

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl⁶



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 95192454.0

C08G 81/02
 C08F290/04 A61K 47/32
 A61K 9/16 A61K 9/20
 A61K 7/48 A61K 7/06
 A61L 15/60 A61L 15/24
 C08F265/02 C08F265/10

[43]公开日 1997年3月12日

[11] 公开号 CN 1145080A

[22]申请日 95.3.3

[30]优先权

[32]94.3.4 [33]US[31]08/205,712

[86]国际申请 PCT/US95/02638 95.3.3

[87]国际公布 WO95/24430 英 95.9.14

[85]进入国家阶段日期 96.10.7

[71]申请人 华盛顿大学

地址 美国华盛顿

共同申请人 阿尔康实验室公司

[72]发明人 A·S·霍夫曼 G·陈

B·M·约克

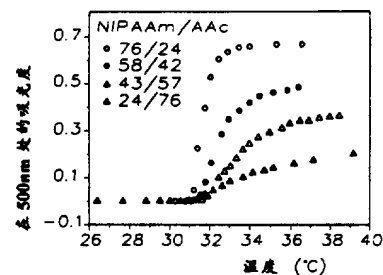
[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标
 事务所
 代理人 全青

权利要求书 5 页 说明书 45 页 附图页数 12 页

[54]发明名称 嵌段和接枝共聚物及其有关的方法

[57]摘要

本发明公开了在一个实施方案中既含有温度敏感性聚合物组分又含有 pH 敏感性聚合物组分的嵌段和接枝共聚物以及此类共聚物在将药物局部输送至治疗部位中的应用。该嵌段和接枝共聚物可以与一种或多种药物物理混合，形成共聚物-药物混合物。该混合物可以以悬浮于药用载体中的固体颗粒或者以接触治疗部位时胶凝的液体形式用于治疗。pH 敏感性聚合物组分接触治疗部位时水合并溶胀，从而导致药物从混合物中释放出来，而且，这种水合和溶胀导致 pH 敏感性聚合物组分粘附到治疗部位的组织上，从而延长接触时间。温度敏感性聚合物组分阻止混合物的水合和溶胀，从而使得药物持续地控制释放于治疗部位。在本发明的另一实施方案中公开了具有广泛工业应用性的嵌段和接枝共聚物及其水凝胶。



(BJ)第 1456 号

权 利 要 求 书

1.一种接枝共聚物，包含一种骨架 pH 敏感性聚合物组分和一种接枝于其上的侧链温度敏感性聚合物组分，其中该接枝共聚物的下部临界会溶温度在 pH6.0 - 8.0 下测得为 20 - 40 ℃。

2.一种接枝共聚物，包含一种骨架温度敏感性聚合物组分和一种接枝于其上的侧链 pH 敏感性聚合物组分，其中该接枝共聚物的下部临界会溶温度在 pH6.0 - 8.0 下测得为 20 - 40 ℃。

3.一种嵌段共聚物，包含一种 pH 敏感性聚合物组分和一种与其相连的温度敏感性聚合物组分，其中该嵌段共聚物的下部临界会溶温度在 pH6.0 - 8.0 下测得为 20 - 40 ℃。

4.根据权利要求 1、2 或 3 的任一项的共聚物，其中下部临界会溶温度在 pH7.0 - 7.8 下测定。

5.根据权利要求 1、2 或 3 的任一项的共聚物，其中下部临界会溶温度为 26 - 34 ℃。

6.根据权利要求 1、2 或 3 的任一项的共聚物，其中下部临界会溶温度为 28 - 32 ℃。

7.根据权利要求 1、2 或 3 的任一项的共聚物，其中 pH 敏感性聚合物组分包含一种含羧酸的聚合物。

8.根据权利要求 7 的共聚物，其中含羧酸的聚合物由可聚合的羧酸得到，该羧酸选自丙烯酸、甲基丙烯酸、乙基丙烯酸、 β -甲基丙烯酸、顺式 α -甲基丙烯酸、反式 α -甲基巴豆酸、 α -丁基巴豆酸、 α -苯基丙烯酸、 α -苄基丙烯酸、 α -环己基丙烯酸、 β -苯基丙烯酸、香豆酸和繖形酸。

9.根据权利要求 7 或 8 的共聚物，其中含羧酸聚合物为羧甲基纤维素。

10.根据权利要求 1、2 或 3 的任一项的共聚物，其中 pH 敏感性聚合物组分基本由均聚物组成。

11.根据权利要求 1、2 或 3 的任一项的共聚物，其中 pH 敏感性聚合物组分为均聚物。

12.根据权利要求 11 的共聚物，其中均聚物为聚丙烯酸。

13. 根据权利要求 1，2 或 3 的任一项的共聚物，其中 pH 敏感性聚合物组分为无规或嵌段共聚物。

14. 根据权利要求 1，2 或 3 的任一项的共聚物，其中温度敏感性聚合物组分为均聚物。

15.根据权利要求 14 的共聚物，其中均聚物为聚（N - 异丙基丙烯酰胺）。

16.根据权利要求 1、2 或 3 的任一项的共聚物，其中温度敏感性聚合物组分为无规或嵌段共聚物。

17.根据权利要求 16 的共聚物，其中温度敏感性聚合物组分为 N - 异丙基丙烯酰胺和甲基丙烯酸丁酯的无规共聚物。

18.根据权利要求 16 的共聚物，其中温度敏感性聚合物组分为环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物。

