木质素基偶氮聚合物胶体球的制备

邓永红 刘友法 张伟健 邱学青*

(华南理工大学化学与化工学院, 制浆造纸国家重点实验室, 广州 510640)

摘要: 利用造纸废液中的碱木素(AL)合成了木质素基偶氮聚合物(AL-azo-COOEt), 并研究其自组装胶体化过程. 木质素偶氮聚合物的成功合成通过核磁共振氢谱(^1H NMR)、紫外-可见(UV-Vis)光谱、傅里叶变换红外(FT-IR)光谱和元素分析等表征方法得到证实. 激光光散射(LLS)监测了AL-azo-COOEt的胶体化过程, 自组装形成的胶体球利用透射电镜(TEM)、扫描电镜(SEM)、X射线光电子能谱仪(XPS)和元素分析等进行表征. 结果表明, 木质素偶氮聚合物通过疏水聚集作用可以形成规整的实心胶体球, 且为内部较疏水外部较亲水性质的结构. 木质素偶氮聚合物胶体球可以包载疏水性药物阿霉素(DOX), 且其缓释性能可以通过缓冲溶液的pH值来调控.

关键词: 碱木素; 偶氮聚合物; 自组装; 胶体球; 包载

中图分类号: O648

Formation of Colloidal Spheres from a Lignin-Based Azo Polymer

DENG Yong-Hong LIU You-Fa ZHANG Wei-Jian QIU Xue-Qing*

(State Key Laboratory of Pulp and Paper Engineering, School of Chemistry and Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, P. R. China)

Abstract: 2-(4-Ethyl formate phenyl azo) phenol lignin-modified polymer (AL-azo-COOEt), a novel lignin-based azo polymer, has been successfully synthesized from alkali lignin (AL) recovered from pulping black liquor. The micellization process of the AL-azo-COOEt polymer was also studied. The synthetic products were characterized by elemental analysis, Fourier transform infrared (FT-IR) spectra, proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR) spectroscopy, and ultraviolet-visible (UV-Vis) spectroscopy. The formation of the micelles was monitored by laser light scattering (LLS), and a scanning electron microscope (SEM) and transmission electron microscope (TEM) were used to characterize the surface morphology of the colloidal spheres. X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and elemental analysis were used to obtain the surface element distribution and average element content of the colloidal spheres, respectively. Results show that lignin-based azo polymer AL-azo-COOEt can form uniform solid colloidal spheres by hydrophobic aggregation. Colloidal spheres formed gradually when the water content increased beyond the critical water content (CWC). The CWC has a linear relationship with the logarithm of the initial concentration of AL-azo-COOEt (C_0). The colloidal spheres consist of a relatively hydrophobic interior and a relatively hydrophilic surface. The AL-azo-COOEt colloidal spheres can load Doxorubicin (DOX) and the *in vitro* release can be controlled by adjusting the pH of buffered solution.

Key Words: Alkali lignin; Azo polymer; Self-assembly; Colloidal sphere; Micelle loading

1 引言

偶氮聚合物是指在聚合物结构中含芳香族偶

氮生色团的高分子. 令科研人员感兴趣的是它的光致顺反异构化反应, 偶氮苯生色团在光的作用下能

Received: November 19, 2014; Revised: January 16, 2015; Published on Web: January 19, 2015.

*Corresponding author. Email: xueqingqiu66@163.com; Tel: +86-87114722.

The project was supported by the National Natural Science Foundation of China (21436004, 21374032).

国家自然科学基金(21436004, 21374032)资助项目

© Editorial office of *Acta Physico-Chimica Sinica*

够发生可逆的顺反异构化反应。¹⁻⁴ 此外由于偶氮芳香核结构疏水, 特别含有不亲水的端基(如酯基)偶氮苯生色团可作为疏水链段引入聚合物体系,^{5,6} 形成的两亲性偶氮聚合物在选择性溶剂中可以自组装形成胶体球,⁷ 通过控制制备条件可以得到棒状、球状、囊泡状等不同形态的胶体粒子。⁸ 偶氮聚合物胶体球在药物缓释、智能控制、信息存储等领域有潜在的应用前景。^{9,10}

