

低结晶度聚 ϵ -己内酯电纺膜的制备及其药物控释行为*

彭 慧 陶鑫峰 凌 君**

(教育部高分子合成与功能构造重点实验室 浙江大学高分子科学与工程学系 杭州 310027)

摘 要 以芳氧基稀土三(2,6-二叔丁基-4-甲基苯氧基)镧($\text{La}(\text{OAr})_3$)为催化剂,通过加入少量(8.5 mol%)碳酸 2,2-二甲基三亚甲基酯(DTC)与 ϵ -己内酯(CL)进行无规共聚合,成功制备了低结晶度的脂肪族内酯-碳酸酯无规共聚酯(PCD)材料,并用 $^1\text{H-NMR}$ 、SEC、DSC 和 WAXS 证明了产物的结构和性能.以聚 ϵ -己内酯(PCL)和 PCD 为基质,以水杨酸为模型药物,通过静电纺丝的方法制备了载药量为 8 wt%、直径为 1 μm 的电纺纤维膜,并测试了其体外药物释放行为.结果表明,PCD 电纺纤维膜显示了可控的药物缓释行为而 PCL 电纺纤维则呈现了药物暴释的现象.DSC 和 WAXS 分析表明,这两个体系药物释放行为的差异是由基质结晶度的差别产生的.PCD 电纺膜的结晶度($\chi_c = 40.3\%$)远远低于 PCL 电纺膜($\chi_c = 79.3\%$),且晶区也更加不完善,药物能更多更好地融合在非晶区中,并通过高分子链的热运动缓慢释放.

关键词 稀土催化剂, ϵ -己内酯, 无规共聚, 静电纺丝, 水杨酸, 药物释放

脂肪族聚酯和聚碳酸酯具有良好的生物相容性和生物降解性,因而广泛地用于生物医学领域,包括:组织工程^[1]、药物释放^[2]、伤口涂敷等^[3].通过共聚合的方法,如将碳酸三亚甲基酯(TMC)或碳酸 2,2-二甲基三亚甲基酯(DTC)与 ϵ -己内酯(CL)共聚可以有效地改善聚 ϵ -己内酯(PCL)的性能,扩大其应用范围^[4].环碳酸酯与己内酯的共聚物的性质如玻璃化温度、熔点、结晶度和韧性等都可以通过共聚物的组成来调节,以满足不同的应用要求.此外,由于碳酸酯键在人体内的水解速度快于酯键,使得这类共聚物有望成为非常优良的生物可吸收材料,弥补 PCL 降解时间长的缺陷^[5].

静电纺丝技术是目前最简单有效的制备纳米纤维的方法.由它制得的无纺布具有孔隙率高、比表面积大、纤维精细程度与均一性高等优点,因此在生物医用材料方面展现出了很大的应用前景,主要包括组织工程^[6]、电活性材料^[7]和药物载体^[8]等.将电纺膜用作药物释放的载体可以避免复杂的传统包药过程,电纺膜不仅可以直接用作皮肤或伤口愈合的药物载体,而且可以裁剪和制造成各种形状满足不同的需求^[9].冯增国等将己内酯和丙交酯的无规共聚物电纺为支架后进行光

固化交联,所得支架的机械强度大大提高,且在体外降解过程中其机械强度也得以维持.细胞毒性等试验表明该基质有望应用于生物体内,成为人体血管的替代品^[10].蒋宏亮等将聚己内酯和聚氧化乙烯的共混物及溶解酵素进行电纺,所得的电纺膜可控地释放出溶解酵素并保持其活性^[11].景遐斌等将聚 L-乳酸与紫杉醇或阿霉素进行电纺,所制备的电纺膜有效地包裹了药物并在蛋白酶 K 的降解作用下显示了零级动力学药物释放的过程^[12].

水杨酸是一种用途极广的消毒防腐剂,为常见消炎药的主要成份,将水杨酸与合适的生物可降解基质混合电纺可制备具有消炎功能的电纺纤维,可以作为组织表面仿生贴敷无纺布,对皮肤黏膜烧伤、机械损伤或细菌感染引起炎症的部位进行抗炎,还可以作为手术后防组织粘连的隔离材料^[7].本文以芳氧基稀土三(2,6-二叔丁基-4-甲基-苯氧基)镧($\text{La}(\text{OAr})_3$)为催化剂,通过少量 DTC 与 CL 单体无规共聚合制备得到了低结晶度的无规共聚酯聚(CL-co-DTA)(PCD),并以其为基质,通过静电纺丝的方法制备了含水杨酸药物的电纺膜,最后研究了其药物释放的规律并阐述了其药物释放行为的原因.

