

葡萄糖基聚膦腈水凝胶的制备*

朴秀玉 蔡 晴** 金日光

(北京化工大学材料科学与工程学院 可控化学反应教育部重点实验室 北京 100029)

摘 要 通过对葡萄糖的羟基引入保护基再与聚二氯磷腈反应后用强酸脱保护制得侧链含部分葡萄糖基的聚膦腈,然后测量聚合物与植物外源凝集素 ConA 混合溶液的透光率的变化来研究凝胶化过程.结果表明,在 ConA 的浓度相同的情况下,聚合物溶液的浓度越大,越容易形成凝胶.第二取代基团的水溶性好,葡萄糖的侧基比例大,有益于凝胶的形成.

关键词 聚膦腈,葡萄糖,水凝胶,胰岛素

当前,糖尿病成为人类健康的一大杀手,无论在发达国家还是发展中国家,居高不下的糖尿病患病率和逐年递增的发病率,日益威胁到各地区人民的幸福生活.胰岛素的给药不同于其他药物,它需要在适当的时间给予准确的剂量来确保正常的血中葡萄糖浓度^[1],在诸多胰岛素给药系统中最具有挑战性的是自调式给药系统^[2],即具有对葡萄糖的感应能力和自动的开关机制以达到控制释放的目的.近年研究较多的葡萄糖敏感型胰岛素给药系统主要有载有葡萄糖氧化酶的体系、载有植物外源性凝集素的体系及带有苯基硼酸基团的体系3种^[3].常用的高分子材料有聚甲基丙烯酸酯类^[4,5]、甲基丙烯酸酯类与含氨基单体的共聚物^[6~8]、聚乙烯醇类共聚物^[9]等.这些聚合物用于药物控制释放载体时,在强度、生物相容性方面都较理想,但由于其本身不可降解的性质,决定了其在应用过程中仍存在着易在体内积蓄,容易引起毒副作用等缺点.而少数的生物降解型高分子材料,往往由于大部分有机基团用于参与形成主链的反应,缺乏可供反应的有机侧基,给制备上述响应性释放体系带来困难,因此利用聚酯等生物可降解性材料制备的胰岛素缓(控)释制剂多为微球形式^[10].

目前,另一类药物控释材料——聚膦腈正越来越引起人们的兴趣.聚膦腈是一类含有P=N骨架的高分子化合物.其结构的多样性导致性质的多功能性,不同的侧链可以制备具有各种功能

的聚膦腈高分子^[11~13],生物可降解聚膦腈的降解速度和物理化学性能可以通过侧链设计来改变,这些特点是其他生物降解型高分子所无法比拟的.

本文拟在聚膦腈侧链上引入葡萄糖基团,利用植物外源性凝集素与葡萄糖基聚膦腈结合形成水凝胶来实现葡萄糖响应型胰岛素释放体系的制备.

1 实验部分

1.1 原料

六氯环三磷腈(98%,宁波博源新材料技术有限公司),用前重结晶和减压升华纯化; α -D-葡萄糖(北化恒业精细化学有限公司)分析纯,直接使用.无水 ZnCl_2 (汕头市西陇化工厂)分析纯,直接使用.磷酸(85%,北京世纪红星化工有限责任公司)分析纯,直接使用.甘氨酸乙酯盐酸盐(北京石鹰化工厂)化学纯(50℃真空干燥5 h 备用);三乙胺(北京世纪红星化工有限责任公司)分析纯(加NaOH回流2 h后蒸馏备用);甲氧基乙醇(分析纯)(1 nm分子筛干燥后蒸馏备用);三氟乙酸(北京化学试剂公司)化学纯,直接使用.其他试剂均按常规方法干燥纯化.

1.2 主要表征手段

$^1\text{H-NMR}$, Bruker 公司 AV600 核磁共振波谱仪.红外测试采用 Nicolet 公司的 Nexus-670FT-IR, KBr 压片.特性粘数由乌氏粘度计测定,温度

* 2007-04-27 收稿,2007-08-03 修稿.国家自然科学基金(基金号 50473043)和北京化工大学青年教师自然科学基金(基金号 QN0405)资助项目; ** 通讯联系人, E-mail: caiqing@mail.buct.edu.cn

30℃,以水或氯仿作溶剂.透光率测定采用上海精密科学仪器有限公司 752 紫外光栅分光光度计.

