

RAFT 法制备 pH 敏感两亲性嵌段聚合物

吴德州, 李 楠, 孙春梅, 卢 琴, 吕汪洋, 陈文兴

(浙江理工大学先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室, 杭州 310018)

摘 要: 利用酰胺化反应, 合成 pH 敏感性单体甲基丙烯酸二异丙胺基乙酯(DPA)和亲水性单体 *N*-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺(HPMA), 并通过可逆加成—断裂链转移聚合(RAFT)制备 pH 敏感两亲性二嵌段聚合物。结果显示: 该聚合物在水溶液和生理盐水中具有较好的 pH 敏感性能, 并能在一定 pH 范围内的溶液中形成稳定的胶束, 有望作为治疗肿瘤的药物载体。

关键词: 可逆加成—断裂链转移聚合; pH 敏感; 两亲性; 嵌段聚合物

中图分类号: TQ317 **文献标识码:** A

0 引 言

在过去的十几年里, 环境响应性聚合物的制备受到了广泛关注, 成为了高分子领域研究的热点之一, 这些外界环境因素包括温度^[1-3]、pH^[4-6]、光、电解质^[7]等。大多数环境响应性聚合物的研究主要集中于二嵌段聚合物, 聚合物通常包含永久亲水性链段以及可根据外界环境调节其亲/疏水性的链段, 能够在水溶液中形成以亲水性链段为冠, 以疏水性链段为核的胶束结构。由于环境响应性聚合物的这些特征, 使得这类聚合物在许多领域都具有良好的应用前景, 如生物医药、光电材料、分散技术、催化剂等。

目前, 合成二嵌段聚合物常用的方法有氮氧自由基聚合(NMP)、原子自由基转移聚合(ATRP)和可逆加成—断裂链转移聚合(RAFT)。RAFT 聚合虽然是出现相对较晚的活性可控自由基聚合方法, 但是由于它适用的单体范围较宽, 反应条件温和, 且易于引入各种官能团, 所以在目前活性可控聚合方法中应用最广。本文将通过 RAFT 方法制备分子量分布较窄, 具有良好的 pH 敏感性能且在溶液中

能形成稳定胶束的两亲性二嵌段聚合物, 有望作为药物载体材料, 将小分子药物通过胶束包裹运输到体内病变部位, 对病变部位进行靶向治疗。

1 实验部分

1.1 实验试剂

甲基丙烯酸(天津市科密欧化学试剂有限公司, AR); 二异丙胺基乙醇(建德市新德化工有限公司, AR); 异丙醇胺、二环己基碳二酰亚胺、1-羟基-苯并-三氮唑、4-二甲氨基吡啶(上海晶纯实业有限公司, AR); 二氯甲烷(杭州高晶精细化工有限公司, AR); 二氧六环(百灵威科技有限公司, 99.8%); D001 型强酸性阳离子交换树脂(上海树脂厂); 偶氮二异丁腈(AIBN, 天津市科密欧化学试剂有限公司, 使用前在二氯甲烷中重结晶 2 次); 4-氰基二硫代苯甲酰戊酸(CPADB, 美国 STREM 公司, 97%)。

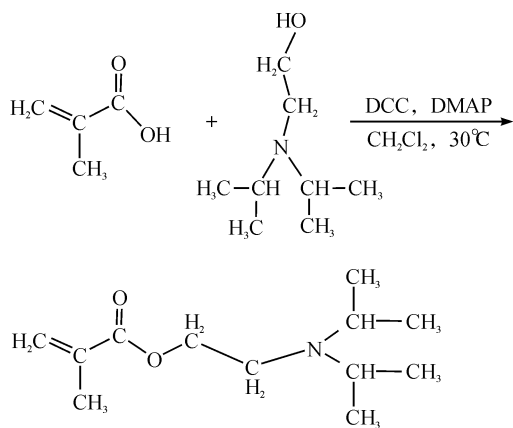
1.2 实验仪器

AVANCE-AV 400 核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司), 6890N/5975 气质联用仪(美国 Agilent 公司), U-3010 紫外—可见光分光光度计(日本 Hitachi 公司), 冷冻干燥仪(美国 LABCONCO 公司),