* 庆祝沈之荃院士 80 华诞专稿; 2011-01-21 收稿, 2011-03-01 修稿; 国家自然科学基金(基金号 20804033)和浙江省“钱江人才计划”(项目号 2009R10006)资助项目; ** 通讯联系人, E-mail: lingjun@zju.edu.cn

1 实验部分

1.1 主要原料

ϵ -己内酯,纯度 99%,Aldrich 公司,氢化钙浸泡过夜,减压蒸出,氩气下保存. 碳酸 2,2-二甲基三亚甲基酯和三(2,6-二叔丁基-4-甲基苯氧基)镧参照文献方法合成^[13, 14]. 四氢呋喃(THF),经钾干燥除水后使用. 水杨酸、氯仿和 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)等直接使用.

1.2 PCL 和 PCD 的合成

聚合反应在预先经真空烘烤且在氩气保护的安瓿瓶中进行.

以共聚物 PCD 的合成作为例,CL (5.200 g, 45.6 mmol)和 DTC (0.460 g, 3.54 mmol)预先溶解在 30 mL THF 中混合均匀,用针筒加入催化剂 $\text{La}(\text{OAr})_3$ (0.069 mol/L THF 溶液) 1.1 mL. 在室温下反应 40 min 后用含有 5% HCl 的乙醇终止反应. 用大量乙醇沉淀出聚合物,过滤,真空干燥至恒重,产率 99%.

PCL 的合成方法与 PCD 的方法类似.

1.3 静电纺丝

将一定量的聚合物样品和消炎药水杨酸(8 wt%)溶解在氯仿和 DMF 的混合溶液中($\text{CHCl}_3/\text{DMF} = 8/2 \text{ V/V}$),恒温振荡过夜至溶液均匀透明. 根据聚合物的不同,电纺聚合物溶液的浓度控制在 160 ~ 280 (g/L) 范围内,电纺用的电压控制在 14 ~ 22 kV. 聚合物溶液的流速为 1 mL/h. 喷丝口至接收器的距离控制在 14 ~ 20 cm. 电纺后所得的电纺膜在室温下真空干燥 1 周至完全除去溶剂.

1.4 电纺膜的体外药物释放行为

将含有水杨酸药物的电纺膜裁剪为 2 cm × 2 cm 的样品,浸入 20 mL、pH 为 7.4 的磷酸盐缓冲溶液(PBS)中,并添加 0.02% 的叠氮化钠作为抗菌剂. 在 37℃ 恒温振荡箱中(100 r/min)进行体外

释放考察. 间隔一定时间取样,取样时将 20 mL 释放介质取出,同时补充 20 mL 新鲜介质. 取出的样品由紫外-可见分光光度计(UV-Vis)检测每个时间点的释放介质在波长 296 nm 处的吸光度,并根据标准曲线计算药物水杨酸的累计释放量.

1.5 表征

核磁共振($^1\text{H-NMR}$, 400 MHz)采用 Bruker Avance DMX 400 核磁谱仪测定,以 CDCl_3 为溶剂,四甲基硅烷(TMS)为内标. 体积排除色谱(SEC)分析采用 Waters 凝胶色谱仪(Waters 1525 HPLC 配置 Waters 2414 RI 检测器),以窄分布的聚苯乙烯为标样,四氢呋喃为流动相,检测温度为 30℃,流速 1 mL/min. 差示扫描量热分析(DSC)采用 Perkin Elmer Pyris 1 热分析仪,测试范围在 -50 ~ 150℃,升温速率为 10 K/min,氮气气氛. 广角 X-射线衍射(WAXS)采用 D/MAX-RA 型 X-射线衍射仪测定, $\text{CuK}\alpha$ X-射线源(波长 $\lambda = 0.154 \text{ nm}$),扫描角度范围 $2\theta = 10^\circ \sim 50^\circ$. 扫描电镜(SEM)采用 JOEL JSM-5510LV 型电子显微镜,样品表面喷金 30 s 后用于测试. 紫外-可见光谱(UV-Vis)采用 CARY 100Bio 型紫外可见光谱仪测定.