1.3 聚二氯磷腈的制备

将 2 g 六氯环三磷腈封在真空玻璃管中,置于 260℃ 反应 48 h.待冷却至室温后,用热的干燥石油醚反复洗涤去除未反应的单体及生成的大环磷腈副产物,然后用干燥的苯充分溶解残留物,过滤除去不溶物后,用石油醚沉淀、真空干燥后待用.

1.4 1,2:5,6-di-O-异亚丙基- α -D-呋喃葡萄糖的制备

将 5 g 无水 α -D-葡萄糖和 57 mL 无水丙酮置于带有机械搅拌器的干燥三口瓶中,先后加入 3.79 g 无水氯化锌和 85% 的磷酸 0.23 mL,室温反应 30 h 后,过滤,往滤液中滴加氢氧化钠 (25 mol/L) 溶液直到中性.再过滤,滤液减压蒸馏除去溶剂后得到粘稠液体.粘稠液用氯仿萃取 3 次,将氯仿萃取液合并用少量水洗涤后,去除溶剂得白色晶体,产率 64%,mp 为 95 ~ 101℃.经氯仿-正己烷 (1:2, V/V) 重结晶 2 次,干燥后得纯化的 1,2:5,6-di-O-异亚丙基- α -D-葡萄糖 (以下简称葡萄糖缩二丙酮),收率 70%,mp 为 105 ~ 109℃,与文献 [14] 相符.

1.5 葡萄糖与甲氧基乙醇共取代聚磷腈的制备 (polymer a)

将 100 mL 干燥的 THF 溶液置于带有机械搅拌器的三口瓶中,随后加入 2.24 g 葡萄糖缩二丙酮与 0.20 g 金属钠,室温反应 24 h.将 1 g 的聚二氯磷腈 THF 溶液缓慢滴加到上述溶液中,并回流 96 h.然后将甲基乙醇钠的 THF 溶液 (由 0.68 mL 甲氧基乙醇和 0.20 g 金属钠在 THF 中反应 24 h 制备) 缓慢滴加到上述溶液中,室温下反应 24 h 后,升温至 50℃ 继续反应 24 h.离心除去不溶物后,旋转蒸发去除大部分溶剂得到粘稠状液体,将此粘稠液体用石油醚沉淀、甲醇透析纯化 3 天后,旋转蒸发去除溶剂,于 40℃ 下真空干燥,收率大于 70%.

1.6 葡萄糖与甘氨酸乙酯共取代聚磷腈的制备 (polymer b)

与 1.5 节相同的投料和方法将葡萄糖缩二丙酮与聚二氯磷腈进行反应,然后将甘氨酸乙酯的 THF 溶液 (由 1.20 g 甘氨酸乙酯盐酸盐和 1.21 mL 三乙胺在 THF 溶液中回流 6 h 后过滤得到) 和 1.21 mL 三乙胺在 0℃ 下缓慢滴加到上述溶液中,

冰浴中反应 6 h 后,于室温下继续反应 18 h.离心除去不溶物后,旋转蒸发去除大部分溶剂和未反应的三乙胺得到粘稠状液体,将此粘稠液体用去离子水沉淀,得到的沉淀物于 40℃ 下减压干燥,收率大于 70%.

1.7 脱保护

将 1 g 干燥的聚合物 a 或 b 置于带有磁力搅拌的单口瓶中,向其中滴加 90% 的三氟乙酸 10 mL,搅拌至聚合物完全溶解后继续反应一段时间.用过饱和碳酸氢钠中和后,置于透析袋 (截留分子量 1.2×10^4) 中用去离子水透析纯化 3 天,旋转蒸发去除水后于 40℃ 下真空干燥^[15],收率约 40%.

1.8 凝胶化过程研究

将 Con A 溶液与不同浓度的葡萄糖基聚磷腈溶液混合,混合后使 Con A 在溶液中的终浓度为 0.83 mg/mL.用分光光度计测量混合溶液在波长为 360 nm 下透光度随时间的变化.

将浓度分别为 0.2 g/mL 的葡萄糖基聚磷腈水溶液与 0.16 g/mL 的 Con A 水溶液按体积比 1:1 混合均匀,静置观察凝胶形成过程.

