

· 研究简报 ·

## 静电喷雾法制备聚膦腈微球<sup>\*</sup>

周圆圆 薛立伟 毛吉富 蔡 晴<sup>\*\*</sup> 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 北京 100029)

**摘 要** 用静电喷雾法制备了粒径窄分布的甘氨酸乙酯-苯丙氨酸乙酯取代聚膦腈的微球. 主要探讨了溶剂、溶液浓度、流速、喷射电压及接收距离对微球形貌和粒径的影响. 微球的表面形貌与溶剂性质和聚合物溶液浓度密切相关, 微球粒径受聚合物溶液流速的影响比较显著, 随流速增大粒径呈单调上升趋势. 结果显示对于  $[\eta] = 0.1 \text{ dL/g}$  的(甘氨酸乙酯)<sub>0.3</sub>(苯丙氨酸乙酯)<sub>0.7</sub>取代聚膦腈, 以  $0.25 \text{ g/mL}$  的四氢呋喃溶液进行静电喷雾, 可获得粒径分布窄( $1 \sim 2 \mu\text{m}$ )且近球形的微粒, 其工艺条件可进一步用于载药聚膦腈微球的制备和控制释放研究.

**关键词** 甘氨酸乙酯-苯丙氨酸乙酯取代聚膦腈, 静电喷雾, 微球

微球由于其长效缓释性、多途径给药方式以及靶向性, 可提高药效、减少药物的副作用和给病人带来的不便, 一直是缓控释剂型研究的热点. 生物可降解高分子微球的制备方法主要有溶剂挥发法、乳液法和喷雾干燥法等<sup>[1,2]</sup>. 但这些微球成型方法多少都存在一定程度的不足, 尤其是用于制备生物活性分子(如蛋白质药物)的载药微球时, 在包埋和释放过程中会引起蛋白质的变性和失活. 如在乳液法中, 蛋白质要经历与有机溶剂接触、高剪切速率和油水界面. 喷雾干燥法通常要经历热应力, 不适用于对温度敏感的物质, 且粒径不易控制. 近年来, 一种应用静电喷雾装置的新型微纳米球制备技术吸引了较多的关注<sup>[3]</sup>, 它是利用高压静电场使导电液体发生高速喷射, 从而雾化的一种方法. 已有研究表明, 静电喷射技术是一种制备粒径可控(从几十纳米到几十微米)、表面形态可控(光滑或多孔)高分子微粒的技术, 是目前所知的唯一可能得到具有单分散性微粒的成型方法<sup>[4]</sup>. 比起传统的微囊化过程, 静电喷雾法最突出的两个优势是第二乳液的省略和高温操作的避免, 从而使蛋白质类药物能更好的保持活性. 这种技术已成功用于制备聚己内酯和聚乳酸-羟基乙酸共聚物的载药微纳米球<sup>[5-10]</sup>.

聚膦腈是一类以交替的磷氮原子通过单双键交替连接的无机主链高分子, 通过侧链衍生化引

入性能各异的有机基团, 能得到理化性质变化范围很广的高分子材料<sup>[11]</sup>. 具有生物可降解性的氨基酸酯取代聚膦腈已被广泛用于药物控制释放研究, 利用侧链氨基酸酯种类和比例的变化, 可以调控聚合物的降解速度, 且其水解产物为磷酸盐、氨、氨基酸和相应的醇, 其作为药物载体应用的形式目前有基体型和微包囊型<sup>[12,13]</sup>. 本文采用静电喷雾法制备甘氨酸乙酯-苯丙氨酸乙酯取代聚膦腈的微球, 通过对影响微球形态和粒径等因素进行研究, 建立了其工艺参数.

### 1 原料及试剂

苯丙氨酸乙酯盐酸盐和甘氨酸乙酯盐酸盐(分析纯, 江苏宝盛生物化工有限公司),  $40^\circ\text{C}$  真空干燥; 三乙胺(分析纯, 天津市大茂化学试剂厂), NaOH 回流干燥; 石油醚( $60 \sim 90^\circ\text{C}$ , 分析纯, 北京化工厂)  $\text{CaH}_2$  干燥; 四氢呋喃(分析纯, 北京化工厂), 金属钠回流; 1,4-二氧六环(分析纯, 北京益利精细化学品有限公司).

