• 研究论文 •

ARGET ATRP 与 ROP 结合制备 pH 响应两亲性聚合物分子刷及其 自组装研究

杨友强 孙清清 张灿阳 郭新东 章莉娟* 文秀芳

(华南理工大学化学与化工学院 广州 510640)

摘要 结合电子转移活化剂再生-原子转移自由基聚合(ARGET ATRP)和开环聚合(ROP)法合成了一种具有无规疏水/pH 响应结构的两亲性聚合物分子刷聚(甲基丙烯酸聚丙交酯酯-*co*-甲基丙烯酸)-*b*-聚甲基丙烯酸单甲氧基聚乙二醇酯[P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA]。通过核磁共振氢谱(^1H NMR)和凝胶渗透色谱(GPC)表征了聚合物的结构、分子量及分子量分布。优化了反应条件并合成出分子量可控、分子量分布窄的聚合产物。采用动态光散射法(DLS)、扫描电子显微镜(SEM)研究了聚合物分子刷在水溶液中自组装胶束的粒径、形貌及 pH 响应行为。P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA 自组装形成粒径分布均匀的球形胶束。且随着溶液 pH 值从 7 降低至 3, 胶束中的 PMAA 逐渐去离子化, 溶胀的胶束逐渐收缩, 粒径由 200~300 nm 减小至 150 nm 左右; 但当 pH 值减小到 2 以下, 胶束表面电荷量非常小, 胶束聚集, 使得粒径增大。

关键词 pH 响应; 聚合物分子刷; 自组装胶束; ARGET ATRP; ROP

Synthesis of pH-Sensitive Amphiphilic Copolymer Brush by the Combination of ARGET ATRP with ROP and Its Self-Assembly Behavior

Yang, Youqiang Sun, Qingqing Zhang, Canyang
Guo, Xindong Zhang, Lijuan* Wen, Xiufang

(School of Chemistry and Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640)

Abstract A random hydrophobic/pH-sensitive copolymer brush poly(poly(lactide methacrylate-*co*-methacrylic acid)-*b*-poly(poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate) [P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA] was synthesized by the combination of activators regenerated by electron transfer atom transfer radical polymerization (ARGET ATRP) with ring opening polymerization (ROP). The chemical structure, molecular weight and polydispersity index were characterized by nuclear magnetic resonance hydrogen spectrum (^1H NMR) and gel permeation chromatography (GPC). The reaction conditions of polymerization were optimized and polymer products with controllable molecular weight and narrow distribution were obtained. The self-assembly behavior (micelle size, morphology and pH-sensitive properties) of the polymer brush was investigated by dynamic light scattering (DLS) and scanning electron microscopy (SEM). The P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA self-assembled micelles were sphere in morphology and with an uniform

* E-mail: celjzh@scut.edu.cn

Received August 30, 2011; revised October 30, 2011; accepted November 9, 2011.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21176090), Team Project of Natural Science Foundation of Guangdong Province (No. S2011030001366), Guangdong Province Science Foundation (No. 9251064101000009), Guangzhou Municipal Bureau of Science and Technology (No. 2009J1-C511-2) and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (No. 2011ZM0041).

国家自然科学基金(No. 21176090)、广东省自然科学基金团队项目(No. S2011030001366)、广东省自然科学基金(No. 9251064101000009)、广州市应用基础研究计划(No. 2009J1-C511-2)和中央高校基本科研业务费专项资金(No. 2011ZM0041)资助项目。

particle size. As the solution pH decreased from 7 to 3, the deionization of carboxyl groups of PMAA contributed to the shrinking of micelle structure, which made the micelle size decreased from 200~300 nm to about 150 nm. When the solution pH decreased to below 2, the surface charge of micelle became very small which resulting in the aggregation of micelles and the increase of micelle size.

Keywords pH-sensitive; polymer brush; self-assembled micelle; ARGET ATRP; ROP

由两亲性共聚物自组装形成的具有核壳结构的纳米胶束具有独特的结构和性能,在分子识别、药物递送系统、纳米反应器等方面都有广泛的应用^[1,2].其最重要的应用是作为药物载体.胶束的疏水内核可以有效地增溶疏水性药物,提高其表观水溶性,提供被动和主动靶向能力,改变药物体内循环的途径,提高药物在特定部位的活性从而提高药效,降低副作用^[3~5].pH 响应性聚合物胶束可以随着环境 pH 变化使胶束结构发生相转变、聚集、解离等变化,进而控制药物的释放行为^[6].Kim 等^[7]设计了一种聚乙二醇-聚(丙烯酸-co-乙烯基苄氧基二乙基烟酰胺)(mPEG-P(AA-co-VBODENA))共聚物,用于紫杉醇(PTX)的口服给药,通过调节聚合物结构中丙烯酸(AA)的含量来控制药物的释放速率,该载药体系在肠液环境下 12 h 内可释放出全部 PTX.Lee 等^[8]制备了一种由聚乙二醇-聚组氨酸(PEG-PHis)及其衍生物形成的混合胶束,并将其用于阿霉素(DOX)的靶向给药,该胶束在肿瘤细胞处的弱酸性 pH 环境下由于组氨酸质子化而使靶向基团 TAT 暴露在胶束表面,进而促进胶束的内化和药物的释放.