19.根据权利要求 1、2 或 3 的任一项的共聚物，其中 pH 敏感性聚合物组分为均聚物且温度敏感性聚合物组分为无规或嵌段共聚物。

20.根据权利要求 1、2 或 3 的任一项的共聚物，其中 pH 敏感性聚合物组分轻度交联。

21.根据权利要求 1、2 或 3 的任一项的共聚物，其中温度敏感性聚合物组分轻度交联。

22.一种接枝共聚物 - 药物混合物，包含一种药物和一种接枝共聚物，其中该接枝共聚物包含一种骨架 pH 敏感性聚合物组分和一种接枝于其上的侧链温度敏感性聚合物组分。

23. 一种接枝共聚物 - 药物混合物，包含一种药物和一种接枝共聚物，其中该接枝共聚物包含一种骨架温度敏感性聚合物组分和一种接枝于其上的侧链 pH 敏感性聚合物组分。

24. 一种嵌段共聚物 - 药物混合物，包含一种药物和一种嵌段共聚物，其中该嵌段共聚物包含一种 pH 敏感性聚合物组分和一种与其相连的温度敏感性聚合物组分。

25.根据权利要求 22、23 或 24 的任一项的共聚物 - 药物混合物，其中共聚物在 pH4.0 - 8.0 测得的下部临界会溶温度为 20 - 40 ℃。

26. 根据权利要求 22、23 或 24 的任一项的共聚物-药物混合物，其中混合物为固体颗粒形式。

27. 根据权利要求 26 的共聚物-药物混合物，其中固体颗粒悬浮于药用载体中。

28. 根据权利要求 22、23 或 24 的任一项的共聚物-药物混合物，其中该混合物配制成液体、凝胶或软膏。

29. 根据权利要求 28 的共聚物-药物混合物，其中该混合物配制成给药于治疗部位时胶凝的液体。

30. 一种将药物施用到治疗部位的方法，包括将权利要求 22、23 或 24 的任一项的共聚物-药物混合物施用到治疗部位。

31. 根据权利要求 30 的方法，其中将共聚物-药物混合物以固体颗粒形式应用。

32. 根据权利要求 31 的方法，其中固体颗粒以在药用载体中的悬浮体应用。

33. 根据权利要求 30 的方法，其中混合物以液体、凝胶或软膏应用。

34. 根据权利要求 30 的方法，其中混合物以给药于治疗部位时胶凝的液体应用。

35. 一种接枝共聚物水凝胶，包含第一骨架环境敏感性聚合物组分和接枝于其上的第二侧链环境敏感性聚合物组分，其中第一和第二聚合物组分各自响应不同起动信号。

36. 一种嵌段共聚物水凝胶，包含第一环境敏感性聚合物组分和与其相连的第二环境敏感性聚合物组分，其中第一和第二聚合物组分各自响应不同起动信号。

37. 根据权利要求 35 或 36 的任一项的水凝胶，包含至少一种响应热起动信号的聚合物组分和至少一种响应 pH 起动信号的聚合物组分。

38. 根据权利要求 35 或 36 的任一项的水凝胶，包含至少两种响应热起动信号且具有不同转变温度的聚合物组分。

39. 根据权利要求 35 或 36 的任一项的水凝胶，包含至少两种响应 pH 起动信号且具有不同 pH 转变范围的聚合物组分。

40. 根据权利要求 1、2、3、22、23、24、35 或 36 的任一项

的共聚物或水凝胶，还包含一种溶剂。

41.根据权利要求 40 的共聚物或水凝胶，其中溶剂包含至少 10wt% 的非水液体。

42.根据权利要求 40 的共聚物或水凝胶，其中溶剂包含至少 99wt% 的非水液体。

43.一种吸收溶剂或溶液的方法，包括将权利要求 35 或 36 任一项的水凝胶暴露于该溶剂或溶液，并使水凝胶溶胀。

44.根据权利要求 43 的方法，其中溶剂或溶液包含一种选自尿、粪便、水、血、盐水和离子水溶液的物质。

45.根据权利要求 43 的方法，其中该水凝胶的溶胀比不低于 15。

46.一种尿布，其中超吸收剂组分包含权利要求 35 或 36 任一项的水凝胶。

47.根据权利要求 1、2、3、22、23、24、35 或 36 任一项的共聚物或水凝胶，其中该共聚物或水凝胶给治疗部位提供水分。

48.根据权利要求 1、2、3、22、23、24、35 或 36 任一项的共聚物或水凝胶，其中该共聚物或水凝胶保持治疗部位的水分。