### 2 测试及表征

$^1\text{H-NMR}$ , 德国 Bruker AV-600 型核磁共振仪; FTIR, 德国 Bruker 公司 TENSOR-37 型红外光谱仪, KBr 压片; SEM, 日本 Hitachi S-4700 型; GPC, 美国 Waters 公司凝胶渗透色谱仪, 流动相为四氢呋喃, 聚苯乙烯标样. 特性黏数由乌氏黏度计测定,  $30^\circ\text{C}$ , 以四氢呋喃为溶剂; 微球粒径用

<sup>\*</sup> 2009-06-05 收稿, 2009-07-24 修稿; 国家自然科学基金(基金号 50873012)资助项目; <sup>\*\*</sup> 通讯联系人, E-mail: caiqing@mail.buct.edu.cn

ImageJ 软件分析.

### 3 甘氨酸乙酯-苯丙氨酸乙酯取代聚磷腈 (PGPP) 的合成和表征

六氯环三磷腈参考文献[14]方法制备,其结构与纯度经熔点测试、IR 及  $^{31}\text{P}$ -NMR 等手段证实.  $\text{mp} = 112.5 \sim 113^\circ\text{C}$ ; IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1218,  $-\text{PN}-$ ; 520, 601,  $\text{P}-\text{Cl}$ ;  $^{31}\text{P}$ -NMR:  $\delta = 20.1$ . 然后将六氯环三磷腈于  $260^\circ\text{C}$  熔融开环聚合获得聚二氯磷腈.

将干燥的苯丙氨酸乙酯和三乙胺的 THF 溶液,缓慢加入聚二氯磷腈的 THF 溶液中,反应一段时间后,再向其中加入甘氨酸乙酯和三乙胺的 THF 溶液. 反应结束后,滤去不溶物,倒入石油醚中沉淀,真空干燥得白色甘氨酸乙酯-苯丙氨酸乙酯取代聚磷腈 (PGPP),产率约为 90%. 其特性黏数为  $0.1 \text{ dL/g}$ , GPC 测试表明其数均分子量约为  $2 \times 10^3$ .  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 1.37 ( $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ); 4.13 ( $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 3.71 ( $-\text{NHCH}_2-$ ); 3.88 ( $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2(\text{C}_6\text{H}_5)-$ ); 7.08 ~ 7.21 ( $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2(\text{C}_6\text{H}_5)-$ ); FTIR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1738.54 ( $-\text{COO}-$ ); 1201.56 ( $-\text{P}=\text{N}-$ ); 853.66 ( $-\text{P}-\text{N}-$ ); 甘氨酸乙酯和苯丙氨酸乙酯的摩尔比计算结果为 30:70.

### 4 静电喷雾制备微球

常温下用 THF 或 1,4-二氧六环溶解 PGPP,并将此溶液转入连有高压装置的微量注射泵 (WZ-50C2,浙大医学仪器有限公司)中,金属板做阴极接地,调节电压、接收距离、流率进行静电喷雾,用盖玻片接收微球进行 SEM 观察.

### 5 溶剂的影响

将 PGPP 分别溶于二氧六环和 THF 配成相同浓度的溶液,在相同条件下进行静电喷雾,所得微球如图 1 所示. 以二氧六环为溶剂时,微球黏粘严重,而由 PGPP/THF 溶液喷得的微球具有很好的分散性. 主要原因是二氧六环的挥发速率 ( $\text{bp} = 101^\circ\text{C}$ ) 慢于 THF ( $\text{bp} = 65.4^\circ\text{C}$ ),且二氧六环比 THF 多一个氧原子,电负性的氧原子与 PGPP 中电正性的磷原子的相互作用,使得二氧六环更难迅速挥发,落到接收板上的微球尚未完全干燥,而发生黏粘.

### 6 聚合物溶液浓度的影响

根据以上的研究结果,以下各组实验均采用 THF 溶解 PGPP. 改变 PGPP/THF 溶液的浓度,在相同条件下进行静电喷雾,所得结果如图 2 所示.

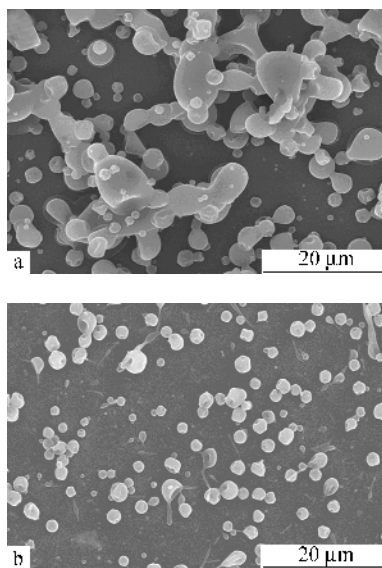


Fig. 1 The morphologies of poly [(ethylglycino) $_{0.30}$  (phenylalanine ethyl ester) $_{0.70}$  phosphazene] microparticles electro sprayed from the 1,4-dioxane (a) and THF (b) solutions. Polymer concentration  $0.25 \text{ g/mL}$ ; Liquid flow rate  $0.5 \text{ mL/h}$ ; Receiving distance  $6 \text{ cm}$

