

·研究简报·

可聚合脂质体的研究

Ⅳ. 含丙烯酰基的类脂分子及其与亲水性丙烯酰单体的共聚物*

金 威 曲青蓝 李子臣 李福绵

(北京大学化学与分子工程学院 北京 100871)

关键词 可聚合类脂分子, 共聚, 自组织, 脂质体

脂质体因其优异的生物相容性做为药物释放材料而备受瞩目. 一般说来, 脂质体的稳定性较差, 易于集聚和融合, 其使用难尽人意. 为此, 许多方法被用以稳定脂质体^[1]. 近年来, 聚合型脂质体因其具有较高的稳定性, 释放速度可调, 以及可选择共聚单体的多样性等日益受到重视^[1,2]. 我们曾采用脂质体表面亲水性氨基酸基团缩聚的方法得到稳定的多肽型脂质体^[3,4], 但制备方法复杂, 另外脂质体表面上的缩聚反应也难以控制且有缩合剂等残留其中, 给应用带来不便. 为此, 我们希望通过先合成双亲性聚合物, 然后用聚合物来制备脂质体的方法来得到稳定性高的脂质体, 这一方面可避免有序组合体中聚合反应带来的副反应对脂质体膜结构的破坏, 另一方面由于聚合是在类酯分子的亲水基团间进行, 所形成的脂质体双分子层膜的基本性质(如相变和流动性等)也可保持. 我们分别以苹果酸和天冬氨酸为基础合成了两类四个可聚合类脂分子, 即 O-丙烯酰基-苹果酸双十六酯(LM16-A), O-甲基丙烯酸基-苹果酸双十六酯(LM16-MA), N-丙烯酰基-天冬氨酸双十六酯(Asp16-A), N-甲基丙烯酰基-天冬氨酸双十六酯(Asp16-MA); 将四种单体分别与两种水溶性共聚单体, 甲基丙烯酸羟乙酯(HEMA)和 γ -O-甲基丙烯酰基-丙磺酸钾(SAMSP)共聚得到双亲性共聚物; 初步研究了类酯分子中亲水基与疏水长链键结方式的不同(酯键或酰胺键)对类酯分子及其共聚物性能的影响, 以及类酯分子及双亲性共聚物在水中自组织为脂质体结构的特点.

1 单体的合成

四种可聚合类脂分子通过两步反应合成得到, 第一步是苹果酸或天冬氨酸在对甲苯磺酸催化下和十六醇在苯中回流脱水 10h 制得苹果酸双十六醇酯和天冬氨酸双十六醇酯对甲苯磺酸盐; 第二步是相应双十六醇酯与丙烯酰氯或甲基丙烯酰氯在三乙胺存在下, 0℃下反应 24h 制得四种单体. 经甲醇重结晶后, 得到四种单体均为白色粉末. 其结构均经过 IR、NMR、MS 和元素分析所证明, 室温下均易溶于普通有机溶剂. 产率及熔点如下:

LM16-A, m. p. 28~30℃, 产率: 45%; LM16-MA, m. p. 23~24℃, 产率: 90%;

Asp16-A, m. p. 70~72℃, 产率: 76%; Asp16-MA, m. p. 58~59℃, 产率: 92%.

* 1997-02-20 收稿, 1997-06-08 修稿; 国家自然科学基金(No 59603004)和国家教委留学回国人员科研启动基金资助项目

由于 LM16-A, LM16-MA 丙烯酰基与苹果酸双酯的羟基以酯键相连, 而 Asp16-A, Asp16-MA 是天冬氨酸双酯的氨基与丙烯酰基间以酰胺键相连, 分子间可以形成氢键, 因此分子间的相互作用力较强, 前两者的熔点较后两者低. 比较含丙烯酰基和甲基丙烯酰基的单体看来, 后者由于甲基的影响, 熔点较低(熔点具体数值列于各单体后).

