

• 研究论文 •

变温核磁共振对壳聚糖/磷酸甘油盐温敏性水凝胶的初步研究

曾 蓉^{a,b} 冯志程^a SMITH, Ray^b 邵正中^a
陈 新^{*,a} 杨宇红^{*,c}

(^a 教育部聚合物分子工程重点实验室 复旦大学高分子科学系 上海 200433)

(^b 伦敦大学玛丽女王学院材料系 伦敦 E1 4NS 英国)

(^c 复旦大学分析测试中心 上海 200433)

摘要 采用变温核磁共振技术对壳聚糖/磷酸甘油盐温敏性水凝胶体系的凝胶化过程进行跟踪研究. 实验结果表明, 壳聚糖中氢和磷酸甘油盐中磷的化学位移均随着温度的升高而变化, 其中壳聚糖中氢的化学位移向高场移动而磷酸甘油盐中磷的化学位移向低场移动. 在凝胶温度附近, 壳聚糖中 H-2(D)的化学位移变化出现转折点, 表明其所处的化学环境发生了突变. 随着体系中磷酸甘油盐含量的增加或者 pH 值的增大, 壳聚糖中 H-2(D)的化学位移愈加偏向高场, 体系的凝胶温度则越低. 由此, 我们提出如下壳聚糖/磷酸甘油盐温敏性水凝胶的凝胶机理: 随着温度的升高, 壳聚糖通过氨基正离子与磷酸甘油盐形成的静电吸引被破坏, 随之由于壳聚糖分子链间形成大量氢键而发生凝胶化.

关键词 智能水凝胶; 化学位移; 氢谱; 磷谱; 氢键; 静电相互作用

Exploring Study of Chitosan/Glycerophosphate Thermosensitive Hydrogel with Variable-temperature NMR

ZENG, Rong^{a,b} FENG, Zhi-Cheng^a SMITH, Ray^b SHAO, Zheng-Zhong^a
CHEN, Xin^{*,a} YANG, Yu-Hong^{*,c}

(^a The Key Laboratory of Molecular Engineering of Polymers of the Ministry of Education of China,
Department of Macromolecular Science, Fudan University, Shanghai 200433, China)

(^b Department of Materials, College of Queen Mary, University of London, London E1 4NS, UK)

(^c The Research Center of Analysis and Measurement, Fudan University, Shanghai 200433, China)

Abstract Variable-temperature NMR techniques were applied to monitor the gelation process of chitosan/glycerophosphate (CS/GP) thermosensitive hydrogel system. The results showed that the chemical shifts of protons in CS and phosphor in GP changed together while the temperature was increased. However, the protons in CS shown in ¹H NMR spectra moved to the high field, but the phosphor shown in ¹³P NMR moved to the low field. In addition, the chemical shift of H-2(D) in CS showed a turning point around the gelation temperature, indicating that the chemical environment of H-2(D) has been changed dramatically. Moreover, the chemical shift of H-2(D) in CS moved to higher field and the CS/GP system showed the lower gelation temperature with the increase of either GP content or pH value of the CS/GP mixture. Therefore, the gelation mechanism of CS/GP thermosensitive hydrogel was deduced as follows: with the increase of temperature, the electrostatic interaction between CS and GP is broken down, followed by the formation of hydrogen bonds between CS macromolecular chains, which induce the gelation.

* E-mail: chenx@fudan.edu.cn, yuhongyang@fudan.edu.cn

Received January 24, 2007; revised March 26, 2007; accepted July 18, 2007.

教育部新世纪优秀人才支持计划(No. NCET-06-0354)、国家自然科学基金(No. 20674011)、教育部长江学者和创新团队发展计划和欧盟 Asia-Link 项目(ASI/B7-301/98/679-32)资助项目.

Keywords smart hydrogel; chemical shift; ^1H NMR; ^{31}P NMR; hydrogen bonding; electrostatic interaction

温度敏感水凝胶作为对外部环境的刺激能够产生响应的环境敏感水凝胶(或称智能水凝胶)家族的一员,近年来成为生物医药领域的研究热点^[1,2]. 但是目前已见报道的温敏性水凝胶绝大多数都是由合成高分子材料制备而成的,如环氧乙烷和环氧丙烷的共聚物(PEO-PPO-PEO, 即 Pluronic)^[3,4]、聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAM)^[5,6]等. 由于合成高分子材料普遍存在生物相容性差、难以在生物体中降解或降解产物有一定的毒性等缺点,因此在生物医药领域的应用受到极大的限制. 虽然人们尝试用生物相容性好、能够生物降解的天然高分子,如壳聚糖(CS)等对合成高分子温敏性水凝胶进行改性^[7],但是结果并不十分理想.