49.根据权利要求 1、2、3、22、23、24、35 或 36 任一项的共聚物或水凝胶，其中该共聚物或水凝胶提供与治疗部位的水合。

50.根据权利要求 1、2、3、22、23、24、35 或 36 任一项的共聚物或水凝胶，其中至少一种聚合物组分包含一种生物粘附剂。

51.一种化妆品组合物，一种伤口绷带，一种包含一种药物的药用组合物，一种离子电渗疗装置，一种监测电极，一种粘合剂，一种乳剂，一种泡沫，一种栓剂，一种片剂，一种输送凝胶，一种用于经鼻、阴道、口、眼、直肠、皮肤或耳输送的装置，或一种轻泻剂，包含权利要求 1，2，3，22，23，24，35 或 36 任一项的共聚物或水凝胶。

52.一种根据权利要求 51 的用于阴道输送药物的装置，其中药物选自杀精子剂、杀卵剂、杀菌剂、杀真菌剂、前列腺素和甾族或非甾族授精剂。

53.一种根据权利要求 51 的用于药物输送的装置，其中药物包含在医学惰性基质中，该基质为具有至少一个表面部分的三维结构形式。

54.根据权利要求 53 的装置，其中该三维结构为囊形且具有约 1 毫米到约 5000 微米的最大尺寸。

55.一种控制反应化学、分离溶液组分、分离离子样品或控制化学机械功的体系，包含权利要求 1，2，3，22，23，24，35 或 36 的任一项的共聚物或水凝胶。

56.一种控制粘度或流动的体系，包含权利要求 35 或 36 任一项的水凝胶。

57.根据权利要求 1，2，3，22，23，24，35 或 36 任一项的共聚物或水凝胶，与一种选自均聚物、无规共聚物、嵌段共聚物和接枝共聚物的聚合物混合。

58.根据权利要求 57 的共聚物或水凝胶，其中聚合物为丙烯酸均聚物。

59.根据权利要求 57 的共聚物或水凝胶，其中聚合物为环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物。

60.一种药物配剂，用于将药物施用于治疗部位，包含权利要求 22、23 或 24 的任一项的共聚物-药物混合物，其中该配剂为给药于治疗部位时胶凝的液体形式。

说 明 书

嵌段和接枝共聚物及与其有关的方法

技术领域

本发明概括涉及嵌段和接枝共聚物，更具体地说涉及能有效地输送药物的嵌段和接枝共聚物，包括用于通过局部施用来输送和控制释放药物的共聚物-药物混合物。

发明背景

药物科学的目的是向患者有效地输送治疗药物。有目的地输送药物如将治疗药物局部施用于作用部位比全身输送药物具有许多优点。典型地，当通过局部给药而将治疗药物局部输送至作用部位时，与全身输送有关的不利副效应可大大降低。全身给药的治疗药物相对非选择性地分散于患者全身并代谢，从而就剂量而言降低其治疗有效性，并增加副反应的可能性。相反，局部施用的治疗药物的有效剂量通常显著低于全身给药所要求的剂量。伴随局部给药的剂量的降低减少了药物副反应的可能性。此外，局部给药疗法的药物代谢也降至最小，从而增加其有效性。

尽管比全身输送有利，但治疗药物的局部给药远不理想。局部给药的最大唯一缺点可能是治疗药物有效输送至待治疗的组织。组织对治疗药物的吸收通常为一慢过程，因而在组织和含有治疗药物的局部制剂之间要求较长接触时间。例如，治疗药物溶液的局部给药可能很成问题。使用含有治疗药物的粘稠溶液、凝胶、软膏、洗剂、膏药和植入物（insert）是以溶液形式施用治疗剂的常规替换方式。这些替换制剂用来增加治疗药物和待治疗的组织之间的接触时间，从而增加局部治疗的有效性。

眼科药物输送存在独特问题。眼药水传统上是将治疗药物局部输送至眼睛的优选方式。事实上，治疗药物的溶液通常采用这种技术给药。然而，众所周知施用于眼睛的药物主要通过眼泪排出系统而损失。这种排出如此有效以致于只有一小部分治疗药物保留下来与眼睛接触任意延

长的时间。因此，经眼药水溶液将治疗药物局部输送至眼睛较为无效且要求反复治疗。对溶液给药的常用替换方法如使用软膏和洗剂来延长组织接触并不特别适用于对眼睛的给药。软膏和洗剂从物理上讲难以给药于眼睛，因而药物剂量难以控制。固体植入物的使用也用来向眼睛输送治疗药物。尽管该技术保证了药物的缓慢有效释放，但患者常常难以将植入物放入眼睛的盲管并从中取出。