2 结果与讨论

2.1 聚合物的合成与表征

在制得线形聚二氯磷腈中间体后,利用强亲核取代试剂与 P—Cl 反应可以获得具有不同取代侧基的聚磷腈.由于葡萄糖缩二丙酮的体积较大,取代反应较难进行,同时为了能比较准确控制葡萄糖侧基的取代度,因此宜采取先用葡萄糖缩二丙酮的钠盐与聚二氯磷腈进行取代反应,然后再用另一种过量的体积位阻较小的亲核取代试剂 (本研究采用的是甲氧基乙醇和甘氨酸乙酯) 来取代剩余的 P—Cl,防止因 P—Cl 未反应完全而引起最终产物在纯化处理及贮存过程中交联.

葡萄糖与甲氧基乙醇共取代聚磷腈的 ¹H-NMR 结果如图 1 所示,谱图 1(A) 和 1(B) 分别是葡萄糖缩二丙酮与甲氧基乙醇共取代聚磷腈脱保护前和脱保护后的谱图.从谱图 1(A) 可以看到,除峰 f 是溶剂峰 (D₂O) 外,峰 a ($\delta = 1.3 \sim 1.5$) 对应于葡萄糖缩二丙酮基中异亚丙基的 4 个甲基,组峰 b ($\delta = 4.0 \sim 4.7, 6.0$) 对应于葡萄糖缩二丙酮基中呋喃糖的 6 种碳氢质子.峰 c ($\delta = 3.3$)、d ($\delta = 3.5$) 和 e ($\delta = 3.9$) 分别对应于甲氧基乙氧基中甲基 (—OCH₂CH₂OCH₃)、与甲氧基相邻的亚甲基

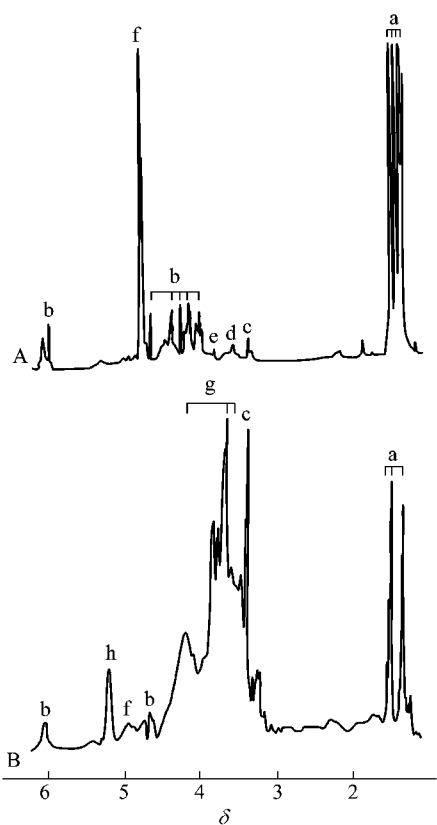


图 1 ¹H-NMR spectra of polymer a1 before (A) and after deprotection (B)
Solvent : D₂O

($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$) 以及 与 甲 氧 基 相 隔 一 个 碳 的 亚 甲 基 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$). 从 谱 图 1 (B) 可 以 看 到, 聚 合 物 在 强 酸 作 用 下 进 行 葡 萄 糖 缩 二 丙 酮 的 脱 保 护 后, 峰 a 的 强 度 明 显 减 小, 出 现 了 新 的 组 峰 g ($\delta = 3.5 \sim 4.2$) 和 峰 h ($\delta = 5.2$), 峰 h 对 应 于 葡 萄 糖 的 碳 (C-1) 氢 质 子, 组 峰 g 则 对 应 于 葡 萄 糖 的 另 外 5 种 碳 氢 质 子, 同 时 甲 氧 基 乙 氧 基 的 甲 基 峰 (峰 c) 还 在 原 处, 二 个 亚 甲 基 峰 则 被 包 埋 在 葡 萄 糖 的 碳 氢 峰 中. 结 合 红 外 测 试 的 结 果 (图 2), 在 1209.7 cm^{-1} 出 现 了 $\text{P}=\text{N}$ 的 振 动 吸 收 峰, 在 1633.6 cm^{-1} 和 1671.6 cm^{-1} 出 现 了 分 叉 的 双 峰, 指 示 糖 的 存 在. 表 明 葡 萄 糖 与 甲 氧 基 乙 醇 已 引 入 到 聚 膦 腈 主 链 上. 根 据 ¹H-NMR 谱 图 中 各 组 氢 质 子 峰 的 积 分

可 以 计 算 各 种 侧 基 (葡 萄 糖、葡 萄 糖 缩 二 丙 酮、甲 氧 基 乙 醇) 的 比 例, 本 文 所 涉 及 的 聚 合 物 的 侧 基 组 成 见 表 1.

