

温度及 pH 敏感的 β -环糊精聚合物微球的合成 及药物控制释放研究*

胡 晖 刘郁杨 范晓东** 黄 怡

(西北工业大学理学院应用化学系 西安 710072)

摘 要 以反相乳液聚合得到了 β -CD 聚合物微球,对 β -CD 微球进行氯乙酰化改性后,利用原子转移自由基聚合的方法把聚甲基丙烯酸 N,N -二甲氨基乙酯(PDMAEMA)接枝到 β -CD 微球上,从而得到了具有温度和 pH 响应性的 β -CD 聚合物微球.通过红外光谱、元素分析确定了 PDMAEMA 接枝的 β -CD 微球的结构,采用热台偏光显微镜直接观测到了 β -CD 微球的温度和 pH 敏感性.对模型药物染料木素(GNT)和苯丁酸氮芥(CLB)进行了控制释放研究,结果表明 pH 值可对微球的“内环境”起到“开-关”作用,从而可构筑出一种新型的药物控制释放体系.

关键词 β -环糊精聚合物微球, 聚甲基丙烯酸 N,N -二甲氨基乙酯, 温度及 pH 敏感性, 药物控制释放体系

β -环糊精(β -CD)是一个中空环状低聚糖化合物,具有腔内疏水、腔外亲水的两亲性特点,并可与各种客体化合物形成超分子包合物^[1,2]. β -环糊精经高分子化后,具有独特的物理化学性能,既能保持环糊精包结、缓释、催化的能力^[3],又兼具高聚物较好的机械强度和化学可调性等^[4-11].环糊精高聚物作为药物载体,可有效地应用于药物控制释放^[12,13].药物通过与环糊精形成包合物可以提高其稳定性和溶解性,以增强其生物利用度,缓解药物对肠胃的刺激.但是, β -CD 高聚物不能对环境变化有响应性,因而不具有定向输送药物的特性.聚甲基丙烯酸 N,N -二甲氨基乙酯(PDMAEMA)是一种具有温度和 pH 敏感性的高分子^[14-18],分子结构中同时具有亲水性的叔胺基、羰基和疏水性的烷基基团,当环境改变时会造成氢键的形成与破坏,从而导致高分子相态的变化.通过原子转移自由基聚合(ATRP)可以有效地把烯类单体接枝到微球表面^[19,20].本文采用反相微悬浮乳液聚合得到 β -CD 微球,然后通过原子转移自由基聚合把 PDMAEMA 接枝到 β -CD 微球上,使 β -CD 聚合物微球具有温度和 pH 的响应性.实验证实,环境变化可对微球的“内环境”起到“开-关”作用,从而可构筑出一种药物控制释放体系.

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

甲基丙烯酸 N,N -二甲氨基乙酯(DMAEMA),齐鲁石化研究院产品,在阻聚剂存在下减压精馏后使用; β -环糊精,汕头市光华化学厂(生化试剂),蒸馏水重结晶两次,110℃真空干燥 12 h;氯乙酰氯(CAC),化学纯,上海亭新化学试剂厂;氯化亚铜,分析纯,西安化学试剂厂;五甲基二亚乙基三胺(PMDETA),江苏溧阳雨田化工有限公司,未经精制,直接使用; N,N' -二甲基甲酰胺(DMF);分析纯,西安化学试剂厂;环氧氯丙烷(EPI),分析纯,天津市博迪化工有限公司;司班 80,比重 1~1.05,浙江温州清明化工厂;吐温 20,羟值 90~108,浙江温州清明化工厂;200 # 煤油,市售;苯丁酸氮芥(CLB),Fluka Chemika 产品,纯度 $\geq 98\%$;染料木素(GNT),西安近代化学研究所提供;其余试剂都为分析纯,直接使用.