眼科药物输送的一种替换方法是使用在室温下为液体而在通过与组织接触受热而转变成凝胶的治疗药物配剂。这些可以液滴输送至眼睛的配剂易于分散且剂量也易于控制。更显著的是，一旦该液体配剂在眼睛表面上转变成凝胶，治疗药物的排出就得以延缓而且其在眼睛上的停留时间就得以延长。这些配剂的胶凝归因于随环境条件（所谓的“起动信号”）如温度或 pH 的较小变化而发生溶液-凝胶转变的聚合物组分。在温度变化时发生溶液-凝胶转变的聚合物常称作“热胶凝聚合物”或“温度敏感性聚合物”。同样，因 pH 变化而发生溶液-凝胶转变的聚合物常称作“pH 敏感性聚合物”。

受热时形成凝胶的温度敏感性聚合物在其下部临界会溶温度（“LCST”）（也称“浊点”）下发生溶液-凝胶转变。凝胶的形成据信是由于温度敏感性聚合物的一部分聚集形成疏水性微区，这些微区因该聚合物的亲水部分而保持在水溶液中。尽管在低温下可水溶，但这类温度敏感性聚合物通常具有某些疏水特性。该聚合物的疏水特性由产生该聚合物的单体赋予。例如，众所周知聚（N-异丙基丙烯酰胺）（“NIPAAm”）在水溶液中随温度而改变其结构（参见例如 Heskings 等人，J.Macromol.Sci.Chem. A2,1141-45,1968）。温度低于 NIPAAm 的 LCST（即 32℃）时，NIPAAm 的聚合物链水合形成伸展结构，而在温度高于 LCST 时，聚合物链形成排斥水的紧密结构。因此，凝胶形成是因为 NIPAAm 聚合物的较为疏水的异丙基的缔合作用。

温度敏感性聚合物已用作眼科药物输送的载体。例如，环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物已在美国专利 4, 188, 373 中公开用于此目的。然而，在该体系中，必须调节该聚合物的浓度以提供期望的溶液-凝胶转变温度。该体系的缺点是为了达到适于在体温下胶凝的溶液-

凝胶转变温度，聚合物浓度必须相当低。因此，得到具有期望性能的凝胶的能力因期望的生理适用温度范围而受限制。聚合物浓度必须低又限制了可由该聚合物体系施给的药物量。

对 pH 变化敏感的聚合物如聚丙烯酸（“聚 AAc”）也已用来就地形成凝胶，包括用作眼科组合物中的载体。例如，美国专利 4, 888, 168 公开了一种含均聚物聚 AAc 的组合物，在随后加入酸性组分时形成凝胶。在这种情况下凝胶的形成是因为伴随羧酸基团在低 pH 下质子化的粘度增加。在中性 pH 的水中，聚 AAc 的羧基离子化，该聚合物为水包液体（liquid-in-water）溶液。通过加入酸如柠檬酸将 pH 降低至 4.3 - 4.5，导致因聚合物的亲水性降低和疏水性增加而形成凝胶。该体系用作眼科药物输送载体的不希望有的限制是凝胶形成要求顺序加入两种溶液（即第一聚 AAc 溶液和第二酸溶液）。

由于用来提供适于局部药物输送的载体的现有温度敏感性和 pH 敏感性聚合物的缺点，研究人员已研究将含有这些组分的无规共聚物用作局部药物输送的载体。然而，业已证明此类无规共聚物不适于生理应用。特别是，温度敏感性和 pH 敏感性单体的无规共聚物在增加 pH 敏感性单体含量或比例时迅速失去其温度敏感性。因此，通过使用足以赋予该无规共聚物以 pH 敏感性的 pH 敏感性组分的比例，该比例会损坏加入温度敏感性组分所追求的温度敏感性。此外，交联此类无规共聚物以形成水凝胶并未减轻该问题。例如，丙烯酸（“AAc”）和 NIP AAm 的无规共聚物的交联水凝胶在用作药物输送的载体时，随着该无规共聚物的 AAc 含量增加，药物释放速率将更迅速（Dong and Hoffman, *J. Controlled Release* 15:141-152, 1991）。

同样，人们试图将含有温度敏感性和 pH 敏感性聚合物的混合物的水溶液用于眼科药物输送。然而，该类混合物也只取得了有限的成功。例如美国专利 5, 252, 318 涉及温度敏感性和 pH 敏感性可逆胶凝聚合物的含水混合物。在生理温度下和在缓冲盐水中，此类物理混合物在用于药物输送时倾向于随温度敏感性聚合物沉淀和 pH 敏感性聚合物溶解而分离。因此，由于药物通过从眼睛排出而损失使此类聚合物混合物大大无效。

