

ϵ -己内酯与 D, L-丙交酯嵌段共聚物的合成及其作为生物降解性恒定释放药物的高分子载体的评价*

宋存先** 陈惠英 冯新德

(北京大学化学系)

摘 要

用负离子络合型催化剂——Al/Zn 双金属氧桥烷氧化物, $[(RO)_2OAlO]_2Zn$, 研究了 ϵ -己内酯与 D, L-丙交酯的嵌段共聚, 合成了预定结构的单分散的 ($\bar{M}_w/\bar{M}_n \approx 1.12$) AB 型嵌段共聚物, 通过控制两种链段的比例能有效控制药物释放和生物降解的速度, 可望成为新型生物降解性控制药物释放的载体及其它生物医用材料。

近年来对控制药物释放的高分子载体已有较多研究, 然而达到临床应用的却很少, 其原因之一是合成者难于对材料“裁制”以满足复杂的应用条件。已经用于临床的硅橡胶虽然提供了较好的药物释放速度, 但它在体内不能降解, 从而带来不必要的手术麻烦和痛苦, 为此近年来开始了生物降解性载体材料的研究。1977年 Schindler 等^[1]用 ϵ -己内酯 (CL) 和丙交酯 (LA) 的均聚及无规共聚物进行了试验。我们试图通过“活”的嵌段共聚方法制备指定结构的嵌段共聚物, 以期实现可控释放和降解。Teyssie 等^[2,3]曾用 Al/Zn 双金属氧桥烷氧化物- $[(RO)_2OAlO]_2Zn$ 为催化剂合成了非取代内酯——CL 与丙内酯 (PL) 的嵌段共聚物, 并证明是“活性”聚合。我们合成了这种催化剂并用于 CL 与 LA 嵌段共聚合得到成功^[4]。合成了指定结构的羟端基 AB 型嵌段共聚物, 它的微观相分离特征使其优于无规共聚物, 通过改变组成比能实现可控释放和降解。也为研究高分子材料性能对结构的依赖提供了模型材料。

实 验 部 分

主要试剂及精制

$[(n-C_4H_9O)_2AlO]_2Zn$ 按 Teyssie^[5] 的方法合成, 用 EDTA 络合滴定法^[6]分析含量。CL 经 CaH_2 干燥, 在氮气保护下减压蒸馏, $bp \cdot 82^\circ C/1.5mmHg$, $n_D^{20} = 1.4611$ 。LA 按照 Kulkarni^[7] 方法合成, 乙酸乙酯重结晶, $mp \cdot 125-126^\circ C$ 。使用前 $40^\circ C/2mmHg$ 干燥 24

* 1982年3月13日收到。

** 现在医科院生物医学工程研究所。

小时。

嵌段共聚合

CL 均聚及“活性”验证参照 Teyssis^[8] 方法进行。LA 均聚在 100ml 彻底干燥并充满高纯氮气的密闭聚合管中用类似的方法进行。

CL 与 LA 嵌段共聚合采用顺序聚合法, 先令 CL 在“活性”聚合条件下达 100% 转化, 冷至室温后在氮气保护下加入 LA 继续聚合。共聚物用正庚烷沉淀, 真空烘箱 40℃ 干燥 24 小时。

嵌段共聚物的分级

以冷丙酮 ($\leq 10^\circ\text{C}$) 为 PLA 的选择性溶剂, 氯仿为共溶剂, 正庚烷为共沉淀剂。共聚物先用 10℃ 丙酮萃取 3 小时, 离心分离; 沉淀部分用丙酮-氯仿混合剂逐步溶解分级后; 分离出纯的 PCL。对溶解在纯丙酮中的那部分用正庚烷逐步沉淀分级, 最后分离出纯的 PLA。