热台偏光显微镜, Nikon 公司 E400POL 型;傅立叶红外光谱仪,北京第二光学仪器厂 WQF-310 型,试样为 KBr 压片,测量范围 400~4000 cm^{-1} ;元素分析仪,德国 Vario EL III 型;紫外可见分光光度计,北京瑞利公司 UV-1200 型.

1.2 β -CD 聚合物微球的制备

称取 4 g NaOH 溶于 10 g 水中,加入 6 g β -CD

* 2004-02-17 收稿,2004-07-15 修稿;国家自然科学基金资助项目(基金号 20374040);** 通讯联系人

使它完全溶解,在 20℃ 边搅拌边滴加 7.34 g EPI, 20 min 完成.在该温度下反应 1.5 h 后,加入含有 0.8 g 乳化剂(n (吐温 20): n (司班 80) = 1/3)的 200 # 煤油 40 g,高速搅拌 5 min 后升温至 60℃ 反应 8 h,同时降低搅拌速度并恒速搅拌至反应结束.反应结束后,将产物过滤并用稀盐酸、甲醇、蒸馏水及丙酮进行充分洗涤,以除去各种杂质.洗涤结束后将产物真空干燥至恒重,使得 β -CD 聚合物球状颗粒,产率 68.8%.经过 60 目和 120 目筛子过筛,最终得到颗粒大小为 120 ~ 60 目(124 ~ 250 μm)的 β -CD 聚合物球状颗粒,产率 45.2%.

1.3 氯乙酰化的 β -CD 聚合物微球的制备

取 5 g 的 β -CD 微球加入 30 mL 的 DMF 溶剂中,在室温缓慢搅拌条件下,将一定量的氯乙酰氯与 DMF 的混合溶液逐滴加入,滴加完成后在 80℃ 油浴下继续反应 12 h,反应后的产物先用大量丙酮充分洗涤,再用大量水洗涤,如此循环洗涤 3 次.收集氯乙酰化的 β -CD 微球于真空干燥箱中 60℃ 干燥 72 h.称重,计算产率为 91.1%.

1.4 PDMAEMA 接枝的 β -CD 聚合物微球的制备

称取定量的氯化亚铜和 PMDETA 溶解于适量水溶液中,待充分溶解后加入定量的 DMAEMA 单体,最后加入氯乙酰化的 β -CD 微球.通高纯氮气 10 min,抽真空 10 min,反复 3 次除氧.保持真空状态密封反应装置,放置于 80℃ 油浴下反应 20 h.聚合后的产物用大量丙酮充分洗涤,再用大量水洗涤,如此循环洗涤 3 次以上.最后在真空干燥箱中 60℃ 下干燥 72 h 至恒重.产物称重,计算产率,结果见表 1.

1.5 热台偏光显微镜观测 β -CD 聚合物微球的形态

取少量的 β -CD 微球样品放入缓冲溶液中,缓慢搅拌使 β -CD 微球颗粒均匀分散于溶液中,放置 24 h 后用吸管取富含 β -CD 微球的溶液滴于载玻片上,加上盖玻片.通过热台控制温度以 3 K/min 升高,在不同的温度下用偏光显微镜(250 倍)即可观测各种 β -CD 微球的形态,数码相机记录观测试样的形态.

1.6 载药 β -CD 聚合物微球的制备

首先,将 0.2 g 经真空干燥过的 PDMAEMA 接枝的 β -CD 微球用透析布封好,浸入到 0.6 wt% 的药物溶液(10 mL)中使其溶胀 24 h 后,取出在溶剂中漂洗 3 次,60℃ 真空干燥 72 h 后即可得到载药的 β -CD 微球,用差重法确定微球的载药率.载

药率 W_Y 的计算按式(1)进行.

$$W_Y(\%) = \frac{W_h - W_q}{W_h} \times 100 \quad (1)$$

式中 W_Y 为 β -CD 微球中药物的载药率, W_q 为载药前的 PDMAEMA 接枝的 β -CD 微球的重量, W_h 为载药后的 PDMAEMA 接枝的 β -CD 微球的重量.