结果发现,聚合物溶液浓度对微球粒径无显著影响,而对微球形貌影响较大. 当 PGPP 浓度在  $0.10 \sim 0.30 \text{ g/mL}$  时,随着聚合物浓度的增大,所得 PGPP 微球从塌陷状态逐渐转变为饱满的球形,浓度提高到  $0.35 \text{ g/mL}$  后,纤维开始形成.

在静电喷射成型中,溶液黏度是决定形成分散的微粒、串珠或纤维的重要因素<sup>[15]</sup>,一般来说,聚合物浓度越大,溶液黏度也越大,形成纤维的可能性也越大. 但是在能形成分散微粒的浓度范围内,微粒的大小和形貌则主要取决于在静电场作用下形成的液滴因溶剂挥发而引起的收缩以及高分子链在液滴中的迁移速率的竞争结果<sup>[7]</sup>. 由于在静电喷雾过程中,溶剂的挥发速度非常快,而高分子链段的迁移速度相对慢,因此微粒表面溶剂挥发后,就会形成一个相对致密的壳,在微粒内部的溶剂挥发后,微粒内部形成孔洞,高分子链段脱溶剂化后发生收缩形成紧密的无规线团,宏观上便表现为塌陷的微球,此现象随着溶液中聚合物浓度的增大而减弱. 首先,因为聚合物浓度升高后,电喷微球表面所成的固化壳就越厚,表壳的力学强度也越大,越能抵抗收缩的发生;其次,聚合物浓度越大,溶剂挥发速度相对减慢,在微粒内部所形成的孔洞也就越少,引起微球发生凹陷的可能性也越小. 当 PGPP 溶液的浓度处于  $0.25 \sim$

