

利用酸敏感超支化聚缩醛制备聚乳酸多孔微球*

陈蕊¹ 罗军¹ 卢毅¹ 於麟¹ 涂克华^{1,2} 蒋宏亮^{1,2} 王利群^{1,2**}

(¹ 浙江大学高分子科学与工程学系 ² 教育部高分子合成与功能构造重点实验室 杭州 310027)

摘 要 通过缩醛转移聚合合成了一种具有酸敏感特性的超支化聚缩醛(HBPAs),对该聚合物降解行为的研究表明,该聚合物具有很强的酸敏感特性,在 pH 为 5.0 时,短时间内可发生迅速的降解,而在 pH 为 7.4 时,该聚合物基本不发生降解.利用该聚合物的酸敏感特性,其在弱酸性条件下降解速率远远超过 PLA 的降解速率,制备了多孔 PLA 微球.进一步研究发现,通过调控超支化聚缩醛(HBPAs)与 PLA 的投料比,可以线性调控 PLA 多孔微球的孔径尺寸,并拟合得到了线性方程.DSC 结果以及对微球降解过程的观察表明,在共混微球内部,HBPAs 与 PLA 会发生一定的相分离,使得在酸降解的过程中,更有利于微球内部的 HBPAs 组分发生降解.

关键词 超支化聚缩醛,酸敏感,致孔剂,多孔微球

聚合物多孔微球因具有高的比表面积以及能够包载多种多样的药物^[1,2]使其被广泛应用^[3].根据孔径的尺寸大小,可以分为大孔、介孔和微孔球.常用的方法有两种^[4],一种是从单体聚合过程中直接形成多孔聚合物微球,最主要的聚合方法为悬浮聚合^[5];另一种为先合成聚合物,然后通过加入致孔剂材料用单/双乳液法制备多孔聚合物微球^[6].

在实际的研究中,有很多物质可用作致孔剂,比如用溶剂可以作为致孔剂.甘志华等^[7]研究了溶剂种类对于制备不同形貌多孔微球的影响,研究发现二氯甲烷,三氯甲烷,甲苯作为溶剂时可以得到多孔结构的微球,而乙酸乙酯作为溶剂时则可以得到中空结构的微球.另外,线性聚合物作为致孔剂也可以用于多孔微球的制备,但是它常常和另外一种溶剂一起用作致孔剂.目前,已经应用于多孔微球制备的聚合物主要有 PMMA^[8], PS^[9], PEO^[10], PPG^[11], PDMS^[12]等.在早期的研究中,Horak 等^[9]利用不同分子量的 PMMA 和 PS 作为致孔剂,研究了在制备多孔 GMA 和 EDMA 共聚物微球方面的应用.Ferreira 等^[10]的研究结果表明 PS 的加入提高了制备的多孔微球的孔的质量.还有人分别研究了大分子致孔剂的分子量

和添加量对多孔微球性能的影响^[11,12].

尽管有很多线性聚合物材料用作致孔剂,但是将其作为致孔剂应用时,往往需加入有机溶剂作为辅助致孔剂,这样会使得到的多孔聚合物微球具有 2 种孔径尺寸;而且不同的聚合物之间相容性会有差异,相分离很难控制^[12,13].

本文合成了一种新型可酸敏感降解超支化聚缩醛^[14,15],利用其作为致孔剂制备了多孔聚乳酸微球.由于超支化聚缩醛特殊的分子拓扑结构,与聚乳酸间的相容性,以及在弱酸性环境下高度的酸敏感降解特性,使得所制备的聚乳酸多孔微球的微孔分布和微孔尺寸非常均匀,而且多孔微球的孔径尺寸可以线性调节.

1 实验部分

1.1 原料

4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛,东京化成工业株式会社,直接使用.原甲酸三甲酯,(±)-樟脑-10-磺酸,蒙脱土 K10 和苯甲醛二甲缩醛,阿尔法爱莎.聚合用的催化剂 PCS 按照 GirishCh 等提出的方法自制.数均分子量为 20×10^4 的聚乳酸(PLA)用两步法合成.其它有机溶剂和试剂,国药试剂,使用前未做任何处理.

* 2013-10-23 收稿,2013-11-25 修稿.