PL-GPC50 凝胶渗透色谱(美国 Varian 公司);LB-550 动态光散射仪(日本 HORIBA 公司)。

1.3 甲基丙烯酸二异丙胺基乙酯(DPA)的合成^[8]

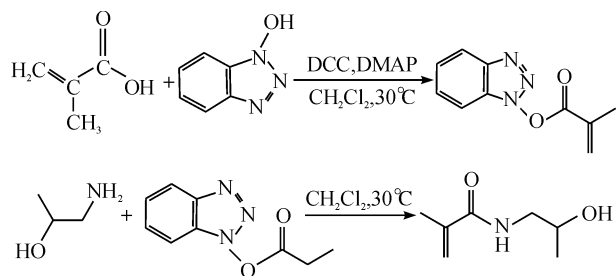
将二环己基碳二酰亚胺(8.24 g, 0.04 mol)、二异丙胺基乙醇(6.64 mL, 0.04 mol)、甲基丙烯酸(6.76 mL, 0.08 mol)和 4-二甲氨基吡啶(0.244 g)溶于 120 mL 二氯甲烷中,将混合溶液放入三口烧瓶中反应,反应温度 30℃,时间 5 h。其反应方程式如下:



反应结束后,混合液通过离心除去白色沉淀 DPU,得到的溶液用旋转蒸发器除去溶剂二氯甲烷,将剩余的残液溶于 150 mL 去离子水。调节 pH 至 8.5,溶液出现分层现象,用分液漏斗进行分液,上清液即为 DPA,将得到的 DPA 在 4℃ 下保存。

1.4 N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺(HPMA)的合成^[9]

将甲基丙烯酸(7.76 mL, 0.08 mol)、1-羟基-苯并-三氮唑(10.84 g, 0.08 mol)、二环己基碳二酰亚胺(16.48 g, 0.08 mol)、DMAP(0.488 g)溶于 200 mL 二氯甲烷中放入三口烧瓶反应,在 30℃ 下反应 24 h,抽滤除去白色沉淀。所得溶液倒入三口烧瓶继续反应,将 6.2 mL(0.08 mol)异丙醇胺加入到三口烧瓶,在 30℃ 下反应 8 h。其反应方程式如下:

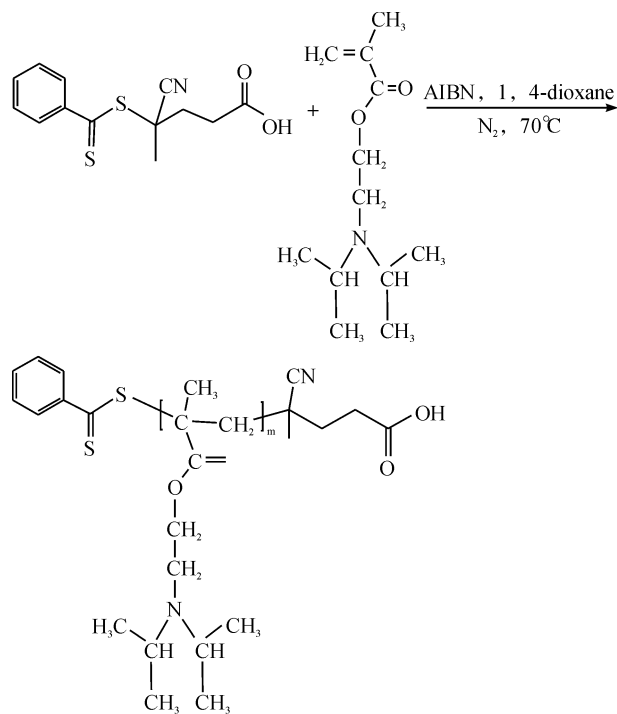


将得到的液体真空抽滤除去白色沉淀,所得清液减压蒸馏除去溶剂二氯甲烷。将浓缩好的液体加

入到 250 mL 去离子水中,超声振荡 30 min,过滤除去沉淀,清液通过两次强酸性阳离子交换树脂柱,所得水溶液减压旋转蒸发除去水,将产物溶于二氯甲烷中,放入-16℃的冰箱中冷冻过夜重结晶,过滤,最后得到目标产物 HPMA。