2000 年 Chenite 等^[8]成功制备了首个以天然高分子为主的温敏性水凝胶——壳聚糖/磷酸甘油二钠盐(CS/GP)水凝胶,成为温敏性水凝胶开发的一个重大突破. 众所周知,CS 是甲壳素在碱性条件下脱乙酰作用的产物,具有良好的生物相容性和生物降解性^[9,10],并且 CS 水凝胶在生物医药领域尤其是在药物缓释方面有着广泛的应用^[11,12]. CS 虽然一方面很容易通过化学或物理交联形成水凝胶,但另一方面它却不能仅靠改变温度的方法来形成水凝胶. Chenite 等^[8]发现将 CS 和磷酸甘油二钠盐(GP)混合后,其混合溶液具有温度敏感性,特别是在一定配比下,CS/GP 体系可以在人体温度即 37 °C 时形成水凝胶,这种特性无疑使之在生物医药领域,特别是用于作为注射型水凝胶进行局部缓释给药方面具有相当的应用前景.

目前对于 CS/GP 温敏水凝胶体系的研究主要集中在生物相容性、流变学、形貌学以及其在药物缓释的应用等方面^[8,13,14],对其凝胶机理的研究几乎没有. 唯一提及凝胶机理的地方出现在 Chenite 等^[8]对此凝胶体系的首次报道中. 他们认为影响 CS/GP 体系发生凝胶化转变的原因是多方面的,包括: (1)加入碱性盐后壳聚糖分子链间静电排斥力的减弱而引起的分子链间氢键作用的增加; (2) CS 和 GP 之间通过氨基正离子和磷酸根基团的静电相互作用; (3)由于 GP 的水合作用造成的 CS 之间疏水相互作用的增加. 他们最终把 CS/GP 体系的凝胶机理笼统地归结于由于 GP 的存在,减弱了 CS 的亲水性,因此 CS 分子链相互靠近形成凝胶. 很明显,这一解释过于肤浅,也没有相应的实验证据,这也可能是近年来并没有其他类似的天然高分子温敏性水凝胶体系被发现的原因. 核磁共振是研究分子间相互作用的有效手段,而变温核磁共振测试中样品各官能团化学位移的变

化可以反映在变温过程中这些官能团所处化学环境的改变^[15~19],然而这一研究方法至今并未应用到温敏性水凝胶的凝胶机理研究中. 因此,本论文期望通过变温核磁共振氢谱和磷谱研究 CS/GP 体系中 CS 和 GP 上相应基团中质子和磷原子在凝胶形成前后化学位移的变化,对 CS/GP 温敏性水凝胶体系的凝胶机理进行初步的探讨.

1 实验部分

1.1 原料及试剂

壳聚糖(脱乙酰度 91%, 分子量 13000, 加拿大 Marinard Biotech Entrepot); 磷酸甘油二钠盐(98%, Sigma); 重水(氘代度 99.9%, 北京腾达远科技有限责任公司); 氘代盐酸(质量分数 $w=20\%$, 氘代度 99.5%, 北京腾达远科技有限责任公司). 以上原料及试剂在使用时均未经过进一步的纯化或处理.

1.2 壳聚糖溶液、磷酸甘油盐溶液和壳聚糖/磷酸甘油盐混合溶液的配制及核磁共振测试

一定量的 CS 溶于质量分数 $w=2\%$ 的氘代盐酸重水溶液配制成质量分数 $w=2\%$ 的 CS 重水溶液; 一定量的 GP 溶于重水配制成质量分数 $w=56\%$ 的 GP 重水溶液. 取 1 mL $w=2\%$ 的 CS 重水溶液和 0.2~0.4 mL 不等的 $w=56\%$ GP 重水溶液在室温下搅拌混合,配制成一系列不同配比的 CS/GP 混合溶液.

原位变温核磁共振实验在 Avance DMX500 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司)上进行,实验方法为单脉冲, D_2O 锁场,采用 5 mm QNP 探头, Bruker BVT3000 型数字温控仪. ^1H NMR 实验以 DSS (2,2-二甲基-2-硅戊烷-5-磺酸钠)为内标,共振频率为 500.130 MHz,脉冲延迟为 6 s,采样次数为 16 次, 90° 脉冲宽度为 12.7 μs . ^{31}P NMR 实验以 85%的 H_3PO_4 为外标,共振频率为 202.456 MHz,脉冲延迟为 5 s,采样次数为 1024 次, 90° 脉冲宽度为 5 μs .

