

可降解温敏型共聚物 PLGA-PEG-PLGA 的合成 及辐照法分子量调整

刘兆民 常亮 秦莉

(上海大学射线应用研究所 上海 201800)

摘要 合成了不同嵌段的可降解的温敏型聚乙交酯丙交酯-聚乙二醇-聚乙交酯丙交酯共聚物 (DL-lactide-co-glycolide-b-ethylene glycol-b-DL-lactide-co-glycolide, PLGA-PEG-PLGA)。用红外、核磁共振、凝胶渗透色谱等表征了其化学结构、分子量及分子量分布,研究了其相变过程。用辐照法成功地进行了 PLGA-PEG-PLGA 分子量调整。实验结果表明,在反应温度 150℃ 催化剂辛酸亚锡 0.04g 反应 8h, 5.08g 乙交酯与 12.61g 丙交酯 (摩尔比为 1:2) 的条件下,产物溶于水后得到的水凝胶具有明显的相变过程。不同分子量的共聚物相变温度不同,在固定聚乙二醇分子量且共聚物溶液浓度相同条件下,共聚物中丙交酯与乙交酯比例越高,共聚物分子量越大,相同浓度下的分子量越大的共聚物形成的溶胶-凝胶转变温度越低,凝胶-溶胶转变温度越高。当辐照 20kGy 样品的分子量分布最大,从而改变凝胶的相变温度。

关键词 嵌段共聚物,水凝胶,生物降解性,温敏性,相变,辐照

中图分类号 O631.3⁺4, O631.5, O631.6

近 20 年来在药物释放领域里,温敏型聚合物发展迅速^[1-3]。它可以使药物在常温下溶于液体,在体温下转变为凝胶成,故施药简单、单次施药浓度高、剂量小、释药稳定。但是,一些已商业化温敏型嵌段共聚物,如 Poloxamers,尚有不能生物降解、药物释放时间不够持久等缺点,影响了其进一步应用^[4,5]。

目前研究较多的药物释放载体用温敏型嵌段共聚物大多由聚乙二醇 (Polyethylene glycol, PEG) 和可生物降解聚酯如聚乳酸 (Polylactic acid, PLA)、聚 ϵ -己内酯 (Polycaprolactam, PCL) 等组成^[6,7]。其中, PLGA-PEG-PLGA 三嵌段共聚物中 PLGA 嵌段是疏水、可生物降解的聚酯,具有优异的生物降解性、生物相容性和血液相容性,但 PLGA 嵌段结晶性较强,又为疏水性高聚物,仅靠调节分子量及其分布来控制物化性质有一定局限性。PEG 嵌段具有亲水性,独特的生物相容性,无毒性,无抗原性和免疫原性,溶于水和许多有机溶剂,通过共聚合成的三嵌段共聚物,可以将 PEG 的优良特性转移到此共聚物,改善其亲水性和降解性。引起研究者的广泛注意。

本工作缩聚合成了不同嵌段组成的可生物降解的温敏型 PLGA-PEG-PLGA 共聚物。用 FTIR, ¹H-NMR 和 GPC 表征了其化学结构、分子量及分子量分布等;研究其相变过程;采用辐照法对 PLGA-

PEG-PLGA 作分子量调整。

1 实验材料和方法

1.1 试剂

乙交酯 (GA) $M_w=1000$, 丙交酯 (DLA) $M_w=1500$, 均为分析纯,北京康安高分子开发中心;聚乙二醇 (PEG) $M_w=1000$ 或 1500, 化学纯,上海浦东高南化工厂;辛酸亚锡 [Sn(Oct)₂], 分析纯,国药集团。实验过程采用去离子水。

1.2 共聚物的合成

在三口瓶中放入 10g M_w 为 1000 的聚乙二醇 (或 15g $M_w=1500$ 的 PEG), 150℃ 氮气保护条件下搅拌 3h。去除其中的水分,加入 5.08 g 乙交酯, 12.61 g 丙交酯 (摩尔比 1:2) 以及 0.04g 催化剂辛酸亚锡。在 150℃ 下,反应 8h。将产物溶于 5—8℃ 水中,加热到 80℃,静置一段时间,烧杯底部出现固态物质,倾倒上层清液,再加入冷水,重复此过程 2—3 次去除未反应的乙交酯、丙交酯和低分子量共聚物,收集未溶于水的固体,常温干燥至恒重^[8]。记共聚物为 C。在相同条件下,固定乙交酯与聚乙二醇摩尔比,改变乙交酯与丙交酯的投料比,合成不同嵌段组成的温敏型共聚物。合成机理见图 1。