尽管将形成凝胶的聚合物用作局部眼科药物输送的载体有许多优点，但其使用存在限制。如上所述，这些配剂以溶液输送，因而在形成凝胶前易于从眼睛中排出。因此，在本领域需要一种简单、剂量可靠、可局部给药的组合物，它能以不会迅速从治疗部位排出的控制释放方式输送治疗有效量的药物。此外，本领域需要涉及将此类组合物用于局部药物输送的方法。本发明满足了这些需要，并提供了其他有关优点。

发明概述

简言之，本发明公开了环境敏感性嵌段和接枝共聚物。此类共聚物特别用作治疗药物控制释放的载体。在该实施方案中，本发明涉及接枝共聚物，包含骨架 pH 敏感性聚合物组分和接枝于其上的侧链温度敏感性聚合物组分，或骨架温度敏感性聚合物组分和接枝于其上的侧链 pH 敏感性聚合物组分。在每一情况中，接枝共聚物具有的下部临界会溶温度（“LCST”）在生理 pH 下为 20 - 40 °C。

在一个相关实施方案中，公开了包含 pH 敏感性聚合物组分和与其相连的温度敏感性聚合物组分的嵌段共聚物。与接枝共聚物一样，本发明的嵌段共聚物在生理 pH 下 LCST 也为 20 - 40 °C。

嵌段和接枝共聚物的 pH 敏感性聚合物组分优选包含来源于可聚合羧酸（如丙烯酸和甲基丙烯酸）的含羧酸的聚合物组分，且优选是均聚物或仅含有有限量的共聚单体的共聚物。温度敏感性聚合物组分的 LCST 在生理 pH 下为 20 - 40 °C，且可以是均聚物或无规或嵌段共聚物。pH 敏感性或温度敏感性聚合物组分也可轻微交联，产生交联的嵌段和接枝共聚物水凝胶。

在另一实施方案中，本发明涉及一种用于形成共聚物 - 药物混合物的嵌段或接枝共聚物与药用药物的物理混合物。为了局部应用于治疗部位，该共聚物 - 药物混合物以悬浮于药用载体中的固体颗粒形式应用。另外，该共聚物可与药用药物一起溶于药用载体中并以液体共聚物 - 药物混合物形式使用。在与治疗部位接触时，该共聚物 - 药物混合物的共聚物形成凝胶。因此，本发明还公开了含有悬浮于药用载体中的共聚物 - 药物混合物颗粒的组合物，以及含有与药用载体组合的该共聚物和药物的组合物。在又一实施方案中，公开了用于通过向治疗部位施用该组

合物而将药物局部输送至该部位的方法。

在还一实施方案中，嵌段或接枝共聚物可轻微交联形成水凝胶。合适的水凝胶包含骨架 pH 敏感性聚合物组分和接枝于其上的侧链温度敏感性聚合物组分，或骨架温度敏感性组分和接枝于其上的侧链 pH 敏感性组分。此外，还公开了包含与温度敏感性聚合物组分相连的 pH 敏感性聚合物组分的嵌段共聚物水凝胶。此类水凝胶可含有一种或多种例如为溶解或分散形式的药用药物。

本发明又一方面涉及用于普通工业应用的嵌段或接枝共聚物（包括其水凝胶），这些工业应用包括润滑剂、增湿剂、组织形成剂（bulk-former）和/或吸收剂。在本发明全文中，该嵌段和接枝共聚物可在宽 pH 和温度范围内使用。

本发明的其他方面在参考附图和下列详细说明后将变得清楚。

附图的简要说明

图 1 说明在磷酸盐缓冲盐水溶液（pH7.4）中，四种具有不同比例聚（N-异丙基丙烯酰胺）（“NIP AAm”）和聚丙烯酸（“AAc”）的聚（N-异丙基丙烯酰胺）和聚丙烯酸的嵌段共聚物（“NIP AAm-b-AAc”）的 0.2wt % 溶液的温度敏感性行为。

图 2 说明在 34 °C 于磷酸盐缓冲盐水（pH7.4）中，药物（即塞吗洛尔）从 NIP AAm-b-AAc 共聚物-药物颗粒中释放与从均聚 AAc-药物颗粒中释放的对比。

图 3 说明四种具有不同比例的 NIP AAm/AAc 的 NIP AAm-g-AAc 接枝共聚物及其 50/50 物理混合物的 0.2wt % 溶液在磷酸盐缓冲盐水溶液（pH7.4）中的温度敏感性行为。

图 4 说明在 34 °C 于磷酸盐缓冲盐水（pH7.4）中，塞吗洛尔从这些 NIP AAm-g-AAc 接枝共聚物的共聚物-药物颗粒中释放与从 NIP AAm 和 AAc 的无规共聚物中释放的对比。