** 通讯联系人,E-mail:lqwang@zju.edu.cn

doi:10.3724/SP.J.1105.2014.13371

1.2 仪器

核磁共振氢谱($^1\text{H-NMR}$), Bruker 500 型核磁仪(氘代三氯甲烷 CDCl_3 为溶剂, 四甲基硅烷 TMS 为内标). 凝胶色谱仪(GPC), Waters 1515 型 GPC(流动相为四氢呋喃 THF, 流速为 1.0 mL/min , 单分散 PS 为标样). 高效液相色谱仪(HPLC), FL2200P 高效液相色谱仪(浙江福立分析仪器公司制造, 流动相为甲醇-水, 采用紫外-可见光检测器). 美国 TAQ200 示差扫描量热仪(DSC), 氮气氛围下, 升温速率为 10 K/min . 扫描电子显微镜(SEM)型号为 TSM-5510 < V, STEREOSCAN.

1.3 超支化聚缩醛(HBPAs)的合成

1.3.1 聚合单体的合成

取 5.0 g 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛, 30 mL 原甲酸三甲酯, 50 mg 蒙脱土 K10(催化剂)溶于 100 mL 无水甲醇中, $100\text{ }^\circ\text{C}$ 回流反应 24 h . 冷却至室温, 加入少量的 NaHCO_3 搅拌 30 min 终止反应, 过滤除去不溶物, 滤液用旋转蒸发仪除去溶剂, 得到聚合单体, 备用.

1.3.2 超支化聚缩醛(HBPAs)的合成

取 2.0 g 单体、 0.25 g PCS 和 0.025 g 苯甲醛二甲缩醛置于 10 mL 反应管中, 在干燥 Ar 气氛中, 室温搅拌 15 min , 升温至 $70\text{ }^\circ\text{C}$, 继续搅拌 15 min , 使反应物充分混合, 升温至 $110\text{ }^\circ\text{C}$, 预聚合 $2\sim 3\text{ h}$. 然后, 在 Ar 气氛下, 将反应管冷却至室温. 在减压(真空度为 0.01 MPa)条件下, 升温至 $110\text{ }^\circ\text{C}$, 聚合反应 2 h . 此后, 将反应管冷却至室温, 用 THF 溶解反应管中的聚合物, 加入少量 NaHCO_3 粉末终止聚合反应, 继续搅拌 10 min . 抽滤除去不溶物, 旋蒸除去有机溶剂. 在含有少量三乙胺的无水甲醇中将得到的粗产物备用.

1.4 超支化聚缩醛的降解

取 10 mg 聚合物溶解于 2 mL DMF 中, 待聚合物完全溶解后, 倒入截断分子量为 $100\sim 500$ 的透析袋中透析, 透析液为醋酸缓冲溶液($\text{pH} = 5.0$, 0.1 mol/L)和 PBS 缓冲溶液($\text{pH} = 7.4$, 0.1 mol/L). 透析内液为 2 mL DMF, 透析外液为 50 mL 缓冲溶液. 透析体系放置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温振荡箱中, 固定间隔吸取 1 mL 透析外液, 加入 0.15 mL NaOH 溶液(0.1 mol/L)以终止水解反应. 每次吸取外液后, 补加 1 mL 新鲜缓冲液以维持透析外液的总体积. 用微量进样器吸取 $20\text{ }\mu\text{L}$ 中和后的溶液, 用 HPLC 检测水解产物 4-(2-羟基乙氧基)苯

甲醛对应峰的面积, 利用标准曲线法计算水解程度. 检测条件为紫外-可见检测器, 流动相为 $V(\text{甲醇}):V(\text{水}) = 3:7$.

1.5 多孔微球的制备

制备多孔微球的方法分为两步. 第一步, 首先用单乳液法^[16]制备含有 HBPA 和 PLA 两种组分的共混微球. 将超支化聚缩醛和聚乳酸按照不同的质量比($1:1$, $1:2$, $1:4$)溶解于二氯甲烷中, 然后将溶有两种聚合物的二氯甲烷溶液逐步滴加到含有质量分数为 1% 的 PVA 水溶液中, 在磁力搅拌下, 使二氯甲烷逐渐挥发, 搅拌过夜, 得到共混微球. 第二步, 将制备得到的共混微球在酸性溶液中降解. 将得到的共混微球, 称取 1.0 g 加入到 50 mL 0.1 mol/L 的稀盐酸溶液中搅拌 1 周左右, 然后用 50 mL 0.1 mol/L 的 NaOH 稀溶液中和, 离心洗涤 3 次, 将得到的微球冻干; 再重复上述操作 1 次, 制备得到了多孔微球.