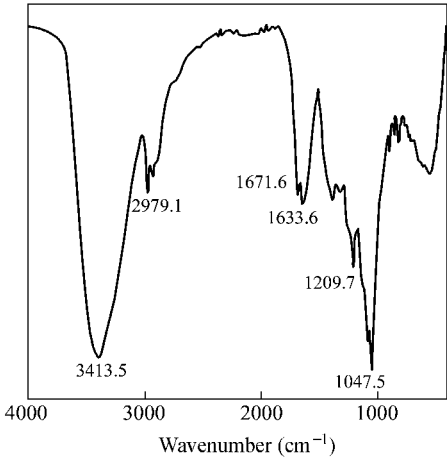


Fig. 2 Infrared spectrum of polymer a1

葡 萄 糖 与 甘 氨 酸 乙 酯 共 取 代 聚 膦 腈 的 ¹H-NMR 结 果 如 图 3 所 示, 谱 图 3 (A) 和 3 (B) 分 别 是 葡 萄 糖 缩 二 丙 酮 与 甘 氨 酸 乙 酯 共 取 代 聚 膦 腈 脱 保 护 前 和 脱 保 护 后 的 谱 图. 从 谱 图 3 (A) 可 以 看 到, 峰 a 对 应 于 葡 萄 糖 缩 二 丙 酮 中 异 亚 丙 基 的 4 个 甲 基, 组 峰 b 对 应 于 葡 萄 糖 缩 二 丙 酮 中 呋 喃 糖 的 6 种 碳 氢 质 子. 甘 氨 酸 乙 酯 中 的 甲 基 峰 ($-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$) 包 埋 在 峰 a 中, 而 与 之 相 邻 的 亚 甲 基 峰 ($-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$) 和 亚 氨 基 相 邻 的 亚 甲 基 ($-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$) 则 分 别 出 现 在 峰 d ($\delta = 3.5$) 和 c ($\delta = 3.2$) 的 位 置. 从 谱 图 3 (B) 可 以 看 到, 聚 合 物 在 强 酸 作 用 下 进 行 葡 萄 糖 缩 二 丙 酮 脱 保 护 后, 峰 a 的 强 度 明 显 减 小, 出 现 了 新 的 组 峰 g 和 h, 峰 h 对 应 于 葡 萄 糖 的 碳 (C-1) 氢 质 子, 组 峰 g 则 对 应 于 葡 萄 糖 的 另 外 五 种 碳 氢 质 子, 但 c 峰 的 强 度 显 著 下 降. 红 外 测 试 的 结 果 如 图 4 所 示, 聚 合 物 脱 保 护 之 前 在 1216.9 cm^{-1} 出 现 了 $\text{P}=\text{N}$ 的 振 动 吸 收 峰, 在 1741.4 cm^{-1} 出 现 了 $\text{C}=\text{O}$ 的 峰, 可 指 示 酯 类 的 存 在, 1637 cm^{-1} 的 峰 则 归 属 于 吡 喃 杂 环 的 振 动 吸 收, 指 示 糖 的 存 在, 2900

Table 1 Compositions of polyphosphazenes used in the interaction with Con A

Sample	Compositions of side groups (mol%)				$[\eta]$ (mL/g)
	Glucosyl	Diisopro-pylidene D-glu-cosyl	(2-Meth-ox y) ethoxy	Ethyl glycinato	
Polymer a1	50	32	18		11.3
Polymer a2	37	26	37		10.2
Polymer a3	30	23	47		11.9
Polymer b	50	33		17	8.5