试样 II 对药物 GNT 的载药率为 5.8%. 试样 I、II、III (见表 1) 对药物 CLB 的载药率分别为 8.9%, 9.7%, 9.1%.

1.7 紫外可见分光光度仪检测药物的控制释放

将载好药物的 β -CD 微球用透析布包好并密封,放入 37℃ 下 20 mL 的缓冲溶液中进行释放研究.以一定的时间间隔取样 5.0 mL 进行紫外测试以定量确定该时间间隔所释放药物的量,同时向释放体系补充 5.0 mL 新鲜缓冲液,以维持释放体系的溶液为 20 mL.药物的释放累计释放率按式(2)进行.

$$\text{Cumulative release}(\%) = 100 \times (20.0 c_{Y(n)} + 5.0 \sum c_{Y(n-1)}) / W_0 \quad (2)$$

式中 W_0 为待测 β -CD 微球总的载药量(mg), $c_{Y(n)}$ 为 t 时间里第 n 次测量时释放液中药物的浓度(mg/mL),其值由紫外光谱按工作曲线拟合的公式(式 3 ~ 7)确定; $c_{Y(n-1)}$ 为第 $n-1$ 次测量时释放液中药物的浓度(mg/mL); $\sum c_{Y(n-1)}$ 为前 $n-1$ 次测量出的药物浓度之和.

pH 7.4 和 pH 1.4 条件下 I_{Abs} 与 c_{GNT} (mg/mL) 之间的关系如下:

$$\text{pH} = 7.4, c_{\text{GNT}} = 0.000010 + 0.0080 I_{265.5 \text{ nm}} \quad (3)$$

$$\text{pH} = 1.4, c_{\text{GNT}} = 0.000056 + 0.0073 I_{260 \text{ nm}} \quad (4)$$

式中 $I_{265.5 \text{ nm}}$ 和 $I_{260 \text{ nm}}$ 分别为待测液在 265.5 nm (pH = 7.4) 及 260.0 nm (pH = 1.4) 处的吸光度.

pH 10.0、pH 7.4 和 pH 1.4 条件下 I_{Abs} 与 c_{CLB} (mg/mL) 之间的关系如下:

$$\text{pH} = 10.0, c_{\text{CLB}} = 0.031 I_{242 \text{ nm}} - 0.0019 \quad (5)$$

$$\text{pH} = 7.4, c_{\text{CLB}} = 0.021 I_{257 \text{ nm}} - 0.0010 \quad (6)$$

$$\text{pH} = 1.4, c_{\text{CLB}} = 0.035 I_{211.5 \text{ nm}} - 0.0022 \quad (7)$$

式中 $I_{242 \text{ nm}}$ 、 $I_{257 \text{ nm}}$ 和 $I_{211.5 \text{ nm}}$ 分别为待测液在 242.0 nm (pH = 10.0)、257.0 nm (pH = 7.4) 及 211.5 nm (pH = 1.4) 处的吸光度.

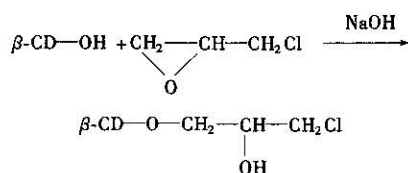
2 结果与讨论

2.1 β -CD 聚合物微球的合成

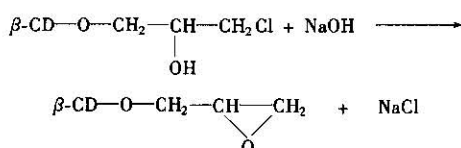
β -CD 微球的制备是通过 EPI 交联 β -CD 实现

的,反应过程实际是由 EPI 不断的开环、闭环反应构成的,其反应历程为:

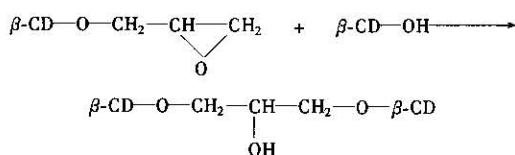
开环反应



闭环反应



开环反应



微球结构表面积大且有利于药物的匀速释放,而得到微球则需要采用乳液聚合或悬浮聚合的方法.上面的反应需要在强碱性的水溶液中进行,因此我们采用了反相乳液聚合,水相作为分散相,有机相(200 # 煤油)作为连续相.其原理为,加入非极性有机溶剂后,在油溶性乳化剂和搅拌的共同作用下使反应物形成微小液滴分散在溶剂中,形成油包水型(W/O)乳液,最后在微小液滴中

进行聚合反应.

2.2 PDMAEMA 接枝的 β -CD 聚合物微球的合成与表征

为了得到 PDMAEMA 接枝的 β -CD 微球,我们采用了如图 1 所示的反应步骤.首先对 β -CD 微球进行氯乙酰化的处理,使得 β -CD 微球表面上带有烷基氯,然后以微球表面上的烷基氯为引发剂,采用原子转移自由基引发 DMAEMA 聚合,制备得到温度及 pH 敏感的 β -CD 微球.表 1 是 3 个 PDMAEMA 接枝 β -CD 微球的原料配比及部分产物参数.在 PDMAEMA 接枝的 β -CD 微球中,纯的 β -CD 微球不含有 N 元素,只在 PDMAEMA 中含有 N 元素.因此通过 N、C 元素含量的相对比值可以反映出 PDMAEMA 接枝的 β -CD 微球中 PDMAEMA 平均链段的尺寸.从表 1 中可以看到,随着原料配比中 DMAEMA 用量的增加,产物中 N 与 C 元素含量的比率也在增加,即表明产物中 PDMAEMA 链节在逐渐增长.因此通过改变 DMAEMA 的用量,可以方便地得到具有不同 PDMAEMA 接枝长度的 β -CD 聚合物微球.

图 2 是 β -CD、 β -CD 微球、氯乙酰化的 β -CD 微球、PDMAEMA 接枝的 β -CD 微球和 PDMAEMA 的红外谱图.其中(a)是 β -CD 的红外谱图,波数 3400 cm^{-1} 显示 β -CD 中 —OH 的伸缩振动; 2930 cm^{-1} 处为 —CH_2 的反对称伸缩振动吸收峰; 1160 cm^{-1} , 1080 cm^{-1} , 1040 cm^{-1} 显示 β -CD 中 C—O 和 C—O—C 伸缩振动; 1640 cm^{-1} 附近为 β -CD 中羰

