

溶液相分离制备聚乳酸捆束或微球

刘瑞来^{1,2}, 丁晓红^{1,2*}, 赵璠云¹, 胡家朋¹, 穆寄林¹, 付兴平¹

(1. 武夷学院生态与资源工程学院, 武夷山 354300; 2. 福建师范大学化学与材料学院, 福州 350007)

摘要:将左旋聚乳酸(PLLA)/乙腈溶液淬火至亚稳态,使其发生液-液相分离,得到 PLLA 捆束或微球。通过控制淬火时间,使 PLLA 从捆束向微球转变。与此同时,随着淬火时间的增加 PLLA 从 α' -晶型转变为更加有序规整堆积的 α -晶型。淬火时间和淬火温度不变的条件下,低浓度有利于形成捆束形貌,而高浓度形成微球形貌。最后讨论了聚乳酸捆束或微球的形成机理。

关键词:左旋聚乳酸; 多孔微球; 相分离; 溶液结晶

引言

生物材料由于在组织工程领域具有广泛的应用前景,因此越来越受到人们的广泛关注^[1,2]。聚乳酸(PLLA)是组织工程领域中最常用的生物材料之一,在生物医学领域得到了广泛的应用,并已获美国食品药品监督管理局批准用于临床^[3,4]。具有多孔微球结构的聚乳酸因具有大比表面积和高孔隙度而受到人们的广泛关注^[5~7]。

可生物降解 PLLA 微球作为一种新的药物载体,在药物控制释放领域有着广泛应用。PLLA 微球载体可以控制药物释放速率,以达到长效缓释、增加药物靶向性、降低毒副作用等优点。例如,胡家朋等^[8]通过自乳化的方法制备了 PLLA 多孔微球,并研究了其作为载体对牛血清蛋白的缓释,结果表明 PLLA 多孔微球对牛血清蛋白的药载量为 0.355mg/mg,30h 内释放率达到 59.8%,是一种非常良好的药物缓释载体。目前 PLLA 多孔微球主要通过气体发泡、乳化、喷雾干燥、相分离、静电喷球等方法制备。特别是采用含致孔剂的水包油包水(W/O/W)双乳液溶剂蒸发法可以获得 PLLA 微球^[9,10]。然而,这种方法是一种相对复杂和耗时的技术,需要多个步骤来制备双乳液,并需要额外的处理步骤来去除致孔剂,这限制了多孔微球的工业化生产。此外,用于稳定乳剂的表面活性剂经常停留在获得的微球中,这可能导致类似过敏反应和致癌^[11]。因此简便、大规模地制备可降解 PLLA 多孔微球是生物医学的迫切需要。

本研究在不添加其他添加剂的情况下,从 PLLA 的乙腈溶液中采用溶液相分离方法制备 PLLA 多孔微球或捆束。研究了聚合物浓度、淬火温度和时间对 PLLA 多孔微球捆束形貌和晶体结构的影响。

1 实验方法

1.1 材料

左旋聚乳酸(PLLA),重均分子量为 1.0×10^5 ,购于深圳光华伟业有限公司;乙腈,分析纯,购于国药化学试剂有限公司;蒸馏水为二次蒸馏水。其余试剂为市售分析纯。

1.2 PLLA 捆束或多孔微球的制备

采用溶液相分离法制备聚乳酸捆束或微球。将一定量的 PLLA 加入乙腈(AN)中,60℃磁力搅拌加热 3h,得到透明溶液。然后取 8mL PLLA/AN 溶液倒入直径为 7.5cm 的玻璃培养皿中,快速放入低温

10.14028/j.cnki.1003-3726.2022.06.006

收稿:2021-04-28;修回:2021-08-08;

基金项目:国家自然科学基金(51406141),福建省自然科学基金(2018J05092,2019J01829,2019J01830,2018J01518),南平市基金(2019J06),资源化学产业科技创新联合资助项目(N2020Z012);

* 通讯联系人:丁晓红(1985-),女,博士,副教授,主要从事功能高分子材料研究。E-mail:dxh@wuyiu.edu.cn.