木质素作为植物界第二大可再生资源, 其应用已经引起越来越多的关注。¹¹⁻¹³ 通过对造纸废液中木质素改性制备木质素两亲聚合物是生物质资源综合利用的重要途径。Qiu等^{14,15}对木质素磺化改性得到了一系列具有表面活性的木质素两亲聚合物, 在农药分散剂、¹⁶ 混凝土减水剂、¹⁷ 水煤浆分散剂¹⁸等领域得到了很好的应用。利用造纸废液中的木质素作为芳香族聚合物骨架原料, 制备两亲性偶氮聚合物, 将促进生物质资源和化石资源交叉领域的发展, 同时为制备两亲性偶氮聚合物胶体球提供更价廉更环保的新途径。这种偶氮聚合物制备方法尚未见文献报道。

本文将疏水性对酯基偶氮苯结构引入碱木质素, 合成了木质素基偶氮两亲性聚合物 AL-azo-COOEt, 并通过自组装得到规整的实心纳米胶体球。胶体球的形成过程、结构和形成机理在激光光散射(LLS)、扫描电镜(SEM)、透射电镜(TEM)、X射线光电子能谱(XPS)等表征方法辅助下进行研究。

2 实验部分

2.1 原料与试剂

碱木质素(AL), 吉林石岷纸业杨木黑液酸洗提纯所得, 其相对分子质量通过凝胶渗透色谱(GPC)测得为3471, 多分散度为1.25。甲氧基含量根据参考文献¹⁹测试方法测得为10.04%, 各元素的含量(w)分别为C(60.03%), H(5.95%), O(33.96%)。基于以上结果计算的木质素基本骨架C₉单元的分子式是C₉H_{9.60}O_{3.45}(OCH₃)_{0.62}, 相对分子质量为192。

30%过氧化氢, 江苏强盛功能化学股份有限公司, 分析纯。4-氨基苯甲酸乙酯, Aladdin Chemistry Co. Ltd., >99%。亚硝酸钠, 上海凌峰化学试剂有限公司, 分析纯。氢氧化钠, 南京化学试剂有限公司, 分析纯。浓硫酸, 广州市东红化工厂, 分析纯。四氢呋喃(THF), 天津市科密欧化学试剂有限公司, 色谱纯。阿霉素盐酸盐(DOX·HCl), 北京华奉联博科技

有限公司, >99.5%。三乙胺(TEA), 江苏永华精细化学品有限公司, 分析纯。透析袋, 上海绿鸟科技发展有限公司进口分装, 截留分子质为3500。

2.2 偶氮聚合物的制备

取1.8 g碱木质素, 溶解于200 mL 0.4 g·L⁻¹的NaOH溶液(pH=12)中, 在85 °C水浴条件下, 滴加30%双氧水0.36 g, 反应1 h后冷却至室温。

称取1.32 g (8 mmol)对氨基苯甲酸乙酯加入硫酸溶液(20 mL, 15 mmol), 在0-5 °C条件下搅拌反应20 min, 使其充分形成铵盐。再在搅拌下向上述溶液滴加5 mL NaNO₂冷水溶液(0.607 g, 8.8 mmol), 继续反应1 h, 得到重氮盐。将反应后的碱木质素与制备的重氮盐混合, 用3%(w) NaOH溶液调节pH值至9.5-10, 在0-5 °C下继续反应1 h。反应完成后, 向反应后的溶液滴加适量稀H₂SO₄调节溶液pH值至3-4, 使产物酸析沉淀, 静置30 min后抽滤, 沉淀物用去离子水洗涤2-3次, 于冷冻干燥机中干燥后取出, 得到干燥褐色产物。

2.3 包载阿霉素的胶体球的制备

载阿霉素(DOX)的胶体球是这样制得的: 将DOX·HCl在THF中加入稍过量的(2-3倍)三乙胺(TEA)避光搅拌过夜以取得疏水性DOX。²⁰ 溶有AL-azo-COOEt的THF溶液(10 mL)和上述DOX溶液(10 mg DOX溶于10 mL THF)混合并搅拌3 h, 向上述混合物THF溶液滴加水, 制得包载DOX的AL-azo-COOEt聚合物胶体球溶液, 然后在截留分子量为3500的透析袋中透析48 h, 除去THF、未包载的DOX和AL-azo-COOEt碎片, 透析后的胶体球溶液冷冻干燥得到载DOX胶体球粉末。²¹