2 双亲性共聚物的合成

2.1 类酯分子与 HEMA 的共聚合 将上述类酯单体与 HEMA 按类酯单体/HEMA 分别为 2:1、1:1、1:2、1:3、1:5(摩尔比)的比例溶于苯中, 通氮气 10min, 以 AIBN 为引发剂(为单体量的 1%(摩尔比)), 于 60℃ 下进行封管聚合. 24h 后, 冷却至室温, 将聚合液倒入石油醚中沉淀, 过滤得到的聚合物反复用水洗以除去 HEMA 均聚物, 真空干燥得到结构如图 1 所示的共聚物-1. 当共聚单体中 HEMA 量增加时, 所得共聚物-1 的形态由无色蜡

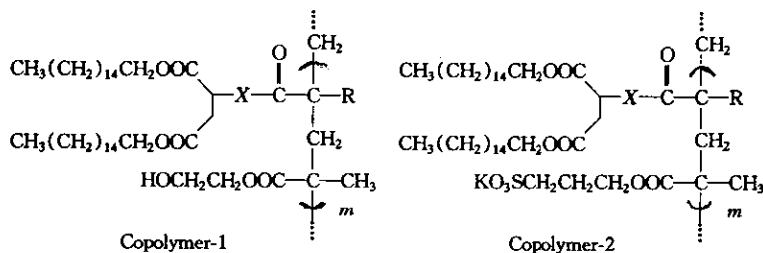


Fig. 1 Synthesized amphiphilic copolymers

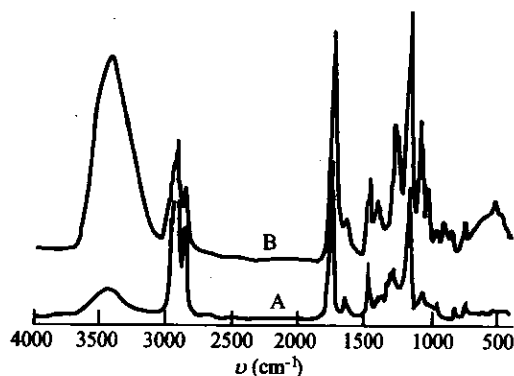


Fig. 2 FT-IR spectra of (A) LM16-MA; (B) poly(LM16-MA-co-HEMA)

状固体变为白色固体粉末. LM16-MA 与 HEMA(摩尔比 1/3)共聚所得共聚物-1 的 FT-IR 谱如图 2 所示. 与单体相比共聚物-1 的红外光谱有以下特点: (1) 3400cm⁻¹ 吸收强度明显增强, 这是由于共聚物中—OH 存在的结果. (2) 890cm⁻¹ 或 990cm⁻¹ (γ=C—H, 分别对应于 R—C=CH₂ 和 R—CH=CH₂ 类型双键) 的峰的消失; (3) 2900cm⁻¹ (νC—H) 与 1730cm⁻¹ (νC=O) 峰面积之比在聚合物中减少; 同时 2900cm⁻¹ (νC—H) 与 1100cm⁻¹ (νC—O—C) 峰面积之比也减少; 以上均说明两种单体的共聚合得到了如图 1 所示结

构的共聚物-1.

共聚物-1 因 HEMA 和类酯分子的单体配比不同, 为蜡状固体到白色粉末, 室温下基本不溶于常用的有机溶剂. 由 Asp16-MA 和 HEMA 按不同共聚比例所得聚合物的共聚组成列于表 1 中. 可以看出共聚物中 HEMA 的含量稍低于单体的投料比, 只有当 HEMA 是类脂单体的二倍以上时, 方能得到共聚物的白色固体粉末.

Table 1 Copolymerization of Asp16-MA with HEMA

Comonomer feed [*]	Copolymer composition [*]	Copolymers
2:1	1:0.3	Waxy solid
1:1	1:0.8	Waxy solid
1:2	1:1.3	Waxy solid
1:3	1:2.4	Solid powder
1:5	1:4.1	Solid powder

* Molar ratio of Asp16-MA to HEMA

2.2 类酯分子与 SAMAP 的共聚合 将上述类酯单体与 SAMAP 按类酯单体/SAMAP 为 1:3(摩尔比)的比例溶于甲醇中,按和 HEMA 共聚相同的条件得到结构如图 1 的共聚物-2,均为白色粉末.同样测得共聚物的 FT-IR 谱与单体红外光谱的差别,表明发生了共聚反应.当 SAMAP 与 LM16-MA、LM16-A、Asp16-MA、Asp16-A 的投料摩尔比皆为 3 时,所得共聚物经元素分析硫元素含量计算出共聚物-2 中 SAMAP 与类酯分子的摩尔比分别为 2.23、2.48、2.35、2.70.

单体与共聚物的性质包括表观状态、溶解性、熔点等都有很大的不同.单体均为低熔点的白色固体粉末,易溶于常用的有机溶剂;由于上述两类共聚物在有机溶剂中的溶解性均较差,因而目前没有测定其分子量.