2 结果与讨论

2.1 壳聚糖溶液、磷酸甘油盐溶液和壳聚糖/磷酸甘油盐混合溶液的核磁共振氢谱

CS, GP 和 CS/GP 混合溶液的 ^1H MNR 图谱如图 1 所示. 由 CS 的分子结构我们可以预见到其氢谱较为复杂(图 1a),各特征峰的归属根据文献^[20,21]列于表 1. 由于

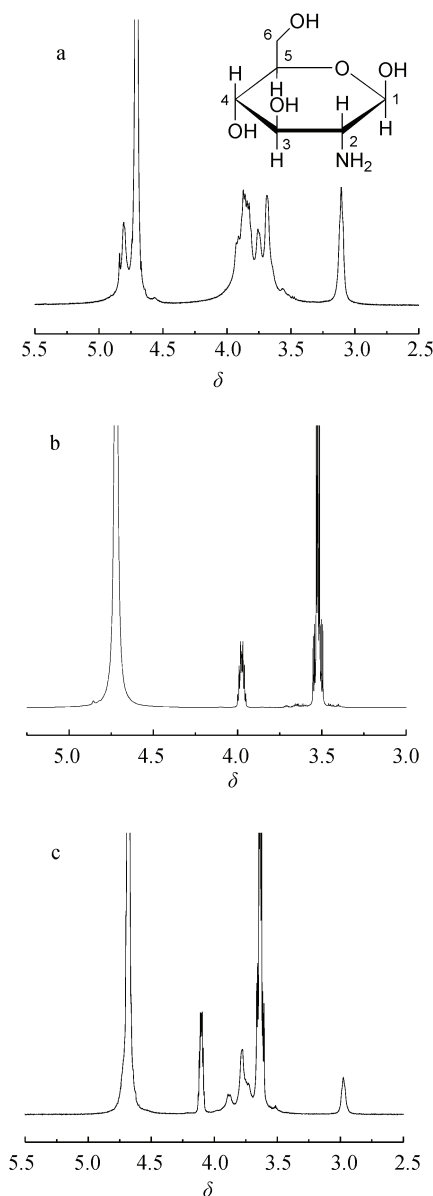


图1 壳聚糖溶液(a)、磷酸甘油盐溶液(b)和壳聚糖/磷酸甘油盐混合溶液(c)在30 °C时的¹H MNR谱图

Figure 1 ¹H NMR spectra of CS (a), GP (b) and CS/GP (c) solutions at 30 °C

表1 壳聚糖在¹H NMR图谱中化学位移的归属(30 °C)

Table 1 Assignment of chemical shifts of CS at 30 °C in ¹H NMR spectrum

Proton	HDO	H-1(D)	H-3/6	H-2(D)
δ	~4.7	~4.8	3.6~3.9	~3.1

C(3)~C(6)上的质子化学性质相近, 因此它们的化学位移差别较小, 相互重叠而不易分辨; C(1)上质子的化学位移由于与水峰中质子的化学位移相近(只有在较高温度, 如70 °C时两者才能分开)也不易分辨。但是, C(2)上质子因为C(2)连接壳聚糖中最为重要的功能基团——氨基, 所以其化学环境与其他碳上的质子有较大的区

别, 它具有一定的活泼性, 可以部分被氘代并独立出现在高场。由于C(2)上的质子是部分被氘代的, 因此我们参考文献^[20,21]在文中将其表述为H-2(D)。

相比于CS, 由于GP的结构简单对称, 因此其¹H NMR图谱较为简单(图2b)。化学位移在4.0左右的峰归属为甘油基β-碳上的质子, 而化学位移在3.5左右的峰归属为甘油基上对称的质子。

CS和GP溶液混合后, 在较低的温度(如30 °C)仍呈溶液状态, 其¹H NMR图谱(图1c)的峰型基本为CS和GP单独存在时的叠加, GP的特征峰与壳聚糖H(3)~H(6)的特征峰有部分重叠。但是, 壳聚糖C(2)位上H-2(D)的特征峰没有受到干扰, 且混合后的化学位移向高场移动, 表明CS和GP混合后改变了它的化学环境, 其周围的电子云密度增强。

2.2 变温核磁共振氢谱对壳聚糖/磷酸甘油盐体系的研究

作为一种温敏性水凝胶, CS/GP体系在升温过程中会发生从溶液到凝胶的转变, 为此我们采用变温核磁共振跟踪其氢谱随温度的变化, 观察CS和GP分子上的质子在升温过程, 特别是凝胶形成前后化学位移的变化, 以期对CS/GP体系的凝胶机理作出一定的解释。

随着温度的升高, CS和GP中质子的化学位移都会向高场移动(图2)。但是仔细观察不同质子化学位移向高场的移动情况, 却可以发现其对温度的敏感性是不同的, CS上质子的化学位移随温度的变化要比GP明显(图3a)。其中, CS中H-2(D)化学位移的变化可达 4.5×10^{-2} / °C, 比CS上其他质子的变化大一个数量级, 比GP上质子的变化大两个数量级, 表明其所处的化学环境在升温过程中存在比较大的变化。如前所述, H-2(D)所连接的C(2)上还连接着CS中重要的功能基团氨基, 因此我们

