-sensitivity of the PBA-modified core-shell microgels was revealed by their increasing hydrodynamic radii in the presence of glucose, however, the increase in particle size was limited because of the non-glucose-sensitive core. The phase transition behavior of the PBA-modified core-shell microgels in the presence of glucose was also studied. With increasing glucose concentration, the VPTT of the shell increased and approached to that of the core. As a result, the core-shell microgels presented only one transition at high glucose concentrations.

Keywords Poly(*N*-isopropylacrylamide), Microgels, Core-shell, Glucose-sensitive