冰箱中淬火一定时间。淬火结束后快速拿出,将冰水加入培养皿中提取溶剂 AN,每 6h 换蒸馏水一次,连续换 8 次。得到的样品在 50℃ 的烘箱中干燥 24h,保存在干燥器中备用。

1.3 表征

采用日本电子 JEOL JSM-7500F 型扫描电子显微镜观察 PLLA 形貌,加速电压为 3kV,所有样品均经过喷金处理,喷金电流 40mA,时间 60s,微球的直径由扫描电镜自带软件 Smile View(version 2.0),通过测量 20 个样品,取平均值。

在氮气保护条件下,用差示扫描量热仪(DSC822e,Mettler-Toledo)测定 PLLA 的热性能,升温速率为 10℃/min,温度范围为 25~200℃,PLLA 结晶度(X_c)根据以下公式计算:

$$X_c = (\Delta H_m / \Delta H_m^0) \times 100\%$$

(1)

式中 ΔH_m 和 ΔH_m^0 分别代表 PLLA 样品的焓变和 PLLA 100%结晶的焓变,其中 ΔH_m^0 的取值为 93.6J/g^[12]。

采用 X-射线粉末衍射仪(X'per MPD pro, Philips, Netherlands)对晶体结构进行了表征,测试条件如下:Cu 靶 K_α 辐射($\lambda=1.542\text{\AA}$) 2θ 角 5°~40°范围内,加速电压为 40kV,发射电流为 30mA。

2 结果与讨论

2.1 PLLA 形貌

图 1 为浓度 7wt% PLLA/AN 溶液,−30℃ 淬火不同时间对 PLLA 形貌的影响。淬火时间 50min,得到了一些带有封闭孔洞的薄膜(图 1a)。当淬火时间增加到 70min 时,薄膜表面布满了平均直径约为

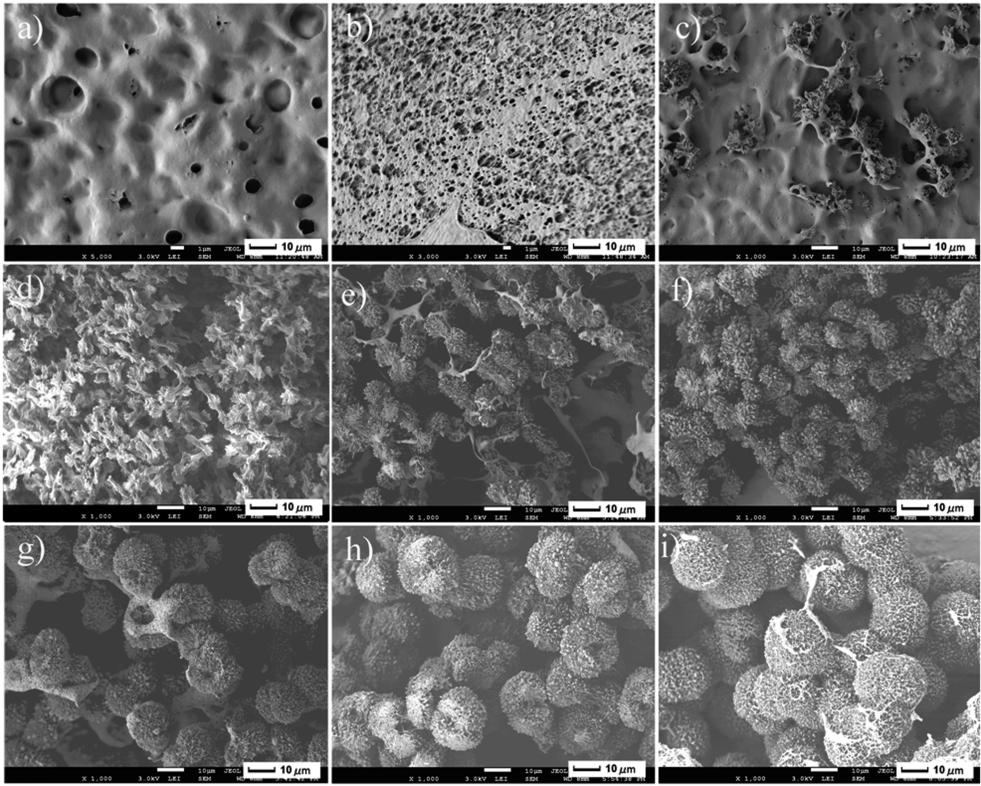


图 1 PLLA 捆束或微球扫描电镜图,聚合物浓度 7wt%,在 −30℃ 淬火不同时间:(a) 50min, (b) 70min, (c) 90min, (d) 120min, (e) 140min, (f) 160min, (g) 180min, (h) 210min, (i) 240min