图 5 说明在 37 °C 于磷酸盐缓冲盐水（pH7.4）中，塞吗洛尔从接枝共聚物 NIP AAm-g-AAc 的共聚物-药物颗粒中释放与从 NIP AAm 和 AAc 的无规共聚物中释放的对比。

图 6 说明在 34 °C 于磷酸盐缓冲盐水（pH7.4）中，塞吗洛尔从不

同 NIP AAm-g-AAc 接枝共聚物(低聚物分子量 2000, 51 个侧链/骨架; 分子量 3300, 31 个侧链/骨架; 分子量 5800, 18 个接枝链/骨架; 聚 AAc 骨架分子量 250000) 的共聚物-药物混合物的铸膜 (cast film) 中的释放。

图 7 说明在 34 ℃ 于磷酸盐缓冲盐水 (pH7.4) 中, 塞吗洛尔从铸膜(低聚物分子量 3300, 31 个侧链/骨架; 聚 AAc 骨架分子量 250000) 中释放的速率和接枝共聚物-塞吗洛尔混合物从该铸膜中溶出的速率。

图 8 说明在 34 ℃ 于磷酸盐缓冲盐水 (pH7.4) 中, 塞吗洛尔从如下聚合物-药物混合物的铸膜中的释放: 含 30 % NIP AAm 的无规共聚物; 含 30 % NIP AAm 的接枝共聚物, 其中 NIP AAm 分子量为 3300; NIP AAm (分子量 3300) 和均聚 AAc (分子量 250000) 的物理混合物 (30: 70); 和分子量为 250000 的均聚 AAc。

图 9 说明 NIP AAm - BMA 共聚低聚物和 NIP AAm 低聚物的 0.2wt % 溶液在蒸馏水中的温度敏感性行为。

图 10 说明 NIP AAm - BMA 共聚低聚物和 NIP AAm 低聚物的 0.2wt % 溶液在磷酸盐缓冲盐水 (pH7.4) 中的温度敏感性行为。

图 11 说明接枝共聚物 (NIP AAm - BMA) - g - AAc、NIP AAm - BMA 共聚低聚物和均聚 AAc 的 0.2wt % 溶液在磷酸盐缓冲盐水 (pH7.4) 中的温度敏感性行为。

图 12 说明在 34 ℃ 磷酸盐缓冲盐水 (pH7.4) 中塞吗洛尔从接枝共聚物 (NIP AAm - BMA) - g-AAc 的共聚物-药物颗粒中的释放。

图 13 说明在 34 ℃ 磷酸盐缓冲盐水 (pH7.4) 中塞吗洛尔从不同 NIP AAm - BMA 共聚低聚物组成的不同接枝共聚物 (NIP AAm - BMA) - g-AAc 的共聚物-药物混合物铸膜中的释放。

图 14 说明本发明的一个代表性接枝共聚物水凝胶的合成。

图 15 说明代表性接枝共聚物水凝胶的接枝程度。

图 16 说明代表性接枝共聚物水凝胶的溶胀比(空心圈: 0.5 % 交联剂, 58.97 % 接枝; 实心圈: 2.0wt % 交联剂, 48.41 % 接枝; 空心框: 2.0wt % 交联剂, 65.27 % 交联)。

图 17 说明在 34 ℃ 磷酸盐缓冲盐水 (pH7.4) 中塞吗洛尔从几种

(NIP AAm - BMA) - g - AAc 接枝共聚物水凝胶的共聚物 - 药物混合物铸膜中释放的速率。

图 18 说明 NIP AAm 和 AAc 的无规共聚物 (89mol % NIP AAm) 的 0.2wt % 溶液在 pH4.0 和 pH7.4 下的温度敏感性行为。

图 19 说明市售的环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物 (“ EO/PO/EO ”) 的 0.5wt % 溶液的温度敏感性行为。

图 20 说明图 19 的 EO/PO/EO 嵌段共聚物接枝于 AAc 的均聚物骨架上的接枝共聚物 (即 EO/PO/EO - g-AAc) 的 2.5wt % 溶液的温度敏感性行为。

图 21 说明药物 (噻吗洛尔马来酸盐) 从不同 EO/PO/EO 对 AAc 的比率 (即 10 : 90 , 20 : 80 和 30 : 70) 的 EO/PO/EO-g-AAc 接枝共聚物的释放。为了对比, 还示出了药物从 AAc 均聚物以及 AAc 均聚物和 EO/PO/EO 嵌段共聚物的物理混合物的释放。

图 22 说明药物从 EO/PO/EO 嵌段共聚物 L - 122 以 EO/PO/EO 对 AAc 之比为 10 : 90 - 50 : 50 接枝到 AAc 均聚物骨架上的接枝共聚物中的释放。

图 23 说明药物从不同 EO/PO/EO 嵌段共聚物 (即 L - 61 , L - 92 和 L - 122) 以 EO/PO/EO 对 AAc 的比率为 30 : 70 接枝到 AAc 均聚物骨架上的接枝共聚物中的释放。

