

水溶性的温度敏感性聚合物、活性共聚物的辐射合成及性质研究

翟茂林 伊 敏 哈鸿飞

(北京大学技术物理系, 北京 100871)

摘要 研究了 N-异丙基丙烯酰胺 (NIPAAm) 在水溶液及四氢呋喃溶液中的辐射聚合及它与活性有机单体 N-丙烯酰氧基丁二酰亚胺 (NASI) 辐射共聚, 以制备水溶性、温度敏感性均聚物及共聚物。结果表明, 室温、无氧条件下在水或 PBS 缓冲溶液中 NIPAAm 及它与 NASI 共聚物 (poly NIPAAm-NASI) 辐射合成的最佳条件为: 剂量 1—7 kGy, 剂量率不小于 40 Gy/min, 溶液中单体浓度小于 1%。单体在四氢呋喃中辐射聚合可得到粉末状固体聚合物。将这种聚合物溶于水仍具有温度敏感性, 用此法可获得较多的此类聚合物, 只是分子量偏低 (M_n 只有 10^4 数量级), 其合成条件与在水溶液中也较大差异。该聚合物经热性质测定表明, 多次溶解、沉淀后仍能保持其热性质的均一性和稳定性。

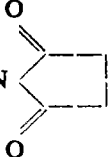
关键词 N-异丙基丙烯酰胺, N-丙烯酰氧基丁二酰亚胺, 水溶性温度敏感性聚合物, 辐射聚合

环境敏感性水凝胶和聚合物 (stimule-sensitive hydrogel and/or polymer) 是一种新的功能高分子材料。它们在临界状态 (如低临界共溶温度, LCST) 下, 经温度、酸度或电场的微弱变化就会产生敏感性反应^[1]。水凝胶具有交联结构, 会产生溶胀-收缩的可逆变化; 线性聚合物会发生可逆性溶解-沉淀。目前研究最多的是温度敏感性水凝胶 (thermally sensitive hydrogel)^[2,3] 和水溶性的温度敏感性聚合物 (water-soluble, temperature sensitive polymer), 它们在生物分子的分离、提纯、固定化及药物缓慢释放体系中的应用有极好的前景而日益受到重视^[2,5]。

在水溶性的温度敏感性聚合物中, 研究最多的是聚 N-异丙基丙烯酰胺^[6,7], 可用化学引发剂引发聚合。但是, 化学法合成后如果引发剂除不尽, 则经 2-3 次溶解-沉淀后, 聚合物的敏感性将受破坏。本文利用辐射法合成了聚 N-异丙基丙烯酰胺和它与 NASI 共聚的活性共聚物。物理性能测定表明, 此法获得的产品性能颇好。应用活性共聚物进行辣根过氧化物酶、牛血清白蛋白固定化亦获得满意结果。

1 实 验 部 分

1.1 试剂

NIPAAm, 聚合级, 美国 Kodak 公司产品。NASI ($\text{CH}_2=\text{CHC}(=\text{O})-\text{O}-\text{N}$ ) , 聚合级, 日本化学株式会社产品。四氢呋喃, AR, 北京化工厂产品, 经在少量 CaH_2 存在下回流 4 h, 重蒸, 取 65—66℃馏分。其它试剂皆用分析纯级。

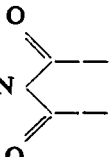
IAEA 资助协作研究项目

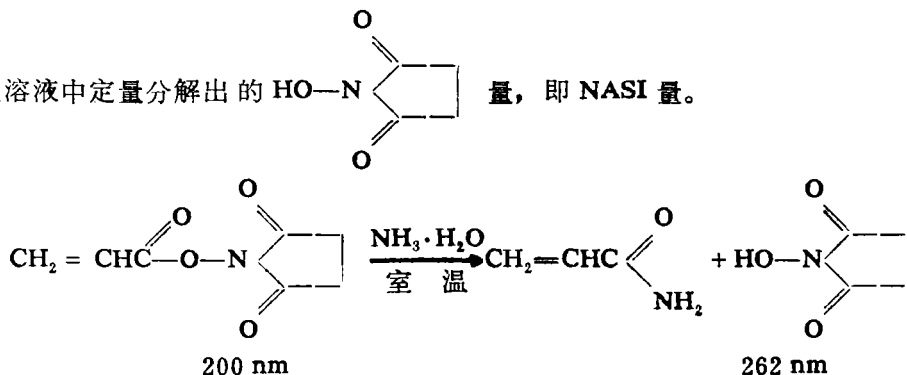
收稿日期: 初稿 1993-02-01, 修改稿 1993-12-13

1.2 合成方法、产品分离和性质测定

1.2.1 水溶液中 配制1%、5%的NIPAAm水溶液或PBS缓冲溶液(pH=7.4), 移取6 ml溶液置于内径15 mm玻璃试管中, 通氮气15 min, 封管, 约25℃室温下进行 γ 辐照聚合(用北京大学技术物理系 γ 辐照装置)。