2 结果与讨论

2.1 聚合物的合成

图 1 为超支化聚缩醛的合成路线. 该反应分两步进行, 第一步先将原料分子 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛转化为单体分子 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛二甲缩醛, 图 2 中(A)和(B)分别为原料分子 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛和单体分子 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛二甲缩醛的核磁谱图, 谱图显示, 单体分子中化学位移 $\delta = 9.8$ 处的峰已基本消失, 在 $\delta = 5.3$ 处出现了缩醛结构的峰, 受其附近苯环的影响, 其峰型裂分为 5 个峰. 这说明 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛已基本转化为了单体分子 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛二甲缩醛, 单体的转化率为 99% , 原料分子会在聚合反应中起到终止聚合的作用; 第二步反应中, 核分子(苯甲醛二甲缩醛)引发单体分子 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛二甲缩醛的本体聚合. 图 2(C)为得到的超支化聚合物的核磁谱图, 谱图中在化学位移 $\delta = 9.8$ 处出现了醛基中氢的峰, 这是由于单体分子中仍含有 1% 左右的原料分子 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛, 以及在聚合反应过程中, 会有一部分单体分子 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛二甲缩醛转化为 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛. 在得到的超支化聚合物中, 甲氧基占到了 80% 以上的比例, 而醛基则不到 20% 的比例. 图 3 给出了超支化聚缩醛中缩醛基团不同化学环境下氢的化学位移(其中, D, T, C, L 分别代

表支化单元,末端单元,核分子,以及线性单元).核分子苯甲醛二甲缩醛中缩醛基团中氢的化学位移位于 $\delta = 5.3$ 处.反应得到的超支化聚合物的数

均分子量以及多分散性分别为 3600 和 1.4 (GPC).反应过程中,通过控制核分子与单体分子的加入比例可以控制聚合物的分子量.