2 结果与讨论

2.1 聚合物的结构和表征

本课题组最早报道了三(2,6-二叔丁基-4-甲基-苯氧基)镧($\text{La}(\text{OAr})_3$)是 ϵ -CL 均聚合及其与环碳酸酯 DTC 无规共聚合的高效催化剂^[13 ~ 15],并证明其聚合机理为单体酰氧键断裂的“配位-插入”机理^[16, 17]. 室温下,当单体与催化剂的摩尔比为 600 时,40 min 内均聚合和共聚合的产率都达到了 99%,聚合结果如表 1 所示. 所得聚合物的分子量较高,且分子量分布(PDI)较窄. 无规共聚物(PCD)中 CL 与 DTC 的链节比与投料比接近^[18].

Table 1 Polymerization and characterization of PCL and PCD^a

Run	Polymer	$[\text{CL}]/[\text{DTC}]$ molar ratio in feed	$[\text{CL}]/[\text{DTC}]$ in polymer ^b	Yield (%)	M_n^c (kDa)	M_w^c (kDa)	PDI ^d
1	PCL	—	—	99	24.1	40.5	1.68
2	PCD	92.8 / 7.2	91.5 / 8.5	99	67.2	117.9	1.75

^a Polymerization condition: $[\text{CL}] = 1.5 \text{ mol/L}$ in THF, $[\text{CL}]/[\text{La}(\text{OAr})_3] = 600$, 25℃, 40 min; ^b The $[\text{CL}]/[\text{DTC}]$ molar ratio in polymer was determined by $^1\text{H-NMR}$; ^c Obtained by SEC calibrated by polystyrene standards; ^d $\text{PDI} = M_w/M_n$

共聚物 PCD 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱(图 1)中除了 CL 和 DTC 各自的共振信号外,在化学位移为 $\delta 4$ 附

近还出现了另外两组峰 Hg 和 Hh, 分别对应于 DTC-CL 和 CL-DTC 的信号. 图 2 为 PCD 的 SEC 谱图, PCD 的 SEC 曲线为对称的单峰, 表明在 $\text{La}(\text{OAr})_3$ 的催化体系中只存在一种活性中心.

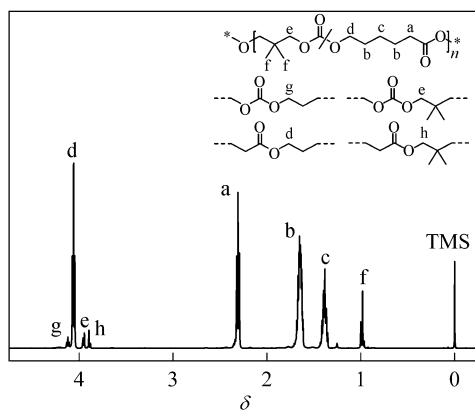


Fig. 1 ^1H -NMR spectrum of poly(CL-co-DTC) (PCD)

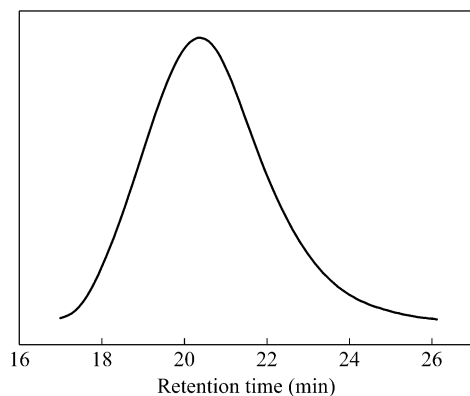


Fig. 2 SEC trace of PCD

图 3 为 PCL 和 PCD 的 DSC 谱图. PCL (图 3 (a)) 的熔点 (T_m) 为 55.1°C , 熔融焓 (ΔH_m) 为 55.3 J/g , 而无规共聚物 PCD (图 3 (b)) 的 T_m 为 49.0°C , ΔH_m 为 44.6 J/g , 均低于 PCL 相应的值, 验证了我们在 PCL 中共聚 DTC 可以有效降低结晶度的最初设计. 在 PCD 中, 少量的 ($8.5 \text{ mol\%}$) DTC 链节无规插入到 CL 的链段中导致 PCL 链段结晶受阻, 不能形成和 PCL 均聚物一样完善的晶区和取向度. 文献报道 PDTC 的熔融峰在 $120 \sim 123^\circ\text{C}$ [13,19], 而 PCD 的 DSC 曲线上没有显示该峰, 表明该催化体系中没有 PDTC 均聚物或者较长的 PDTC 链段产生.