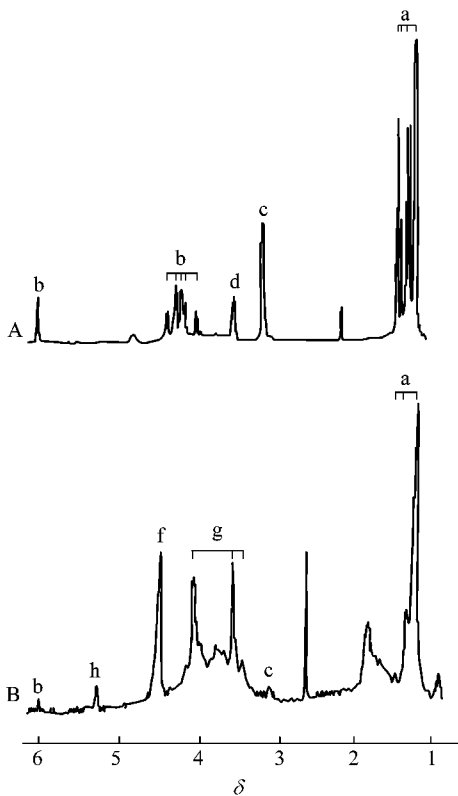


图 3 ¹H-NMR spectra of polymer b before (A) and after deprotection (B)
Solvent : D₂O

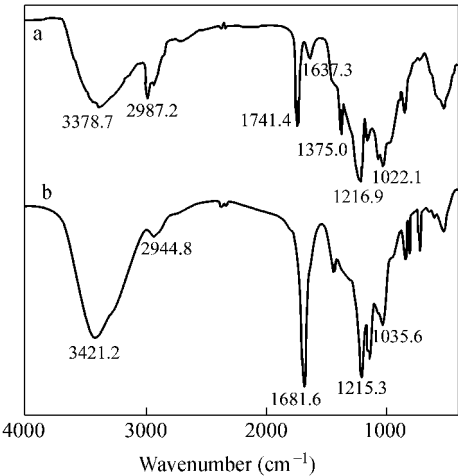


图 4 Infrared spectra of polymer b before (a) and after deprotection (b)

cm⁻¹附近的谱带说明 CH₂ 的存在 ;脱保护之后 P=N 的振动吸收峰仍存在,而 C=O 的峰向低波数移动与糖的特征峰重叠形成强吸收,指示羧酸的存在,同时 2900 cm⁻¹附近的谱带吸收减弱.这些结果表明,已将葡萄糖缩二丙酮和甘氨酸乙酯引入到聚膦腈主链,但在用强酸对葡萄糖缩二丙

酮脱保护的同时,会使甘氨酸乙酯的大部分酯键发生了水解形成羧酸.

2.2 脱保护过程对聚合物性能的影响

将 66% 葡萄糖缩二丙酮与 34% 甘氨酸乙酯共取代聚膦腈按照 1.7 节描述的方法进行脱保护处理.由于聚合物在脱保护之前是不溶于水的,随着脱保护程度的增加逐渐溶于水,因此待聚合物完全溶解后开始计时 0、2、4 和 6 h 各取一次样,纯化处理后分别测定它们的特性粘数,以水为溶剂.如表 2 所示,随着强酸作用时间的延长,聚合物的特性粘数呈下降趋势,这是因为聚膦腈主链在酸性条件下易于水解降解所致^[16].

Table 2 Influence of deprotection time on intrinsic viscosity and degree of deprotection

Time (h)	0	2	4	6
Intrinsic viscosity (mL/g)	15.6	13.7	11.7	8.9
Degree of deprotection (%)	0	—	59	62

对脱保护处理 4 和 6 h 的产物进行¹H-NMR 分析计算,发现它们相对于葡萄糖缩二丙酮的脱保护度分别只有 59% (即葡萄糖取代度为 39%) 和 62% (即葡萄糖取代度为 41%),虽然继续延长反应时间,可进一步提高脱保护度,但上升趋势趋于平缓,而聚合物特性粘数剧烈下降.考虑到下一步制备水凝胶时,首先并不需要太高的交联密度,其次需要聚合物具有一定的分子量以保证水凝胶适当的强度,第三,从理论上说葡萄糖丙酮保护基的存在不会影响材料的生物相容性,而且葡萄糖缩二丙酮侧基的相对疏水性有可能参与平衡水凝胶的亲疏水性能,对药物的释放具有一定调控功能(但这还有待药物释放试验验证),因此在后面的试验中我们均选择了 4 h 进行脱保护处理,这样既能保障 60% 左右的脱保护度,又不致使聚合物分子量下降太大,以便进行下一步的凝胶化研究.