本发明的详细描述

本发明概括涉及环境敏感性嵌段和接枝共聚物。此类共聚物在治疗药物输送中且更具体地说是在治疗药物的持续控制释放中特别有效。在该实施方案中, 本发明的环境敏感性嵌段和接枝共聚物可与一种或多种治疗药物物理混合以形成共聚物 - 药物混合物。然后该混合物可以固体颗粒形式 (下文称作 “ 共聚物 - 药物颗粒 ”) 通过局部施用而施于治疗部位上。另外, 这些环境敏感性嵌段和接枝共聚物可以与治疗部位接触时形成凝胶的液体形式给药。如本文所用的术语 “ 治疗部位 ” 指动物体上或动物体内适于局部施药的任何表面, 包括 (但不限于) 眼睛、开裂的伤口或烧伤以及粘膜组织 (如呼吸道、消化道以及阴道), 且该表面含有足够的水/离子含量以水合颗粒或接触时胶凝。

更具体地说，本发明的共聚物-药物混合物可以组合物形式施用于治疗部位，在该组合物中，该共聚物-药物混合物以固体颗粒形式悬浮于药用载体中。本发明的药用载体必须不引起悬浮于其中的共聚物-药物颗粒的显著溶解或药物从该颗粒中释放出来。在一个实施方案中，该共聚物-药物颗粒可悬浮于挥发性载体如碳氟化合物挥发剂（propellant）中。当与治疗部位如眼睛接触时，该挥发性挥发剂蒸发，留下颗粒于眼睛表面上。该颗粒然后水合、溶胀并在其发生溶胀和溶解时从该共聚物-药物颗粒中缓慢释放药物。在另一实施方案中，共聚物-药物颗粒可悬浮于不挥发性载体中，如蒸馏水或无菌水中。如上所述，颗粒与治疗部位接触时水合、溶胀并在颗粒溶胀和溶解过程中释放药物。另外，该共聚物可与药物一起溶于药用载体中并以液体共聚物-药物混合物形式给药，其共聚物组分在与治疗部位接触时形成凝胶。下面更详细地讨论与治疗部位接触时发生的物理变化。

正如本发明全文中所使用的，术语“药物”包括在“Federal Food, Drug and Cosmetic Act Requirements relating to Drugs for Human and Animal Use”的 21 C.F.R. § 201(g) (1)（在此引作参考）中所作的定义。在该定义中，药物指（a）在正式的 United States Pharmacopeia, 正式的 Homeopathic Pharmacopeia of the United States, 或正式的 National Formulary 或其任何补编中所公认的产品；和（b）用于影响人类或其他动物的疾病的诊断、治疗、镇静或预防的产品；和（c）用来影响人体或其他动物体的结构或任何功能的产品（不是食品）；和（d）用作上述条款（a）、（b）或（c）所规定的任何产品的组分的产品，但不包括装置或其零件、部件或配件。水明确包括在这里所用的术语药物的定义内。术语“化妆品组合物”包括用于皮肤护理、头发护理、指甲护理的组合物，以及化妆用品、香水和香料。术语“超吸收剂”指从干燥材料开始吸收约 20 倍其自身重量的含水流体的水凝胶（J.Gross, Absorbent Polymer Technology, L.Brannon-Peppas and R.Harland, ed., Elsevier, New York, New York, 1990, P9）（在本文引作参考）。

如上所述，在本发明的一个实施方案的实践中，嵌段和接枝共聚物

用作输送一种或多种药物的载体。该嵌段和接枝共聚物通过其组成部分的物理性能完成药物从共聚物-药物混合物中的持续控制释放。具体而言，本发明的嵌段和接枝共聚物由两种聚合物组分组成：一种温度敏感性聚合物组分和一种 pH 敏感性聚合物组分。当与治疗部位接触时，嵌段和接枝共聚物或水凝胶的 pH 敏感性聚合物组分或者水合和溶胀，或者塌陷，从而使药物从共聚物-药物混合物中释放出来。pH 敏感性聚合物组分的水合和溶胀是由吸收治疗部位的水和离子引起的。例如，当 pH 敏感性聚合物组分为含羧酸的聚合物（如聚 AAc）时，该羧酸基团（“COOH”）因从治疗部位吸收阳离子（如 Na^+ 或 K^+ ）而离子化，从而产生中和的羧酸部分（即 $\text{COO}^- \text{Na}^+$ ）。羧酸基团的离子化伴随着水的吸收，反过来又导致共聚物-药物混合物的溶胀和胶凝。此外，这种水合和溶胀使 pH 敏感性聚合物组分粘附于治疗部位的组织上（即成为生物粘附（bioadhesive））。与 pH 敏感性聚合物组分相反，温度敏感性聚合物组分阻止共聚物-药物混合物的水合和溶胀，从而使药物从该共聚物-药物混合物中持续控制释放。