在 PCL 和 PCD 的 WAXS 谱图 (图 4) 中, PCD (图 4 (b)) 显示出与 PCL 均聚物 (图 4 (a)) 一样的衍射模式, 也证明了在 PCD 中没有 PDTC 均聚物或者较长的 PDTC 链段存在. 与 PCL 均聚物相

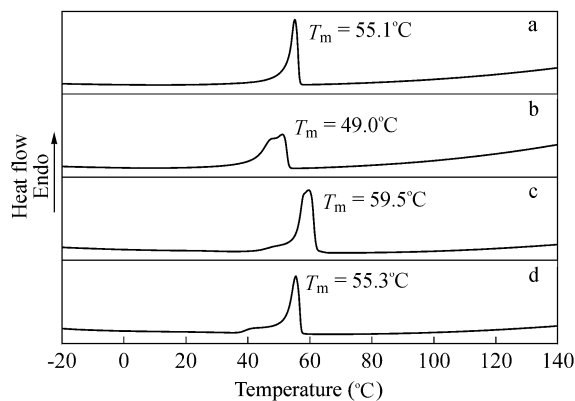


Fig. 3 DSC curves of PCL (a), PCD (b), PCL electrospun fibers (c) and PCD electrospun fibers (d)

Melting point (T_m) refers to the peak temperature.

比, PCD 的不完善结晶的衍射峰更加明显, 表明在 PCD 中 PCL 链段的结晶不如 PCL 均聚物中的完善. 根据 WAXS 谱图, 我们算得 PCL 均聚物的结晶度 (χ_c) 为 44.7% , 而 PCD 的 χ_c 仅为 28.1% , 这也说明由于 DTC 链段的无规插入, PCL 链段的结晶能力降低, 形成了更多的非晶区和不完善的晶区, 与 DSC 结果相符.

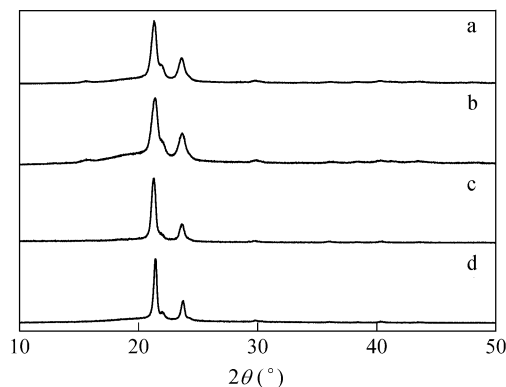


Fig. 4 WAXS of PCL (a), PCD (b), PCL electrospun fibers (c) and PCD electrospun fibers (d)

综上所述, 我们用稀土催化剂制备得到了均聚物 PCL 和无规共聚物 PCD.

2.2 电纺膜的制备和表征

将消炎药水杨酸 (载药量 $8 \text{ wt\%}$) 与 PCL 或 PCD 溶解于混合溶剂 CHCl_3/DMF 中, 在 $14 \sim 22 \text{ kV}$ 的高压电场下可以纺出直径在 $1 \mu\text{m}$ 左右的超细纤维. 图 5 是超细纤维的扫描电镜图, 可以看到, 药物水杨酸的加入部分影响了电纺纤维的形成, 随着电纺过程中溶剂的蒸发, 水杨酸附着在纤维表面结晶. 对比 PCL (图 5 (a)) 和 PCD (图 5 (b)) 可以发现, 水杨酸在 PCL 电纺纤维的表面结