辐射聚合后产物在室温下用30%饱和度的硫酸铵溶液进行沉淀、分离, 尚未聚合的单体仍留在溶液中。在200 nm处紫外分光光度法(国产751 G型分光光度计)测定, 与原始浓度的差值可求出单体的聚合转化率。用乌氏粘度计测定(20±0.1℃)聚合液粘度, 以表征聚合物分子量。

poly NIPAAm-NASI共聚物在水溶液中合成法与上述方法相同。共聚物中NASI含量是用间接测定后计算出来的。方法是将共聚反应后未共聚的NASI加氨水胺化, 在262 nm处分光光度法测定溶液中定量分解出的HO-N  量, 即NASI量。



然后从加入体系中总的NASI量中减去测得量, 即可求出共聚物中NASI含量。

1.2.2 四氢呋喃溶液中 配制1%、5%和10%的NIPAAm四氢呋喃溶液, 辐射聚合合成方法同前。

室温下向聚合液中加入乙醚, 将聚合物沉淀出, 经抽滤、洗涤、干燥后得白色粉末状固体, 称重计算转化率。用GPC(美国Waters 208型)测定分子量, 用红外光谱(美国683型红外谱仪)测定产物结构。

1.2.3 水溶液中聚合物LCST测定 将聚合物水溶液(含聚合物1%、5%)放入水浴中以8℃/h的速率升温, 观察沉淀出现的温度, 即LCST。

2 结果与讨论

2.1 水溶液中 polyNIPAAm 和 polyNIPAAm-NASI 的辐射合成

在一定剂量率下, NIPAAm在水溶液中辐射聚合的单体聚合转化率与剂量的关系是一个典型的存在自动加速作用的聚合曲线(见图1)。低于0.4 kGy时单体开始缓慢聚合, 0.4—0.6 kGy间为加速区, 1 kGy时单体已基本转化为线性聚合物, 剂量继续增加达7 kGy以后体系的增比粘度急骤增加(见图2)。

文献[9]给出 $[\eta] = k \overline{M}^\alpha$, 20℃时公式中 k 值为 $14.5 \times 10^{-2} \text{g/ml}$ 、 α 为0.50。在剂量率为38.4 Gy/min, 在总剂量为3.0、5.0和7.0 kGy的产物, 测定了粘均分子量分别为 68.5×10^{-4} 、 114×10^{-4} 和 186×10^{-4} (见表1)。总剂量为7.0 kGy时, 样品已呈粘稠状。

在无氧条件下, 单体NIPAAm在水溶液中辐射聚合按自由基机理, 尤其是在较低单体浓度(<1%)的水溶液中主要是水辐解活性中间粒子, 如OH自由基、水化电子 e_{aq}^- 等引发单体聚合。转化率只决定于活性中间粒子的总数, 而与它形成的速率无关。因此, 剂量率并不影响转化率,

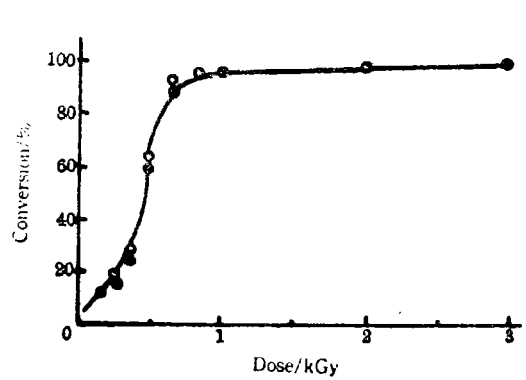


Fig 1. Conversion of monomer (NIPAAm) in aqueous solution as a function of dose room temperature, dose rate 38.4 Gy/min (●) in water (○) in PBS buffer solution