1.5 大分子链转移剂 PDPA 的制备

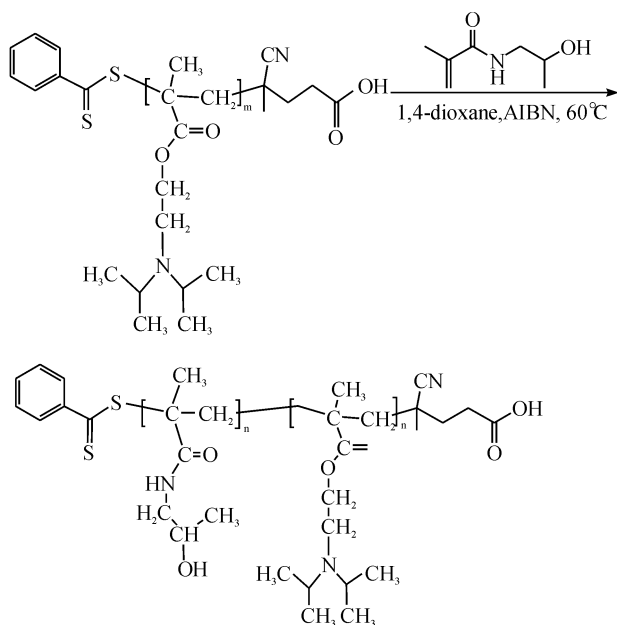
将 4-氰基二硫代苯甲酰戊酸(CPADB, 0.020 9 g, 0.075 mmol)和偶氮二异丁腈(0.003 1 g, 0.018 75 mmol)加入到容量为 5 mL 的长颈瓶中,长颈瓶中加入 2.5 mL 二氧六环作为溶剂,最后在长颈瓶中加入 DPA(2.40 g, 11.25 mmol)单体。将加入完物料的长颈瓶通氮气溶解,使用液氮冷冻,在 N₂ 保护下冷融抽换气 3 次,真空状态下封管,置于 70℃ 下反应一定时间。其反应方程式如下:



反应结束后,在丙酮和去离子水中透析,冷冻干燥得到产物 PDPA。

1.6 pH 敏感二嵌段聚合物 PDPA_m-b-PHPMA_n 的制备

将 PDPA 大分子链转移剂(0.75 g, 0.013 mmol)和偶氮二异丁腈(0.0006 g, 0.004 mmol)加入到容量为 5 mL 的长颈瓶中,向长颈瓶中加入 2.0 mL 二氧六环作为溶剂,最后向长颈瓶中加入 HPMA(0.24 g, 1.68 mmol, 先溶于 1.0 mL 甲醇中再加入)单体,将加完物料的长颈瓶通氮气抽真空,在 N₂ 保护下冷融抽换气 3 次,真空状态下封管,置于 70℃ 下反应 24 h。其反应方程式如下:



反应结束后,在去离子水中透析,冷冻干燥得到产物。

1.7 产物的表征与测试

1.7.1 核磁共振波谱仪测试

产物以 CDCl_3 或者 $\text{DCl}/\text{D}_2\text{O}$ 为溶剂,使用 AVANCE-AV 400 型超导核磁共振波谱仪测试其 ^1H NMR 谱图。

1.7.2 DPA 的气质联用仪测试

使用 Agilent 6890N/5975 气质联用仪测试合成产物,色谱柱:Agilent 122-3821 DB-35MS 石英毛细管柱, $0.25\text{ mm}\times 30\text{ m}\times 0.15\text{ }\mu\text{m}$ 。