晶程度比 PCD 的更高,表明水杨酸与无规共聚物 PCD 相容性更好。

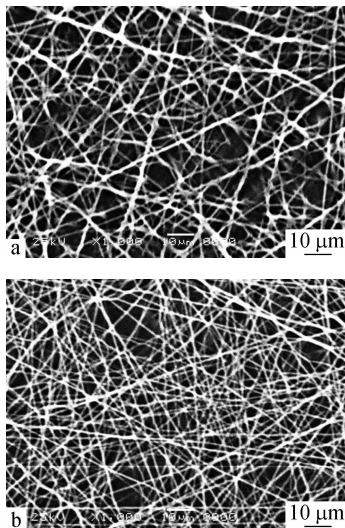


Fig. 5 SEM images of electrospun fibers of PCL (a) and PCD (b) with 8 wt% salicylic acid inoculation

为了阐明水杨酸与 PCD 相容性更好的原因,我们将所制备的电纺纤维进行了 DSC(图 3)和 WAXS(图 4)表征。如图 3 所示,PCL 电纺纤维有着最高的熔点 T_m 为 59.5°C ,而 PCD 电纺纤维的 T_m 为 53.3°C 。对于熔融焓,PCL 的 ΔH_m 为 93.9 J/g ,远大于 PCD 的 ΔH_m 65.4 J/g 。另外,两种聚合物的电纺纤维分别与各自的聚合物相比,熔点和熔融焓分别都有不同程度的提高,表明电纺过程提高了聚合物的结晶度和取向度。图 4 显示了 PCL 电纺膜和 PCD 电纺膜的 WAXS 图,可以看到,PCD 电纺膜存在一定程度的不完善晶区的衍射峰而 PCL 电纺膜的不完善晶区的衍射峰很小。从图 4 计算可得,PCL 电纺膜的结晶度 χ_c 为 79.3% ,远高于 PCD 电纺膜的结晶度 40.3% 。另外,在 WAXS 图中同样观察到两种聚合物电纺纤维的结晶度分别比各自的聚合物有明显增加,与 DSC 结果一致。

附着在 PCL 电纺纤维表面的药物水杨酸较多与 PCL 的高结晶度有很大的关系。在电纺过程中,PCL 均聚物有着很大的倾向形成自己的晶区,故将药物分子排斥开,使得水杨酸富集在一起。而无规共聚物中少量 DTC 的链节使得 PCD 中 PCL 链段较短、结晶倾向大为降低,即使结晶,所形成的晶区也较小、较不完善。这使得水杨酸能更好地与聚合物 PCD 相容而分散,抑制了药物分子的团聚。

以上分析也显示,该电纺膜的制备过程提高了聚合物的结晶度。这与电纺膜的制备过程有关。由于 PCL 的玻璃化温度(T_g)为 -65°C ,远远低于室温,真空干燥 1 周除去溶剂的过程使得高分子链有效地重新排列,成为结晶度更高的聚合物材料。同时,由于静电纺丝涉及的液流拉伸及快速固化等过程也使得聚合物链取向更加容易进行,因而产生了取向度更高、结晶度更高的聚合物^[20]。

2.3 药物水杨酸的体外释放行为

由于水杨酸在波长 296 nm 附近有特征的紫外吸收,因此可用 UV-Vis 分光光度计来检测其含量。图 6 为水杨酸 PBS($\text{pH} = 7.4$)溶液的标准曲线,在浓度 $0.001 \sim 0.05 \text{ mg/mL}$ 的浓度范围内线性极好,标准曲线回归方程为 $A = 0.06172 + 2.55563c$,相关系数 $R^2 = 0.9999$ 。

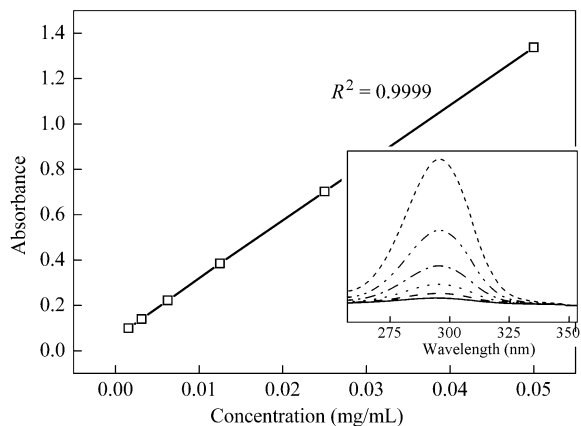


Fig. 6 Relationship between UV-Vis absorption intensities ($A = 296 \text{ nm}$) and salicylic acid concentrations
UV-Vis spectra are shown in the insert.