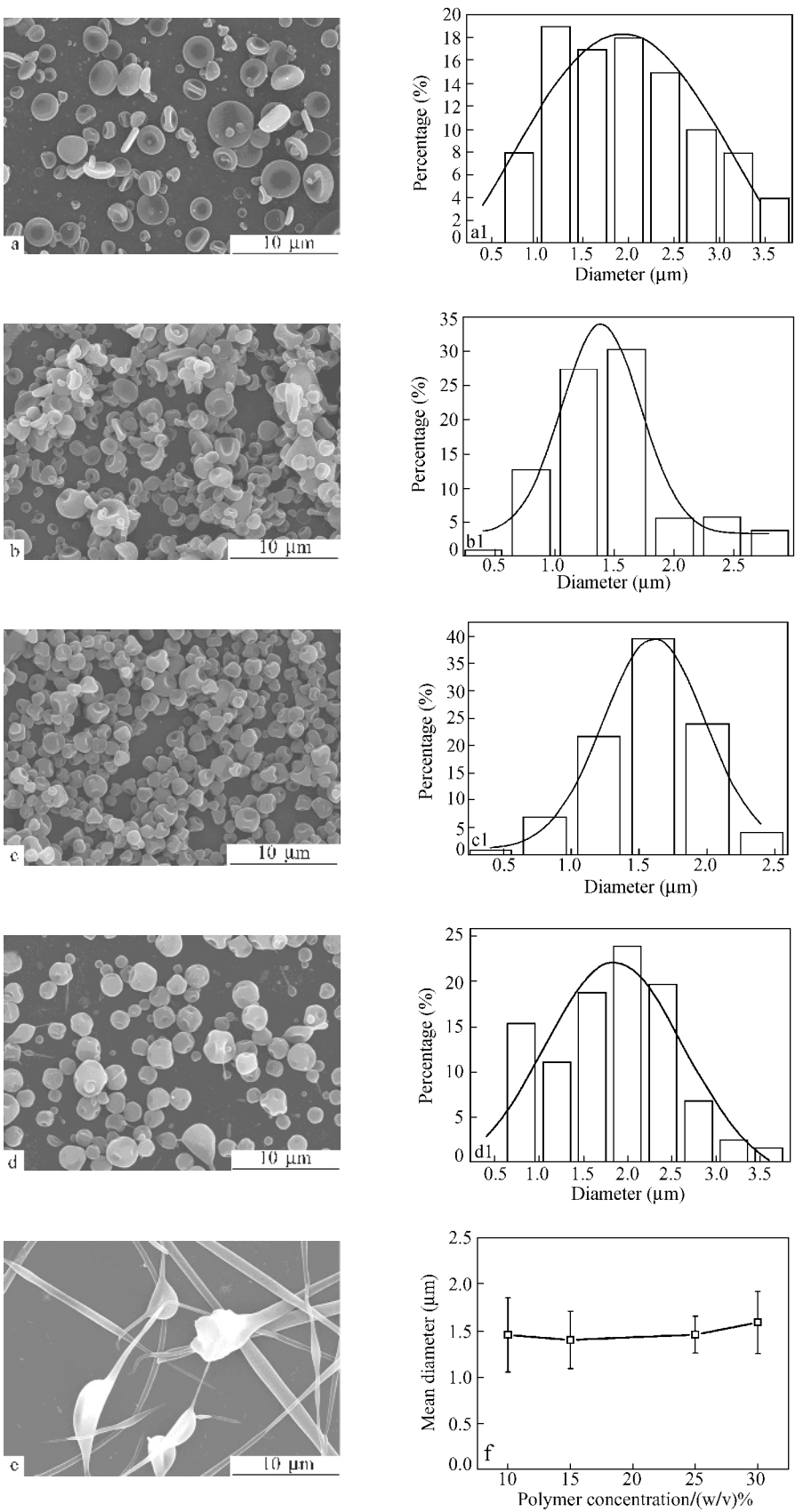


Fig. 2 SEM images and columnar distributions of poly[(ethylglycino)<sub>0.30</sub>(phenylalanine ethyl ester)<sub>0.70</sub>] phosphazene products sprayed from the THF solutions of different concentrations; (a), (a1) 0.10 g/mL; (b), (b1) 0.15 g/mL; (c), (c1) 0.25 g/mL; (d), (d1) 0.30 g/mL; (e) 0.35 g/mL; (f) particle sizes versus polymer concentrations  
Applied voltage 15 kV; Liquid flow rate 0.5 mL/h; Receiving distance 6 cm

0.30 g/mL 时,利用静电喷雾技术可获得近球形微粒.由 SEM 照片以及粒径的柱状分布图可以看出,当浓度为 0.25 g/mL 时,所得微球粒径分布及其形貌最为良好.

7 溶液流速的影响

Hartman<sup>[16,17]</sup> 等曾针对聚合物溶液静电喷雾法的锥射流模式,提出过一个影响微液滴尺寸变化的 Scaling 法则,指出与聚合物溶液的密度、表面张力和电导率相比,改变喷射流速( $Q$ )是控制粒径大小的最有效参数,认为微球粒径与  $Q^{1/2}$  成正比,因此可通过调节  $Q$  来预测及控制粒径.

本文以  $Q$  为 0.3 ~ 1.5 mL/h 时,对浓度为 0.25 g/mL 的 PGPP 溶液进行了静电喷雾,实验结果表明,随着  $Q$  增大,微球的粒径单调上升(图 3a),当  $Q=0.3$  mL/h 时,PGPP 微球的平均粒径为  $(1.23 \pm 0.28)$   $\mu\text{m}$ ,当  $Q$  升高到 1.5 mL/h,微球平均粒径达  $(2.02 \pm 0.38)$   $\mu\text{m}$ ;图 3(b)以粒径大小与  $Q^{1/2}$  作图,线性相关系数  $R^2=0.9745$ ,说明此法所得微球的粒径与流速之间的关系基本遵循 Scaling 法则.