嵌段共聚物的表征

数均分子量用 VPO(QX-08 型) 以氯仿为溶剂 35℃ 测定。特性粘度 $[\eta]$ 在苯溶液 (0.2% g/dl) 30℃ 测定。分子量分布用 GPC (waters 440) 在 0.5% THF 溶液中室温下测定。CL/CA (克分子) 用 $^1\text{H-NMR}$ (WH-90) 测定, 条件 CDCl_3 为溶剂, TMA 为内标, 90 HZ。CL/CA (克分子) = $\delta 5.2\text{ppm}/\delta 4.1\text{ppm}$ 。电子显微图象取自 TEM 60 型透射式电子显微镜。

降解和释放性能的试验

体外降解试验 0.02 cm 厚的聚合物膜浸泡于 50℃ 恒温去离子水中, 定时剪下小片样品, 测定 $[\eta]$ 值随时间的变化。

药物释放试验 将十八甲炔诺酮(女性抗生育药物) 分散在聚合物的苯溶液中, 制成 $1 \times 1\text{cm}^2$ 的薄膜(含药 30%), 浸泡在 400 ml 37℃ 的去离子水中, 连续搅拌, 每隔 24 小时更换一次水溶液。释放到水液中的微量药物先用氯仿萃取, 除去氯仿后再用定量无水乙醇溶解, 测定 240nm 波长的光密度值, 以 $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 544$ 计算释放的药物量。

结 果 与 讨 论

LA 均聚合

为了用 $[(n\text{-BuO})_2\text{AlO}]_2\text{Zn}$ 为催化体系实现 CL 与 LA 嵌段共聚, 首先要证实 LA 能否用它开环聚合以及聚合的最佳条件。结果示于表 1。聚合温度由室温提高至 90℃ 后, 体系由异相变为均相, 有利于提高速度和转化率。单体聚合前彻底干燥, 是达到高转化率的关键。我们选择了 9-12 为最佳聚合条件进行嵌段共聚合的尝试。

$\epsilon\text{-CL}$ 在 90℃ 的聚合特征

文献[8]报道了 $[(\text{RO})_2\text{AlO}]_2\text{Zn}$ 化合物室温催化 CL 聚合是完善的“活性”过程。我们进一步观察发现温度升高, 催化剂受杂质影响更敏感, 痕量 O_2 、 H_2O 等的存在都使其完全失去活性。彻底排除上述杂质后, 我们证明了在 90℃ 聚合仍具有“活”性特征。表 2 的两步聚合结果表明向已经 100% 转化的 PCL 体系中再加入等量单体, 能继续聚合至完全转化, 最后聚合物的分子量恰好增大了将近一倍, 它们的 GPC 谱图(图 1) 进一步表明聚

表 1 LA 用 $[(n-C_4H_9O)_2AlO]_2Zn$ 催化聚合的结果*

实 验 号	单 体		温 度	体 系	时间(小时)	转化率(%)
	mp(°C)	聚合前干燥处理				
9-05	123—126	否	20	异相	15	40
9-06	123—126	否	90	均相	5	70
9-12	125—126	处理	90	均相	3	95

* [催化剂] = 5.0×10^{-3} 克分子/升, [LA] = 1.0 克分子/升, 溶剂: 甲苯表 2 ϵ -CL 两步聚合的结果*

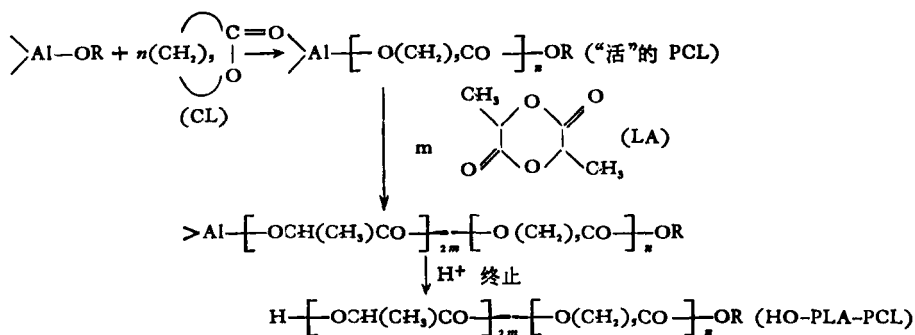
	第一次聚合	补加单体后聚合
ϵ -CL (克)	6.4	6.4
时间(小时)	3	3
转化率(%)	100	100
$\bar{M}_w$	12,000	23,000
$\bar{M}_w/\bar{M}_n$	1.12	1.12

* 90°C, [C] = 5.5×10^{-3} , 溶剂: 甲苯.