以直径为 $1 \mu\text{m}$ 的电纺纤维膜为基质研究载药量为 $8 \text{ wt\%}$ 的水杨酸在体外的释放行为,其结果如图 7 所示。PCL 电纺膜中水杨酸药物呈现暴释现象。在最初的 1.5 h 以内, 85% 的水杨酸已经释放,表明该体系的释放不可控。相反的,PCD 电纺膜则显示了不同的药物释放行为。同样在 1.5 h 以内,只有 10% 的水杨酸释放到 PBS 中,且在研究的时间范围内,药物的释放量与时间成线性关系,表明该体系的药物释放过程是可控的。

这 2 种体系所产生的药物释放行为的不同可以通过这 2 种聚合物电纺膜结晶性的差异来解释。在电纺过程中,水杨酸和 PCL 链段各自形成自己的结晶。由于 PCL 电纺膜结晶度非常高($\chi_c = 79.3\%$),水杨酸不能有效地进入其非晶区而只能自己结晶附着在电纺纤维表面。当浸入 PBS

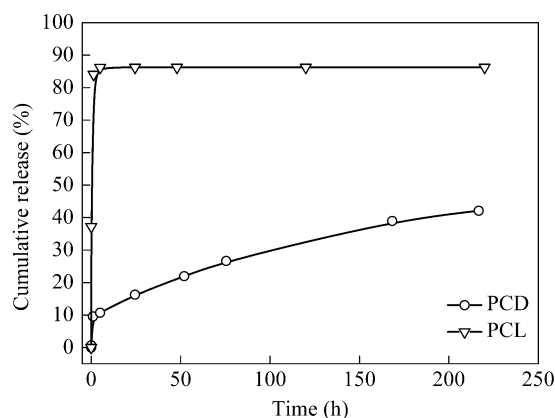


Fig. 7 *In vitro* salicylic acid release from electrospun fibers with 8 wt% of drug entrapment

缓冲体系时,附着在纤维表面的药物很快全部溶解到溶液中,出现药物暴释的现象.然而,PCD 电纺膜只有 40.3% 的结晶度且由于晶区不完善和晶粒较小,水杨酸能更多、更好地与聚合物相容,分散在纤维的内部,不会全部富集于电纺纤维的表面,故能够通过药物分子和高分子链的热运动

缓慢地从电纺膜中释放出来,从而表现出可控的缓释过程.

3 结论

用芳氧基稀土催化剂三(2,6-二叔丁基-4-甲基-苯氧基)镧($\text{La}(\text{OAr})_3$)催化合成了聚 ϵ -己内酯(PCL)及其与 DTC 的无规共聚物(PCD).用 PCL 和 PCD 作基质,以水杨酸为模型药物,通过静电纺丝的方法制备了载药量为 8 wt%、直径为 1 μm 的电纺纤维膜.将这些电纺膜应用于体外药物释放的研究,结果表明,PCD 电纺膜体系显示了可控的药物释放行为,而 PCL 电纺膜体系则出现了药物的暴释.通过 DSC 和 WAXS 研究发现,这 2 种体系药物释放行为差别的原因在于 2 种聚合物结晶度的差异.由于无规共聚物 PCD 电纺膜结晶程度较低且晶区不完善,药物分子能够更多地融合于 PCD 电纺膜的非晶区中,不完全暴露于纤维表面,从而可以通过高分子链的热运动缓慢地将药物释放出来.