第一作者:刘兆民,男,1957年3月出生,1986年于上海科技大学获硕士学位,有机化学专业,副研究员

收稿日期:初稿 2006-07-18,修回 2006-08-28

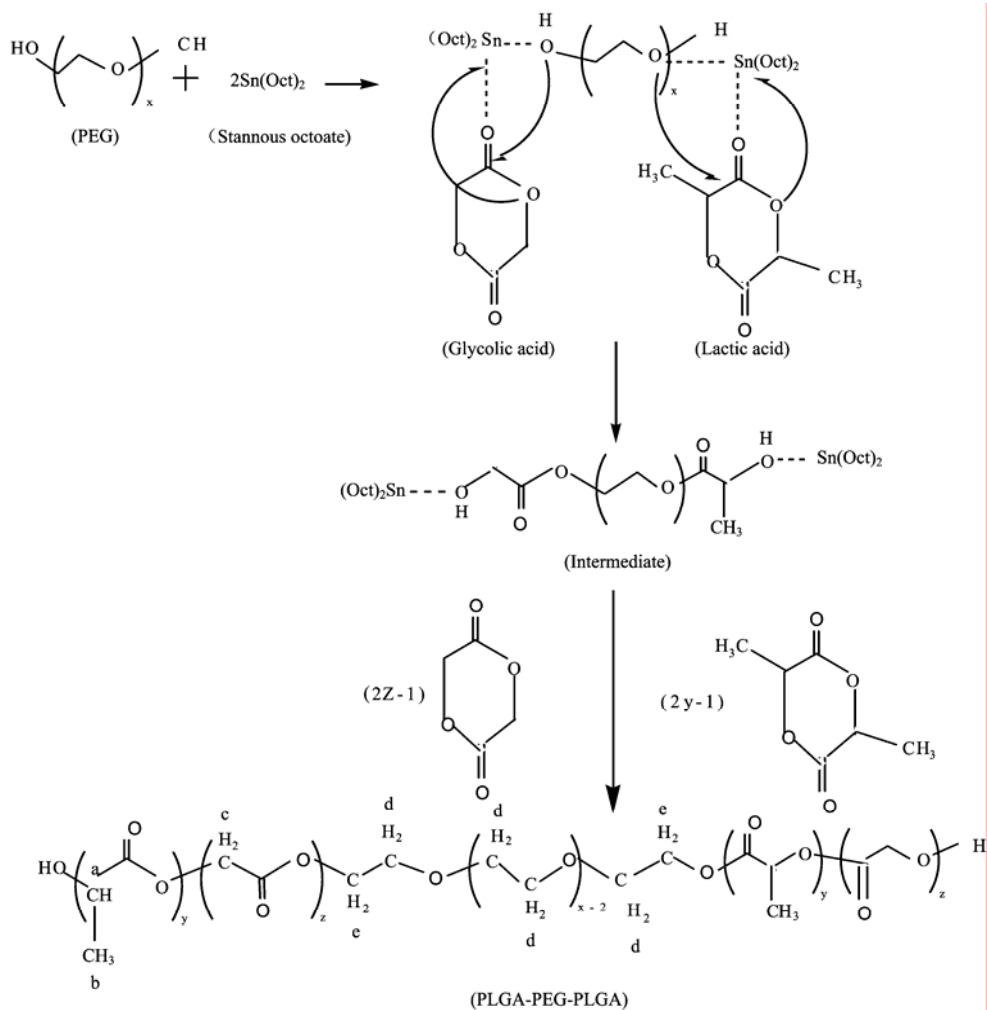


Fig.1 Schematics for synthesizing PLGA-PEG-PLGA triblock copolymer

1.3 聚合物表征

傅立叶红外光谱仪 (FTIR), 美国尼高力公司 AV AT AR370 型, 溴化钾涂膜; 核磁共振仪 (^1H -NMR), Bruker DMX-300NMR, 以氯仿为溶剂, 常温下测定; 高效凝胶渗透色谱分析仪, 美国 Agilent 公司 Agilent1100 型, 以四氢呋喃为溶剂流速为 1mL/min。水浴, 森信实验仪器有限公司 DK-8D 型电热恒温水槽。