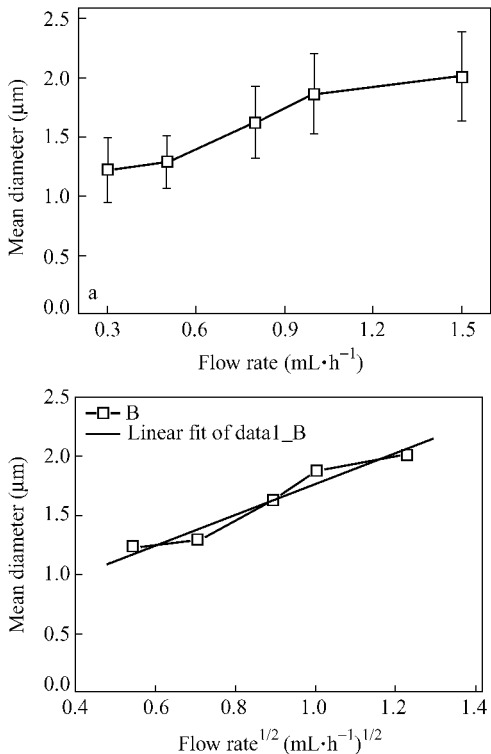


Fig. 3 The effect of liquid flow rates on the sizes of electrospayed poly [( ethylglycino )<sub>0.30</sub> ( phenylalanine ethyl ester )<sub>0.70</sub> phosphazene] particles  
 Polymer/THF concentration 0.25 g/mL; Applied voltage 20 kV; Receiving distance 6 cm

8 电压的影响

静电喷射的基本原理是聚合物溶液或熔体在高压静电场下,在电场力的作用下克服液体表面张力产生带电喷射流,喷射物干燥或固化后形成微粒或超细纤维.因此仅改变电压( $V$ ),从理论上也能对微球粒径起到一定调控作用.从图 4 可以看到,随着  $V$  增大,PGPP 微球的粒径呈减小趋势.这是因为在锥射流电喷模式中,当  $V$  达一定值克服液体表面张力形成射流后,随着  $V$  的升高,分裂所成的射流数量越多,所得的微粒尺寸越小.

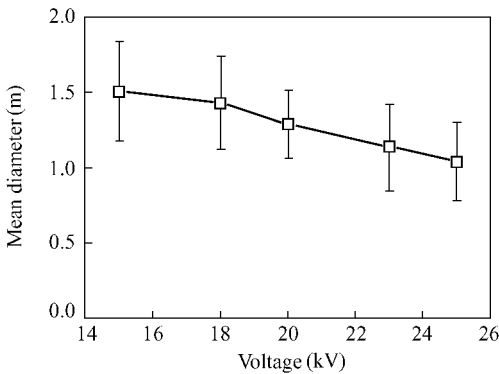


Fig. 4 The effect of applied voltage on particle sizes of electrospayed poly [( ethylglycino )<sub>0.30</sub> ( phenylalanine ethyl ester )<sub>0.70</sub> phosphazene]  
 Polymer/THF concentration 0.25 g/mL; Liquid flow rate 0.5 mL/h; Receiving distance 6 cm

9 接收距离的影响

仅接收距离( $l$ )作为变量,微球粒径大小及分布的影响,结果如图 5 所示,当  $l$  从 3 cm 增大到 6

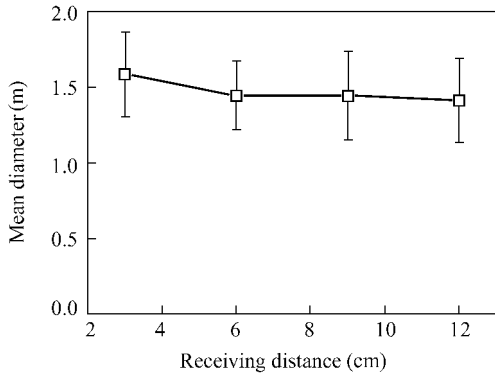


Fig. 5 The effect of receiving distances on particle sizes of electrospayed poly [( ethylglycino )<sub>0.30</sub> ( phenylalanine ethyl ester )<sub>0.70</sub> phosphazene]  
 Polymer/THF concentration 0.25 g/mL; Liquid flow rate 0.5 mL/h; Applied voltage 20 kV

cm 时,PGPP 微球的粒径明显减小,随着  $l$  的进一步增大,由于电场强度相对减小,微球粒径变化不明显,但粒径分布有所变宽.

10 结论

本研究详细考察了多种工艺参数对静电喷雾法制备甘氨酸乙酯-苯丙氨酸乙酯取代聚膦腈微

球的影响规律,并获得了平均粒径为  $1 \sim 2 \mu\text{m}$ 、粒径分布窄、近球形的聚膦腈微球,其工艺条件可进一步用于载药聚膦腈微球的制备和控制释放研究.该类微球型聚膦腈控释制剂有望在吸入式给药方面得到应用.