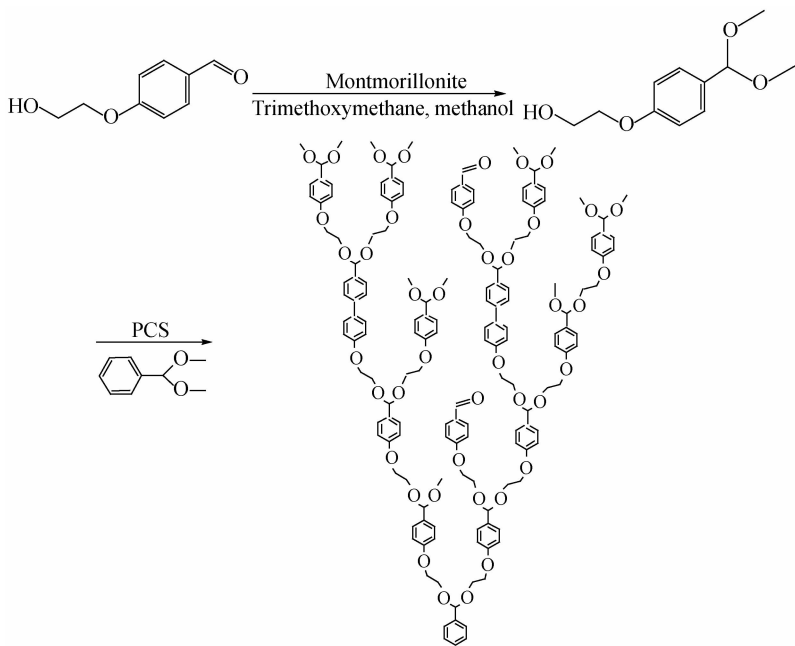


Fig. 1 The synthesis of HBPA

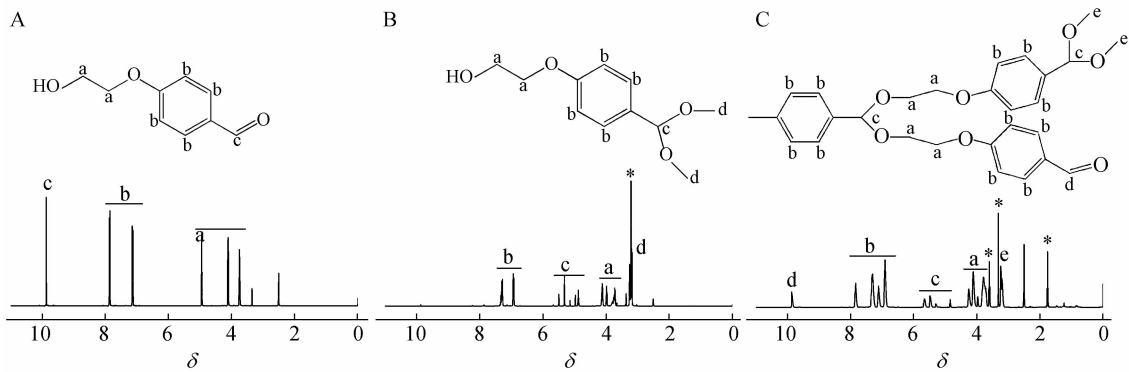


Fig. 2 ^1H -NMR spectra of (A) 4-(2-hydroxyethoxy) benzaldehyde, (B) 4-(2-hydroxyethoxy) benzaldehyde dimethyl acetal and (C) HBPA
Peak marked with an asterisk is due to water of residual THF.

2.2 超支化聚缩醛酸敏感行为的研究

图 4 为超支化聚缩醛在 2 种不同 pH 缓冲溶液下,通过用 HPLC 检测其降解产生的小分子 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛得到的水解曲线.其中,小分子 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛是完全溶于水的,这主要是由于分子中含有羟基和乙氧基的缘故,所以可以通过检测透析外液中的 4-(2-羟基乙氧基)苯甲醛来检测 HBPA 的水解过程.实验表明,在 pH 为 7.4 的缓冲溶液中,超支化聚缩醛大分子不发生水解,在 pH 为 5.0 的弱酸性环境中,超

支化聚缩醛大分子在 48 h 内迅速水解,水解量达到 50%.这说明 HBPA 内部的缩醛键对酸性环境特别敏感,在微酸性环境下,聚合物便可发生明显降解.

2.3 超支化聚缩醛用于多孔微球的制备

图 5 为制备得到的纯 PLA 微球(a 和 b 图)以及 HBPA 和 PLA 按照一定的比例混合(质量比, $w(\text{HBPA}):w(\text{PLA}) = 1:2$)的共混微球(c 和 d 图)在酸性条件下处理 1 周前后的形貌.从图 5 中可看出,对于 PLA 微球来说,其在酸性条件下处