Figure 1 SEM images of PLLA bundles or microspheres prepared from 7wt% PLLA/AN solution quenched at −30℃ for different time:(a) 50min, (b) 70min, (c) 90min, (d) 120min, (e) 140min, (f) 160min, (g) 180min, (h) 210min, (i) 240min

1 μm 的孔洞(图 1b)。90min 时,发现了少量的捆束状 PLLA。这些层状束被大块聚合物所覆盖(图 1c)。120min 时,捆束完全形成(图 1d)。随着淬火时间的进一步延长,捆束长成微球(图 1e-1i),PLLA 的结晶机理在 3.6 节中详细讨论。

图 2 为 PLLA 捆束或微球放大图。在 120min 时(图 2a),形成了长度为 10.84 μm 的捆束结构。140min 时,捆束的长度增加至 13.40 μm ,形成束的纤维变得相对疏松,纤维直径约 230nm(图 2b)。180min 时,纤维束呈放射状生长为微球,微球直径增大到 19.00 μm ,纤维变得更加致密,但纤维直径不变(图 2c)。240min 后,形成了由径向纤维组成的规整微球(图 2d)。与捆束的纤维直径相比,微球的纤维直径并无发生变化。

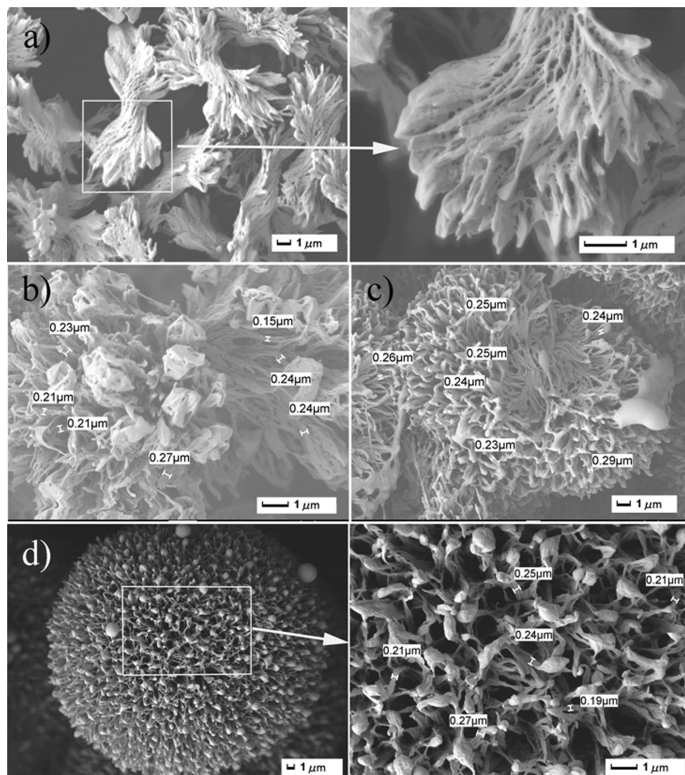


图 2 PLLA 捆束或微球扫描电镜放大图,聚合物浓度 7wt%,淬火温度 -30°C , (a) 120min, (b) 140min, (c) 180min, (d) 240min

Figure 2 High magnification of SEM images of PLLA bundles or microsphere prepared from 7wt% PLLA/AN quenching at -30°C for different time: (a) 120min, (b) 140min, (c) 180min, (d) 240min

2.2 XRD 表征

图 3 为 7wt% PLLA/AN 溶液在 -30°C 下淬火不同时间得到的 PLLA 的 X 射线粉末衍射图谱。在 10min 时,在 $2\theta=16.5^{\circ}$ 和 18.8° 处出现了两个较低强度的衍射峰,分别对应于 PLLA 的(200)和(203)晶面。随着淬火时间从 50min 增加到 90min,衍射峰位置不变,但强度逐渐增强。当淬火时间进一步增加到 120min 时,衍射峰变得更尖锐,且(200)和(203)晶面衍射峰分别红移至 16.7° 和 19.1° 。在 $2\theta=14.8^{\circ}$ 和 22.4° 处发现了两个相对较弱的衍射峰,对应为(101)和(105)晶面。180min 和 240min 时,衍射峰的位置和强度基本不变。文献报道^[13,14]称 PLLA 熔体或溶液生成正交的 α -晶型,包含两个反平行的分子链。晶胞参数 $a=1.07\text{nm}$, $b=0.645\text{nm}$, $c=2.78\text{nm}$, 每个晶胞含有 20 个乳酸单位。Zhang 等^[15,16]研究发现,高温下等温结晶生成了规整致密的正交 α -晶型,而低温结晶生成了 10_3 螺旋分子链相对疏松的 α' 晶型。 α' -晶型(200)和(203)晶面对应的衍射峰位置分别为 $2\theta=16.4^{\circ}$ 和 18.7° , 而 α -晶型(200)和(203)晶面衍射峰对应的位置分别为 $2\theta=16.7^{\circ}$ 和 19.1° 。Yasuniwa 等^[17]在 PLLA 熔融等温结晶研究中也发