REFERENCES

1 Si nha V R,Trehan A. J Control Release,2003,90:261 ~ 280

2 Freitas S,Merkle H P,Gander B. J Control Release,2005,102:313 ~ 332

3 Jaworek A,Sobczyk A T. Journal of Electrostatics,2008,66:197 ~ 219

4 Widiyandari H,Hogan Jr. C J,Yun K M,Iskandar F,Biswas P,Okuyama K. Macromol Mater Eng,2007,292:495 ~ 502

5 Yeo L Y,Gagnon Z,Chang H C. Biomaterials,2005,26:6122 ~ 6128

6 Hong Y,Li Y,Yin Y,Li D,Zou G. J Aerosol Science,2008,39:525 ~ 536

7 Xie J,Lim L K,Phua Y,Hua J,Wang C H. J Colloid Interf Sci,2006,302:103 ~ 112

8 Ding L,Lee T,Wang C H. J Control Release,2005,102:395 ~ 413

9 Xie J,Wang C H. J Colloid Interf Sci,2007,312:247 ~ 255

10 Xie J,Marijnissen J C M,Wang C H. Biomaterials,2006,27:3321 ~ 3332

11 Lakshmia S,Kattia D S,Laurencin C T. Adv Drug Deliv Rev,2003,55:467 ~ 482

12 Allcock H R,Pucher S R,Scepelianos A G. Biomaterials,1994,15:563 ~ 569

13 Andrianov A K,Payne L G. Adv Drug Deliv Rev,1998,31:185 ~ 196

14 Zhang Teng(张腾). Study on Ring-Polymerization Kinetics of Hexachlorocyclotriphosphazene and Fundamental Research on Some Application of Polyphosphazenes(六氯环三磷腈熔融开环聚合反应动力学及膦腈高聚物在若干应用领域的基础性研究). Doctoral Dissertation of Beijing University of Chemical Technology(北京化工大学博士学位论文),2005

15 Thompson C J,Chase G G,Yarin A L,Reneke D H. Polymer,2007,48:6913 ~ 6922

16 Hartman R P A,Brunner D J,Camelot D M A,Marijnissen J C M,Scarlett B. J Aerosol Sci,1999,30(7):823 ~ 849

17 Hartman R P A,Brunner D J,Camelot D M A,Marijnissen J C M,Scarlett B. J Aerosol Sci,2000,31(1):95 ~ 165

## PREPARATION OF POLYPHOSPHAZENE MICROPARTICLES VIA ELECTROSPRAY

ZHOU Yuanyuan, XUE Liwei, MAO Jifu, CAI Qing, JIN Riguan

(Key Laboratory of Beijing City on Preparation and Processing & Novel Polymer Materials,  
Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029)

**Abstract** The electrospray technique was used to prepare poly[(ethylglycino)-(phenylalanine ethyl ester) phosphazene] microparticles with very low polydispersity. By replacing the chloroform atoms of polydichlorophosphazene with alanine ethyl ester and glycine ethyl ester subsequently, poly[(ethylglycino)<sub>0.30</sub>(phenylalanine ethyl ester)<sub>0.70</sub> phosphazene] (PGPP) was obtained and electrosprayed. The effects of processing parameters such as solvent, polymer concentration, liquid flow rate, applied voltage and receiving distance on the morphology and size of PGPP particles were investigated systematically. The morphologies of the electrosprayed PGPP microparticles were observed by scanning electron microscope (SEM), and the particle sizes were analyzed by using a software ImageJ basing on SEM photos. It was found that the morphology of PGPP microparticles depended on polymeric concentration significantly. As PGPP concentration increased from 0.10 g/mL to 0.30 g/mL, rounder particles could be formed. The particles electrosprayed from PGPP solutions in tetrahydrofuran (THF) were less agglomerated than those obtained from the 1,4-dioxane solution, which was thought as a consequence of the faster de-solvent rate of THF. On the other hand, the parameters including the liquid flow rate, applied voltage and receiving distance mainly influenced the size of microparticle, among which, the effect of liquid flow rate on the particle size was most remarkably. The particle size increased with the increasing flow rate, generally obeying the Scaling law, while it decreased by increasing voltage or distance. Experimental data demonstrated that PGPP microparticles with nearly spherical morphology and a size of 1 ~ 2  $\mu\text{m}$  could be produced by electrospraying 0.25 g/mL PGPP/THF solution at the optimized parameters. In result, PGPP microparticles with controllable morphology and size could be obtained by changing the various processing parameters of electrospray, and this technique could be used to fabricate drug-loaded polyphosphazene microparticles for further study on the drug controlled release behaviors, which might have potential applications in inhaled drug delivery systems.

**Keywords** Poly[(ethylglycino)-(phenylalanine ethyl ester) phosphazene], Electrospray, Microparticles