聚合物分子刷是一种接枝密度较高的接枝共聚物,它可以有效增强胶束核/壳层密度,增强胶束表面的亲水性、抗蛋白和血小板吸附能力,提高胶束的稳定性,延长胶束的循环周期,从而改善胶束载药体系的控释性能^[9,10].Shen 等^[11]研制了一种由三元聚合物分子刷聚己内酯-co-聚乙二醇-co-聚甲基丙烯酸二乙氨基乙酯(PCL-co-PEG-co-PDEA)自组装形成的三层结构的 pH 响应纳米胶束,该胶束在正常组织中不带电荷,几乎不与细胞膜发生吸附作用,而当胶束进入肿瘤组织的酸性环境中,由于甲基丙烯酸二乙氨基乙酯(DEA)的质子化作用,整个胶束带正电荷,通过静电作用吸附到细胞膜上,并快速内吞到细胞内,从而有效杀死肿瘤细胞.谢美然等^[12]合成一种高密度两亲性接枝聚合物刷,其主链单体单元上均含有一条疏水性聚己内酯(PCL)接枝链和一条亲水性聚甲基丙烯酸二甲氨基乙酯(PDMAEMA)接枝链,通过对其自组装行为的研究发现可以形成线团或草莓状胶束.本课题组^[13]采用原子转移自由基聚合(ATRP)法合成了一种 pH 响应两亲性共聚物刷,并将其自组装胶束用于难溶性药物的口服给药,该自组装胶束

的载药能力强,没有明显的突释现象,且 pH 响应性能良好,通过调节胶束结构中甲基丙烯酸(PMAA)的含量可以控制药物的释放速率及效率.从文献进展可知,pH 响应性聚合物分子刷自组装胶束具有优良的载药及控制释放性能,但仍有一些关键技术有待解决,其中,设计并合成具有特定组成、结构和功能的聚合物分子刷材料以满足不同的药物递送要求,对于获得具有良好 pH 响应性控释性能的自组装胶束至关重要^[14,15].

本文采用电子转移活化剂再生-原子转移自由基聚合(ARGET ATRP)和开环聚合(ROP)法合成一种具有无规疏水/pH 响应结构的亲水性聚合物分子刷 P(PLAMA-co-MAA)-*b*-PPEGMA.这种疏水/pH 响应基团呈无规的结构,可以增加自组装胶束内核中 pH 响应区域,疏水的 PLA 为接枝刷状结构,有利于提高胶束内核的紧密度,将 PMAA 固定在胶束核内而不是核壳界面,避免因 PMAA 离子化而使得胶束内核过度溶胀导致胶束解离,从而在维持高载药量的前提下有效缓解突释.同时无规疏水/pH 响应结构使得整个胶束内核都会随着 PMAA 的离子化而溶胀,从而实现被载药物的完全释放.该聚合物分子刷的自组装胶束在胃液环境中,PMAA 疏水,胶束内核紧密从而保护所包载的药物;在肠道环境中由于 PMAA 离子化,胶束发生溶胀,释放出药物.并可通过调节聚合物分子刷中 PMAA 的含量来满足不同的释放要求.本文将优化反应条件,控制产物性能,并研究其 pH 响应的自组装行为.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

甲基丙烯酸叔丁酯(*t*BMA, 99%, 日本 TCI-EP)使用前用 10% NaOH 溶液洗涤,氢化钙干燥后减压蒸馏, -20 °C 保存;甲基丙烯酸羟乙酯(HEMA, 99%, Aldrich)使用前过中性氧化铝层析柱后减压蒸馏,保存在 -20 °C;甲基丙烯酸单甲氧基聚乙二醇酯(PEGMA, 99%, $M_n = 475$, Aldrich)过中性氧化铝层析柱后保存在 -20 °C; *D*, *L*-丙交酯(*D*, *L*-LA, 济南岱罡生物科技有限公司),使用前用乙酸乙酯重结晶 3 次;甲苯(AR, 广东光华)用氢化钙干燥后蒸馏;四氢呋喃(THF, AR, 广东光华)、二甲

基甲酰胺(DMF, AR, 江苏强盛化工)、正己烷(AR, 江苏强盛化工)、2-溴异丁酸乙酯(EBriB, 98%, Alfa Aesar)、五甲基二亚乙基三胺(PMDETA, 98%, Alfa Aesar)、辛酸亚锡($\text{Sn}(\text{Oct})_2$, AR, 国药集团)、溴化铜(CuBr_2 , 98%, 上海新宝化工)、三氟乙酸(99%, CNW)、二氯甲烷(AR, 国药)和甲醇(AR, 广东光华)等直接使用。