现了类似的现象。Du 等^[18]利用热致相分离研究 PLLA 溶液结晶,发现在淬火温度为 15℃ 时形成 α -晶型,而在淬火温度为 -24℃ 时形成 α' -晶型。在 $\leq 90\text{min}$ 淬火时间内,主要产物为 α' 晶体形态,而在 $\geq 120\text{min}$ 的淬火时间内,晶型转变为更加稳定的 α -晶体,且 10_3 螺旋分子链更加致密。有报道称, α' -晶型 PLLA 可以通过高温淬火转化为 α -晶型 PLLA^[19,20]。本研究中晶型转变并不需要更高的淬火温度,只需延长淬火时间,以保证有足够的时间使分子链更紧密的堆积,形成更加完整的晶型。

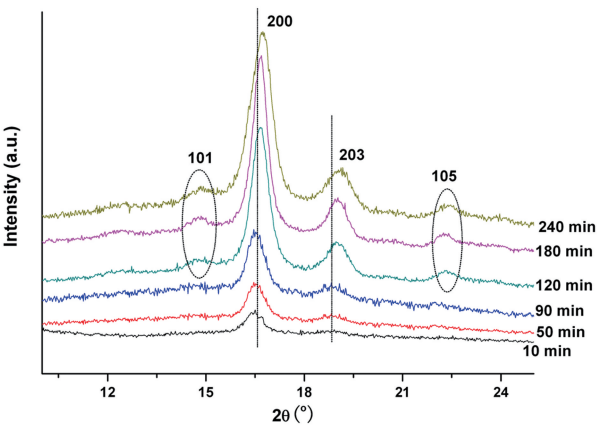


图 3 不同淬火时间得到的 PLLA 捆束或微球 XRD 图

Figure 3 XRD patterns of PLLA microsphere obtained from different quenching time

2.3 DSC 表征

图 4 为 7wt% PLLA/AN 溶液 -30℃ 淬火不同时间得到 PLLA 的 DSC 图。表 1 列出了不同淬火时间得到 PLLA 对应的熔融温度和结晶度。从 DSC 图可知,PLLA 在约 154℃ 附近有一个吸热峰,对应为 PLLA 晶区熔融峰。随着淬火时间从 10min 增加到 240min,熔融吸热峰强度增加,且熔融温度从 154.1℃ 增加到 157.6℃。当淬火时间从 10min 增加到 90min 时,结晶度也从 17.58% 增加到 22.27%,而当淬火时间增加到 120min 时,结晶度突然增加到 32.13%。从图 3 的 XRD 曲线可知,淬火时间为 90min 衍射峰较弱,淬火时间为 120min 衍射峰大大增强。主要由于淬火时间为 120min 生成了分子链更加致密的 α 晶型。因此淬火时间为 120min,结晶度大大提高。淬火时间 90min 形成了少量捆束(图 1c),而 120min 形成了完全的捆束形态,因此结晶度急剧增加。

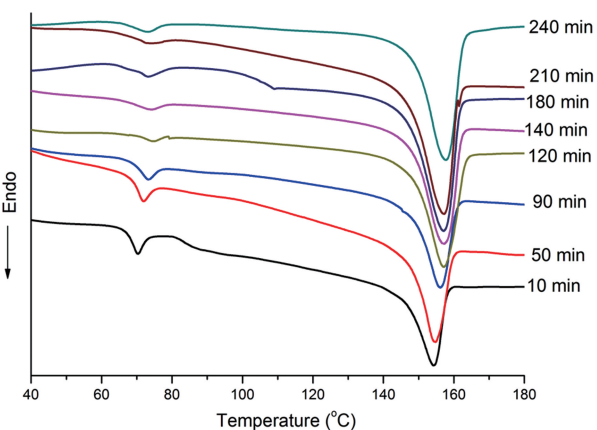


图 4 不同淬火时间得到的 PLLA 捆束或微球的 DSC 曲线

Figure 4 DSC thermographs of PLLA bundles or microsphere obtained from different quenching time