合物的分子量分散度并没有增加, $\bar{M}_w/\bar{M}_n$ 为 1.12. 另一个实验证明了聚合物的 $\overline{DP}$ 与 $[M]/[c]$ 配比成相应的直线关系(图 2)

嵌段共聚物的合成及表征

嵌段共聚的原理可用下式表示



由表 3 可见,“活”的 PCL 能引发 LA 聚合, 转化率达 90—100%, 聚合速度与 LA 均聚(表 1) 相比并未明显减弱. 测出的嵌段共聚物的分子量比 PCL 预聚物显著增大并且接近于按照“活性”嵌段共聚合计算的理论值, 从而证实生成了嵌段共聚物而不是均聚物的混合物. GPC 分析表明(图 3), 所有共聚物的 GPC 谱图都是对称的单峰, 分子量分布很窄($\bar{M}_w/\bar{M}_n \approx 1.10$), 说明嵌段共聚过程没有明显的链终止或链转移反应, 具有“活”的聚合特征, 因此有可能预先选择适当的单体配比和 $[M]/[c]$ 比, 得到指定组成和分子量的嵌段共聚物. 我们用 CL/LA = 65/35 的单体配比, 在 $[CL]/[c] = 300$, $[LA]/[c] = 200$ 的指定条件下嵌段共聚, 预计得到组成比为 CL/LA = 65/35, 数均分子量 $\bar{M}_n$ 为 3×10^4 的嵌段共聚物, 然后将此样品(6-05) 分级, 测定各级分的组成和分子量, 得

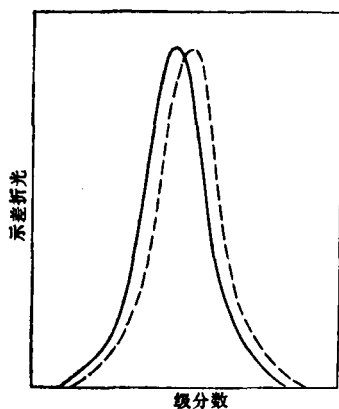


图 1 CL 两步聚合的 GPC 图
—— 第一步聚合物; ----- 最后聚合物

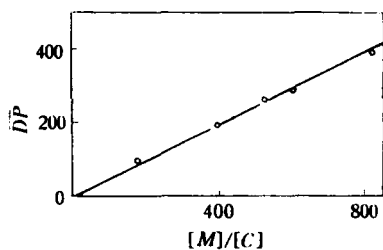


图 2 CL 90℃ 聚合时 $[M]/[C]$ 与 $\overline{DP}$ 的关系

表 3 嵌段共聚合的条件及结果*

编 号 条 件	11-18		11-19	
	ϵ -CL	D,L-LA	ϵ -CL	D, L-LA
$[M]_0$ (克分子/升)	1.8	1.5	0.9	0.86
$[M]/[C]$	200	176	94	82
时间(小时)	3	3	3	3
转化率(%)	100	100	100	91
结 果	PCL 预聚物	嵌段共聚物	PCL 预聚物	嵌段共聚物
理论 $\overline{M}_n^{**}$	11,400	11,400+12,672	5,358	5,358+5,374
实测 $\overline{M}_n^{***}$	10,239	22,423	5,638	9,829
$\overline{M}_w/\overline{M}_n$	1.12	1.12	—	—