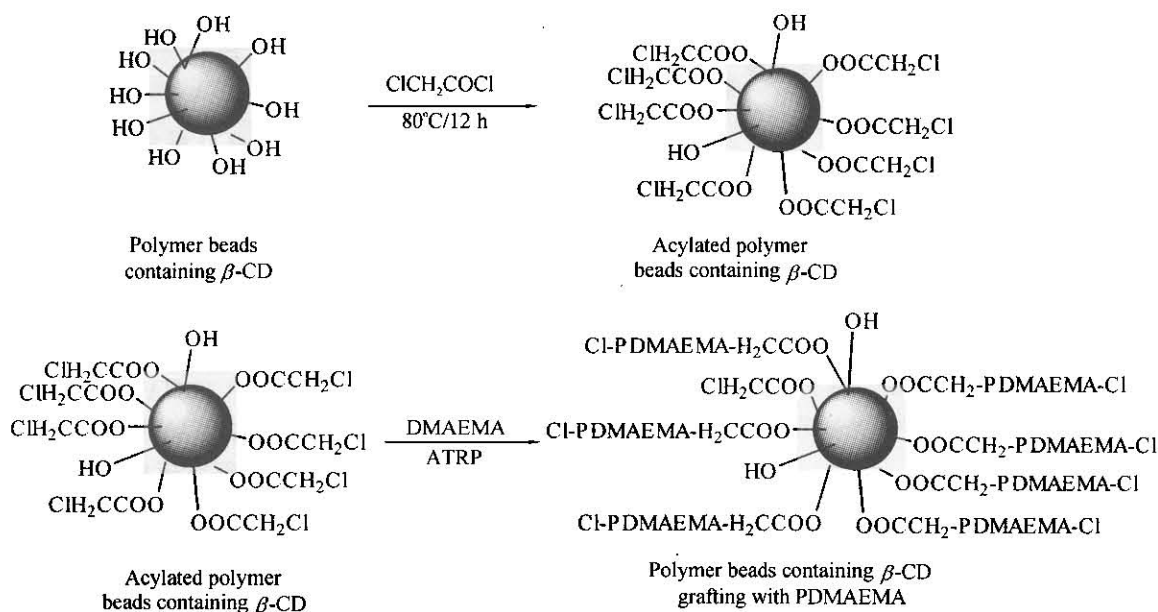


Fig. 1 Scheme of preparation of polymer beads containing β -CD grafting with PDMAEMA

基面内弯曲振动的吸收峰。(b)是 β -CD 微球的红外谱图,对比 β -CD 的红外谱图,峰的位置都大致相当,也没有峰增加或减少,只是峰形变得较为圆滑,这应该是 β -CD 高分子化的结果。(c)是氯乙酰化的 β -CD 微球的红外谱图,则在 1760 cm^{-1} 位置出现了一个强的新峰,应归属为 $\text{C}=\text{O}$ 的振动吸收峰,表明所得微球中具有酯基基团, β -CD 微球接上了氯乙酰基。图中(d)是 PDMAEMA 接枝的 β -CD 微球的红外谱图,对比氯乙酰化的 β -CD 微球的红外谱图,在 2820 cm^{-1} 、 2770 cm^{-1} 位置出现了两个新的峰,这两个峰应解析为 PDMAEMA 的甲基和亚甲基的伸缩振动吸收峰。此外, 1730 cm^{-1} 位置的峰应解析为 PDMAEMA 的 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动,与氯乙酰化的 β -CD 微球的 1760 cm^{-1} 峰

相比有了较大的位移。图中(e)是 PDMAEMA 的红外谱图,(d)和(e)相比,峰形大部分相同,只是多了 1640 cm^{-1} 处的吸收峰(波数 1640 cm^{-1} 可解析为 β -CD 中羟基面内弯曲振动),并且在 3400 cm^{-1} (波数 3400 cm^{-1} 是 β -CD 中 $-\text{OH}$ 的伸缩振动)附近吸收峰的强度比 PDMAEMA 明显增强。结果说明,得到了表面接枝 PDMAEMA 链段的 β -CD 聚合物微球。从试样 I、II 和 III 的红外谱图(图略)还观察到在波数 1640 cm^{-1} 谱峰等高的情况下,试样 I、II 和 III 在 1730 cm^{-1} 处谱峰逐渐增大。这表明随着聚合过程中 PDMAEMA 用量的增加,所得产物的 PDMAEMA 链段在逐渐增大,这也与前述元素分析的结果相一致。

Table 1 Parameters of polymer beads containing β -CD grafting with PDMAEMA *

Sample	Chloroacetylated polymer beads containing β -CD(g)	Feed ratio				Product weight (g)	Product yield (%)	Ratio of N/C**
		DMAEMA(g)	CuCl(g)	PMDTA(g)	Water(g)			
I	0.41	4.00	0.0253	0.0768	4.00	1.35	30.5	0.1098
II	0.40	7.00	0.0268	0.0804	4.00	1.61	21.7	0.1113
III	0.40	10.00	0.0263	0.0903	4.00	2.42	23.3	0.1208

* Reaction condition: $T = 80^{\circ}\text{C}$, $E_t = 20\text{ h}$; ** Result of element analysis