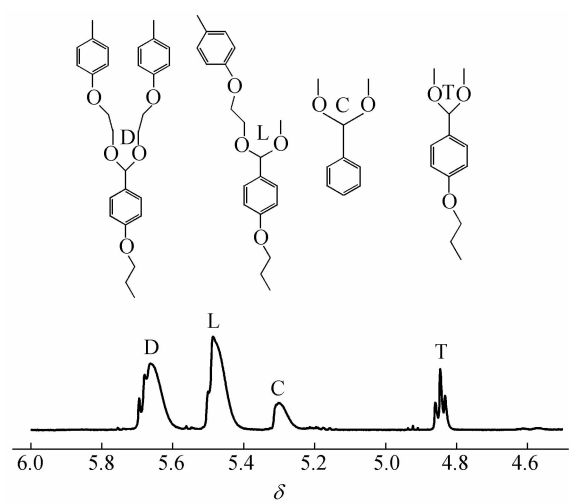


Fig. 3 ¹H-NMR spectrum of HBPA in the region of δ from 6.0 to 4.5

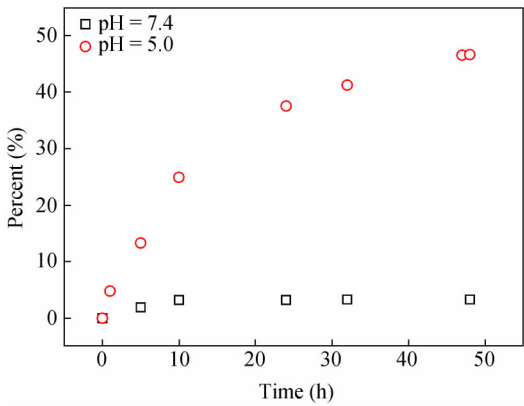


Fig. 4 Hydrolysis curve of HBPA

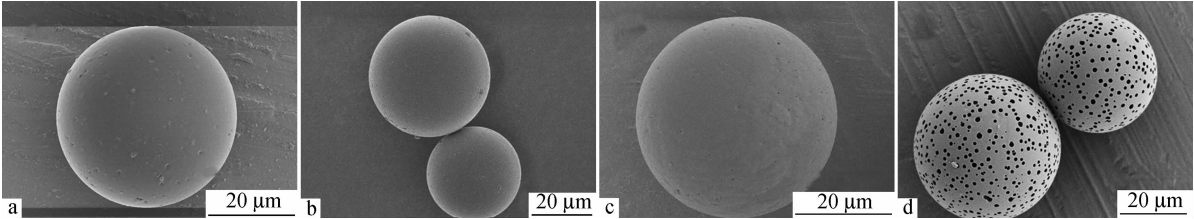


Fig. 5 SEM images of PLA microspheres (a, b) and HBPA-PLA blend microspheres (c, d) before and after hydrolysis

理 1 周后,表面形貌并没有发生明显的变化,而共混微球降解一周之后,表面产生了明显的孔洞.这主要是 HBPA 的水解速率远远高于 PLA 的缘故,短时间内 HBPA 可发生明显的降解,而 PLA 并不发生明显的降解.这种降解速率的差异,使得以超支化 HBPA 作为致孔剂,制备多孔微球得以实现.

2.4 共混微球的降解过程及孔径的控制

HBPA-PLA 共混微球在水解过程中微球表面形貌的变化见图 6,从图 6(a)到图 6(e)降解时间分别为 1,24,48,72 h 以及 96 h.在酸性条件降解的过程中,共混微球表面首先出现很多小的,由 HBPA 组分产生的隆起(图 6(a),6(b)).从 HBPA 和 PLA 共混体系的 DSC 结果不难发现,

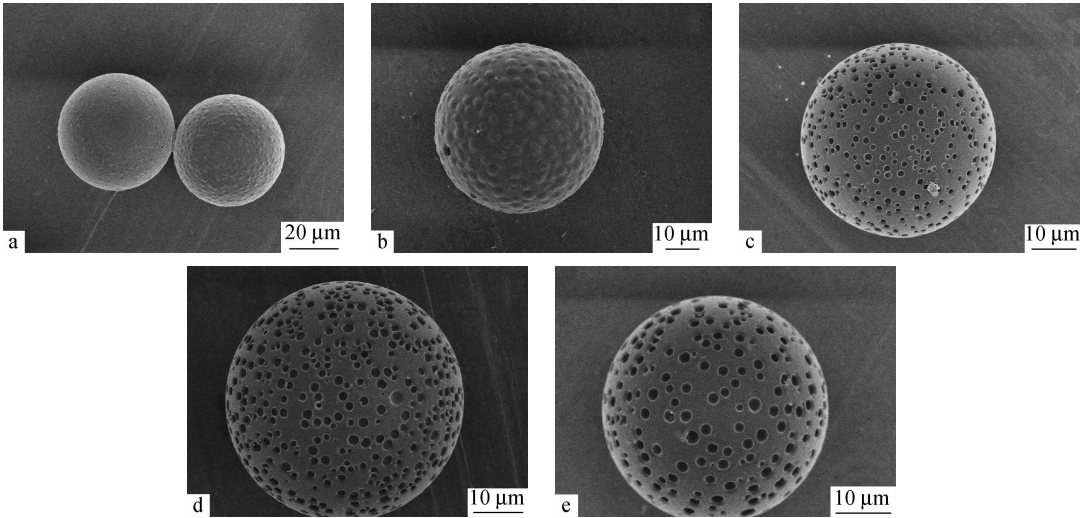


Fig. 6 Hydrolysis evolution process of HBPA-PLA microspheres in the first 5 days

两共混物的玻璃化转变温度相互靠近的移动明显(图 7),说明 HBPAs 和 PLA 具有较好的相容性.但是由于超支化 HBPAs 分子拓扑结构的特性,2 种材料共混后仍存在微相分离,从而使 HBPAs 可均匀地分散在 PLA 基质中.随着水解的进行,隆起部分逐渐破裂,在微球表面形成比较浅的孔洞(图 7(c)),随着降解反应的推进,孔洞逐渐深入到微球的内部,最终形成多孔结构的聚合物微球(图 7(d),7(e)).