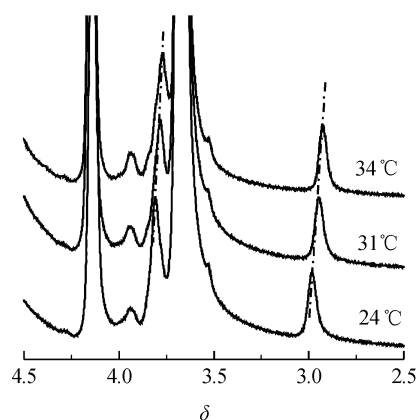


图2 壳聚糖/磷酸甘油盐体系在不同温度下的¹H MNR谱图

Figure 2 ¹H NMR spectra of CS/GP system at different temperatures

CS: 1 mL, w=2%; GP: 0.4 mL, w=56%

对 H-2(D)的化学位移随温度的变化作了更加详细的研究, 结果发现其化学位移随温度的变化在凝胶温度附近存在比较明显的转折(图 3b). 这一现象表明 CS/GP 体系在从溶液状态转变为凝胶状态时, H-2(D)的化学环境发生了不连续的变化, 而这种变化应该是 CS 上氨基的键合情况在凝胶转变前后发生了明显改变所引起的. 由于 H-2(D)化学位移转折点所对应的温度与通过流变法^[8,13]测得的凝胶温度非常接近(数据另见报道), 因此本文中我们把这个转折点对应的温度作为 CS/GP 体系的凝胶温度.

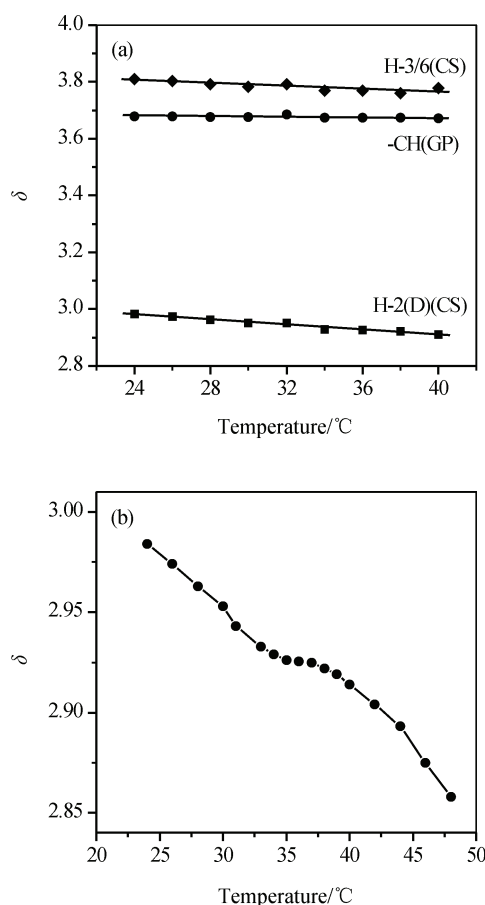


图 3 壳聚糖/磷酸甘油盐体系中不同质子的化学位移随温度的变化(a)以及壳聚糖中 H-2(D)的化学位移随温度的变化(b)
Figure 3 Influence of temperature on the changes of proton chemical shifts in CS/GP system (a) and the detailed analysis of H-2(D) in CS (b)

CS: 1 mL, w=2%; GP: 0.4 mL, w=56%

2.3 不同比例的壳聚糖/磷酸甘油盐体系的研究

随着 GP 含量的增加, 通过流变法测得的 CS/GP 体系的凝胶温度不断下降^[8,13,14], 表明 GP 含量的增加有利于凝胶的形成. 我们发现, 对应不同比例的 CS/GP 体系, CS 上 H-2(D)在核磁共振氢谱中化学位移随温度的变化

曲线不同(图 4). 首先总体来说, 特别是在未形成凝胶前, GP 含量越高, H-2(D)的化学位移越小, 即越偏向高场(图 5a). 同时, 由 H-2(D)化学位移的变化得出的不同比例的 CS/GP 体系凝胶温度的变化规律与用流变法得出的完全吻合, 即随着 GP 含量的增加, CS/GP 体系的凝胶温度下降(图 5b).