3 类酯分子及其共聚物在水中的自组织行为

4 种单体及其均聚物易溶于有机溶剂,分子的亲水性较低,因此尽管它们可以在水面形成稳定的单分子层及多层膜^[5],但它们难以在水中超声分散为有序的脂质体双分子层膜.共聚物-1 在不同 pH 值的缓冲溶液中超声同样难以得到均匀的脂质体溶液,尽管共聚物-1 由于 HEMA 的引入,在一定程度上增加了亲水基团的亲水能力,但整体分子的亲水-疏水平衡仍难以满足自组织为脂质体结构的要求,另外由于脂质体结构的形成还依赖于亲水基团的大小,若亲水基团本身体积较小也难以满足脂质体结构的曲率要求而得到稳定的脂质体双分子层膜;另外在由 Asp16-A 和 Asp16-MA 形成的共聚物-1 中,尽管分子间存在氢键作用力但仍不足以使分子在水中有序排列为脂质体膜结构.

分别取 8mg 聚合物-2 放于试管中,加入 4mL 硼砂缓冲溶液(pH8.4),超声 20min(60W,水浴,70℃),可得透明带乳光溶液,用负染色法在透射电子显微镜下观察该溶液,可以看到典型的脂质体双分子层膜.图 3 给出的是由 LM16-MA 和 SAMAP(摩尔比 1/3)共聚所得聚合物-2 在水中自组织形成的脂质体的电镜照片.这说明聚合物-2 中磺酸基的引入使共聚物的亲水-疏水平衡适中和亲水性基团的体积适当,因而可以形成脂质体双分子层膜;另外所形成的脂质体之间的静电相互作用,使形成的脂质体不易发生集聚,因而呈

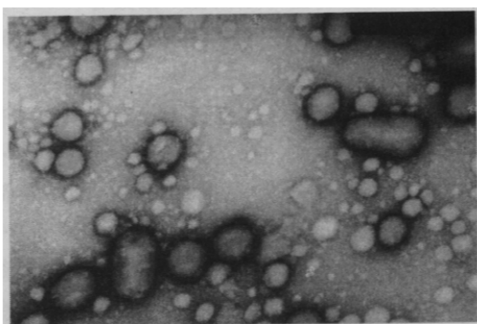


Fig.3 Electron microphotograph of poly(LM16-MA-co-SAMAP) liposomes in borate buffer (pH8.4, magnification $\times 49000$)

现较高的稳定性. 从电子显微镜观察看不出四种共聚物所形成脂质体结构上的差别, 因此不能反映出丙烯酸酯与甲基丙烯酸酯以及酯类和酰胺类共聚物之间的差异, 但这种差异会在脂质体其它性质如相变温度上得到反映; 有关的性质的研究尚在进行中.

REFERENCES

- 1 Ringstorf H, Schlarb B, Venzmer J. *Angew Chem Int Ed Engl*, 1988 27:113~145
- 2 Singh A, Schnur J M. *Polym Adv Tech*, 1994 5:358~373
- 3 He Wei(何巍), Li Zichen(李子臣), Li Fumian(李福绵). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 1996 (5):615~619
- 4 Li Z C, He W, Li F M. *Reactive & Functional Polym*, 1996 30:299~308
- 5 Laschewsky A, Ringsdorf H, Schmidt G, et al. *J Am Chem Soc*, 1987 109:788~796

POLYMERIZABLE LIPOSOMES

IV ACRYLOYL-MODIFIED LIPIDS AND THEIR COPOLYMERS WITH HYDROPHILIC ACRYLOYL MONOMERS

JIN Wei, QU Qinglan, LI Zichen, LI Fumian

(*College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871*)

Abstract Four acryloyl-modified polymerizable lipids derived from malate and aspartate, i. e. O-acryloyl dihexadecyl malate (LM16-A), O-methacryloyl dihexadecyl malate (LM16-MA), N-acryloyl dihexadecyl aspartate (Asp16-A), N-methacryloyl dihexadecyl aspartate (Asp16-MA), were synthesized and copolymerized with two hydrophilic monomers: 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and 3-sulfopropyl-methacrylate potassium salt (SPMAP) to form amphiphilic copolymers. The selforganization of these copolymers was investigated in water. It is found that the formation of stable liposomes from these copolymers depends largely on the nature of the comonomers. Thus, the copolymers with weak hydrophilic groups (HEMA) couldn't form liposome, while the copolymers with strong hydrophilicity and large size (SAMAP) could form stable liposomes.

Key words Polymerizable lipids, Copolymerization, Self-organization, Liposome