1.4 相变的确定

相变的确定采用翻转试管法。将一定浓度的共聚物水溶液放入内径为 11mm 的 4 mL 试管中, 4°C 下静置 12h 达到平衡, 然后把试管浸在一定温度下的水浴中, 每 20min 升温 1°C , 取出试管, 水平放置, 观察试管内液体, 如在 30s 内不流动, 则已发生了溶胶-凝胶转变, 液相变为固相^[9]。

1.5 共聚物的辐照

共聚物的辐照采用 1.8MeV 电子束。称取 5g 共聚物, 滴加 0.25g 水, 在 5°C 下静置 24h, 均分为 4 份, 分别辐照 10、20、50、100kGy。

2 结果和讨论

2.1 产物的 FTIR 表征

对共聚物 C 进行的 FTIR 表征如图 2。该 FTIR 谱中, 在 $\delta=3513.81\text{cm}^{-1}$ 附近宽吸收峰为两端的 OH 吸收峰, $\delta=2874.66\text{cm}^{-1}$ 为 C-H 的伸缩震动吸收峰, $\delta=1754.78\text{cm}^{-1}$ 是 C=O 的伸缩震动吸收峰, $\delta=1454.32\text{cm}^{-1}$ 为 C-C 的一系列伸缩震动吸收峰, $\delta=1181.18\text{cm}^{-1}$ 为旁边无羰基的 C-O-C 的伸缩震动吸收峰, $\delta=1093.78\text{cm}^{-1}$ 为旁边有羰基的 C-O-C 的伸缩震动吸收峰。

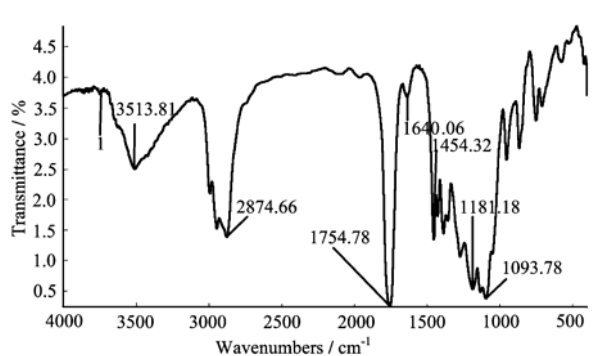
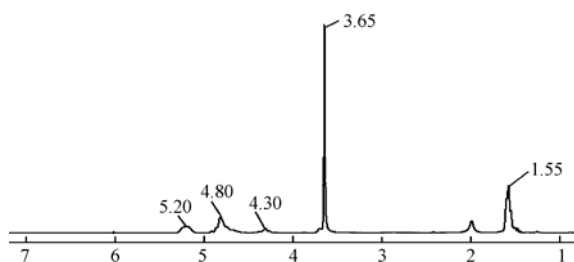


Fig.2 FTIR spectra of the copolymer

2.2 产物的 $^1\text{H-NMR}$ 表征

对共聚物 C 进行 $^1\text{H-NMR}$ 表征如图 3。可见共聚物 C 在 $\delta=5.20\text{ppm}$ (CH of LA, a 见图 1 下同), $\delta=1.55\text{ppm}$ (CH₃ of LA, b), $\delta=4.8\text{ppm}$ (CH₂ of GA, c), $\delta=3.65\text{ppm}$ (CH₂ of PEG, d), $\delta=4.3\text{ppm}$ (CH₂ of PEG, e), 有明显的吸收峰, 分别代表了丙交酯中次甲基的氢, 丙交酯中甲基的氢, 乙交酯中亚甲基的氢, 乙二醇中亚甲基的氢, 乙二醇中与乙交酯或丙交酯相连的亚甲基的氢^[10]。由红外与核磁分析可知共聚物 C 是嵌段共聚物 PLGA-PEG-PLGA。

Fig.3 $^1\text{H-NMR}$ spectra of the copolymer

2.3 产物的分子量表征

在反应温度为 150°C , 反应时间 8h, 辛酸亚锡催化剂量 0.04g 的条件下缩合成聚乙二醇分子量为 1000, 1500 乙交酯与丙交酯投料摩尔比例为 1:2, 1:3, 1:4 的共聚物, 分别记为 D1、D2、D3、E1、E2 和 E3。