采用凝胶渗透色谱仪(GPC, 美国 Agilent 1200)测定聚合物的数均分子量(M_n)及分子量分布(M_w/M_n), 以 THF 为流动相, 聚苯乙烯为标样, 温度为 30 °C, 流速为 1 mL $\cdot$ min⁻¹. 核磁共振氢谱(¹H NMR, 瑞士 Bruker AVANCE III 400)测定时以氘代氯仿(d - CDCl_3)和氘代二甲基亚砜(d_6 -DMSO)为溶剂, 四甲基硅烷(TMS)为内标, 温度为 25 °C. 胶束粒径大小采用动态光散射法(DLS, 英国 Malvern Zetasizer Nano S)测定, 入射波长 $\lambda=800$ nm, 温度为 25 °C, 散射角为 90°. 采用扫描电子显微镜(SEM, 德国 LEO 1530 VP)表征胶束的形貌, 加速电压为 5 kV, 放大倍数为 10000 $\times$ 和 20000 $\times$.

1.2 pH 响应两亲性聚合物分子刷的合成

1.2.1 聚(甲基丙烯酸羟乙酯-*co*-甲基丙烯酸叔丁酯)(P(HEMA-*co*-*t*BMA)-Br)的合成

采用 ARGET ATRP 法合成. 将 11.2 mg (0.05 mmol) CuBr_2 置于 50 mL 带搅拌子的反应瓶中, 密封后抽真空-通氩气三次. 依次用注射器将 20 mL 甲苯、1.215 mL (10 mmol) HEMA、9.430 mL (58 mmol) *t*BMA 和 104 μL (0.5 mmol) 配体 PMDETA 加入反应瓶中, 搅拌 10 min 使催化剂配合物形成. 再将 202.5 mg (0.5 mmol) 还原剂 $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ 加入反应瓶中, 搅拌 5 min 后加入 147 μL (1 mmol) 引发剂 EBriB, 转入 70 °C 油浴中搅拌反应 2 h. 反应完成后, 冷却至室温, 加入 50 mL THF 稀释, 然后以 THF 作洗脱剂, 经中性氧化铝柱子过滤除去催化剂, 得到的溶液经旋转蒸发浓缩后缓慢加入到 300 mL 0 °C 甲醇/水(1:1 体积比)中沉淀, 用去离子水洗涤 2 次后在 45 °C 下真空干燥 24 h, 得到白色粉末. 产率为 90%.

1.2.2 聚(甲基丙烯酸聚丙交酯酯-*co*-甲基丙烯酸叔丁酯)(P(PLAMA-*co*-*t*BMA)-Br)的合成

采用 ROP 法合成. 取烘烤干燥的 50 mL 反应瓶, 将 4 g *D*, *L*-LA 和 6.67 g (0.8 mmol) P(HEMA-*co*-*t*BMA)-Br 加入带搅拌子的反应瓶中, 密封后抽真空-通氩气 3 次, 在氩气保护下依次加入 20 mL 甲苯和 4 mg $\text{Sn}(\text{Oct})_2$, 用液氮进行三次冷冻-抽气-升温循环后, 转入 100 °C 油浴中反应 24 h. 反应完成后, 先减压蒸去甲苯, 再用 40 mL THF 将聚合物溶解, 用 300 mL 0 °C 甲醇/水(1:1 体积比)沉淀, 过滤, 然后在 45 °C 下真空干燥 24 h, 得到白色粉末. 产率为 84%.

1.2.3 聚(甲基丙烯酸聚丙交酯酯-*co*-甲基丙烯酸叔丁酯)-*b*-聚甲基丙烯酸单甲氧基聚乙二醇酯(P(PLAMA-*co*-*t*BMA)-*b*-PPEGMA)的合成

采用 ARGET ATRP 法. 将 6.7 mg (0.03 mmol) CuBr_2 和 8.1 g (0.6 mmol) P(PLAMA-*co*-*t*BMA)-Br 置于 50 mL 带搅拌子的反应瓶中, 密封后抽真空-通氩气三次. 依次用注射器将 20 mL 甲苯、3 g PEGMA 和 63 μL (0.3 mmol) PMDETA 加入反应瓶中, 搅拌 10 min 使催化剂配合物形成. 再将 121.5 mg (0.3 mmol) $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ 加入反应瓶中, 搅拌 5 min 后转入 70 °C 油浴中搅拌反应 24 h. 反应完成后, 冷却至室温, 加入 50 mL THF 稀释, 然后以 THF 作洗脱剂经中性氧化铝柱子过滤除去催化剂, 得到的溶液旋转蒸发浓缩后缓慢加入到 300 mL 0 °C 正己烷中沉淀, 过滤后在 35 °C 下真空干燥 24 h, 得到白色粉末. 产率为 80%.