2.4 包载量的计算

紫外扫描阿霉素的吸收波长在240和481 nm, 而木质素偶氮聚合物的最大吸收波长在280和481 nm处仅有较弱的紫外吸收, 故检测紫外吸收波长选择在481 nm。建立二甲基亚砜(DMSO)溶剂中的紫外吸光度与浓度的标准曲线, 将胶体球溶于DMSO溶剂(AL-azo-COOEt和DOX均可溶)然后测其481 nm处吸光度, 使用标准曲线计算药物含量。

载药量 Ψ_{DLC} 按公式(1)计算:

$$\Psi_{DLC} = m_1 / (m_1 + m_2) \times 100\% \quad (1)$$

其中 m_1 为胶束中药物的质量(mg), m_2 为共聚物载体的质量(mg)。

2.5 胶体球pH缓释实验

紫外分光光度计法测定不同浓度下阿霉素水

溶液的吸光度, 以阿霉素浓度(C)对吸光度(A)进行线性回归, 在 $0.10\text{--}10\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内得标准曲线: $C=0.025A+0.0031$ ($R^2=0.9997$). 结果表明, 在此范围内阿霉素浓度与吸光度之间线性关系良好.

精确称取 $6\ \text{mg}$ 载药胶体球, 用 $6\ \text{mL}$ 高纯水溶解分散, 马上将溶液转移到透析袋中, 将透析袋放入 $400\ \text{mL}$ 、 $\text{pH}=5.8$ 的缓冲溶液中, 于 $25\ ^\circ\text{C}$ 下进行释放实验. 定期取出 $5\ \text{mL}$ 释放液, 并同时补充相同体积的缓冲液继续释放. 分别测试取出液在 $480\ \text{nm}$ 处的吸光度值, 在吸光度-浓度标准曲线上推算其浓度, 进而算得释药量, 绘制释药率与时间曲线. $\text{pH}=8.0, 9.2$ 时除 pH 缓冲溶液不同外, 其它实验条件同上.

2.6 仪器与表征

紫外光谱由日本岛津公司 UV-2450 紫外分光光度计测得. 红外光谱由英国 Pye Unicam 公司 SP2000 红外分光光度计测得. 核磁氢谱由德国 Bruker 公司 AVANCE Digital 400 MHz NMR 超导核磁共振谱仪测量. 元素分析由 PERKIN ELMER USA 公司 PE 2400 II 型元素分析仪测得.

静态光散射和动态光散射都是使用德国 ALV 公司生产的配备 LSE-7004 多 τ 数字相关器的 ALV/CGS-3 紧凑型静、动态光散射仪测得. 检测器前安装了荧光过滤器和 Glan-Thompson 干涉器以减少荧光引起的误差. 折光率 (dn/dC) 用 BI-DNDC (DNDC-2010, WEG, Germany) 测试得出胶体球水溶液为 $0.255\ \text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$.

胶体球的 TEM 图像由 HITACHI H-7650 透射电镜测得, 加速电压为 $120\ \text{kV}$, 样品制备是在由薄碳架支撑的铜网上滴加稀释的胶体球溶液, 然后在 $25\ ^\circ\text{C}$ 时干燥 $24\ \text{h}$ 制得的, 未经染色处理. 胶体球膜 SEM

图像是由 NOVA NANOSEM 430 扫描电镜测得.

3 结果与讨论

3.1 木质素偶氮聚合物的合成

碱木质素通过和重氮盐偶合反应合成了木质素偶氮聚合物 AL-azo-COOEt, 合成路线如图 1 所示. 通过核磁氢谱、紫外表征、红外表征和元素分析可以证明木质素偶氮聚合物 AL-azo-COOEt 成功合成.