表 1 PLLA 微球或捆束的物理参数

Table 1 Physics parameters of PLLA bundles or microsphere

t_q/min	10	50	90	120	140	180	210	240
$T_m/^\circ\text{C}$	154.1	154.4	155.6	156.8	157.2	157.2	157.2	157.6
$X_c/\%$	17.58	19.75	22.27	32.13	33.77	34.82	36.01	36.61

淬火温度从 10min 增加至 240min,晶区熔融温度从 154.1℃增加到 157.6℃,表明随着淬火时间的增加生成的分子链堆积更加紧密,因此熔融温度升高。除了在 154℃附近晶区熔融吸热峰外,在约 70℃附近观察到一个相对较低的吸热峰。Pan 等^[21]在研究 PLLA 老化中也发现了类似的吸热峰,他认为该吸热峰为老化过程中部分有序区域的熔融。然而,Pyda 等^[22]指出,这个吸热峰为玻璃化转变区域的自由体积的恢复。

2.4 浓度影响

图 5 为聚合物浓度对 PLLA 形貌的影响。浓度为 3wt%得到长度为 11.02μm 的小捆束(图 5a),且捆束未拉伸展开,同时也观察到大量 PLLA 块状体。当浓度为 5wt%时,捆束的长度增加至 12.86μm,捆束充分展开形成花椰菜状(图 5b)。浓度为 7wt%时,捆束进一步呈三维径向增长,部分捆束趋向于包裹为球状(图 5c)。当浓度为 9wt%和 12wt%时形成均匀的微球(图 5d 和 5e)。图 5f 为捆束长度或微球直径随浓度的变化。随着浓度的增加,捆束长度或微球直径逐渐增大。当浓度达到 9wt%时,微球直径达到最大值。浓度为 12wt%时,微球直径略有减小。

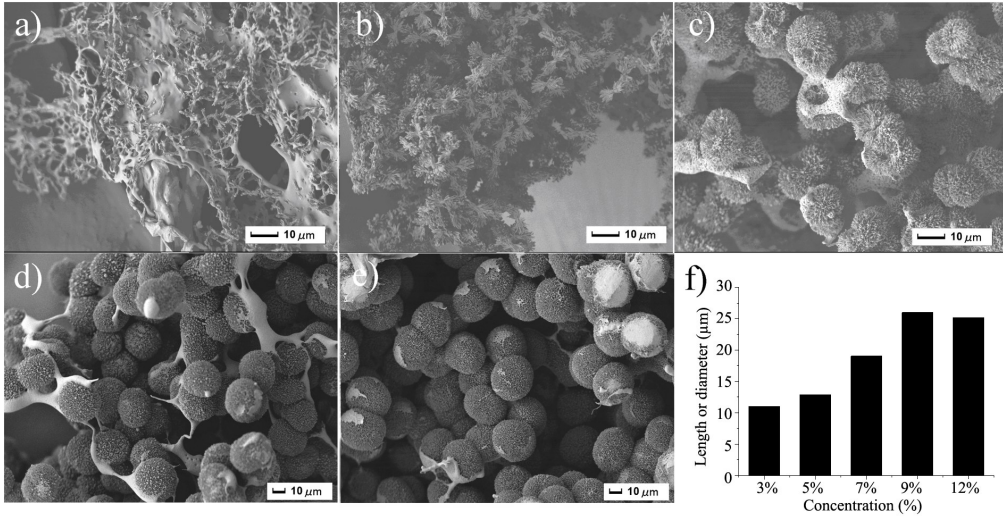


图 5 PLLA 捆束或微球扫描电镜图,淬火温度 30℃,淬火时间 180min,聚合物浓度(a) 3wt%, (b) 5wt%, (c) 7wt%, (d) 9wt%, (e) 12wt%, (f) 聚合物浓度与捆束长度或微球直径关系图

Figure 5 SEM images of PLLA microsphere prepared at T_q of -30°C for 180min, with different concentrations of the solutions: (a) 3wt%, (b) 5wt%, (c) 7wt%, (d) 9wt%, (e) 12wt%, (f) the relationship between concentration and bundles length or microsphere diameter