1.7.3 PDPA 的凝胶渗透色谱仪测试

采用 PL-GPC50 型凝胶渗透色谱仪(GPC)测试聚合物的分子量及分子量分布,溶剂流动相为 THF,流速为 $1.0\text{ mL}/\text{min}$ 。

1.7.4 PDPA_m-b-PHPMA_n 的粒径分布测试

pH 敏感性聚合物配置成 $0.5\text{ g}/\text{L}$ 的水溶液, $\text{pH}=7.40$,粒子折光指数为 1.62,采用 LB-550 动态光散射仪进行测试。

1.7.5 PDPA_m-b-PHPMA_n 的 pH 敏感性测试

将聚合物分别溶于水溶液和生理盐水中,配置成 $0.5\text{ g}/\text{L}$ 溶液,调节 pH $4.0\sim 8.0$ 范围内,以 $120\text{ nm}/\text{min}$ 的扫描速率,用 U-3010 型紫外-可见分光光度计测试,测试温度 25°C ,波长 550 nm 。

2 结果与讨论

2.1 DPA 的结构表征

2.1.1 DPA 的核磁谱图分析

为了表征合成产物的结构,对其进行核磁共振

测试,图 1 为甲基丙烯酸二异丙胺基乙酯(DPA)在 CDCl_3 中 ^1H NMR 谱图。图 1 中,化学位移为 $6.101/10^6$ (单重峰)和 $5.532/10^6$ (单重峰)是分子中碳碳双键上的氢原子,化学位移为 $1.937/10^6$ (单重峰)是分子中碳碳双键上的甲基峰,化学位移为 $(4.051\sim 4.086)/10^6$ (三重峰)是分子中与氧原子相连的亚甲基峰,化学位移为 $(2.664\sim 2.699)/10^6$ (三重峰)是分子中与氮原子相连的亚甲基峰,化学位移为 $(2.961\sim 3.059)/10^6$ (七重峰)是分子中与氮原子相连的叔碳原子上的氢原子峰,化学位移为 $(1.006\sim 1.023)/10^6$ (二重峰)是分子中异丙胺基上的甲基峰。所得值与理论值基本相符,且纯度较高,初步证明 DPA 已经合成成功。

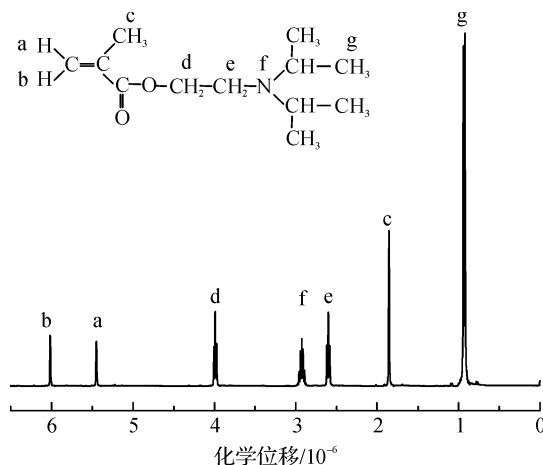


图 1 DPA 在 CDCl_3 的 ^1H NMR 谱

2.1.2 DPA 的质谱谱图分析

为了进一步确定其结构,用气质联用仪对其进行分析,图 2 为 DPA 的质谱图谱。图 2 中, $m/z=213$ 为分子离子峰; $m/z=198$ 的基峰对应于分子离