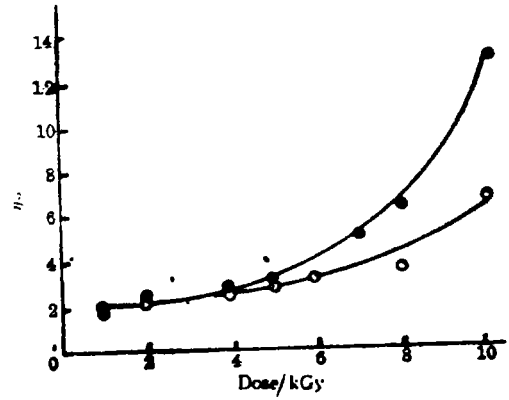


Fig 2. Variation of viscosity in aqueous solution of polymerized NIPAAm as a function of dose room temperature, dose rate 38.4 Gy/min (●) in water (○) in PBA buffer solution

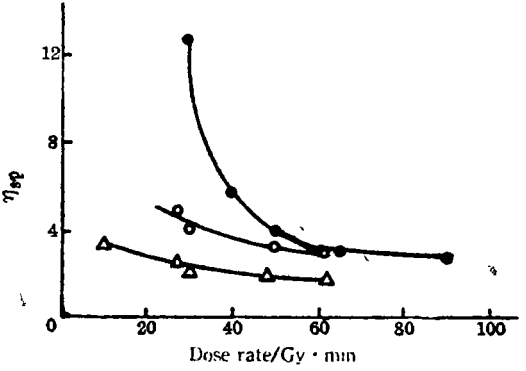


Fig 3. Variation of viscosity in aqueous solution of polymerized NIPAAm as a function of dose rate (●) 7.0 kGy, in water (○) 8.0 kGy, in PBS (▲) 1.0 kGy, in water

却与形成聚合分子的大小有直接关系。在同一剂量条件下，聚合体系的粘度随剂量率的降低而升高。图 3 表明，剂量率小于 40 Gy/min，粘度较大。为得到较好的线性聚合物，一般所用剂量在 1—7 kGy 之间，剂量率大于 40 Gy/min。

图 2 和图 3 结果还表明 NIPAAm 的辐射聚合在纯水 (pH = 6) 中比在 PBS 缓冲溶液中显得稍好一些。

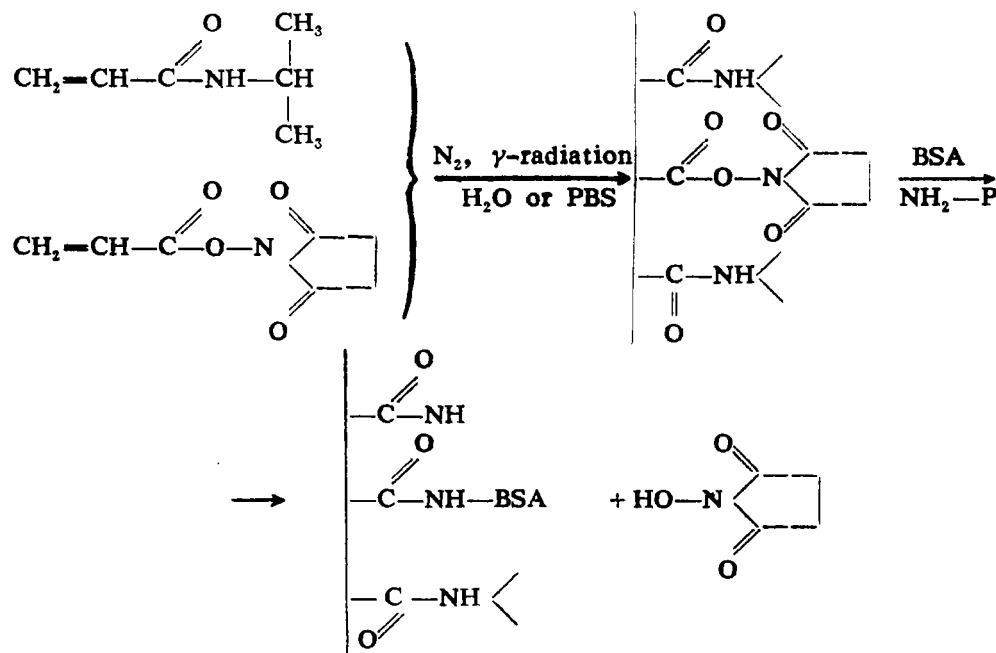
为了增加 poly NIPAAm 的产量，曾试图增加水溶液中单体浓度，当单体的浓度增加到 5% 时，选定剂量率为 38.4 Gy/min，结果如表 1 所示：