同时要指出的是,在上述针对葡萄糖缩二丙酮与甘氨酸乙酯共取代聚膦腈的强酸作用脱保护处理中还存在一个问题,那就是甘氨酸乙酯侧基的酯键在酸作用下也会水解,生成的羧基是否会对后续的凝胶形成、凝胶性能以及胰岛素释放产生不利影响,还有待进一步验证.对葡萄糖缩二丙酮与甲氧基乙醇共取代聚膦腈进行脱保护处理时,由于甲氧基乙氧基的稳定性较好,则不会出现上述类似的现象.

2.3 凝胶化过程的研究

Con A 是一种常用的外源凝集素,用于研究特定糖类与蛋白质的相互作用,尤其适用于 D-甘露糖基和 D-葡萄糖基^[17]. Con A 与葡萄糖基聚合物结合之后会形成交联的聚集体,从而改变溶液的透光率.

将 Con A 的浓度固定为 0.83 mg/mL,比较具有不同葡萄糖基取代度的 polymer a1、polymer a2 和 polymer a3 与 Con A 的混合溶液的透光率随时间的变化(图 5). 从图中可以得出结论,加入 Con A 后,聚合物溶液的浑浊度随时间延长而增大,且葡萄糖基含量越高,与 Con A 的结合能力越强,越容易形成凝胶,溶液的透光率下降就越明显. 向上述体系中加入葡萄糖或甘露糖,可使聚集体解聚^[18],溶液的透光率上升. 这是因为 Con A 与游离的糖分子的结合能力大于接枝在聚膦腈主链上的葡萄糖分子,这一点也是实现对胰岛素葡萄糖响应释放的理论基础.

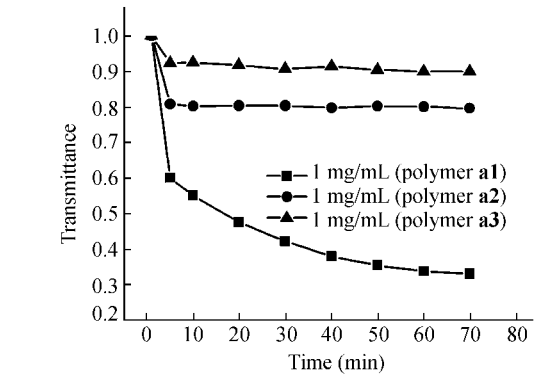


Fig. 5 Interaction of Con A (0.83 mg/mL) with polymer a1, polymer a2 and polymer a3 as measured by transmittance at 360 nm at room temperature

另外,我们测定了不同浓度的 polymer b 与

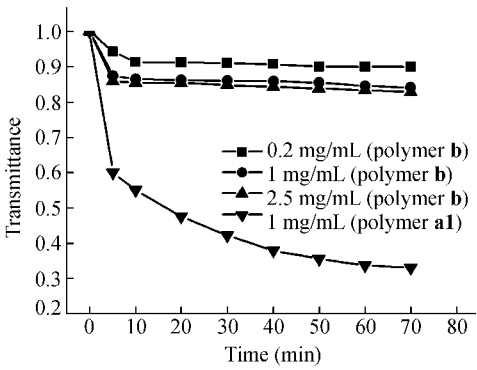


Fig. 6 Interaction of Con A (0.83 mg/mL) with polymer b and polymer a1 as measured by transmittance at 360 nm at room temperature