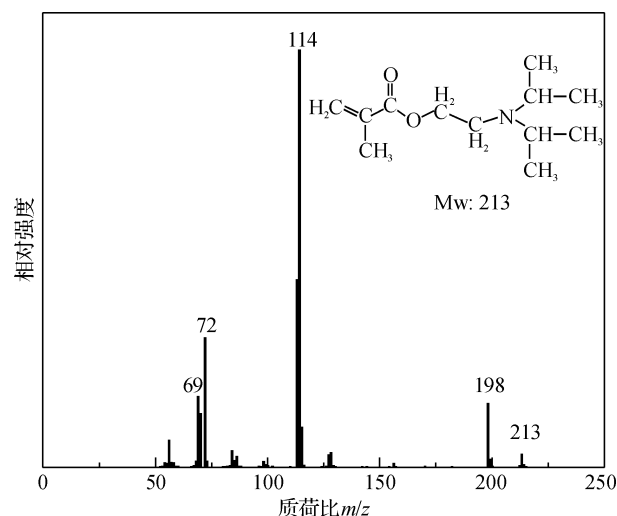


图 2 DPA 的质谱图谱

子经 α -裂分失去碳碳双键上的甲基自由基形成的碎片离子峰; $m/z=114$ 的基峰对应于分子离子峰经过 α -裂分失去二异丙胺基自由基形成的碎片离子峰。通过对质谱图谱的分析,可以确认 DPA 已经合成成功。

2.2 HPMA 的核磁谱图分析

图 3 为 HPMA 在 CDCl_3 中的核磁谱图。图 3 中,化学位移为 $5.739/10^6$ (单重峰)和 $5.355/10^6$ (单重峰)是分子中碳碳双键上的氢原子,化学位移为 $1.972/10^6$ (单重峰)是分子中碳碳双键上的甲基峰,化学位移为 $6.509/10^6$ (单重峰)是分子中氮原子上的氢原子峰,化学位移为 $(3.143\sim 3.209)/10^6$ (二重峰)是分子中与氮原子相连的亚甲基峰,化学位移为 $(3.469\sim 3.528)/10^6$ (二重峰)是分子中的羟基峰,化学位移为 $(3.915\sim 3.989)/10^6$ (十二重峰)是分子中与羟基相连的碳原子上的氢原子峰,化学位移为 $(1.197\sim 1.213)/10^6$ (二重峰)是分子中的甲基峰。所得值与理论值相符,表明 HPMA 已经合成成功,并且纯度较高。

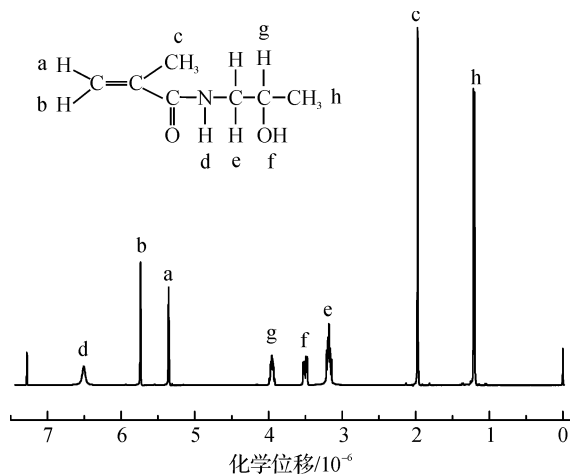


图 3 HPMA 在 CDCl_3 的 ^1H NMR 谱图

2.3 PDPA 的表征与测试

2.3.1 PDPA 的核磁谱图分析

图 4 为 PDPA 在 CDCl_3 的 ^1H NMR 谱图。图 4 中,化学位移为 $(3.828\sim 3.845)/10^6$ 是分子中与氧原子相连的亚甲基峰,化学位移为 $(2.623\sim 2.633)/10^6$ 是分子中与氮原子相连的亚甲基峰,化学位移为 $(1.001\sim 1.007)/10^6$ 是分子中丙胺基上的甲基峰,化学位移为 $(2.980\sim 2.986)/10^6$ 是分子中与氮原子和甲基相连的碳原子上的氢原子峰,化学位移为 $(0.914\sim 0.933)/10^6$ 是与分子主链相连的甲基峰,化学位移为 $(1.892\sim 1.928)/10^6$ 是分子主链上的亚甲基峰,由于聚合物分子量有一定的分