REFERENCES

- Li Feng(李峰),Feng Jun(冯俊),Zhuo Renxi(卓仁禧),Wang Xuli(王旭立). Polymer Materials Science and Engineering(高分子材料科学与工程),2005,21(1):57~61
- Miyai T,Ito A,Tamazawa G,Matsuno T,Sogo Y,Nakamura C,Yamazaki A,Satoh T. Biomaterials,2008,29(3):350~358
- Bolgen N,Vargel I,Korkusuz P,Menceloglu Y Z,Piskin E J. J Biomed Mater Res Part B:Appl Biomater,2007,81(2):530~543
- Yu Cuiping(于翠萍),Li Xi(李希),Guo Xia(郭霞),Shen Zhiquan(沈之荃). Polymer Materials Science and Engineering(高分子材料科学与工程),2007,23(3):6~10
- Zhu K J,Hendren R W,Jensen K,Pitt C J. Macromolecules,1991,24(8):1736~1740
- Li X R,Xie J W,Yuan X Y,Xia Y N. Langmuir,2008,24(24):14145~14150
- Zhou Jianwei(周建伟),Zhao Shengling(赵生领),Zhang Xuequan(张学全),Feng Wei(封伟),Yuan Xiaoyan(袁晓燕). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2010,(9):1094~1099
- Jing Z,Xu X Y,Chen X S,Liang Q Z,Bian X C,Yang L X,Jing X B. J Controlled Release,2003,92(3):227~231
- Cui W,Li X,Zhu X,Yu G,Zhou S,Weng J. Biomacromolecules,2006,7(5):1623~1629
- Ye L,Wu X,Geng X,Duan Y H,Gu Y Q,Zhang A Y,Zhang J,Feng Z G. Chinese J Polym Sci,2010,28(5):829~840
- Li Y,Jiang H,Zhu K. J Mater Sci:Mater Med,2008,19:827~832
- Zeng J,Yang L X,Liang Q Z,Zhang X F,Guan H L,Xu X L,Chen X S,Jing X B. J Controlled Release,2005,105(1):43~51
- Ling J,Shen Z,Huang Q. Macromolecules,2001,34(22):7613~7616
- Ling J,Zhang Y F,Shen Z Q. Chin Chem Lett,2001,12(1):41~42
- Ling J,Shen Z Q. Macromol Chem Phys,2002,203(4):735~738
- Ling J,Shen J G,Hogen-Esch T E. Polymer,2009,50(15):3575~3581
- Liu J Z,Ling J,Li X,Shen Z Q. J Mol Catal A:Chem,2009,300(1):59~64
- Shen Z Q,Zhu G X,Ling J. Chin J Chem,2002,20(11):1369~1374
- Peng H,Ling J,Liu J,Zhu N,Ni X,Shen Z. Polym Degrad Stab,2010,95(4):643~650
- Jia Y T,Kim H Y,Gong J,Lee D R. J Appl Polym Sci,2006,99(4):1462~1470

CONTROLLED RELEASE OF SALICYLIC ACID FROM ELECTROSPUN MATS OF POLY(ε -CAPROLACTONE) WITH LOW CRYSTALLINITY

PENG Hui, TAO Xinfeng, LING Jun

(MOE Key Laboratory of Macromolecular Synthesis and Functionalization, Department of Polymer Science and Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

Abstract With the purpose to decrease the crystallinity of poly(ε -caprolactone) (PCL), a small amount (8.5 mol%) of 2,2-dimethyltrimethylene carbonate (DTC) was added to copolymerize with ε -caprolactone (CL) using lanthanum tris(2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenolate) ($\text{La}(\text{OAr})_3$) as catalyst. The produced polyester P(CL-co-DTC) (PCD) was well-characterized by $^1\text{H-NMR}$, SEC, DSC and WAXS. The results showed random copolymer PCD was synthesized. DSC and WAXS results proved PCD had a much lower crystallinity ($\chi_c = 28.1\%$) compared to that of PCL ($\chi_c = 44.7\%$). PCD, as well as PCL homopolymer containing 8 wt% salicylic acid as a model drug was electrospun into ultrafine fibers with the diameter around 1 μm and further submitted to *in vitro* drug release test. The results showed that the PCD electrospun mat exhibited a controlled drug-release behavior while the PCL one displayed a burst-release behavior. The DSC and WAXS results showed PCL electrospun fibers had a much higher crystallinity ($\chi_c = 79.3\%$) than that of PCD electrospun fibers ($\chi_c = 40.3\%$) and this explained the difference of drug-release behaviors of the two electrospun mats. It was the non-crystalline domains involved in PCD that facilitated the compatibility between the polymer matrix and salicylic acid and allowed the drug to be released in a controlled way through the thermal motion of the polymer chain. This study provided a strategy for a better drug inclusion and release behavior by lowering the crystallinity of matrix material.

Keywords Rare earth catalyst, ε -Caprolactone, Random copolymerization, Electrospinning, Salicylic acid, Drug release