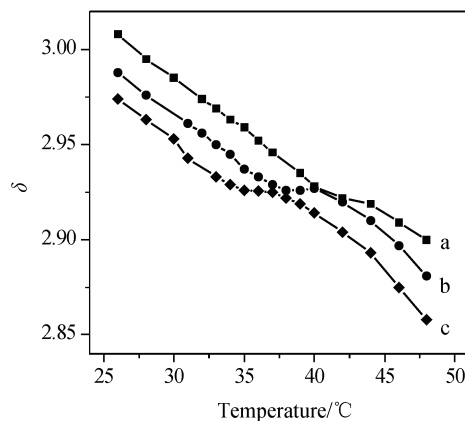


图 4 不同比例的壳聚糖/磷酸甘油盐体系中壳聚糖的 H-2(D)化学位移随温度的变化

Figure 4 The influence of temperature on the chemical shift of H-2(D) in CS in different CS/GP systems

CS: 1 mL, w=2%; GP: a—0.2 mL; b—0.3 mL; c—0.4 mL, w=56%

2.4 相同比例但不同 pH 值的壳聚糖/磷酸甘油盐体系的研究

由于 CS 溶液呈弱酸性, GP 溶液呈弱碱性, 因此不同比例的 CS 和 GP 混合后, 体系的 pH 值虽然接近中性, 但是随 CS 和 GP 配比的不同, pH 值会相应有所变化. 为了进一步了解 CS/GP 体系随温度的升高而发生凝胶化的原因到底是因为 GP 本身还是因为 GP 的加入而引起 pH 的变化, 我们研究了同一种配比的 CS/GP 体系在不同 pH 条件下的凝胶化过程, 结果如图 6 所示. 当 CS/GP 体系的 pH 值呈弱碱性, 或者偏离中性呈极其微弱的酸性时, 都能随温度的升高发生明显的凝胶现象. 但是当体系的 pH 值再略微下降, 即便当 pH 值为 6.83 时, 可以发现 CS 的 H-2(D)在核磁共振氢谱中化学位移随温度的变化曲线中的转折点就变得不甚明显, 表明 CS/GP 体系的凝胶化转变微弱, 即产生的凝胶较少. 同时我们发现, CS/GP 体系中 pH 值的增加对 H-2(D)化学位移和体系凝胶温度的影响与 GP 含量的增加相似, 即 pH 值越高, H-2(D)的化学位移越偏向高场, 体系的凝胶温度越低(图 7).

2.5 磷酸甘油盐溶液和壳聚糖/磷酸甘油盐混合溶液的核磁共振磷谱

根据 GP 的结构, 用变温核磁共振法来研究 CS/GP

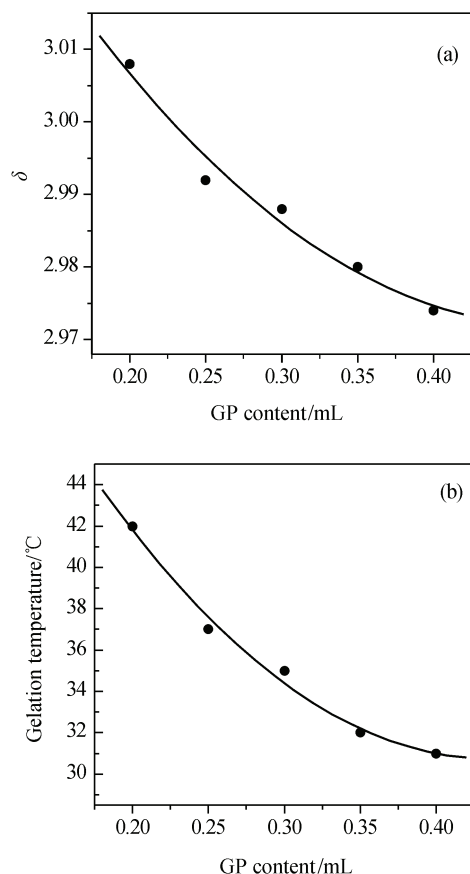


图 5 不同比例的壳聚糖/磷酸甘油盐体系中壳聚糖的 H-2(D) 在 26 °C 时的化学位移(a)和凝胶温度(b)随磷酸甘油盐含量的变化

Figure 5 The influence of GP content on the chemical shift of H-2(D) in CS at 26 °C (a) and the gelation temperature (b) in different CS/GP systems

CS: 1 mL, $w=2\%$

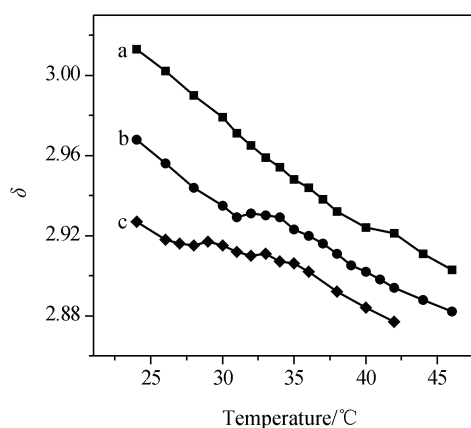


图 6 相同比例但不同 pH 值的壳聚糖/磷酸甘油盐体系中壳聚糖的 H-2(D)化学位移随温度的变化

Figure 6 The influence of temperature on the chemical shift of H-2(D) in CS in CS/GP systems with different pH value