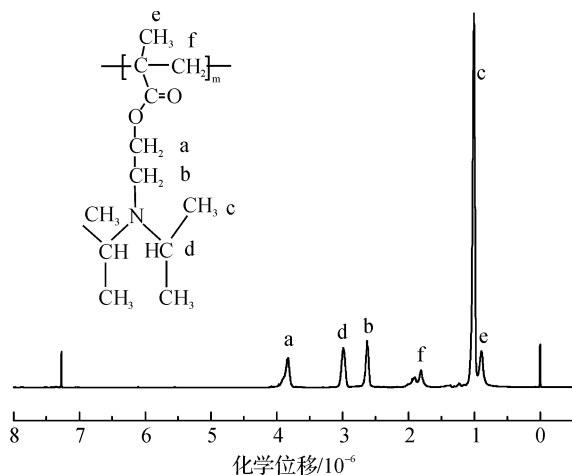


图 4 PDPA 在 CDCl_3 的 ^1H NMR 谱图

布,不同分子量的聚合物,出峰位置会有微小的偏移,位移峰相互重叠导致峰宽变宽,因此与单体中的位移峰有一定差别。

2.3.2 PDPA 的凝胶渗透色谱分析

PDPA 的分子量及分子量分布通过凝胶渗透色谱测试,结果如图 5 所示。图 5 可见,PDPA 的数均分子量 $M_n=27\,600\text{ g/mol}$,进而得出该聚合物的聚合度为 128,且其 $\text{PDI}=1.12$,分子量分布较窄,具有典型的活性可控自由基聚合的特征。

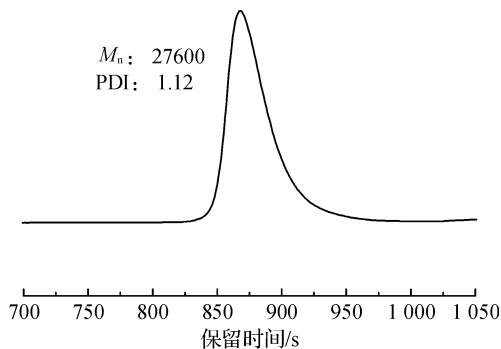


图 5 PDPA₁₂₈ 的 GPC 谱图

2.4 PDPA_m-b-PHPMA_n 的表征与性能测试

2.4.1 PDPA_m-b-PHPMA_n 的核磁谱图分析

图 6 为二嵌段聚合物 PDPA_m-b-PHPMA_n 在 $\text{DCl}/\text{D}_2\text{O}$ 中的 ^1H NMR 谱图。图 6 中,化学位移为 $(3.975\sim 3.997)/10^6$ 是 DPA 链段中与氧原子相连的亚甲基峰,化学位移为 $(3.011\sim 3.089)/10^6$ 是聚合物中的 DPA 链段中与氮原子相连的亚甲基,化学位移为 $(3.327\sim 3.415)/10^6$ 是 DPA 链段中与氮原子和甲基相连的碳原子上的氢原子峰以及 HPMA 链段中与羟基相连的碳原子上的氢原子峰,化学位移为 $(2.60\sim 2.72)/10^6$ 是 HPMA 链段中与氮原子相连的亚甲基。通过核磁的峰面积可以计算

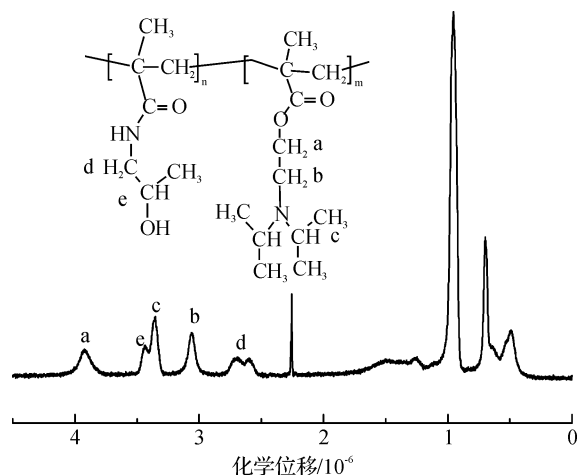


图 6 PDPA_m-b-PHPMA_n 在 DCl/D₂O 的 ¹H NMR 谱图
出 DPA 嵌段与 HPMA 嵌段的摩尔比是 1 : 0.56。
由此可以得出 HPMA 的聚合度为 75, 所以最后得到的
聚合物为 PDPA₁₂₈-b-PHPMA₇₅。