通过调整 HBPAs 和 PLA 共混比制备的多孔微球如图 8 所示.可以看出,当 HBPAs/PLA 的质量比为 1:1 时(图 7(c)),微球的孔径较大,约为 2.5 μm ;当 $w(\text{HBPAs})/w(\text{PLA}) = 1:4$ 时(图 8(a)),得到得孔径较小且密,孔径尺寸约为 0.9 μm ;当 $w(\text{HBPAs})/w(\text{PLA}) = 1:2$ 时,其产生的孔径介于两者之间,孔径尺寸约为 1.6 μm .图 9 给出了统计得到的孔径尺寸与 HBPAs 含量的关系,

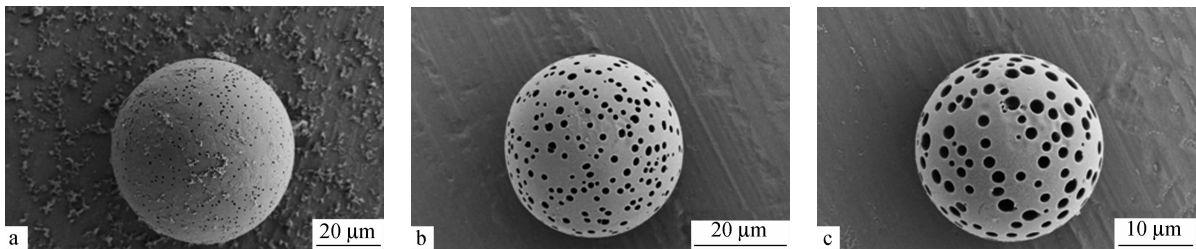


Fig. 8 Hydrolyzed HBPAs-PLA blend microspheres with different weight ratios of HBPAs to PLA: (a) $w(\text{HBPAs})/w(\text{PLA}) = 1:4$, (b) $w(\text{HBPAs})/w(\text{PLA}) = 1/2$ and (c) $w(\text{HBPAs})/w(\text{PLA}) = 1:1$

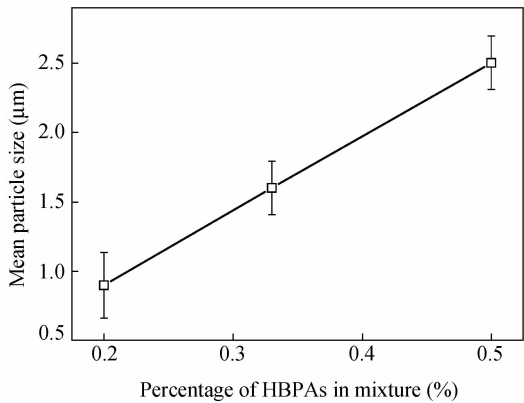


Fig. 9 Relation between pore size and HBPAs content

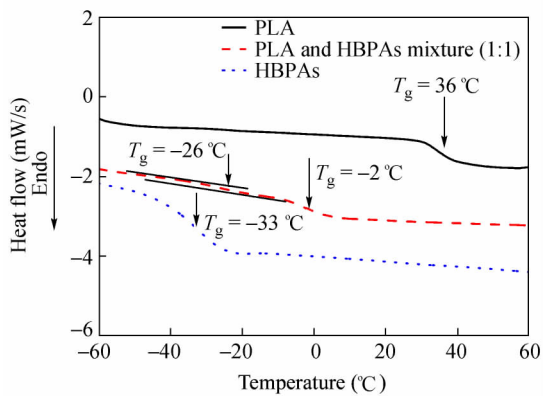


Fig. 7 DSC curves of the HBPAs and HBPAs/PLA blends

从曲线中可以看出两者呈现出很好的线性关系,线性公式为 $y = 5.33x - 0.162$ (其中, y 代表孔径尺寸, x 代表 HBPAs 的含量).由此可以得出,在一定范围内,HBPAs 含量越高得到的多孔微球孔径越大,多孔微球的孔径大小可以通过控制 HBPAs/PLA 的质量比来调节.

3 结论

具有酸敏感的超支化聚缩醛在制备多孔聚乳酸微球方面表现出了特异的性能.这主要是由于其特殊的分子拓扑结构,及其与聚乳酸间的相容性共同作用产生的结果.超支化聚缩醛所具有的高度的酸敏感特性,使其在弱酸性环境下的降解速率远远超过聚乳酸的降解速率,再加上其自身的拓扑结构以及与聚乳酸共混后的微相分离,导致其水解后产生分布和微孔尺寸非常均匀的多孔聚乳酸微球.通过控制 HBPAs 与 PLA 的共混比例,可线性调控多孔微球的孔径大小.