a—pH=6.83; b—pH=6.95; c—pH=7.19. CS: 1 mL, $w=2\%$; GP: 0.4 mL, $w=56\%$

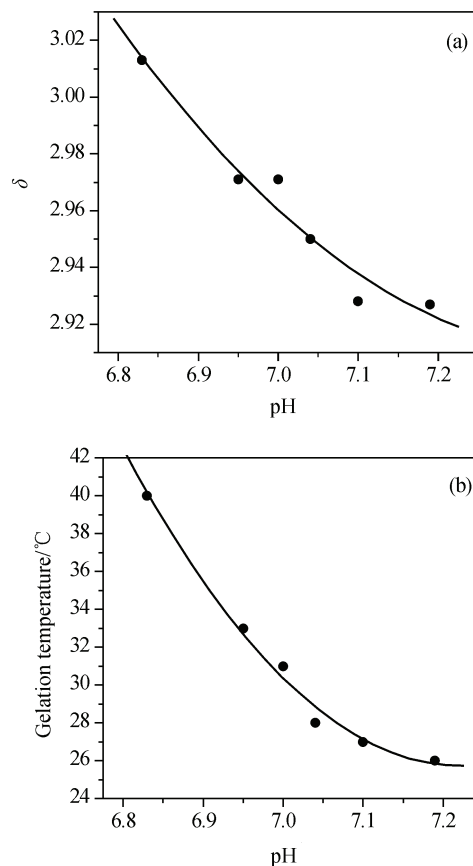


图 7 相同比例的壳聚糖/磷酸甘油盐体系中壳聚糖的 H-2(D) 在 24 °C 时的化学位移(a)和凝胶温度(b)随 pH 的变化

Figure 7 The influence of pH value on the chemical shift of H-2(D) in CS at 24 °C (a) and the gelation temperature (b) in CS/GP systems with same CS/GP ratio

CS: 1 mL, $w=2\%$; GP: 0.4 mL, $w=56\%$

体系的凝胶转变过程除了采用 ^1H NMR 技术以外, 还可以采用 ^{31}P NMR 技术. 对于纯 GP 溶液, 随着温度的升高, 磷的化学位移向低场移动(图 8a). 当 CS 和 GP 混合后, 虽然 GP 中磷的化学位移相比于纯的 GP 溶液明显偏向高场, 但随着 CS/GP 体系温度的升高, 磷的化学位移依旧向低场移动, 不过其移动的程度比在纯 GP 溶液中小, 表明在 GP/CS 体系中磷所处的化学环境因为受到 CS 的影响而与在纯 GP 溶液中有所不同.

2.6 壳聚糖/磷酸甘油盐体系凝胶机理的初步探讨

由于 CS 分子链上含有大量的氨基和羟基, 两者之间有很强的氢键相互作用, 因此 CS 本身不溶于水. 但是在(稀)酸溶液中, 由于 CS 上的氨基能够质子化形成氨基正离子($-\text{NH}_3^+$), 使 CS 分子链因为带相同电荷而产生静电排斥作用, 从而克服原先分子链间的氢键相互作用, 使 CS 分子可以溶解在(稀)酸溶液中(图 9a). 根据 CS 溶解在(稀)酸中形成溶液的原理, 我们很容易理解升高 CS 溶液的温度并不能破坏氨基正离子的形成, 从而

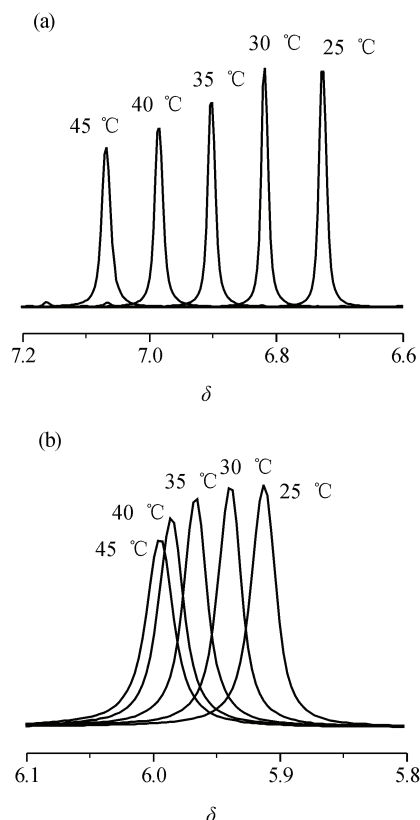


图 8 磷酸甘油盐溶液(a)和壳聚糖/磷酸甘油盐混合溶液(b)的 ^{31}P MNR 谱图

Figure 8 ^{31}P NMR spectra of GP (a) and CS/GP (b) solutions

无法重建 CS 分子链间的氢键相互作用, 因此纯粹的 CS 溶液并不具备温度敏感性. 但是从另一方面考虑, 如果提高 CS 溶液的 pH 值, 那么氨基正离子会被逐渐中和 (加入的碱性试剂的碱性一般总强于 CS 上的氨基, 因此

可以夺取氨基正离子上的质子), CS 分子链间的静电排斥力逐渐消失, 氢键相互作用逐渐得以重建, 因此 CS 溶液一般在 pH 值达到 6 左右时就会形成明显的凝胶.