1.2.4 聚(甲基丙烯酸聚丙交酯酯-*co*-甲基丙烯酸)-*b*-聚甲基丙烯酸单甲氧基聚乙二醇酯(P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA)的合成

称取 1.73 g (0.1 mmol) P(PLAMA-*co*-*t*BMA)-*b*-PPEGMA 至 50 mL 圆底烧瓶中, 加入 20 mL 无水二氯甲烷溶解聚合物, 用冰水浴冷却至 0 °C 后逐滴缓慢加入 3.7 mL (50 mmol) 三氟乙酸^[16,17], 在 0 °C 下反应 15 min, 再在室温下反应 18 h. 旋转蒸发除掉溶剂后用 10 mL THF 溶解, 再缓慢加入到 50 mL 0 °C 正己烷中沉淀. 过滤后置于 40 °C 下真空干燥 24 h. 产率 85%.

1.3 胶束制备

采用透析法制备聚合物自组装胶束. 将 40 mg P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA 溶于 50 mL DMF 中, 室温下搅拌 4 h 后转入透析袋(MWCO3000), 用 1 L 去离子水透析 48 h, 每 4 h 更换一次透析介质. 得到的胶束溶液用 0.1 mol/L HCl 溶液调节其 pH 值, 动态光散射法(DLS)测试不同 pH 值下胶束的粒径及粒径分布. 将胶束溶液冷冻干燥后用扫描电镜(SEM)观察其形貌.

2 结果与讨论

2.1 聚合物分子刷的合成及表征

2.1.1 聚合反应条件优化及 GPC 表征

P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA 的合成路线如 Scheme 1 所示, 采用 ARGET ATRP 和 ROP 方法, 并通过选择性水解反应得到.

对于 HEMA 和 *t*BMA 的 ARGET ATRP 共聚反应, 尚未见文献报道. 本文以甲苯为共溶剂, 探讨催化剂、还原剂、温度等反应条件对产物的影响, 通过 GPC 对其分子量及分布进行表征, 结果见表 1. 从表 1 可以看到,

图式1 P(PLAMA-co-MAA)-b-PPEGMA聚合物分子刷的合成路线

Scheme 1 Synthetic route of the P(PLAMA-co-MAA)-b-PPEGMA

表1 不同反应条件的 P(HEMA-co-tBMA)-Br 的分子量及分子量分布

Table 1 Molecular weight and distribution of P(HEMA-co-tBMA)-Br at different reaction conditions

Sample	EBriB/CuBr ₂ /PMDETA/Sn(Oct) ₂ ^a	HEMA ^a	tBMA ^a	T/°C	t/h	Conversion/%	M _n ^b	M _w /M _n ^b
1	1/0.05/0.25/0.25	10	35	70	3	71	4959	1.17
2	1/0.05/0.5/0.5	10	35	60	2	85	6616	1.24
3	1/0.05/0.5/0.5	10	35	70	2	87	6708	1.18
4	1/0.05/0.5/0.5	10	50	80	2	83	8335	1.22
5	1/0.05/0.5/0.5	10	60	90	1.5	91	10209	1.29
6	1/0.05/1/1	10	35	70	2	90	7100	1.36
7	1/0.1/0.5/0.5	10	35	80	2	81	6030	1.46
8	1/0.1/1/1	10	60	70	2	89	9916	1.47

^a Molar ratio of reagents to EBriB. ^b Determined by GPC.

催化剂 CuBr₂ 与还原剂 Sn(Oct)₂ 的用量及其物质的量比对反应影响最大。CuBr₂ 为 0.05(与 EBriB 的物质的量比, 引发剂 EBriB 用量定为 1 mmol, 下同)时, 产物(Sample 1~6)的分子量分布较窄, 而增加至 0.1 时(Sample 7, 8)则明显变宽, 其原因在于 ARGET ATRP 反应的速率取决于 Cu(I)和 Cu(II)的相对含量和稳定的[Cu(I)]/[Cu(II)]比率, 这个平衡需要由还原剂控制, CuBr₂ 的总量太多则使[Cu(I)]/[Cu(II)]很难保持稳定, 从而使反应的可控性降低进而影响产物的性能, 随着 CuBr₂ 用量的减少, 可以有效减少反应体系的副反应, 使产物分子量分布更窄^[18,19]。Sn(Oct)₂ 则会影响反应的速率及转化率, 太少(0.25, Sample 1)则无法保证足够的 Cu(I)量, 因而造成反应太慢, 转化率低; 太高时(1, Sample 6, 8)会使[Cu(I)]/[Cu(II)]过大且难于稳定, 从而使分子量分布变宽^[20]。因此最佳 Sn(Oct)₂ 用量为 0.5, 可以保持较快的反应速率和较窄的分子量分布。此外, 随着反应温度升高(Sample 2~5), 反应速率及转化率都会不断提高, 但是温度过高则会使分子量分布有所增大, 综合考虑, 最佳反应温度为 70 °C。