REFERENCES

- 1 Yang Y, Bajaj N, Xu P, Ohn K, Tsifansky M D, Yeo Y. *Biomaterials*, 2009, 30: 1947 ~ 1953
- 2 Langer R. *Nature*, 1998, 392: 5 ~ 10
- 3 Gokmen M T, Du Pre F E. *Prog Polym Sci*, 2012, 37: 365 ~ 405
- 4 Rao J P, Geckeler K E. *Prog Polym Sci*, 2011, 36: 887 ~ 913
- 5 Arshady R. *Colloid Polym Sci*, 1992, 270: 717 ~ 732
- 6 Ahmed A R, Bodmeier R. *Eur J Pharm Biopharm*, 2009, 71: 264 ~ 270
- 7 Shi Xudong(石旭东), Sun Lei(孙磊), Gan Zhihua(甘志华). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2011, (8): 866 ~ 873
- 8 Horak D, Labsky J, Pilar J, Bleha M, Pelzbauer Z, Svec F. *Polymer*, 1993, 34: 3481 ~ 3489
- 9 Ferreira A, Bigan M, Blondeau D. *Reac Func Polym*, 2003, 56: 123 ~ 136
- 10 Kanamori K, Hasegawa J, Nakanishi K, Hanada T. *Macromolecules*, 2008, 41: 7186 ~ 7193
- 11 Macintyre F S, Sherrington D C. *Macromolecules*, 2004, 37: 7628 ~ 7636
- 12 Okubo M, Konishi Y, Lnohara T, Minami H. *J Appl Polym Sci*, 2002, 86: 1087 ~ 1091
- 13 Okubo M, Konishi Y, Minami H. *Colloid Polym Sci*, 2000, 278: 659 ~ 664
- 14 Chatterjee S, Ramakrishnan S. *Macromolecules*, 2011, 44: 4658 ~ 4664
- 15 Lu Yi(卢毅), Jin Yuncun(金玉存), Cao Moyuan(曹墨源), Yu Lin(於麟), Xiong Han(熊晗), Wang Liquan(王利群), Jiang Hongliang(蒋宏亮). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2013, (3): 391 ~ 397
- 16 Rosca I D, Watari F, Uo M. *J Controlled Release*, 2004, 99: 271 ~ 280

pH Sensitive Hyperbranched Polyacetals as the Porogen for Preparing Poly(lactic acid) Porous Microspheres

Rui Chen¹, Jun Luo¹, Yi Lu¹, Lin Yu¹, Ke-hua Tu^{1,2}, Hong-liang Jiang^{1,2}, Li-qun Wang^{1,2*}

⁽¹⁾ Department of Polymer Science and Engineering, Zhejiang University,

⁽²⁾ MOE Key Laboratory of Macromolecular Synthesis and Functionalization, Hangzhou 310027)

Abstract In this study hyperbranched polyacetals (HBPA)s were used as a new type of porogens to prepare porous biodegradable microspheres. HBPA)s were synthesized through the transacetalization process, which was carried out with an AB₂ type monomer of 4-(2-hydroxyethoxy)-benzaldehyde dimethyl acetal and a B₂ type core of benzaldehyde dimethyl acetal catalyzed with pyridinium camphorsulfonate (PCS). The results demonstrated that HBPA)s were highly pH sensitive. They degraded rapidly at pH 5.0, and barely degraded at pH 7.4. The porous biodegradable poly(lactic acid) (PLA) microspheres were prepared by blending HBPA)s and PLA with the emulsion-solvent evaporation method and the blending microspheres were then placed in acidic conditions for 2 weeks. As HBPA)s hydrolyzed faster than PLA, the HBPA)s component was first degraded from the blending microspheres to form small pores in the PLA matrix. DSC results and degradation process of the blending microspheres showed that the phase separation appeared in the blending microspheres of HBPA)s and PLA. This phase separation favored the hydrolysis of HBPA)s in the blending microspheres. The pore size of the microspheres can be regulated by changing the weight ratio of HBPA)s to PLA. With increasing the HBPA)s amount, the pore size of the PLA microspheres increased in a linear manner. HBPA)s, as a new type of porogens, offer a new method to prepare porous microspheres.

Keywords Hyperbranched polyacetals, pH sensitive, Porogen, Porous microspheres

* Corresponding author: Li-qun Wang, Email: lqwang@zju.edu.cn