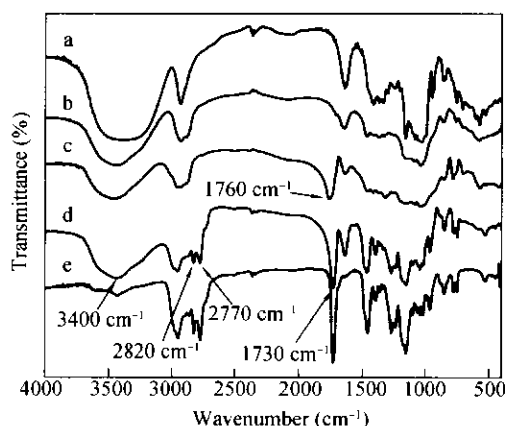


Fig. 2 IR spectra of β -CD, polymer beads containing β -CD and PDMAEMA

a) β -CD; b) Polymer beads containing β -CD; c) Chloroacetylated polymer beads containing β -CD; d) Polymer beads containing β -CD grafting with PDMAEMA; e) PDMAEMA

图 3 是 PDMAEMA 接枝的 β -CD 微球在 pH 10 缓冲溶液中 20°C 、 30°C 、 40°C 和 50°C 条件下的偏光显微照片。从图中可以清楚地看到颜色较深的圆球就是 β -CD 微球,它的尺寸大小不随着温度

的变化而改变。圆球的周围有着形状不规则的絮状物,这就是接枝的 PDMAEMA,由于其具有温度敏感性,随着温度的升高会逐渐收缩到 β -CD 微球周围。逐渐降低温度,收缩到 β -CD 微球周围的 PDMAEMA 链段又会逐渐伸展开来,表现出可逆的温度敏感性能。实验还发现,在 pH 1.4 的缓冲溶液和水中,PDMAEMA 接枝的 β -CD 微球的形态没有发现随温度变化的特征。

2.3 温度及 pH 敏感的 β -CD 聚合物微球控释药物特性

染料木素是一种抗癌药物,化学名称为 5,7-二羟基-3-(4-羟苯基)-1-苯并吡喃-4-酮,英文名称为 Genistein(GNT)。选取 GNT 作为模型药物,试样 II 为药物载体,考察了在 37°C 下 pH 7.4, pH 1.4, pH 7.4, pH 1.4 交变环境中 PDMAEMA 接枝的 β -CD 微球控释药物的行为,结果见图 4。可见,在 pH 7.4 的缓冲溶液中,GNT 的释放速度较慢,特别是在第二次浸入 pH 7.4 的缓冲溶液时释放曲线几乎是条平线,而在 pH 1.4 的缓冲溶液中,GNT 的释放速度较快,即使是第二次浸入 pH 1.4 的缓冲溶液时释放速度仍然较快。图 4 的实验结果充分表明了,环境中 pH 值对药物 GNT 的释放具有明

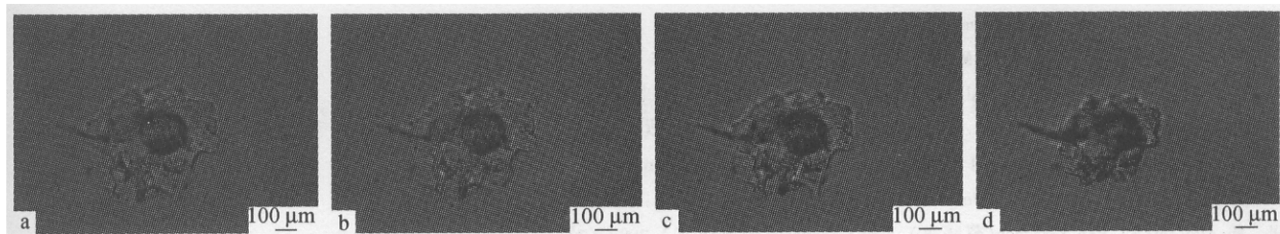


Fig. 3 Polarizing microphotograph of polymer beads containing β -CD grafting with PDMAEMA in buffer solution of pH 10 at (a) 20°C、(b) 30°C、(c) 40°C and (d) 50°C, respectively