2.4.2 PDPA_m-b-PHPMA_n 的粒径分布测试

由于 PDPA 是 pH 敏感疏水性链段, PHPMA 是亲水性链段, 在溶液的 pH 较高时, 聚合物在水溶液中形成了以 PDPA 链段为核, 以 PHPMA 链段为冠的核壳结构。图 7 为聚合物在 pH=7.4 的水溶液中胶束粒径分布图。该聚合物在 pH=7.4 的水溶液能形成较稳定的胶束, 从图 7 可以看出, 平均粒径是 138.4 nm, 且胶束粒径分布较窄。

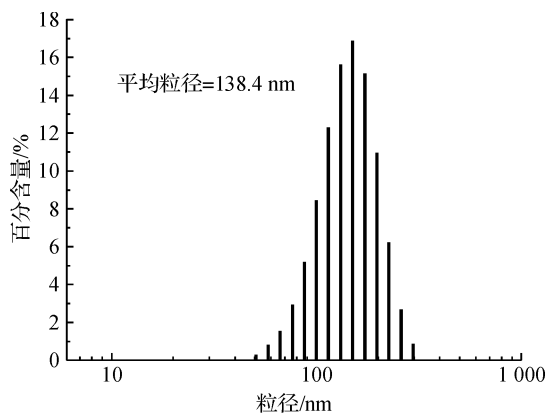
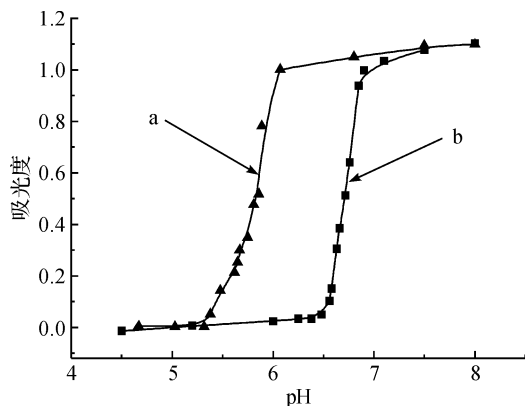


图 7 PDPA₁₂₈-b-PHPMA₇₅ 在水溶液中的粒径分布

2.4.2 PDPA_m-b-PHPMA_n 的 pH 敏感性能测试

图 8 曲线均是通过 0.5 mol/L 的盐酸溶液和 0.5 mol/L 的 NaOH 溶液调节得到, 曲线 a 为该聚合物在水溶液中的 pH 敏感性曲线, b 为该聚合物在生理盐水中的 pH 敏感性曲线。从图 8 可以看出, 聚合物在两种溶液中均具有较好 pH 敏感性能, 聚合物在水溶液中的 pH 敏感性范围为 5.3~6.0, 在生理盐水中的 pH 敏感范围为 6.5~7.0。聚合物在临界 pH 值以下的酸性溶液中, DPA 重复单元



a. 水溶液; b. 生理盐水

图 8 PDPA₁₂₈-b-PHPMA₇₅ 的 pH 敏感性曲线

通过其叔胺基的质子化而带有正电荷, 随着电荷密度的增大, 离子化的功能基团增加了链段的亲水性, 结果表现为聚合物呈亲水性; 在临界 pH 值以上的碱性溶液中, 由于聚合物本身不具备亲水性, 而功能基团的去离子化就使得分子链回缩, 表现出疏水性, 因此使得此类聚合物在水溶液中的分子链状态对 pH 有很强的依赖性。通过比较得出, 相对于在水溶液中的 pH 敏感范围, 在生理盐水中的 pH 敏感范围向碱性方向移动。这是由于在生理盐水中, Na⁺ 可以起到质子化作用, 但 Na⁺ 的离子半径比 H⁺ 的大, 导致质子化程度较低, 所以生理盐水只能使聚合物的 pH 敏感范围向碱性方向移动, 而不能使其溶解。