图 2 是碱木质素和 AL-azo-COOEt 的核磁氢谱. 相对于 AL, AL-azo-COOEt 有新的氢原子的特征化学位移 (δ), 在 $\delta=1.3, 4.3$ 处, 分别是接入的偶氮苯甲酸酯基团的末端甲基和亚甲基上氢的特征位移; 同时, AL-azo-COOEt 相对于 AL 在 $\delta=7.5, 8.0$ 处有新的芳香核上氢的化学位移, 木质素偶氮聚合物在较 AL 更低的频率有更强的共振, 原因是接入了电负性的苯甲酸酯基团, 使芳香核上氢的化学位移发生变化.

图 3 是碱木质素和 AL-azo-COOEt 分别溶于 THF 溶剂中测得的紫外光谱, 碱木质素在 $280\ \text{nm}$ 处有其特征峰, 和碱木质素相比, AL-azo-COOEt 在 $350\ \text{nm}$ 处有新的偶氮基团特征吸收峰. 图 4 通过 AL-azo-COOEt 固体压片测得的红外光谱, 和碱木质素红外光谱对比, AL-azo-COOEt 红外光谱在波数 $1712\ \text{cm}^{-1}$ 处有与芳香环共轭羰基特征吸收, 而碱木质素几乎没有. 与芳香环共轭的羰基吸收大部分只能来自于引入的偶氮苯甲酸酯基团. 表 1 是碱木质素和 AL-azo-COOEt 的元素分析结果, 可以发现反应前后 N 元素的含量增加. 综上表征结果表明, AL-azo-COOEt 成功合成.

木质素偶氮聚合物 AL-azo-COOEt 中偶氮基团官能化度 (DF) 等于 31.5% , 可通过公式 (2) 计算得到:

图 1 木质素基偶氮聚合物 AL-azo-COOEt 的合成流程图

Fig.1 Synthetic scheme of lignin-based azo polymer AL-azo-COOEt

图2 碱木素和AL-azo-COOEt在氘代二甲基亚砷(DMSO- d_6)中的核磁共振氢谱

Fig.2 ^1H NMR spectra of alkali lignin (AL) and lignin-based azo polymer in dimethyl sulfoxide (DMSO- d_6)

图3 碱木素和AL-azo-COOEt在THF溶液中的紫外-可见光谱

Fig.3 UV-Vis spectra of alkali lignin and lignin-based azo polymer in tetrahydrofuran (THF) solutions

In contrast to the alkali lignin, there is new characteristic absorption band in the range of 300–500 nm.

$$w(\text{N}) \approx \frac{\text{DF} \times 14 \times n_{\text{azo}}}{M_{\text{w,unit}} + \text{DF} \times M_{\text{w,azo}}} \times 100\% \quad (2)$$

式中 $w(\text{N})$ 是聚合物中氮元素的质量分数; $M_{\text{w,unit}}$ 是碱木素 C_9 单元结构的相对分子质量, 为 192; $M_{\text{w,azo}}$ 是成功接枝的偶氮基团的相对分子质量, 为 177; n_{azo} 是偶氮端基中氮原子的个数, 该分子的 $n_{\text{azo}}=2$.

3.2 木质素偶氮聚合物胶体球的制备

木质素偶氮聚合物 AL-azo-COOEt 首先溶解在 THF 中得到 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液, 当水逐渐加入到 AL-azo-COOEt/THF 溶液里, 溶剂逐渐变成 AL-azo-COOEt 疏水基团的劣溶剂. 由于疏水作用, AL-azo-COOEt 分子开始在溶液中聚集. 光散射监测该过程如图 5 所示, 随着混合溶剂中水含量的增加, 溶液的

图4 碱木素和AL-azo-COOEt的傅里叶变换红外光谱
Fig.4 FT-IR spectra of alkali lignin and AL-azo-COOEt

表1 AL-azo-COOEt和碱木素的元素分析结果

Table 1 Elemental analyses (EA) of AL-azo-COOEt and alkali lignin

Sample	w(C)/%	w(H)/%	w(N)/%	w(O)/%
AL	60.74	5.88	0.10	32.01
AL-azo-COOEt	61.77	5.606	3.559	28.95