Con A 混合溶液的透光率随时间的变化,并与相应的 polymer a1-Con A 溶液的透光率改变进行了对比,结果如图 6 所示. 从图中可以清楚地看到, polymer b-Con A 溶液的透光率也是随着时间延长而下降,且随着聚合物浓度的增加而增大,即所形成的聚集体体积越大,溶液就越浑浊. 值得注意的是,即使在 polymer b 具有与 polymer a1 相同的溶液浓度和相似的葡萄糖侧基取代度情况下,前者与 Con A 相互作用的效果并不理想,溶液透光率下降幅度显著小于后者. 经分析认为造成这种差异的原因可能主要在于两种聚合物的水溶性的差异. Polymer a1 中的共取代基为甲氧基乙氧基,亲水性很好,所以聚合物具有良好的水溶性,而 polymer b 的共取代基为氨基酸乙酯,其本身为疏水性基团,尽管在用三氟乙酸脱保护过程中会有部分的乙酯键脱落,但并未能很好地改善整个聚合物链的亲水性,导致聚合物的水溶性较差,当 polymer b 在水溶液中的浓度升高到 5 mg/mL 后,即可用肉眼观察到溶液呈浑浊状态. 这些都说明 polymer b 没有在水中达到分子状态的溶解,其葡

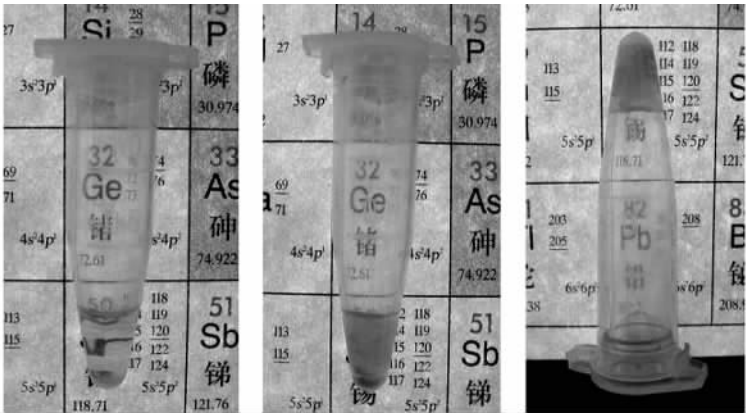


Fig. 7 Images of solution of polymer a1 before (left) and after adding Con A (middle and right)

葡萄糖侧基被包埋在内部,无法与 Con A 发生充分的相互作用。

将 polymer a1 按照 1.8 节中所述方法进行凝胶形成实验,1 min 左右即可形成如图 7 所示的不可流动的凝胶态。从图中可以看到,聚合物溶液本身是透明可流动的状态,添加 Con A 后,溶液的透明度下降且体系失去流动性,这表明聚膦腈-Con

A 凝胶体系已形成,并且该体系在游离葡萄糖存在下具有可逆性。

综上所述,通过选择合适的第二取代基、提高葡萄糖侧基的比例和增大聚合物浓度等手段是可以获得比较理想的聚膦腈-Con A 凝胶体系的,可用于对葡萄糖响应的胰岛素控制释放研究。

REFERENCES

- 1 Zhou Chen(周辰),Feng Lan(冯岚). Chinese Journal of Medicinal Guide(中国医药导刊),2006,8(5) 336 ~ 339
- 2 Zhu Ying(朱颖),Zheng Liangyuan(郑梁元). Chinese Pharmaceutical Journal(中国药学杂志),2005,40(5) 331 ~ 334
- 3 Miyata T,Uragami T,Nakamae K. Adv Drug Deliv Rev,2002,54 79 ~ 98
- 4 Ishihara K,Kobayashi M,Ishimaru N. Polym J,1984,16(8) 625 ~ 631
- 5 Cartier S,Horbett T A,Ratner B D. J Membr Sci,1995,106 17 ~ 24
- 6 Hassan C M,Doyle F J,Peppas N A. Macromolecules,1997,30 6166 ~ 6173
- 7 Podual K,Doyle F J,Peppas N A. Polymer,2000,41(11) 3975 ~ 3983
- 8 Kim J J,Park K. J Controlled Release,2001,77 39 ~ 47
- 9 Kitano S,Koyama Y,Kataoka K. J Controlled Release,1992,19 161 ~ 170
- 10 Young J K,Suna C,Joon K. Pharmaceutical Research,2001,18(4) 548 ~ 550
- 11 Allcock H R,Maher A E,Ambler C M. Macromolecules,2003,36 5566 ~ 5572
- 12 Allcock H R. Polym Mater Sci Eng,1993,69 98 ~ 99
- 13 Cai Qing(蔡晴),Zhang Teng(张腾),Bei Jianzhong(贝建中),Wang Shenguo(王身国),Jin Riguang(金日光). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2005,4 (2) 236 ~ 239
- 14 Schmidt O T. Methods in Carbohydrate Chemistry. New York :Academic Press,1963. 318 ~ 325
- 15 Allcock H R,Pucher S R. Macromolecules,1991,24 23 ~ 34
- 16 Medici A,Fantin G,Pedrin P,Gleria M,Minto F. Macromolecules,1992,25 2569 ~ 2574
- 17 Gestwicki J E,Strong L E,Kissling L L. Angewandte Chemie International Edition in English,2000,39 4567 ~ 4570
- 18 You L C,Lu F Z,Li Z C,Zhang W,Li F M. Macromolecules,2003,36(1) 1 ~ 4