图 4 为共聚物的 GPC 图。由图可知共聚物的截留时间大约在 7.5 min, 为单峰分布。表 1 列出了共聚物的 M_n , M_w 与 M_w/M_n 值。由表 1 可知共聚物的分子量分布为 1.2 左右, 其分子量分布较窄。另外 E3 的截留时间比 E1 的短, 而 E1 的比 D1 的短。这说明在固定聚乙二醇分子量的条件下, 丙交酯与乙交酯比例越高, 共聚物的分子量越大, 在固定丙交酯与乙交酯摩尔比的条件下, 聚乙二醇分子量越大, 共聚物的分子量越大。因此共聚物的分子量可以通过固定聚乙二醇分子量, 改变丙交酯与乙交酯摩尔

比例或固定丙交酯与乙交酯摩尔比例, 改变聚乙二醇分子量来控制^[11]。

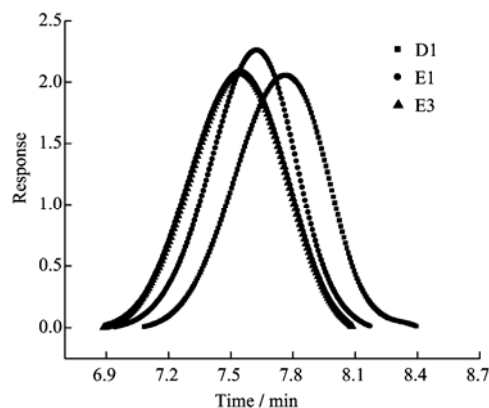


Fig.4 GPC spectra of the copolymer

Table 1 GPC characterization of the copolymer

Copolymer	M_n	M_w	M_w / M_n
D1	2435	3600	1.47
E1	4083	4799	1.17
E3	4716	5628	1.19

2.4 产物的相图

将 D1、D2, E1、E2 配成 10%、15%、20%、25%、30%和 35% 溶胶溶液。

图 5 是浓度为 25% D2 水溶液在 15°C 或 37°C 的状态, 可知随着温度的升高发生了溶胶-凝胶相转变。D1、D2, E1 与 E2 的相图 (见图 6) 表明, 浓度为 10% 的共聚物无温升相变, 而浓度为 15% 则温升相变。因此, 可推测出在这两个浓度间存在一个临界胶束浓度: 临界胶束浓度以下无温升相变, 高于临界胶束浓度的溶液经历了液相—固相—液相的相变过程。若溶液浓度与聚乙二醇分子量固定不变, 增加丙交酯与乙交酯摩尔比例, 即在相同溶液浓度增加共聚物分子量, 则形成的溶胶-凝胶转变温度越低, 凝胶-溶胶转变温度越高。因此, 图 5 中 E2 两相温差宽于 E1, D2 宽于 D1。若聚乙二醇分子量相同, 随着丙交酯与乙交酯比例的增大 (共聚物分子量增大), 固相区域也逐渐增大, 这是由于丙交酯增加导致至聚丙交酯乙交酯嵌段憎水性增加, 使曲线向浓度较低的区域移动^[12]。保持丙交酯与乙交酯比例不变而改变聚乙二醇分子量, 两者的相图形状大致相同, 只是 E1, E2, 的相图较 D1、D2 的上移了 10°C 左右。这说明聚乙二醇分子量的大小并不影响临界胶束浓度, 但却能强烈的改变临界胶束温度, 聚乙二醇分子量越大, 则相变温度要求越高。

对于 D1、D2, E1、E2, 总存在某个浓度区间, 使它们在常温下是液态, 升至一定温度 (如 37℃) 就会相变为固态。图 6 还表明其液-固相转变温度增加