光散射强度发生变化. 当混合溶液的水含量达到一个临界值 ($41\%(\varphi)$), 光散射强度急剧增加, 表明 AL-azo-COOEt 分子开始形成胶体球, 这时的水含量定义为临界水含量 φ_{cwc} . φ_{cwc} 与制备过程中 AL-azo-COOEt 的初始浓度有关. 如图 5 的插图所示, φ_{cwc} 与初始浓度的对数 $\lg C_0$ 有线性关系. 将数据线性拟合后关系式如下:

$$\varphi_{\text{cwc}} = -A \lg C_0 + B \quad (3)$$

A 和 B 是两个常量, 其数值可通过图中求得. 根据这个关系式, 水含量对于胶束化程度的影响可以导

图5 木质素偶氮聚合物在THF-H₂O混合溶液中光散射强度与水含量(体积分数, φ)的关系

Fig.5 Scattering light intensity as a function of the water content (volume fraction, φ) in the THF-H₂O dispersion media

The initial concentration of AL-azo-COOEt in the media is $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Inset is the plot of the critical water content (φ_{cwc}) vs logarithm of the initial concentration (C_0) of AL-azo-COOEt in THF.

出, 式(3)可以改为:

$$C_0 = \exp[2.303(B - \varphi_{\text{CWC}})/A] \quad (4)$$

临界水含量时的聚合物浓度本质上表示胶束形成的临界浓度, 可以用未交联分子的浓度 C_{unass} 表示, C_{unass} 仍然服从公式(4), 因此可以得到公式(5)

$$C_{\text{unass}} = \exp[2.303(B - C_w)/A] \quad (5)$$

C_w 代表溶液中的水含量. 溶液中的交联聚合物链可以用 $(C_0 - C_{\text{unass}})/C_0$ 表示, 通过联用公式(4)和(5), 可以得到如下公式:

$$\begin{aligned} (C_0 - C_{\text{unass}})/C_0 &= 1 - \exp[2.303(\varphi_{\text{CWC}} - C_w)/A] \\ &= 1 - \exp(-2.303\Delta\varphi_{\text{CWC}}/A) \end{aligned} \quad (6)$$

$\Delta\varphi_{\text{CWC}}$ 表示超过临界水含量 φ_{CWC} 的水增量. 对于 AL-azo-COOEt, 超过临界水含量之后, 水的增量与聚合物聚集的百分比为 $(C_0 - C_{\text{unass}})/C_0 = 1 - \exp[-2.303\Delta\varphi_{\text{CWC}}/15.93]$. 当水增量是 30% (φ) (即水含量为 71% (φ)) 时, 聚集的聚合物链段百分比达到 99.5%, 可以认为胶束化过程完成. 水含量超过 71% (φ) 后, 大量的水加入胶束溶液来“冻结”这个胶体球结构, 如图 6 所示.

图 7a 显示的是 AL-azo-COOEt 胶体球的 TEM 图像, 通过 TEM 图像的连续 100 个球粒径的计算, 胶体球的平均半径是 74 nm. 通过垂直沉积技术, AL-azo-COOEt 胶体球可以制得排列规整的胶体球膜, 如图 7b 所示.

通过光散射这一有用的工具可以表征 AL-azo-COOEt 胶体球的结构. 胶体球“冻结”后, 除去 THF 得到胶体球水溶液. 胶体球的流体力学半径 (R_h) 分布可以通过动态光散射 (DLS) 表征, 重均分子量 ($M_{w,m}$) 和回转半径 (R_g) 通过静态光散射 (SLS) 测得. AL-azo-COOEt 分子的单分子量也可以通过 SLS 测量以计算胶体球的平均聚集数 $\langle N_{\text{agg}} \rangle$.

图6 水含量超过 φ_{CWC} 后聚集链段百分比与水增量 ($\Delta\varphi_{\text{CWC}}$) 的关系

Fig.6 Fraction of the associated chains as a function of the water increment beyond ($\Delta\varphi_{\text{CWC}}$)

表 2 列出了 AL-azo-COOEt 单分子和胶体球的光散射数据, 如图 7 所示胶体粒子是球形的, $\langle R_g \rangle / \langle R_h \rangle$ 数据通过计算也在 0.75–0.783, 证明了胶体球是实心球. 胶体球的流体力学半径 (R_h), 为 104.2 nm, 略大于 TEM 观察的胶体球半径为 74 nm, 很大程度上是 TEM 制样过程中干燥造成的胶体球收缩, 而在光散射测试时溶液中的胶体球处在一个较疏松的状态. 平均聚集数 $\langle N_{\text{agg}} \rangle$ 是 330, 在这里 $\langle N_{\text{agg}} \rangle = M_{w,p}/M_{w,m}$.