* 90℃, 甲苯, $[C] = 5.5 \times 10^{-3}$ 克分子/升, ** 按照“活”的聚合原理由 $[M]/[C]$ 及转化率计算, *** VPO 测定。

表 4 嵌段共聚物 (6-05) 的分级结果

级 分	性 质	重量(%)	CL/LA (克分子)*	$\overline{M}_n \times 10^{-4}^{***}$	$\overline{M}_w/\overline{M}_n$
1	PCL-b-PLA	10.2	40/60	2.8	1.14
2	PCL-b-PLA	58.0	65/35	3.0	1.14
3	PCL-b-PLA	31.8	75/25	3.0	1.12
4	—	0	—	—	—

* ^1H -NMR 测定, ** VPO 测定

到结果表明 (表 4), 嵌段共聚物的分子量十分均一, 与预定值基本相同。各级分的组成略有差别, 但没有可测出量的均聚物, 即得到了定量的嵌段共聚物, 其中与预定组成完全相同的级分占 60% 以上。

为了进一步评价嵌段共聚物的性能, 我们合成了一系列不同组成的嵌段共聚物样品, 它们的基本物理常数列于表 5。

表 5 几种不同组成的嵌段共聚物的一般物理机械性能

聚合物 N_0	CL/LA* (mol)	$\bar{M}_n \times 10^{-4}$	$\bar{M}_{PCL}/\bar{M}_{PLA}^{**}$	T_m (°C)	抗张强度 (kg/cm ²)	$\bar{M}_w/\bar{M}_n$
12-03	100/0	4.5	45,000/0	63	273	1.12
12-05	88/12	4.0	34,000/6,000	65	229	1.09
12-04	72/28	3.9	26,000/13,000	64	220	1.05
6-05	65/35	3.0	20,000/10,000	66	202	1.14
12-06	0/100	1.3	0/13,000	—	220	—

* ¹H-NMR 测定值, ** 由共聚物的 $\bar{M}_n$ 与 CL/LA 比计算得到。

DSC 测定结果表明,所有嵌段共聚物在 +65°C 附近都出现了明显的与 PCL 均聚物非常类似的熔点吸热峰。共聚物的粘弹谱曲线在 -50°C 和 +50°C 有两个 T_g 转变,分别接近于两个母体均聚物 PCL(T_g , -60°C) 和 PLA (T_g , +53°C) 的 T_g 温度,表现出明显的微观相分离结构。电子显微镜观察的结果也证实了这一点。图 4(a)为 PCL 均聚物形成的硕大球晶的晶片; (b) 和 (c) 表明含 LA12% 的嵌段共聚物具有与 PCL 均聚物类似的晶片结构,并可观察到球晶的边界和晶核,说明生成了较小的球晶。(d) 表明含 LA 35% 时仍能生成小的晶核和卷曲的晶片,但没有完整的球晶。由此可见,嵌段共聚物中的 PCL 链段具有与 PCL 均聚物类似的结晶行为,但无定型的 PLA 链段的存在可以影响其结晶度,随着 LA 含量增加结晶度逐渐下降,我们认为,正是这一形态特征导致了若干性能对组成的依赖关系,而优于无规共聚物。

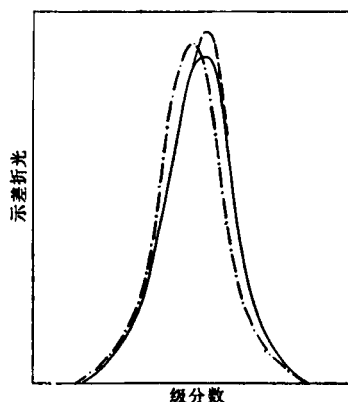


图 3 GPC 谱图

--- PCL (12-03);
 PCL-b-PLA (12-05);
 — PCL-b-PLA (12-06)

体外生物降解性能的评价

由图 5 可见,嵌段共聚物的降解速度正好界于两个母体均聚物之间并且随着 LA 含量比的增加降解速度加快。可以预料,通过改变组成比可以在几个月到几年的范围内调节嵌段共聚物的降解速度,以满足不同应用的需要。