Tab 1. Relationship between conversion of monomer and dose at 5% concentration of monomer in aqueous solution

Polymerization time/min	Total dose/Gy	Conversion yield/%
5	200	86
13	500	94.9

可见当剂量增加到 500 Gy 时，单体转化已基本完成，得到一种极粘稠的液体。因此，实验中单体浓度宜选在 1% 以下。

为了使牛血清白蛋白一类生物活性分子在 polyNIPAAm 链上固定化，还用辐射法在水溶液中制备了 polyNIPAAm-NASI 活性共聚物，它同样具有水溶性和温度敏感性，且 NASI 有一个活性酯基团，易为蛋白质分子中残基所取代而达到固定化作用。反应示意如下



采用同样方法合成活性共聚物,并测定了一定剂量率下 NIPAAm 与 NASI 随剂量变化的转化率。结果表明,当剂量达到 1 kGy 时 NIPAAm 的转化率接近 100%, 这与单一 NIPAAm 水溶液聚合时结果一致, 但 NASI 的消耗量(全部在共聚物中)只占加入量的 20%左右, 因此在这种情况下只可能生成 NASI 占很少比例的镶嵌共聚物。在 1 kGy 以后 NASI 消耗百分率随剂量而增加(见图 4 曲线上), 此时消耗的 NASI 并未参加到共聚物主链上, 它的消耗可能以下三种途径: 一是

NASI 辐射分解, 生成 $\text{HO}-\text{N}$ (五元环), 但它随剂量增加而分解速率远低于 NASI 总的消耗速率

(见图 4 曲线下), 所以这情况似可忽略。另外两个原因是 NASI 本身的辐射聚合(均聚)和 NASI 接枝在线性共聚物的主链上。遗憾的是本文尚未能确定在大于 1 kGy 后随剂量增加而消耗的 NASI 在后两种方式中各占多大比例。

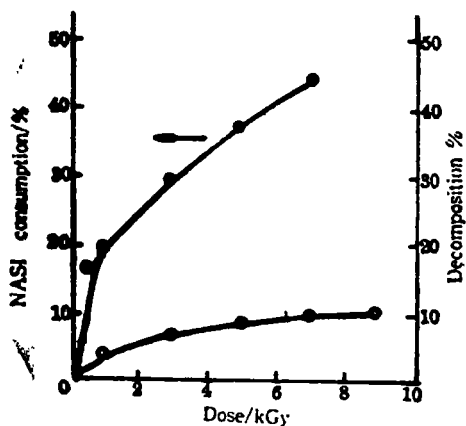


Fig 4. Consumption and decomposition as a function of dose
dose rate 38.4 Gy/min
(●) consumption curve (○) decomposition curve

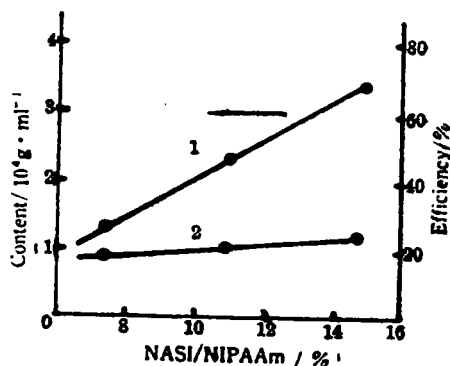


Fig 5. Content of NASI in copolymer and coefficient of efficiency of NASI as a function of ratio NASI/NIPAAm

要增加共聚物中 NASI 的比例, 可采用增加 NASI 与 NIPAAm 单体初始比的方法来实现(见图 5 曲线 1), 但要提高共聚体系中 NASI 的有效利用率是困难的(见图 5 曲线 2)。

合成的线性聚合物热性质测定表明, 它们具有明显的热敏性。在纯水中 poly NIPAAm 的 LCST 为 34.0℃, 在 PBS 缓冲溶液中由于盐析效应等因素 LCST 降至 30.5℃。poly NIPAAm-NASI 共聚物或进一步结合 BSA 后都具有温度敏感性。这时 LCST 随聚合物链中存在疏水基团 NASI 而降低, 为 31.5℃; poly NIPAAm-NASI 中结合了亲水基团 BSA, 又使 LCST 略有升高, 为 33.0℃。