3.3 胶体球形成机理

一般而言, 范德华力、氢键、 π - π 作用等都可以对胶束的形成有促进作用. 碱木素由于含较多羟基, 会具有很强的分子间氢键, 但碱木素却不能形成胶束,²² 故以碱木素为原料合成且保留其中的酚羟基的 AL-azo-COOEt 能形成胶束的主要驱动力并非范德华力和氢键. 由此推测, 除范德华力外, π - π 作用对促进 AL-azo-COOEt 分子聚集形成胶束有重要作用. 对比 AL 和 AL-azo-COOEt 的 FT-IR 光谱 (图 4) 能够证明这一观点. 碱木素在 1514 cm^{-1} 处的吸收峰为木质素中芳香环的特征吸收峰, 而在 AL-azo-COOEt 中这个峰位置向低波数发生了移动, 偏移至 1509 cm^{-1} 处, 这表明 AL-azo-COOEt 中芳香环间的

表 2 木质素偶氮聚合物 AL-azo-COOEt 胶体球和聚合物单分子的动态光散射 (DLS) 和静态光散射 (SLS) 数据^a

Table 2 Dynamic light scattering (DLS) and static light scattering (SLS) experimental results for AL-azo-COOEt colloidal spheres and AL-azo-COOEt single molecules^a

$\langle R_g \rangle / \text{nm}$	$\langle R_h \rangle / \text{nm}$	$\langle R_g \rangle / \langle R_h \rangle$	$M_{w,m} / (\text{g} \cdot \text{mol}^{-1})$	$M_{w,p} / (\text{g} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\langle N_{\text{agg}} \rangle^b$
81.59	104.2 $\pm$ 4.0	0.75–0.783	1.415 $\times 10^4$	4.772 $\times 10^6$	330

^arelative error: $M_{w,p} \pm 5\%$; $\langle R_g \rangle$, $\pm 8\%$; ^b $\langle N_{\text{agg}} \rangle = M_{w,p}/M_{w,m}$; R_g : mean square radius of gyration; R_h : hydromechanic radius; $M_{w,m}$: weight-average molecular weight of single molecules; $M_{w,p}$: weight-average molecular weight of each particle; N_{agg} : average numbers of aggregated molecules in each colloid particle

图7 木质素偶氮聚合物胶体球的表面形貌的 TEM 图(a)和 SEM 图(b)

Fig.7 TEM (a) and SEM (b) images of surface morphology for the colloidal spheres obtained from the AL-azo-COOEt suspension

π - π 作用得到增强。 π - π 作用的增强能够使相邻的芳香环更容易通过 π - π 堆积形成共面结构,从而有利于AL-azo-COOEt分子间通过相互聚集形成胶束。

从分子结构的角度而言,疏水偶氮基团的引入主要是调节了碱木质素分子中疏水和亲水基团的比例。木质素偶氮聚合物结构中有较亲水性结构(酚羟基等)和较疏水性结构(偶氮基团等),这些亲水、疏水的结构(或基团)和木质素偶氮聚合物芳香核骨架连接。在选择性溶剂作用下能自组装形成内外亲疏水性不同的胶体球。AL-azo-COOEt单分子状态溶于THF中,向溶液中滴加水,AL-azo-COOEt分子开始聚集,随着混合溶剂中水含量增加,更多的分子聚集成粒径较大的球胶体,用光散射监测这个过程(图5)。同时较疏水的结构(如偶氮基团)更多地聚集在聚集体内部而亲水的结构更多地聚集在聚集体的外部,形成了较疏水的核和较亲水的壳组成的胶体球。以上结论从N元素的分布也可以得出。AL-azo-COOEt分子中的N元素绝大部分集中在-N=N-N-Ar-COOEt基团上,通过比较AL-azo-COOEt胶体球和胶体球表面的N元素分布,AL-azo-COOEt胶体球的N元素含量为3.56%,而通过XPS测试胶体球表面的N元素含量为2.37%,更多的N元素在胶体球内部,说明更多的疏水基团-N=N-N-Ar-COOEt在胶体球的形成过程中集中到了胶体球内部。根据以上结论推测胶体球形成过程及其结构如图8模型所示。