以 P(HEMA-co-tBMA)-Br 的侧链羟基引发丙交酯

的开环聚合得到 P(PLAMA-co-tBMA)-Br 聚合物刷。采用 M_n=6708 的 P(HEMA-co-tBMA)-Br (Sample 3)为大分子引发剂, 考察了催化剂 Sn(Oct)₂ 的用量(单体 D, L-LA 质量的 0.05%~1%)的影响, 结果见表 2。从表 2 可知, Sn(Oct)₂ 量太少(0.05%)时, 催化效率较差^[21], 48 h 后产物分子量仅增加不到 2000, 且分布较宽。增加其用量可以有效提高催化效率, 但是继续增大至 0.5%, 产物的分子量又开始变小且分布变宽, 这主要是由于过多的 Sn(Oct)₂ 会造成短链 PLA 的产生从而使产物的分子量减小, 分布变宽^[22]。本文中确定最佳 Sn(Oct)₂ 用量为 0.1%。

表2 催化剂用量对 P(LAMA-co-tBMA)-Br 的分子量及分子量分布的影响

Table 2 Effect of the amount of catalyst on the molecular weight and distribution of P(LAMA-co-tBMA)-Br

Sn(Oct) ₂	t/h	M _n ^a	M _w /M _n ^a
0.05%	24	8495	1.31
0.05%	48	10974	1.34
0.1%	24	12225	1.27
0.2%	24	12109	1.30
0.5%	24	11537	1.37
1%	24	11052	1.36

^a Determined by GPC.

采用上述条件, 选用 HEMA/*t*BMA 投料比分别为 10/35 和 10/50 的 P(HEMA-*co-t*BMA)-Br 合成 P(PLAMA-*co-t*BMA)-Br, 然后引发大分子单体 PEGMA 的 ARGET ATRP 反应, 得到两种具有不同 *t*BMA 含量(35 和 50)的 P(PLAMA-*co-t*BMA)-*b*-PPEGMA, 其反应条件与 HEMA/*t*BMA 的共聚反应相同, 通过延长反应时间至 24 h 使其产率最大. 最后用三氟乙酸对 *t*BMA 的叔丁基进行选择水解得到 P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA. 产物的 M_n 及 M_w/M_n 采用 GPC 表征, 结果列于表 3. 测定的分子量与理论值($M_{n,Th}$, 根据各步反应的单体投料比计算)比较接近, 分子量分布相对较窄, 最终得到的 P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA 的 M_w/M_n 为 1.25 ~ 1.30.

表 3 P(PLAMA-*co-t*BMA)-*b*-PPEGMA 和 P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA 的分子量及分子量分布

Table 3 Molecular weight and distribution of P(PLAMA-*co-t*BMA)-*b*-PPEGMA and P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA

Sample ^a	$M_{n,Th}$ ^b	M_n ^c	M_w/M_n ^c
P(PLAMA ₁₀ - <i>co-t</i> BMA ₃₅)- <i>b</i> -PPEGMA ₁₀	15300	16056	1.27
P(PLAMA ₁₀ - <i>co-t</i> BMA ₅₀)- <i>b</i> -PPEGMA ₁₀	17800	17335	1.30
P(PLAMA ₁₀ - <i>co</i> -MAA ₃₅)- <i>b</i> -PPEGMA ₁₀	13300	13448	1.26
P(PLAMA ₁₀ - <i>co</i> -MAA ₅₀)- <i>b</i> -PPEGMA ₁₀	14800	14025	1.25

^a The subscript was the molar ratio of monomer to initiator. ^b Calculated by theory. ^c Determined by GPC.

2.1.2 ¹H NMR 表征

各步反应产物的结构及组成由 ¹H NMR 表征. 图 1(A)为 P(HEMA-*co-t*BMA)-Br 的 ¹H NMR 图, δ 0.8~1.2 (峰 b)和 1.7~2.0(峰 a)是甲基丙烯酸酯主链上甲基和亚甲基的质子峰, δ 1.42(峰 c)是 *t*BMA 叔丁基的特征质子峰, 而 δ 4.12 (峰 d)和 3.86(峰 e)则对应于 HEMA 的两个亚甲基. 利用峰 c 与峰 e 的积分面积比可以计算聚合物中 *t*BMA 和 HEMA 的相对百分含量, 结果列于表 4 中. 可以看出, 计算结果与理论值(根据单体嵌段投料物质的量比计算得到)非常接近.

图 1(B)为 P(PLAMA-*co-t*BMA)-Br 的 ¹H NMR 图, 其中 δ 5.16(峰 g)和 δ 1.56(峰 f)分别为 PLA 侧链中次甲基和甲基的特征质子峰. 图 1(C)为 P(PLAMA-*co-t*BMA)-*b*-PPEGMA 的 ¹H NMR 图, 其中 δ 3.38(峰 i)和 δ 3.65(峰 h)对应于 PEGMA 的末端甲基和主链的亚甲基. 经过三氟乙酸水解得到 P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA 后, *t*BMA 的叔丁基(δ 1.42)特征峰消失, 而 δ 12.30 则对应于新生成的羧基(图 2)^[23]. 利用各特征峰的积分面积求得各组成单元的相对百分含量, 也列于表 4. 所合成的 P(PLAMA-*co-t*BMA)-*b*-PPEGMA 及其前驱体的结构组成与理论值接近.