2.5 淬火温度影响

图 6 为不同淬火温度形成 PLLA 捆束或微球扫描电镜图。从图中可知,聚合物浓度为 7wt%、淬火时间为 180min 时,淬火温度对 PLLA 形貌无显著影响。然而,淬火温度对捆束长度影响如图 6f 所示。在淬火温度为 -5°C 时,捆束的长度为 15.12μm。当淬火温度降低到 -30°C 时,捆束的长度增大到 18.00μm。当淬火温度进一步降低到 -40°C 时,捆束的长度增大到 18.54μm。当淬火温度为 0°C 时,无论淬火时间多少,都无法形成捆束。当淬火温度为 -20 、 -30 和 -40°C 时,发现捆束对应的淬火时间为

90min,而淬火温度为 -5 和 -10°C 时发现捆束对应的时间为160和120min。 $7\text{wt}\%$ PLLA/AN溶液的凝胶点温度为 11°C ,淬火温度为 -5 、 -10 、 -20 、 -30 、 -40°C 时对应的淬火深度分别为16、21、31、41、 51°C 。因此,淬火温度越低,淬火深度越高。当淬火温度(过冷)较高时,过冷程度不够,产生的热力学驱动力不足以引发成核-生长相分离,从而产生富聚合物相和贫聚合物相^[23]。因此,需要较低的淬火温度和较长的淬火时间来形成捆束。

2.6 PLLA 结晶机理

图 7 为 PLLA/AN 溶液通过溶液相分离制备 PLLA 捆束或微球的生长机理图。首先均相的 PLLA/

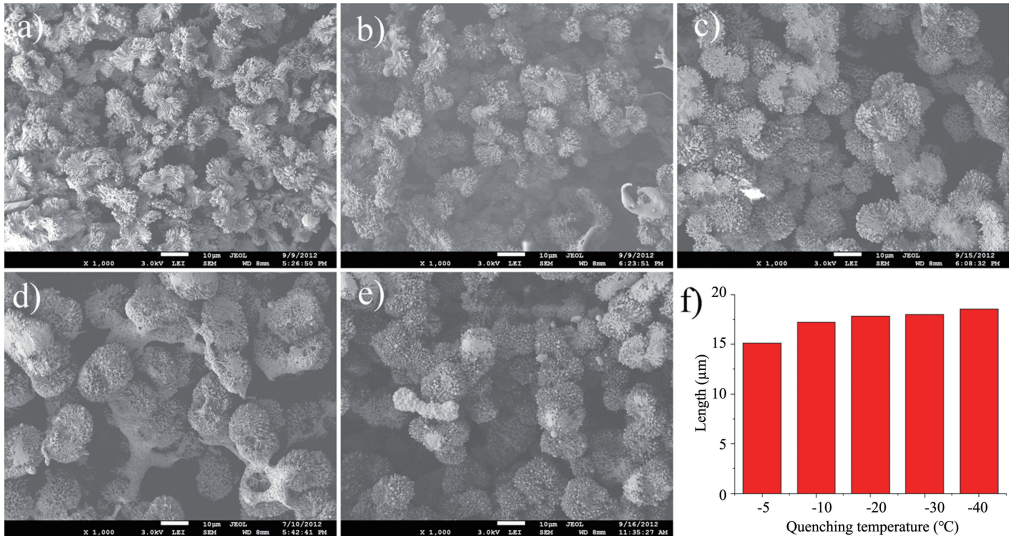


图 6 PLLA 捆束扫描电镜图,聚合物浓度 $7\text{wt}\%$,淬火时间 180min,淬火温度(a) -5°C , (b) -10°C , (c) -20°C , (d) -30°C , (e) -40°C , 标尺为 $10\mu\text{m}$ (f) 聚合物浓度与捆束长度关系图

Figure 6 SEM images of PLLA bundles prepared from $7\text{wt}\%$ PLLA/AN solution quenched for 180min at: (a) -5°C , (b) -10°C , (c) -20°C , (d) -30°C , (e) -40°C , (f) the relationship between concentration and length of bundles