在本文研究的 CS/GP 体系中, 虽然 GP 呈碱性(带负电), 但是其碱性较弱, 在较低的温度时(如 25 °C 左右)并不能夺取 CS C(2)连接的氨基正离子上的质子, 只是通过静电吸引结合在 CS 氨基正离子的周围(图 9b). 虽然此时 CS 上的电荷被中和, 但是由于 GP 的位阻效应, CS 分子链无法彼此靠近, 因此 CS/GP 体系仍呈溶液状态. CS/GP 的核磁共振氢谱很好地反映了这一现象: 由于 GP 和 CS 上氨基正离子的静电相互作用, 从而使 H-2(D)附近的电子云密度增强, 因此当 CS 和 GP 混合后 CS 上 H-2(D)的化学位移向高场移动.

随着温度的升高, 与 CS 上氨基结合的质子的热运动逐渐增加, 当到达某一温度时, GP 成功地夺取了氨基正离子上的质子而脱离 CS 分子链(图 9c). 此时, CS 由于既不带电荷, 又没有 GP 的位阻, 因此分子链间很快在氨基与氨基或氨基与羟基之间形成氢键而凝胶化(图 9d, 图中只表示了氨基与氨基之间的氢键, 但是氨基与羟基之间的氢键在凝胶过程中亦起着十分重要的作用). 很明显对 CS 上的氨基而言, 在凝胶的形成过程中包含静电相互作用的破坏和氢键相互作用的形成两个过程, 其化学环境发生了不连续的变化, 从而影响到同样连接在 C(2)上的 H-2(D)周围的电子云密度也发生了不连续的变化, 因此表现为 H-2(D)的化学位移在对应于凝胶形成的温度附近出现转折点.