3.4 阿霉素加载及缓释实验

选用疏水性药物阿霉素DOX,验证木质素偶氮聚合物胶体球的加载及缓释性能。如图9所示,通过动态光散射拟合,加载DOX前后的AL-azo-COOEt胶体球的粒径发生变化,加载后流体动力学半径 R_h 为133.2 nm,加载前 R_h 为104.2 nm,加载DOX后胶体球粒径增大。插图图为加载DOX后胶体球透射电镜图。

图8 木质素偶氮聚合物AL-azo-COOEt在THF-H₂O混合溶剂中胶束化过程模型图

Fig.8 Schematic representation of the colloid formation process of the AL-azo-COOEt in THF-H₂O medium

The red sticks represents the azo groups, the circles represent the hydrophilic groups.

图9 木质素偶氮聚合物空白胶体球和包载阿霉素的胶体球的拟合流体动力学半径(R_h)分布图

Fig.9 Hydrodynamic radius (R_h) distribution of the AL-azo-COOEt colloidal spheres and that of colloidal spheres loaded Doxorubicin (DOX) based on CONTIN algorithm

The initial concentration of the AL-azo-COOEt in THF is $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, and the detector angle of the DLS measurement is 60° . Insert is TEM image of colloid spheres loaded DOX.

图10 不同pH值条件下阿霉素胶体球的体外释放曲线(温度均为25 °C)

Fig.10 *In vitro* release profile of DOX loaded micelles in buffered solution at different pH values at 25 °C

In vitro release operates at the same temperature (25 °C) but at different pH values, pH buffer solutions of pH=5.8, 8.0 both consist of $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$, pH buffer solution of pH=9.2 consists of $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$.

AL-azo-COOEt初始浓度 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,阿霉素初始浓度 $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,经计算包载量为15.1%。将其置于pH缓冲溶液中进行缓释实验。释放曲线如图10所示。包裹在胶体球内部的阿霉素DOX在pH缓冲条件下逐渐被释放,三种pH条件下均在约30 h后趋于稳定。随着缓冲溶液pH的升高,相同时间的累计释放量随pH值增大而增多。

为解释在不同pH缓冲溶液条件下DOX累计释放量的不同,动态光散射监测未包载的AL-azo-COOEt胶体球在不同pH条件下的变化,结果如图11所示。pH=10时木质素偶氮聚合物胶体球解聚成

图11 AL-azo-COOEt胶体球在不同pH条件下光散射强度随时间的变化

Fig.11 Scattered light intensity of the AL-azo-COOEt colloidal suspensions as a function of storing time at different pH values

NaOH was added to adjust the pH value of solution.

碎片而pH=8时胶体球碎片未解聚完全, 仍有较强的光散射强度. 原因是AL-azo-COOEt分子结构中亲水基团酚羟基在碱性条件下电离成可溶于水的酚盐, 且随着pH值升高, 电离程度越高,²³ AL-azo-COOEt溶解性也越来越好. 构成AL-azo-COOEt胶体球的分子亲水链段在较高pH条件下溶解, 胶体球结构逐渐瓦解, 包载在内部的DOX逐渐释放.

4 结论

通过偶合反应成功合成了木质素偶氮聚合物AL-azo-COOEt. AL-azo-COOEt在THF和水的混合溶剂中通过自组装形成了规整纳米胶体球. 当起始浓度为 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, AL-azo-COOEt的临界胶束水含量是43%(ϕ); 当水含量达到71%(ϕ)时, 其胶束化过程完成. 木质素偶氮聚合物是由一系列亲疏水能力不等的分子组成的混合物, 其形成的胶体球结构与传统两亲性嵌段聚合物胶体球不同. 木质素两亲聚合物胶体球内部是由较疏水的聚合物分子组成, 而胶体球外部是由较亲水的分子组成. 木质素偶氮聚合物在包载疏水性药物方面有较好的应用前景.