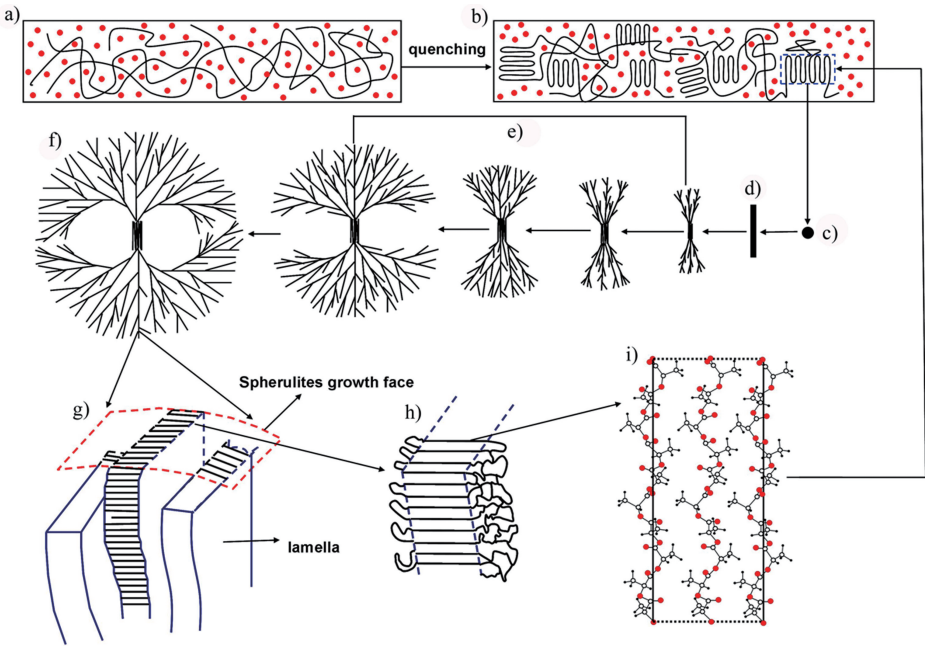


图 7 溶液相分离法制备 PLLA 捆束或微球(球晶)生长机理图

Figure 7 The growth mechanism of PLLA bundles and microspheres (spherulites) prepared from PLLA/AN solutions by solvent phase separation

AN 溶液(图 7(a))淬火达到凝胶温度以下时,为了维持溶液的热力学平衡,PLLA 分子链克服位垒,在聚合物富集相内分子链段的有序排列,具有相似构象取向排列的 PLLA 分子链聚集形成晶核(图 7b, 7c),捆束或微球(球晶)开始在晶核上生长,接着生成了丝状纤维即晶片(图 7d),晶片继续生长并在结晶缺陷点或生长面上分叉,为了避免空间拥挤,晶片的生长方向总是与微球或捆束(球晶)的径向方向相倾斜,即晶片总是扭曲生长。一个原始晶核生长形成一束晶片,即捆束(图 7e)。这一束晶片进一步生长,并分叉生长出更多的晶片,如此反复,最终形成以晶核为中心,三维向外发散的球形晶体,即微球(球晶)(图 7f)。从图 7f 和 7g 可知微球(球晶)是由中心向外辐射生长得纳米纤维组成,而纳米纤维是由扭曲生长得晶片组成(图 7g),而一个片晶是由三条 10_7 螺旋构象分子链折叠而成(图 7i)。从图 1 可知,随着淬火时间的增加,PLLA 由小捆束到大捆束(菜花状)到微球(球晶)的转变。

3 结 论

以 PLLA/AN 溶液为原料,采用溶液相分离成功制备了聚乳酸捆束或微球。聚合物浓度、淬火温度和淬火时间等因素对 PLLA 形貌、尺寸和结构均有影响。聚合物浓度为 7wt%,淬火温度为 -30°C ,在 90min 内均未发现捆束结构。然而淬火时间增加至 120~180min,得到了直径约 230nm 纤维组成的捆束。随着时间的增加,捆束逐渐长大。当淬火时间大于 210min 时,形成规整的聚乳酸微球。淬火温度对聚乳酸捆束的形貌并无太显著影响。PLLA 捆束或微球的形成是 PLLA/AN 溶液相分离过程中 PLLA 结晶所致。

参 考 文 献:

- [1] Tao F, Cheng Y, Shi X, Zheng H, Du Y, Xiang W, Deng H. Carbohydr Polym, 2020, 230: 115658~115663.
- [2] Miszuk J M, Xu T, Yao Q, Fang F, Childs J D, Hong Z, Tao P, Fong H, Sun H. Appl Mater Today, 2018, 10: 194~202.
- [3] Muniyandi P, Palaninathan V, Veerananarayanan S, Ukai T, Maekawa T, Hanajiri T, Mohamed M S. Polymers, 2020, 12 (2): 451~460.
- [4] Guidotti G, Soccio M, Gazzano M, Fusaro L, Boccafroschi F, Munari A, Lotti N. Polymer, 2021, 213 (4): 123336.
- [5] Zeng Y, Li X, Liu X, Yang Y, Zhou Z, Fan J, Jiang H. ACS Omega, 2021, 6 (4): 3372~3383.
- [6] Shi X D, Sun P J, Gan Z H. Chinese J Polym Sci, 2018, 36 (6): 712~719.
- [7] Shi X, Cui L, Sun H, Jiang N, Heng L, Zhuang X, Gan Z, Chen X. Polym Degrad Stabil, 2019, 161: 319~325.
- [8] 胡家朋, 刘瑞来, 饶瑞晔, 赵璿云, 吴代赦. 高分子材料科学与工程, 2016, 32 (5): 144~150.
- [9] Mamat N, Jaafar M, Hamid Z A A. J Phys Sci, 2019, 30 (1): 109~124.
- [10] Nie T, He M, Ge M, Xu J, Ma H. J Appl Polym Sci, 2017, 134 (22): 1~10.
- [11] Hu Y, Zou S, Yang Y, Tong Z, Wang C. Macromol Chem Phys, 2015, 216 (7): 714~720.
- [12] He L M, Zhang Y Q, X Z. Polymer, 2009, 50 (16): 4128~4138.
- [13] De Santis P, Kovacs A J. Biopolymers, 1968, 6 (3): 299~306.
- [14] Hoogsteen W, Postema A, Pennings A, Ten Brinke G, Zugenmaier P. Macromolecules, 1990, 23 (2): 634~642.
- [15] Zhang J, Duan Y, Sato H, Tsuji H, Noda I, Yan S, Ozaki Y. Macromolecules, 2005, 38(19): 8012~8021.
- [16] Zhang J, Tashiro K, Tsuji H, Domb A J. Macromolecules, 2008, 41 (4): 1352~1357.
- [17] Yasuniwa M, Tsubakihara S, Iura K, Ono Y, Dan Y, Takahashi K. Polymer, 2006, 47(21): 7554~7563.
- [18] Shao J, Chen C, Wang Y, Chen X, Du C. Appl Surf Sci, 2012, 258(17): 6665~6671.
- [19] Pan P, Zhu B, Kai W, Dong T, Inoue Y. Macromolecules, 2008, 41(12): 4296~4304.
- [20] Di Lorenzo M L, Cocca M, Malinconico M. Thermochim Acta, 2011, 522 (1/2): 110~117.
- [21] Pan P, Zhu B, Dong T, Yazawa K, Shimizu T, Tansho M, Inoue Y. J Chem Phys, 2008, 129: 184902.
- [22] Pyda M, Wunderlich B. Macromolecules, 2005, 38 (25): 10472~10479.
- [23] Hua F J, Nam J D, Lee D S. Macromol Rapid Commun, 2001, 22 (13): 1053~1057.

Formation of Poly(L-lactic acid) Bundles or Microspheres by
Solution Phase Separation

LIU Rui-lai^{1,2}, DING Xiao-hong^{1,2*}, ZHAO Jin-yun¹, HU Jia-peng¹, MU Ji-lin¹, FU Xing-ping¹
(1, College of Ecological and Resources Engineering, Wuyi University, Wuyishan 354300, China;
2, College of Chemistry and Materials Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China)

Abstract: To prepare poly(L-lactic acid) (PLLA) porous microsphere, the thermally induced phase separation (TIPS) method was applied to quench PLLA/acetonitrile solutions to the metastable state, resulting in liquid-liquid phase separation of the polymer solutions. By controlling the quenching time, the porous microsphere grew from lamellar bundles to microsphere. Meanwhile, with increasing quenching time, the PLLA microsphere transformed from α' - to more stable and compact-packing α -crystal. When the quenching time and temperature were kept constant, solutions with low PLLA concentration were favorable for the formation of bundles, whereas solutions with high PLLA concentration contributed to the formation of microsphere. At last, the mechanism for the formation of PLLA bundles or microspheres was discussed.

Key words: Poly(L-lactic acid); Porous microspheres; Solution crystallization; Phase separation