PREPARATION OF GLUCOSYL-SUBSTITUTED POLYPHOSPHAZENE HYDROGELS

PIAO Xiuyu, CAI Qing, JIN Riguang

(Key Laboratory of Controllable Chemical Reactions, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029)

Abstract Two kinds of polyphosphazenes, that bear α -D-glucosyl side groups together with methoxyethoxy or ethyl glycinato as cosubstituent groups, have been synthesized and characterized by IR and ^1H -NMR analyses. They were examined in order to investigate their possible use as matrix for glucose-sensitive insulin delivery basing on the specific interaction of glucose with lection.

Briefly, the polymers were prepared *via* nucleophilic displacement of the reactive chlorines of polydichlorophosphazene with diisopropylidene D-glucose at first, and subsequently with methoxyethanol (polymer **a**) or glycine ethyl ester (polymer **b**) to substitute the residual P-Cl. After filtration and dialysis, the purified polymers were then treated with 90% trifluoroacetic acid to remove isopropylidene groups to get glucosyl groups. The formation of aggregates of glucosyl-substituted polyphosphazenes physically crosslinked by Concanavalin A (Con A) was studied by monitoring the transmittance at 360 nm of dilute polymeric aqueous solutions. Hydrogels were made by mixing concentrated glucosyl-substituted polyphosphazene aqueous solution with Con A aqueous solution.

Different polyphosphazenes with various compositions of α -D-glucosyl side group and methoxyethoxy or ethyl

glycinato side group combinations were obtained by adjusting the feeding dose of the nucleophiles. And their hydrophilicity differed from each other for the methoxyethoxy group is hydrophilic, and the ethyl glycinato group is hydrophobic, which would affect the formation of hydrogel and the drug release thereof in different way. In the deprotection reaction, the treating time needed to be prolonged to complete the hydrolysis of isopropylidene groups, however, it would cause significant cleavage of polyphosphazene backbones and degradation of cosubstituted ethyl glycinato groups (while almost no effect to methoxyethoxy) in the strong acidic condition. As a result, the deprotection ratio of glucoses was maintained at about 60% in this study to avoid remarkable decrease in molecular weight, and at the same time, the remained diisopropylidene D-glucosyl groups were considered biocompatible and might play a role in balancing polymeric hydrophilicity/hydrophobicity.

Con A is one of the most widely used lectins in studying the interaction of specific saccharide with protein, particularly, for nonreducing D-mannosyl and D-glucosyl residues. For both polymers **a** and **b**, their dilute solutions rapidly turned turbid when Con A was mixed into, and turbidity increased with increasing the concentration of polymeric solutions and the content of glucosyl side groups in the polymers due to the formation of more and larger aggregates. The aggregates could be dissociated by addition of free glucose, and transmittance of the solution increased. On the other hand, it has been found that the transmittance data of solutions of polymer **a** mixed with Con A were much larger than those of polymer **b**, even if they had the similar amount of glucosyl side groups and the same polymeric concentration. One possible reason for this phenomenon was that polymer **b** could not dissolve well in water due to the presence of hydrophobic ethyl glycinato side groups, and the interaction between Con A and glucosyl groups was hindered. Thus, hydrogels were made from polymer **a** and Con A by increasing the polymeric concentration above 10 wt%.

Higher concentrations of glucosyl-substituted polyphosphazene, more hydrophilic co-substituted side groups and higher amounts of glucosyl side groups would be in favor of hydrogel formation. This hydrogel can be a potential matrix for glucose-sensitive insulin delivery.

Key words Polyphosphazene, Glucose, Hydrogel, Insulin