体外药外释放的初步评价

为了试验嵌段共聚物对药物释放的控制作用,我们选用了临床使用的甾类抗生育药——十八甲基炔诺酮为例,测定了它从聚合物包埋膜的释放,结果示于图 6。所有样品都有缓慢释放的作用。在开始四天的突释后能维持较长时间相对恒定的释放速度;嵌段共聚物的释放速度随着组成比而变化,减小 LA 的比例使得释放速度显著加快,当 LA 含量减至 12% 时,观察到释放速度变得比 PCL 均聚物快了,这与它的形态特征有关。已经知道, PCL 的透过性随着结晶度下降而增加,而 PLA 本身透过性很差,比 PCL 小 10^4 倍^[9]。当这两者形成嵌段共聚物后,在 PCL 链段形成的折选链晶片的表面上附着了无定型的 PLA 链段,这些 PLA 链段对药物释放起着两个相反的作用:一是降低 PCL 链段的结晶度而有利于药物释放;二是云集在晶片表面阻挡了药物的穿透。当 LA 含量很小时(如 12%),前者作用超过后者,表现出释放速度比 PCL 快,当 LA 含量较大时(如 28%),后一个作用

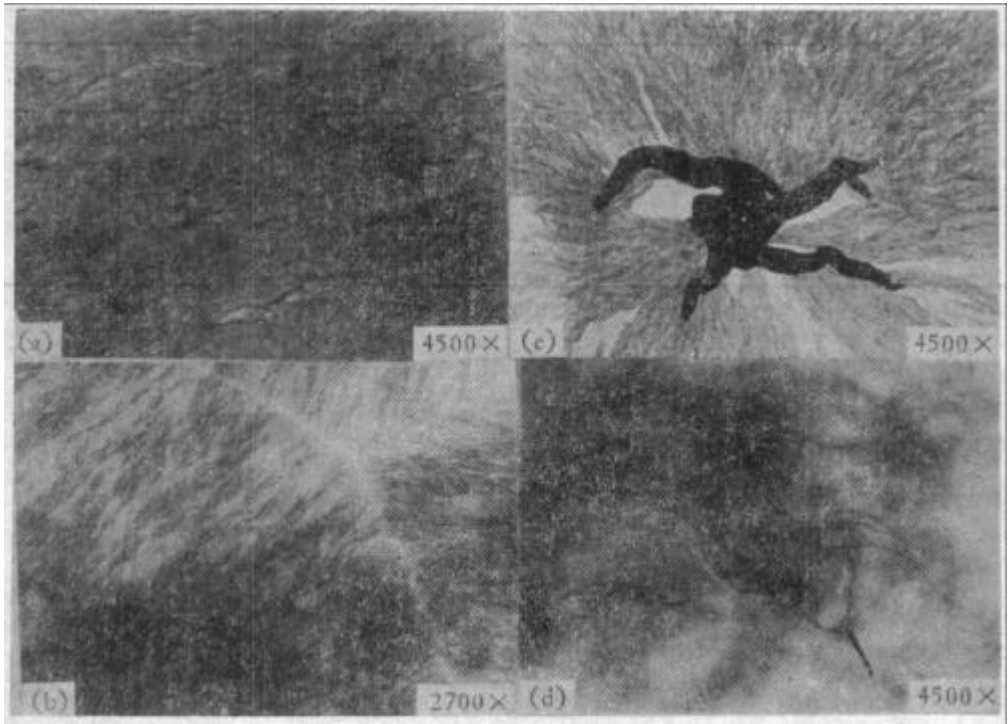


图 4 不同组成比的 PCL-b-PLA 的电子显微照片

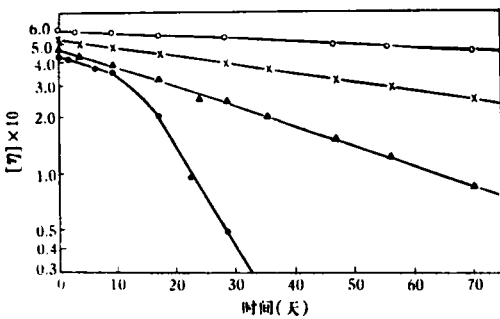


图 5 体外降解试验结果

50℃, 0.02cm 厚膜, —○—12-03; —×—12-05;
—△—12-04; —●—12-06

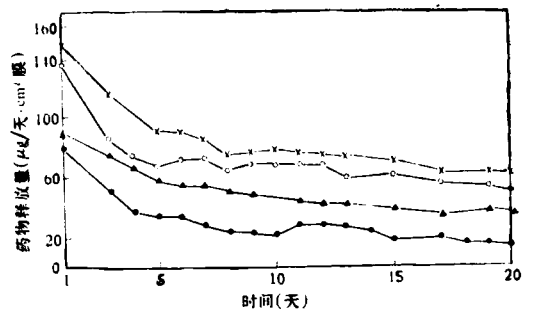


图 6 十八烷基炔诺酮的体外释放

37℃, 0.02cm 包埋膜, —○—12-03;
—×—12-05; —△—12-04; —●—12-06

占主导地位, 导致释放速度比 PCL 低。正是由于嵌段共聚物具有这种特殊的结构形态, 才使其优于无规共聚物, 有可能通过改变组成比达到选择性地控制释放。

致谢: 本工作中物化测试部分工作承张广利、冉瑞成、沈其丰同志协助完成, 谨此致谢。

参 考 文 献

- [1] Schindler, A., et al., "Contemporary Topics in Polymer Science", Plenum Press, 1977, Vol. 2, pp. 251—286.
- [2] Teyssie, P. Ouhadi, T. and Bioul, J. P., "International Review of Science, Physical Chemistry Series Two", 1975, Vol. 8, pp. 191—202.

- [3] Hamitou, A. and Teyssie, P., *J. Polym. Sci.*, 1977, 15 (5), 1035.
- [4] 宋存先, 北京大学化学系高分子教研室, 硕士学位论文, 1981, 75.