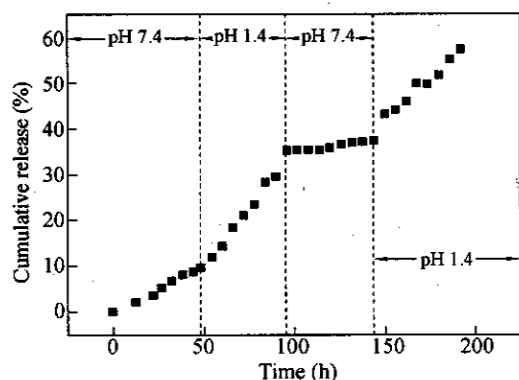


Fig. 4 Release profile of GNT from polymer beads containing β -CD grafting with PDMAEMA under the conditions of pHs 7.4 and 1.4 at 37°C

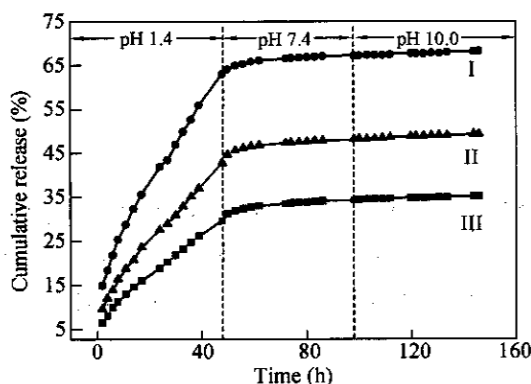


Fig. 5 Release profile of CLB from polymer beads containing β -CD grafting with PDMAEMA under the conditions of pHs 1.4, 7.4 and pH 10.0 at 37°C

显的控制作用.在 pH 1.4 的环境下, β -CD 微球表面的 PDMAEMA 链段呈充分舒展状态,微球中的药物可以通过 PDMAEMA 链间的通道释放出去,而在 pH 7.4 的缓冲溶液中,PDMAEMA 链段呈卷曲状态,阻塞了药物释放的通道.

选取另一种抗癌药物苯丁酸氮芥 (Chlorambucil, CLB) 作为模型药物^[21],对具有不同接枝链段长度的 β -CD 微球 (试样 I、II、III) 控制药物的行为进行了研究,实验结果见图 5.从图可见,在 pH 1.4 的缓冲溶液中,CLB 的释放速度较快,而在 pH 7.4、pH 10.0 的缓冲溶液中,CLB 的释放速度极慢,与图 4 的实验结果吻合.另外发现, β -CD 微球表面的 PDMAEMA 链段的长度对药

物释放有很大关系.PDMAEMA 链段越长,药物要释放出去受到的阻碍会越大,在各缓冲溶液中释放量都会减小.因此, β -CD 微球表面接枝的 PDMAEMA 的链长应适当控制,以控制释放药物的效果.

综上所述,采用了反相乳液聚合得到了 β -CD 聚合物微球,经氯乙酰化 β -CD 微球后,利用原子转移自由基聚合的方法把 PDMAEMA 接枝到 β -CD 微球上,从而使 β -CD 微球具有温度和 pH 的响应性.以 PDMAEMA 接枝的 β -CD 聚合物微球为药物载体,对模型药物 GNT 和 CLB 进行了控制释放研究,结果表明 pH 值可对球体的“内环境”起到“开关”作用,从而可构筑出一种药物控制释放体系.