而降低, 固-液相转变温度则随溶液浓度升高, 且固-液相转变对浓度变化更为敏感, 故相图下方的曲线较平缓, 上方的较陡峭。

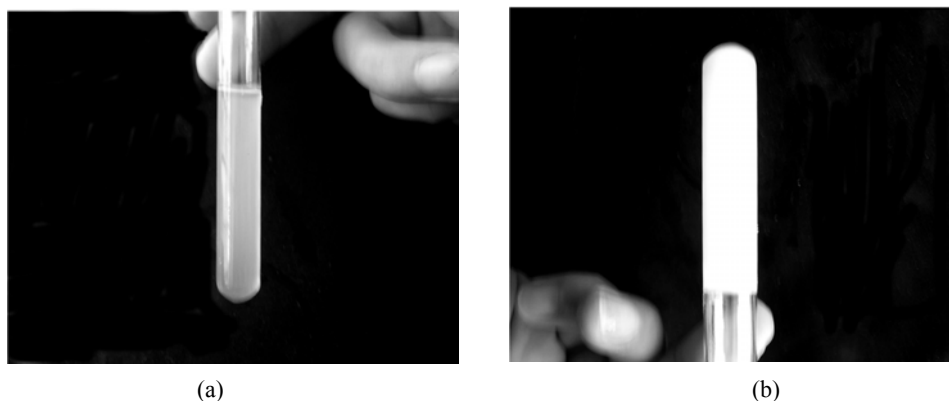


Fig.5 Sol/gel transition of copolymers with 25% concentration at (a) 15℃ and (b) 37℃

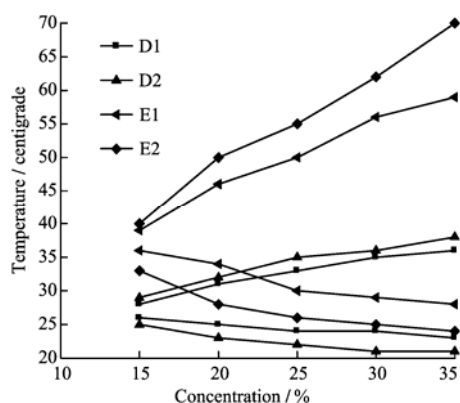


Fig.6 Phase diagram of the copolymer

2.5 辐照产物的分子量表征

图 7(a)与图 7(b)是 D1 及其辐照样品(20kGy)的 GPC 图。由图可知, 该辐照样品的 M_n 下降 1000 左右, M_w 基本不变, 分子量分布由 1.47 升高到 2.74。

表 2 是辐照后 D1 的分子量分布, 由表可知 M_n 随剂量增加而减小, 而 M_w 则略有减小; 20kGy 样品的分子量分布最大。

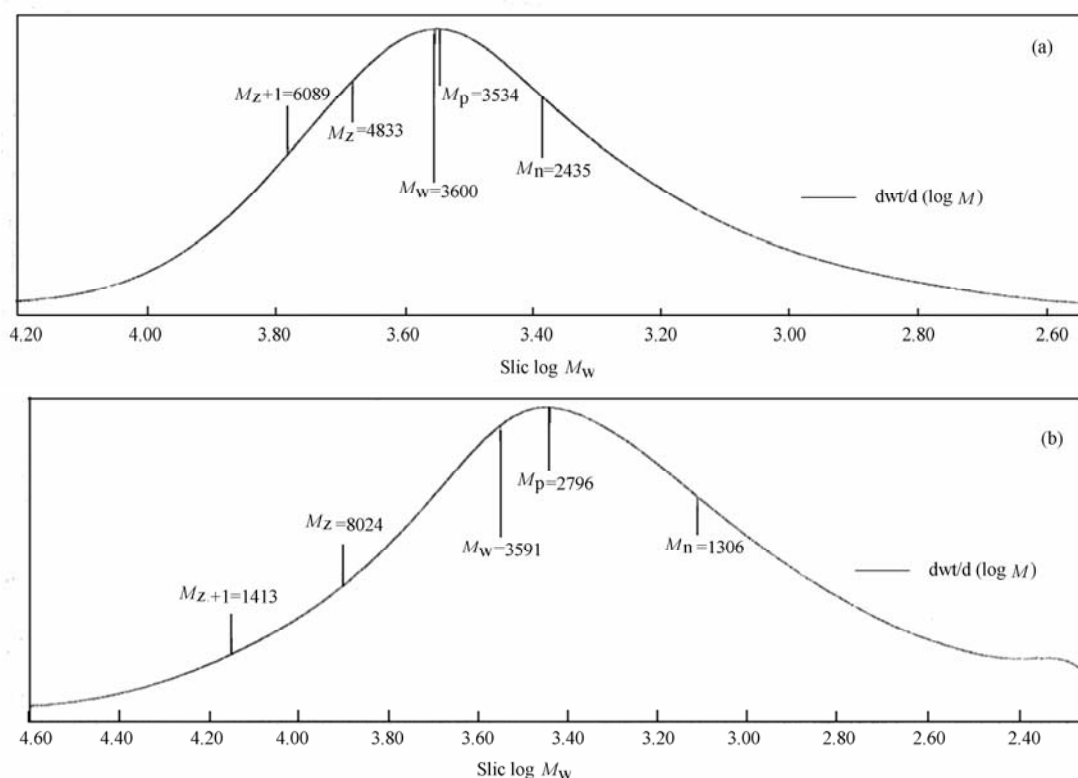


Fig.7 GPC spectra of Copolymer D1 before (a) and after 20kGy irradiation (b)