图 1 P(HEMA-*co-t*BMA)-Br (A), P(PLAMA-*co-t*BMA)-Br (B) 和 P(PLAMA-*co-t*BMA)-*b*-PPEGMA (C)在 d -CDCl₃ 中的 ¹H NMR 谱图

Figure 1 ¹H NMR spectra of P(HEMA-*co-t*BMA)-Br (A), P(PLAMA-*co-t*BMA)-Br (B) and P(PLAMA-*co-t*BMA)-*b*-PPEGMA (C) in d -CDCl₃

图 2 P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA 在 d_6 -DMSO 中的 ¹H NMR 谱图

Figure 2 ¹H NMR spectrum of P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA in d_6 -DMSO

2.2 胶束的 pH 响应自组装行为

采用透析法制备 P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA 的自组装胶束. 实验中选用两种不同 PMAA 含量的 P(PLAMA-*co*-MAA)-*b*-PPEGMA 分子刷, 通过调节胶束溶液的 pH 值, 研究其自组装胶束的形态变化. 其自组装胶束溶液都随着 pH 变小而逐渐由澄清变混浊, 再升

表 4 P(PLAMA-co-MAA)-*b*-PPEGMA 及其前驱聚合物的 ^1H NMR 分析结果Table 4 ^1H NMR data of P(PLAMA-co-MAA)-*b*-PPEGMA and its precursors

Sample ^a	$C_{\text{Th}}^b/C_{\text{NMR}}^c$				
	PHEMA	PtBMA	PMAA	PPLAMA	PPEGMA
P(HEMA ₁₀ -co- <i>t</i> BMA ₃₅)-Br	20/26	80/74			
P(HEMA ₁₀ -co- <i>t</i> BMA ₅₀)-Br	15/17	85/83			
P(PLAMA ₁₀ -co- <i>t</i> BMA ₃₅)-Br		44/46		56/54	
P(PLAMA ₁₀ -co- <i>t</i> BMA ₅₀)-Br		54/56		46/44	
P(PLAMA ₁₀ -co- <i>t</i> BMA ₃₅)- <i>b</i> -PPEGMA ₁₀		33/34		41/40	26/26
P(PLAMA ₁₀ -co- <i>t</i> BMA ₅₀)- <i>b</i> -PPEGMA ₁₀		42/44		35/34	22/23
P(PLAMA ₁₀ -co-MAA ₃₅)- <i>b</i> -PPEGMA ₁₀			23/24	47/46	30/30
P(PLAMA ₁₀ -co-MAA ₅₀)- <i>b</i> -PPEGMA ₁₀			31/32	42/41	27/27

^a The subscript was the molar ratio of monomer to initiator. ^b Calculated by the feed ratio. ^c Determined by the integration ratio of ^1H NMR spectra.

表 5 不同 pH 时 P(PLAMA-co-MAA)-*b*-PPEGMA 胶束的 DLS 分析结果Table 5 DLS results of P(PLAMA-co-MAA)-*b*-PPEGMA micelles at different pH

pH	P(PLAMA ₁₀ -co-MAA ₃₅)- <i>b</i> -PPEGMA ₁₀			pH	P(PLAMA ₁₀ -co-MAA ₅₀)- <i>b</i> -PPEGMA ₁₀		
	Size/nm	PDI	Zeta potential/mV		Size/nm	PDI	Zeta potential/mV
7.36	224	0.102	-39.8	7.67	300	0.198	-45.9
6.46	218	0.076	-39.5	6.47	256	0.212	-45.3
5.59	195	0.033	-34.1	5.40	244	0.276	-40.3
4.81	177	0.056	-30.5	4.52	160	0.249	-36.9
3.89	171	0.077	-23.0	3.71	165	0.314	-33.3
2.86	140	0.063	-17.5	2.88	178	0.265	-14.2
2.02	454	0.158	-1.9	2.02	467	0.230	-1.0
1.33	2338	—	0.3	1.26	2669	—	-0.2

高 pH 值又会可逆地变为澄清的透明胶束溶液. 表 5 列出了随着 pH 变化 P(PLAMA-co-MAA)-*b*-PPEGMA 自组装胶束的粒径、粒径分布指数(PDI)及 Zeta 电位的变化. 从表中可知, 所制备的 P(PLAMA-co-MAA)-*b*-PPEGMA 胶束粒径分布较均匀, PDI 小于 0.3, 说明胶束的单分散性好. 随着 pH 逐渐降低, 胶束的粒径先是逐渐变小然后又增大.