References

- (1) Wang, D.; Ye, G.; Wang, X. *Advanced Materials* **2011**, *23*, 1122. doi: 10.1002/adma.201003653
- (2) Xue, X.; Zhu, J.; Zhang, Z. *Macromolecules* **2010**, *43*, 2704. doi: 10.1021/ma902671m
- (3) Wu, L.; Tuo, X.; Cheng, H. *Macromolecules* **2001**, *34*, 8005. doi: 10.1021/ma002215z
- (4) Wang, L. X.; Tuo, X. L.; Xu, J.; Li, S. N.; Wang, X. G. *Acta Phys. -Chim. Sin.* **2008**, *24* (10), 1756. [王罗新, 庚新林, 许杰, 李松年, 王晓工. 物理化学学报, **2008**, *24* (10), 1756.] doi: 10.3866/PKU.WHXB20081004
- (5) Kumar, G. S. *Azo Functional Polymers: Functional Group Approach in Macromolecules*; CRC Press: Boca Raton, Florida, 1992; p 105.
- (6) Li, Y.; Deng, Y.; He, Y.; Tong, X.; Wang, X. *Langmuir* **2005**, *21* (14), 6567.
- (7) Deng, Y.; Li, Y.; Wang, X. *Macromolecules* **2006**, *39* (19), 6590.
- (8) Li, Y.; Deng, Y.; Tong, X.; Wang, X. *Macromolecules* **2006**, *39* (3), 1108.
- (9) Lee, T. S.; Kim, D. Y.; Jiang, X. L. *Macromolecular Chemistry and Physics* **1997**, *198*, 2279. doi: 10.1002/acp.1997.021980720
- (10) Che, P.; He, Y.; Wang, X. *Macromolecules* **2005**, *38*, 8657. doi: 10.1021/ma0511393
- (11) Myrvold, B. O. *Holzforchung* **2013**, *67*, 549.
- (12) Deng, Y. H.; Feng, X. J.; Zhou, M. S.; Qian, Y.; Yu, H. F.; Qiu, X. Q. *Biomacromolecules* **2008**, *12*, 1116.
- (13) Li, H.; Deng, Y. H.; Qiu, X. Q. *Acta Phys. -Chim. Sin.* **2015**, *31*, 128. [李浩, 邓永红, 邱学青. 物理化学学报, **2015**, *31*, 128.] doi: 10.3866/PKU.WHXB201411062
- (14) Ouyang, X.; Lin, Z.; Yang, D.; Qiu, X. *Holzforchung* **2011**, *65*, 697.
- (15) Gan, L.; Zhou, M.; Yang, D.; Qiu, X. *Iranian Polymer Journal* **2014**, *23*, 47. doi: 10.1007/s13726-013-0198-3
- (16) Li, Z. L.; Pang, Y. X.; Lou, H. M.; Qiu, X. Q. *Bioresources* **2009**, *4*, 589.
- (17) Ouyang, X. P.; Ke, L. X.; Qiu, X. Q.; Guo, Y. X.; Pang, Y. X. *Journal of Dispersion Science and Technology* **2009**, *30*, 1.
- (18) Qiu, X. Q.; Zhou, M. S.; Yang, D. J.; Lou, H. M.; Ouyang, X. P.; Pang, Y. X. *Fuel* **2007**, *86*, 1439.
- (19) Dence, C. W.; Lin, S. Y. *Methods in Lignin Chemistry*; Springer: Heidelberg, 2011; pp 433–478.
- (20) Gao, Z. G.; Lee, D. H.; Kim, D. I.; Bae, Y. H. *Journal of Drug Targeting* **2005**, *13* (7), 391. doi: 10.1080/10611860500376741
- (21) Lee, J.; Cho, E. C.; Cho, K. *Journal of Controlled Release* **2004**, *94* (2), 323.
- (22) Qian, Y.; Deng, Y.; Qiu, X.; Li, H.; Yang, D. *Green Chem.* **2014**, *16* (4), 2156.
- (23) Gellerstedt, G.; Lindfors, E. L. *Svensk Papperstidn* **1984**, *87* (15), 115.