Table 2 Molecular weight of the irradiated copolymers (D1)

Doses/kGy	M_n	M_w	M_w/M_n
0	2435	3600	1.47
10	2327	3539	1.52
20	1306	3591	2.74
50	1493	3325	2.22
100	1366	3324	2.43

2.6 辐照产物的相图

表 3 是辐照前后 D1 的相变结果。辐照后样品的溶胶-凝胶转变温度比未照样品高 1—2℃，辐照后样品凝胶-溶胶转变温度则低辐照前，其效果相当于提高了共聚物分子量，故可用辐照法改变分子量分布，从而达到调节溶胶-凝胶、凝胶-溶胶转变温度的目的。

Table 3 Sol/gel transition temperatures of Copolymer D1 before and after 20kGy irradiation

Contents / %		15	20	25	30	35
0kGy	T_a^*	26	25	24	24	23
	T_b	28	31	33	35	36
20kGy	T_a	26	26	25	25	25
	T_b	27	30	31	33	34

* T_a ; Lower transition temperature from sol to gel; T_b ; Upper transition temperature from gel to sol

参考文献

1 Eeckman F, Moes A J, Amighi K. Eur Polym J, 2004, **40**(4): 873-881

2 Jeong B, Sung Wan Kim, Bae Y H. Advanced Drug Delivery Reviews, 2002, **54**(1): 37-51

3 Hennink W E, Nustrum C F Van. Advanced Drug Delivery Reviews, 2002, **54**(1): 13-16

4 Katakam M, Ravis W R, Banga A K. J Controlled Release, 1997, **49**(1): 21-26

5 Wenzel J G W, Balaji K S S, Koushik K, *et al.* J Controlled Release, 2002, **85**(1-3): 51-59

6 Cerrai P, Tricoli M, Andruzzi F. Polymer, 1989, **30**(2): 338-343

7 Li Y X, Kissel T J. Controlled Release, 1993, **27**(1): 247-257

8 Zentner G M, Rath R, Shih C, *et al.* J Controlled Release, 2001, **72**(1-3): 203-215

9 Lee D S, Shim M S, Kim S W. *et al.* Macromol Rapid Commun, 2001, **22**(1): 587-592

10 Jeong B, Bae Y H, Kim S W. Colloids Surf. B: Bio-interfaces, 1999, **16**(1-4): 185-193

11 Sibao Chen, Robert Pieper. International Journal of Pharmaceutics, 2005, **288**(2): 207-218

12 Jeong B, Bae Y H, Kim S W. Macromolecules, 1999, **32**(21): 7064-7069

Synthesis of thermoreversible and biodegradable PLGA-PEG-PLGA triblock copolymers and their molecular weight variation under irradiation

LIU Zhaomin CHANG Liang QIN Li
(Shanghai Applied Radiation Institute, Shanghai University, Shanghai 201800)

ABSTRACT PLGA-PEG-PLGA triblock copolymer were synthesised with different compositions. Structure and molecular weight of the copolymer were characterized by FTIR, ¹H-NMR and GPC. Phase diagram of the copolymer and their molecular weight variation under E-beam irradiation were studied. The results showed gelation of the copolymer synthesized in 8h at 150℃ with 0.04g catalyst, 5.08g glycolide, and 12.61g DL-lactide (molar ratio 1:2) had sharp sol-gel phase transition. In an aqueous solution of defined concentration of the copolymer with PEG of fixed molecular weight, by increaseing the DLLA/LA ratio and molecular weight of the copolymer, the temperature of sol-gel phase transition decreased, while the temperature of gel-sol phase transition increased. Maximum polydispersity could be achieved by irradiating the copolymer to 20kGy.

KEYWORDS Block copolymer, Aqueous gela, Biodegradable, Thermoreversible, Phase transition, Irradiation

CLC O631.3⁺4, O631.5, O631.6