3 结 论

本文成功合成了 pH 敏感性单体甲基丙烯酸二异丙胺基乙酯 (DPA) 和亲水性单体 N-(2-羟丙基) 甲基丙烯酰胺 (HPMA), 并利用两种单体通过 RAFT 方法成功制备出了分子量分布较窄, 具有较好的 pH 敏感性的 pH 敏感两亲性二嵌段聚合物, 且该聚合物在 pH=7.4 时能形成稳定的胶束。

人体正常体液的 pH≈7.4, 而肿瘤细胞附近的 pH≈6.0, 因此本文所制备的聚合物有望作为治疗肿瘤药物的载体。在正常组织处, 药物被包裹在胶束内部, 可以降低或消除肿瘤药物对正常组织的毒性, 在肿瘤组织处, 药物被释放出来, 用于肿瘤的治疗。

参考文献:

- [1] Soga O, Van Nostrum C F, Ramzi A, et al. Physico-chemical characterization of degradable thermosensitive polymeric micelles[J]. Langmuir, 2004, 20(21): 9388-

- 9395.
- [2] Lowe A B, Torres M, Wang R. A doubly responsive AB diblock copolymer; RAFT synthesis and aqueous solution properties of poly (N-isopropylacrylamide-block-4-vinylbenzoic acid)[J]. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 2007, 45(24): 5864-5871.
- [3] Ueki T, Watanabe M, Lodge T P. Doubly thermosensitive self-assembly of diblock copolymers in ionic liquids [J]. *Macromolecules*, 2009, 42(4): 1315-1320.
- [4] Kim M S, Hwang S J, Han J K, et al. pH-Responsive PEG-poly(β -amino ester) block copolymer micelles with a sharp transition[J]. *Macromolecular Rapid Communications*, 2006, 27(6): 447-451.
- [5] Fournier D, Hoogenboom R, Hanneke M L, et al. Tunable pH- and temperature-sensitive copolymer libraries by reversible addition-fragmentation chain transfer copolymerizations of methacrylates[J]. *Macromolecules*, 2007, 40 (4): 915-920.
- [6] Zhou L J, Yu L Q, Ding M M, et al. Synthesis and characterization of pH-Sensitive biodegradable polyurethane for potential drug delivery applications[J]. *Macromolecules*, 2011, 44 (4): 857-864.
- [7] Donovan M S, Lowe A B, Sanford T A, et al. Sulfobetaine-containing diblock and triblock copolymers via reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization in aqueous media[J]. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 2003, 41(9): 1262-1281.
- [8] Neises B, Steglich W. Simple method for the esterification of carboxylic acids[J]. *Angew Chem Int Ed*, 1978, 17: 522-524.
- [9] Katritzky A R, Suzuki K, Singh S K. N-Acylation in combinatorial chemistry[J]. *ARKIVOC*, 2004(i): 12-35.

Preparation of pH-Sensitive Amphiphilic Diblock Copolymer via the RAFT Process

WU De-zhou, LI Nan, SUN Chun-mei, LU Qin, LÜ Wang-yang, CHEN Wen-xing

(The Key Laboratory of Advanced Textile Materials and Manufacturing Technology
(Zhejiang Sci-Tech University), Ministry of Education, Hangzhou 310018, China)

Abstract: The pH-sensitive monomer 2-Diisopropylaminoethyl methacrylate (DPA) and the hydrophilic monomer *N*-(2-Hydroxypropyl) methacrylamide (HPMA) are successfully synthesized using the amidation reaction. Then, pH-sensitive amphiphilic diblock copolymer of DPA with HPMA are prepared by reversible addition-fragmentation transfer (RAFT). The copolymer has superior property of pH-sensitivity in aqueous solution and physiological saline, and could form stable micelles in solution with certain pH range. Therefore, the copolymer has potential application in drug carrier for tumor therapy.

Key words: RAFT; pH-sensitive; amphiphilic; block copolymer

(责任编辑: 张祖尧)