上述线性聚合物不仅有明显的 LCST, 而且经多次溶解⇌沉淀, 聚合物仍保持原有的温度敏感性和分子量。按不同条件处理后测其粘度表明辐射法合成的线性聚合物具有热稳定性和均一性(见表 2)。

Tab 2. Thermostability and homogeneity of radiation-induced linear polymer

Sample	E_r		
	I	II	III
Poly NIPAAm (water)	1.51	1.52	1.53
PolyNIPAAm (PBS)	1.45	1.44	1.45
Ppoly NIPAm-NASI (water)	1.53	1.54	1.53

I. 热沉淀前, II. 5 次溶解⇌沉淀后, III. 样品 II 热分离后, 沉淀再溶于等体积水中

2.2 在四氢呋喃溶液中的辐射聚合

水溶液中 poly NIPAAm 可由辐射合成, 但它的缺点是水溶液中单体浓度较低(1%左右), 产量很低。从分离和浓缩的实用角度看不太理想。为此尝试在有机溶剂四氢呋喃中进行 poly NIPAAm 辐射合成。

图 6 给出了四氢呋喃中不同单体浓度的辐射聚合曲线。由图 6 可见, 该体系不存在加速期, 3 kGy 即可使转化率达 100%, 在 10% 的单体浓度范围内, 单体浓度对转化率与剂量的关系无明显影响。

辐射聚合后用乙醚沉淀得白色粉末状固体, 经洗涤、干燥、称重后可计算转化率并进行性质测定。产量按需要可较方便地增加。

不同辐照条件下产物 GPC 测定结果见表 3。

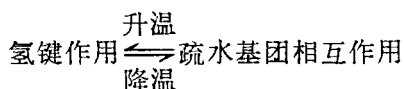
Tab 3. $\overline{M}_w$ of polyNIPAAm with dose and dose rate

Dose/kGy	Dose rate/Gy·min ⁻¹	$\overline{M}_w \times 10^{-4}$
5	38.4	1.71
	48.0	1.54
	65.5	1.40
10.0	38.4	1.69
	48.4	1.51

单体浓度为 1%

从表 3 可以看出, 产物相对分子量与剂量、剂量率的关系是符合辐射聚合规列的。若单体浓度提高到 5% 或 10%, 其产物分子量变化在 1.1×10^4 — 1.4×10^4 之间。总之在有机相中辐射合成所得产物分子量低于水溶液中辐射合成的产物, 这是一个最大的缺点。如上所述, 白色粉末状产物在水中仍具有温度敏感性, LCST 为 32.1℃。所得产物与单体红外谱图(图 7)表明聚合物双键吸收

峰(1619 cm^{-1} 、 992 cm^{-1} 、 919 cm^{-1})消失,聚合后分子链增长,所有振动吸收加强,特别是 3433 cm^{-1} 、 655 cm^{-1} ,N-H振动吸收峰变宽,但强度变化不明显。溶于水后 polyNIPAAm 上 N 原子电负性虽比单体弱,但仍可和水形成氢键,另一方面 polyNIPAAm 中 N 原子上接一个异丙基疏水基团,形成分子内、分子间的疏水基团相互作用,它们间存在下述竞争



在极限低共溶温度下,升温破坏氢键,疏水基团相互作用占主导,聚合物沉淀出来,降温氢键作用加强,聚合物溶解。若异丙基换成疏水作用较小的 $-\text{CH}_3$ 或疏水作用大的丁基则会失去温度敏感性。

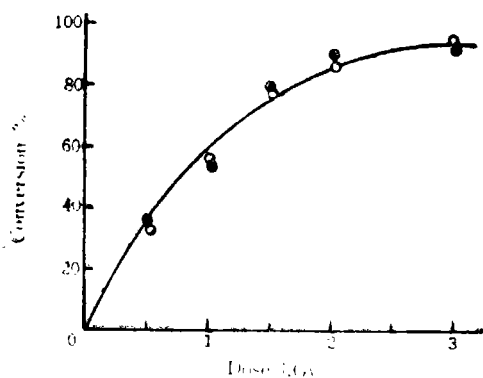


Fig 6. Conversion of monomer (NIPAAm) in THF as a function of dose room temperature, dose rate 38.4 Gy/min