REFERENCES

- Breslow R, Dong S D. Chem Rev, 1998, 98: 1997 ~ 2011
- Hirayama F, Uekama K. Advanced Drug Delivery Reviews, 1999, 36: 125 ~ 141
- Szejtli J, Sebestyen Gy. Starch, 1978, 30: 127 ~ 135
- Liu Yuyang (刘郁杨), Fan Xiaodong (范晓东). Acta Polymerica Sinica (高分子学报), 2002, (5): 618 ~ 622
- Huh K M, Tomita H, Lee W K, Ooya T, Yui N. Macromol Rapid Commun, 2002, 23: 179 ~ 182
- Liu Y Y, Fan X D. Polymer, 2002, 43: 4997 ~ 5003
- Ruebner A, Statton G L, James M R. Macromol Chem Phys, 2000, 201: 1185 ~ 1188

- 8 Nozaki T, Maeda Y, Ito K. *Macromolecules*, 1995, 28: 522 ~ 524
- 9 Hirasawa T, Maeda Y, Kitano H. *Macromolecules*, 1998, 31: 4480 ~ 4485
- 10 Martina H S, Thomas P D. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 2002, 24: 4498 ~ 4512
- 11 Kakuchi T, Narumi A, Matsuda T. *Macromolecules*, 2003, 36: 3914 ~ 3920
- 12 Bibby D C, Davies N M, Tucker I G. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, 197: 1 ~ 11
- 13 Liu Yuyang, Fan Xiaodong, Hu Hui. *Macromolecular Bioscience*, 2004, 4: 729 ~ 736
- 14 Hu Hui(胡晖), Fan Xiaodong(范晓东). *Fine Chemicals(精细化工)*, 2003, (2): 65 ~ 68
- 15 Vural Büttin, Steven P A, Norman C B. *Macromolecules*, 2001, 34: 1148 ~ 1159
- 16 Shen Youqing, Zeng Faquan, Zhu Shiping, Robert Pelton. *Macromolecules*, 2001, 34: 144 ~ 150
- 17 McCormick C L, Blackmon K P, Elliott D L. *Polymer*, 1986, 27: 1976 ~ 1980
- 18 Huan Yi(黄怡), Fan Xiaodong(范晓东), Hu Hui(胡晖). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2004, (2): 177 ~ 183
- 19 Bontempo D, Tirelli N, Feldman K. *Advanced Materials*, 2002, 14: 1239 ~ 1241
- 20 Senkal B F, Bicak N. *European Polymer Journal*, 2003, 39: 327 ~ 331
- 21 Owen W R, Stewart P J. *J Pharm Sci*, 1979, 68: 992 ~ 996

SYNTHESIS OF THERMO- AND pH SENSITIVE POLYMER BEADS CONTAINING β -CYCLODEXTRIN AND POLY(*N*, *N*-DIMETHYLAMINOETHYL METHACRYLATE AND THEIR CONTROLLED DRUG RELEASE BEHAVIOR

HU Hui, LIU Yuyang, FAN Xiaodong, HUANG Yi

(Department of Applied Chemistry, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072)

Abstract Polymer beads containing β -cyclodextrin (β -CD) were prepared by inverse emulsion polymerization, and then, the polymer beads with thermo- and pH sensitivities were synthesized by atom transfer radical polymerization (ATRP) using *N*, *N*-dimethylaminoethyl methacrylate (DMAEMA) as a functional monomer and anterior chloroacetylated β -CD as the initiator. Chain structure and their compositions for polymers grafting with poly(*N*, *N*-dimethylaminoethyl methacrylate) (PDMAEMA) were characterized using infrared spectroscopy, element analysis, DSC and TGA. The thermo- and pH sensitivities for polymers containing β -cyclodextrin and PDMAEMA were inspected directly with a polarizing microscope equipping with a hot stage. Finally, the controlled drug release behaviors of these polymers were studied using anti-cancer drugs, genistein (GNT) and chlorambucil (CLB) as model compounds. Results show that the release efficiency for drugs depends on the pH value which can act as an "on-off" switch during the test. It was indicated that a controlled drug delivery system could be established according to these experimental data.

Key words Polymer beads containing β -cyclodextrin, Poly(*N*, *N*-dimethylaminoethyl methacrylate), Thermo- and pH sensitivities, Controlled drug delivery system