当 CS/GP 体系中 GP 含量越高时, 由于静电吸引作

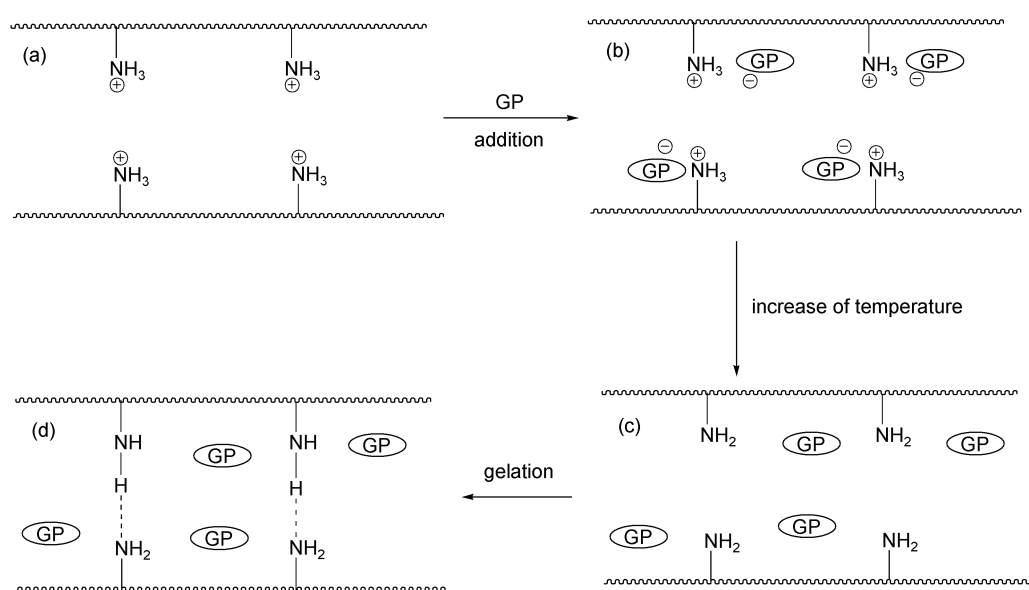


图 9 壳聚糖/磷酸甘油盐体系随温度升高发生凝胶化的示意图

Figure 9 The scheme of the gelation process of CS/GP system

用在 CS 上氨基正离子附近的 GP 就越多, 造成 CS 上 H-2(D)附近的电子云密度越高, 因此 H-2(D)的化学位移愈加偏向高场. 同时, 由于 GP 对氨基正离子上质子的吸引力增强, 因此在较低的温度 GP 就可夺取这个质子从而促使 CS 发生凝胶化. 另一方面, 如果 CS/GP 体系中的 pH 降低, 那么体系中将存在较多的质子. 由于 GP 更容易和游离的质子结合, 因此 CS 上氨基正离子附近的 GP 减少, 引起 CS 上 H-2(D)附近的电子云密度变弱, GP 对氨基正离子上质子的吸引力也变弱, 表现为 pH 值越低, H-2(D)的化学位移越偏向低场, 体系的凝胶温度越高. 可以想象, 如果 CS/GP 体系中的 pH 值降到体系中的 GP 均与游离的质子作用而不与 CS 上的氨基正离子作用, 体系就不会随温度的升高而形成凝胶.

在本研究中虽然我们成功地运用变温核磁共振技术对 CS/GP 温敏水凝胶体系的凝胶转变过程进行了研究, 并根据核磁共振的实验结果在一定程度上对 CS/GP 温敏水凝胶体系的凝胶机理进行了解释, 但是要完全弄清这个神奇的温敏水凝胶体系的凝胶化机理, 并开发出相应的新的基于天然高分子的温敏水凝胶体系仍需进行进一步深入的研究.

References

- Hoffman, A. S. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, *43*, 3.
- Ruel-Gariépy, E.; Leroux, J. C. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2004**, *58*, 409.
- Inoue, T.; Chen, G. H.; Nakamae, K.; Hoffman, A. S. *Polym. Gels Networks* **1997**, *5*, 561.
- Hoffman, A. S.; Chen, G.; Wu, X.; Ding, Z.; Kabra, B.; Randori, K.; Schiller, M.; Ron, E.; Peppas, N. A.; Brazel, C. *Polym. Prep.* **1997**, *38*, 524.
- Crowther, H. M.; Vincent, B. *Colloid Polym. Sci.* **1998**, *276*, 46.
- Wu, X. S.; Hoffman, A. S.; Yager, P. J. *Polym. Sci. Polym. Chem.* **1992**, *30*, 2121.
- Wang, M. Z.; Fang, Y.; Hu, D. D. *React. Funct. Polym.* **2001**, *48*, 215.
- Chenite, A.; Chaput, C.; Wang, D. *Biomaterials* **2000**, *21*, 2155.
- Chen, G.; Zhou, P.; Pan, L.-F.; Mei, N.; Wu, C.-G.; Chen, X.; Shao, Z.-Z. *Acta Chim. Sinica* **2004**, *62*, 992 (in Chinese).
(陈光, 周平, 潘釜凤, 梅娜, 吴春根, 陈新, 邵正中, 化学学报, **2004**, *62*, 992.)
- Yang, Q.-R.; Chen, X.; Shao, Z.-Z. *Acta Chim. Sinica* **2005**, *63*, 259 (in Chinese).
(杨前荣, 陈新, 邵正中, 化学学报, **2005**, *63*, 259.)
- Bergera, J.; Reista, M.; Mayera, J. M.; Felth, O.; Gurnyb, R. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2004**, *57*, 35.
- Bergera, J.; Reista, M.; Mayera, J. M.; Felth, O.; Gurnyb, R. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2004**, *57*, 19.
- Ruel-Gariépy, E.; Chenitel, A. *Int. J. Pharm.* **2000**, *203*, 89.
- Crompton, K. E.; Prankerd, R. J. *Biophys. Chem.* **2005**, *117*, 47.
- Babsky, A.; Hekmatyar, S. K.; Wehrli, S.; Nelson, D.; Bansal, N. *NMR Biomed.* **2004**, *17*, 33.
- Hoffmann, M. M.; Conradi, M. S. *J. Supercrit. Fluid* **1998**, *14*, 31.
- Cade-Menun, B. J. *Talanta* **2005**, *66*, 359.
- Hancock, T. J.; HSU, J. T. *Biotechnol. Bioeng.* **1996**, *514*, 10.
- Deshmukh, M. V.; Vaidy, A. A.; Kulkarni, M. G.; Rajamohan, P. R.; Ganapathy, S. *Polymer* **2000**, *41*, 7951.
- Hirai, A.; Odani, H.; Nakajima, A. *Polym. Bull.* **1991**, *26*, 87.
- Lavertu, M.; Xia, Z.; Serreqi, A. N.; Berrada, M.; Rodrigues, A.; Wang, D.; Buschmann, M. D.; Gupta, A. *J. Pharm. Biomed.* **2003**, *32*, 1149.

(A0701246 YANG, X.)