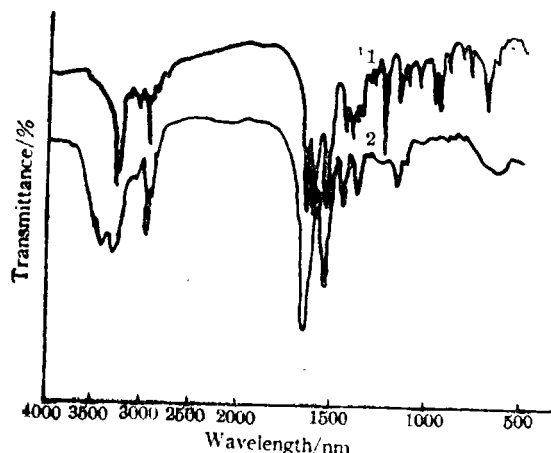


Fig 7. IR spectra of polymeric and monomer NIPAAm

3 结 论

3.1 用 γ 辐射法在稀水溶液中制备了水溶性、温度敏感性聚N-异丙基丙烯酰胺。在总剂量为1—7 kGy、剂量率大于 40 Gy/min 条件下所得聚合物相转变温度(LCST)为 34.0°C (水中)和 30.5°C (PBS缓冲溶液中)。产物的热稳定性和均一性皆很好。

3.2 水溶液中采用相同条件辐射合成 NIPAAm-NASI 共聚物,同样具有温度敏感性(LCST)为 31.5°C 。由于共聚物中有活性酯基团易为蛋白质(如BSA)分子中残基所取代,可对生物活性分子起固定化作用。

3.3 用四氢呋喃为溶剂亦可辐射合成水溶性、温度敏感性聚N-异丙基丙烯酰胺,产物呈白色粉末状,LCST为 32.1°C ,便于储存、应用,但产物分子量比在水溶液中低约一个数量级。

参 考 文 献

- 1 余锡胜, 孙以实. 高分子学报, 1988, 2: 26
- 2 Hoffman A S. J. Controlled Release, 1987, 6: 297
- 3 Liang Chang Dong, Hoffman A S. J. Controlled Release, 1990, 13: 21
- 4 Cole A C, Schreimer S M et al. ACS Symposium Series, 1987, 350: 245
- 5 Heskins M, Guillet J E. J. Macromol. Sci-Chem. 1968, A 2 (8): 1441
- 6 Shouei Fujishige, Kubota K, Ando I. J. Phys. Chem., 1989, 93: 3311
- 7 Monji N, Hoffman A S. Appl. Biochem. Biotechnol., 1987, 14: 107
- 8 Zhai Maolin, Ha Hongfei, Wu Jilan. Report on 8-IMRP 1992, Sept. Beijing, China
- 9 Shouei Fujishige. J. Polymer, 1987, 19: 97

RADIATION SYNTHESIS OF THE WATER-SOLUBLE, TEMPERATURE SENSITIVE POLYMER, COPOLYMER AND STUDY ON THEIR PROPERTIES

Zhai Maolin Yin Min Ha Hongfei

(Department of Technical Physics, Peking University, Beijing 100871)

ABSTRACT In order to obtain the water-soluble, temperature sensitive polymer and activated copolymer, the radiation polymerization of N-isopropylacrylamide (NIPAAm), radiation copolymerization of NIPAAm and N-acryloxysuccide (NASI) in aqueous solution or in buffer solution (PBS pH=7.4) have been carried out by γ -rays from ^{60}Co source at room temperature. The optimum dose range (1—7 kGy), dose rate (>40 Gy/min) and monomer concentration (1%) were chosen through determining the monomer conversion yield and molecular weight ($M_w = 6.8 \times 10^5$) of product. Synthesis of the reversible linear polymer was performed in tetrahydrofuran (THF) as well. In this way a white powder product could be obtained which possesses of thermally reversible property too, when it was dissolved in water or PBS. The only disadvantages of this method is that the molecular weight of the polymer produced in THF was much lower than that in aqueous solution.

KEYWORDS N-isopropylacrylamide (NIPAAm). N-acryloxysuccinimide (NASI), Water-soluble, Temperature sensitive polymer, Radiation polymerization.