- [5] Osgan, M., Charpentier, R. and Teyssie, P., *Brit. Pat.*, 1, 274,168 1971, Sep. 22.
- [6] 北京大学化学系分析教研室, 《定量分析》, 北京大学印刷厂, 1974, pp. 90.
- [7] Kulkarni, R. K., et al., *J. Biomed. Mater. Res.*, 1971, 5, 169.
- [8] Hamitou, A., Ouhadi, T., Jerome, R. and Teyssie, P., *J. Polym. Sci.*, 1977, 15 (4), 865.
- [9] Pitt, C., Schindler, A. and Zweidinger, R. A., In Gabelnick, H. L., (ed.): "Drug Delivery Systems", DHEW Publication No. (NIH) 77: 1238, 1977, pp. 141—192.

PREPARATION OF BLOCK COPOLYMER OF ϵ -CAPROLACTONE AND D,L-LACTIDE AND THEIR EVALUATION AS CARRIER FOR BIODEGRADABLE SUSTAINED DRUG DELIVERY

Song Cunxian, Chen Huiying and Feng Xinde

(Department of Chemistry, Peking University)

ABSTRACT

The "living" sequential block copolymerization of ϵ -caprolactone (CL) and DL-lactide(LA) by bimetallic μ -oxobutoxide has been investigated and the well defined AB type block copolymers with narrow molecular weight distribution ($\bar{M}_w/\bar{M}_n$ 1.1) and microphase separation morphology were synthesized. In vitro, the complete degradation time of the block copolymer films in deionized water at 50°C ranging from several months to 3 years depending on the molar ratio of CL/LA, in it. In vitro the matrix release rate of norgestrel varies with the ratio of CL/LA.