对于 P(PLAMA₁₀-co-MAA₃₅)-*b*-PPEGMA₁₀ 胶束, pH > 5 时, PMAA 链段上的羧基离子化形成羧酸根, 由于阴离子间的静电排斥作用, 使胶束粒径增大, 同时离子化使得胶束的亲水性增强, 胶束发生溶胀, 也使粒径增大, 其粒径大小在 220 nm 左右. 图 3(A)是将 pH 7.36 时的胶束溶液经过冷冻干燥得到的固体胶束粉末的 SEM 图, 胶束呈球形, 分布比较均匀. 而当 pH 降低至 3~5 时, PMAA 的羧基逐渐发生去离子化作用, 胶束的 Zeta 电位不断变小, 胶束的疏水性增强, 且胶束中各链段的静电排斥作用减弱, 胶束溶胀能力下降, 溶胀的胶束逐渐收缩使得粒径变小^[24], 逐渐降低至 150 nm 左右, 说明胶束的相转变主要发生在该 pH 范围; 继续降低至 pH < 2, 几乎所有羧基都已去离子化, 胶束表面接近中性, 胶束间的静电排斥作用变得很弱, 同时, 由于大量的羧基存在, 分子间氢键作用增强, 分子间易于相互靠近和接触, 这都使得胶束发生聚集作用, 使得粒径增大

图 3 pH 7.36 (A)和 pH 1.33 (B)时 P(PLAMA₁₀-co-MAA₃₅)-*b*-PPEGMA₁₀ 胶束的 SEM 图Figure 3 SEM images of P(PLAMA₁₀-co-MAA₃₅)-*b*-PPEGMA₁₀ micelle at pH 7.36 (A) and pH 1.33 (B)

至 500 nm 以上, 从而使胶束溶液变混浊^[25]. 聚合物的自组装及 pH 响应的粒径变化过程如 Scheme 2 所示. 将 pH 1.33 时的胶束溶液冷冻干燥后, 用 SEM 观察其形貌 (图 3B), 也看到胶束发生明显的聚集. P(PLAMA₁₀-co-MAA₅₀)-*b*-PPEGMA₁₀ 的胶束也有类似的规律, 但其粒径和 PDI 都较 P(PLAMA₁₀-co-MAA₃₅)-*b*-PPEGMA₁₀ 要大, 这主要是由于 P(PLAMA₁₀-co-MAA₅₀)-*b*-PPEGMA₁₀ 胶束中 PMAA 含量较多, 胶束中链段间排斥作用更大, 且由于羧基离子化造成胶束内核中亲水性更强而使胶束的稳定更难, 使得其粒径更大, 分布变宽. 此外由于 PMAA 含量的增加, 也使得 P(PLAMA₁₀-co-MAA₅₀)-*b*-

图式 2 P(PLAMA-co-MAA)-b-PPEGMA 胶束的 pH 响应行为
Scheme 2 The pH-sensitive behavior of the P(PLAMA-co-MAA)-b-PPEGMA micelle

PPEGMA₁₀ 胶束的 Zeta 电位比 P(PLAMA₁₀-co-MAA₃₅)-b-PPEGMA₁₀ 胶束的大。

从 pH 3~5 范围内 Zeta 电位的变化趋势可知, P(PLAMA₁₀-co-MAA₃₅)-b-PPEGMA₁₀ 胶束的 Zeta 电位在 pH 4~5 时变化较大, 说明在该 pH 范围, PMAA 的羧基的去离子化增加较多, 因而 pH 4~5 为其相转变点。而 P(PLAMA₁₀-co-MAA₅₀)-b-PPEGMA₁₀ 胶束的相转变点降低至 pH 3~4, 这是由于其含有更多的 PMAA, 在 pH 3~4 时已经有大量的羧基发生去离子化作用, 使得胶束的 Zeta 电位急剧增加。上述结果表明, 所制备的 P(PLAMA-co-MAA)-b-PPEGMA 胶束具有良好的 pH 响应性能, 其随 pH 变化的收缩-溶胀作用可应用于疏水性药物的控制释放。

3 结论

采用 ARGET ATRP 和 ROP 法合成了一种具有无规疏水/pH 响应结构的聚合物分子刷 P(PLAMA-co-MAA)-b-PPEGMA。探讨并优化了合成条件, 发现 ARGET ATRP 的催化剂 CuBr₂ 和还原剂 Sn(Oct)₂ 用量对反应影响较大, 增加 CuBr₂ 的量会使分子量分布变宽, 而 Sn(Oct)₂ 则需保持一定用量, 太少则转化率低, 太多会使分子量分布变宽。ROP 反应的最优 Sn(Oct)₂ 用量为单体的 0.1%。该聚合物刷可自组装形成球形的纳米胶束, 粒径分布均匀, 且具有良好的 pH 响应性能。胶束随着 pH 值变化具有可逆的溶胀-收缩-聚集相变行为, pH 值从 7 降低至 3, 胶束结构中的 PMAA 逐渐去离子化, 溶胀的胶束逐渐收缩, 粒径由 200~300 nm 减小至 150 nm 左右; 但当 pH 值减小到 2 以下, 胶束表面电荷量非常小, 胶束间的静电排斥作用减弱, 胶束发生聚集, 使得粒径增大。

References

1 Torchilin, V. P. *Cell. Mol. Life Sci.* **2004**, *61*, 2549.

- 2 Bromberg, L. J. *Controlled Release* **2008**, *128*, 99.
- 3 Gaucher, G.; Dufresne, M. H.; Sant, V. P.; Kang, N.; Maysinger, D.; Leroux, J. C. *J. Controlled Release* **2005**, *109*, 169.
- 4 Zhou, Z. Y.; D'Emanuele, A.; Lennon, K.; Attwood, D. *Macromolecules* **2009**, *42*, 7936.
- 5 Tyrrell, Z. L.; Shen, Y. Q.; Radosz, M. *Prog. Polym. Sci.* **2010**, *35*, 1128.
- 6 Xu, J. X.; Tang, J. B.; Zhao, L. H.; Shen, Y. Q. *Acta Pharmacol. Sin.* **2009**, *44*, 1328 (in Chinese). (许金霞, 唐建斌, 赵鲁杭, 申有青, 药学学报, **2009**, *44*, 1328.)
- 7 Kim, S.; Kim, J. Y.; Huh, K. M.; Acharya, G.; Park, K. *J. Controlled Release* **2008**, *132*, 222.
- 8 Lee, E. S.; Gao, Z. G.; Kim, D.; Park, K.; Kwon, I. C.; Bae, Y. H. *J. Controlled Release* **2008**, *129*, 228.
- 9 Zhang, L.; Li, W.; Zhang, A. F. *Prog. Chem.* **2006**, *18*, 939 (in Chinese). (张磊, 李文, 张阿方, 化学进展, **2006**, *18*, 939.)
- 10 Lee, H. I.; Pietrasik, J.; Sheiko, S. S.; Matyjaszewski, K. *Prog. Polym. Sci.* **2010**, *35*, 24.
- 11 Shen, Y. Q.; Zhan, Y. H.; Tang, J. B.; Xu, P. S.; Johnson, P. A.; Radosz, M.; Van Kirk, E. A.; Murdoch, W. J. *AIChE J.* **2008**, *54*, 2979.
- 12 Xie, M. R.; Dang, J. Y.; Shi, J. X.; Han, H. J.; Song, C. M.; Huang, W.; Zhang, Y. Q. *Acta Chim. Sinica* **2009**, *67*, 869 (in Chinese). (谢美然, 党靖雅, 史佳鑫, 韩会景, 宋春梅, 黄炜, 张以群, 化学学报, **2009**, *67*, 869.)
- 13 Yang, Y. Q.; Zheng, L. S.; Guo, X. D.; Qian, Y.; Zhang, L. J. *Biomacromolecules* **2010**, *12*, 116.
- 14 Xu, F. J.; Neoh, K. G.; Kang, E. T. *Prog. Polym. Sci.* **2009**, *34*, 719.
- 15 Matyjaszewski, K.; Tsarevsky, N. V. *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 276.
- 16 Mori, H.; Muller, A. H. E. *Prog. Polym. Sci.* **2003**, *28*, 1403.
- 17 Mori, H.; Seng, D. C.; Lechner, H.; Zhang, M. F.; Muller, A. H. E. *Macromolecules* **2002**, *35*, 9270.
- 18 Jakubowski, W.; Kirci-Denizli, B.; Gil, R. R.; Matyjaszewski, K. *Macromol. Chem. Phys.* **2008**, *209*, 32.
- 19 Jakubowski, W.; Min, K.; Matyjaszewski, K. *Macromolecules* **2006**, *39*, 39.
- 20 Jakubowski, W.; Matyjaszewski, K. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45*, 4482.
- 21 Ring, J. O.; Thomann, R.; Mulhaupt, R.; Raquez, J. M.; Degee, P.; Dubois, P. *Macromol. Chem. Phys.* **2007**, *208*, 896.
- 22 Nouvel, C.; Dubois, P.; Dellacherie, E.; Six, J. L. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2004**, *42*, 2577.
- 23 Li, Z.; Day, M.; Ding, J. F.; Faide, K. *Macromolecules* **2005**, *38*, 2620.
- 24 Sun, G. X.; Zhang, M. Z.; Xu, Y.; Lu, Y. M.; Ni, P. H. *Acta Chim. Sinica* **2009**, *67*, 1685 (in Chinese). (孙桂香, 张明祖, 许杨, 陆一鸣, 倪沛红, 化学学报, **2009**, *67*, 1685.)
- 25 Zhong, L.; He, X. H.; Zhou, Y. F.; Yan, D. Y.; Pan, C. Y. *Acta Polym. Sin.* **2007**, (10), 986 (in Chinese). (钟玲, 贺小华, 周永丰, 颜德岳, 潘才元, 高分子学报, **2007**, (10), 986.)

(A1108302 Cheng, B.)