正如本文所使用的，本发明的“嵌段共聚物”具有至少一种末端连接于至少一种 pH 敏感性聚合物组分的温度敏感性聚合物组分（即端-端连接）。同样，本发明的“接枝共聚物”具有作骨架聚合物的 pH 敏感性聚合物组分和至少一种作侧链聚合物的温度敏感性聚合物组分，或作骨架聚合物的温度敏感性聚合物组分和至少一种作侧链聚合物的 pH 敏感性聚合物组分。

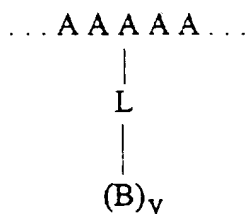
为清楚起见，简单复习一下聚合物的命名将有助于理解本发明。通常，聚合物是由单体单元的聚合得到的大分子（即分子链）。分子链的链节为单体单元。例如，聚丙烯酸（聚 AAc）是由单体丙烯酸（AAc）得到的聚合物。更具体地说，聚丙烯酸是“均聚物”，即由单一重复单元（AAc）组成的聚合物。相反，本发明的聚合物是“共聚物”。共聚物是含有两个（或多个）不同单体单元的聚合物。共聚物通常可以几种方式合成。例如，共聚物可由两种不同单体的共聚合而制备。这一方法产生的共聚物中两种不同单体，通常称为“共聚单体”，可以无规分布于整个聚合物链中。这些共聚物称作“无规共聚物”。另外，共聚物可

两种均聚物的共价偶联或连接而制备。例如，一种均聚物与第二种不同均聚物的末端共价偶联提供“嵌段共聚物”。含有均聚物 A 和均聚物 B 的嵌段共聚物可由下式示意表示：



其中 $(A)_x$ 是 x 个单体 A 的均聚物， $(B)_y$ 是由 y 个单体 B 组成的均聚物，而 L 是合适的共价键。

根据均聚物组分的化学本质，还可制备出另一类型的共聚物。例如，如上所述，聚 AAc 是 AAc 部分的均聚物。因此，聚 AAc 聚合物链由羧酸侧基取代。第二种不同均聚物与这些羧酸侧基的一个或多个的共价偶联得到“接枝共聚物”。实质上是第二种聚合物接枝于第一种之上。因此，接枝共聚物具有一个“骨架”聚合物，其上共价连接一个或多个“侧链”聚合物。接枝共聚物的性质可取决于侧链聚合物在骨架聚合物上的取代程度而显著变化。具有其上连有侧链均聚物 B 的骨架均聚物 A 的接枝共聚物可由下式示意表示：



其中“ $\dots A A A A A \dots$ ”是单体 A 的均聚物， $(B)_y$ 是 y 个单体 B 的均聚物，而 L 是一合适的共价键。

上面讨论的嵌段和接枝共聚物含有 A 和 B 的均聚物，它们代表本发明的温度敏感性聚合物组分和 pH 敏感性聚合物组分。此外，本发明的嵌段和接枝共聚物还可由均聚物以外的聚合物得到。例如不是将侧链均聚物 B 接枝到骨架均聚物 A 上，而是可将共聚物 CD 接枝到均聚物骨架 A 上，从而得到接枝共聚物，其中侧链聚合物本身是一种共聚物。在该情形下，均聚物 A 对应于 pH 敏感性聚合物组分，而共聚物 CD 或者是共聚单体 C 和 D 的无规共聚物，或者是嵌段共聚物，且对应于温度敏感性聚合物组分。另外，骨架聚合物可以是共聚物 CD（代表温度敏感性聚合物组分），侧链聚合物是均聚物 A（代表 pH 敏感性聚合物组分）。对于嵌段共聚物也是如此，即共聚物 CD（代表温度敏感性聚合物组分）

可与均聚物 A（代表 pH 敏感性聚合物组分）组合使用。尽管在上述讨论中 pH 敏感性聚合物组分通常指均聚物，但 pH 敏感性聚合物组分本身也可以是受到某些下文将更详细讨论的限制的共聚物。

在本发明有关药物输送的实践中，重要的是接枝和嵌段共聚物在从室温到刚好高于生理温度的温度范围内发生溶液-凝胶相转变。该溶液-凝胶或沉淀相转变（本文称作“下部临界会溶温度”或“LCST”）可通过测定在溶液中的嵌段和接枝共聚物的光密度在特定波长（如 500nm）下随温度的变化而由吸收光谱法确定（Chen 等人，Biomaterials 11:625-36,1990）。当加热到其 LCST 时，嵌段和接枝共聚物开始凝聚，从而降低光的透射率。共聚物溶液的浊点定义为该溶液达到其最大不透明度的某一值（如 50%）时的温度。（本发明几种代表性嵌段和接枝共聚物溶液的 LCST 的测定分别在图 1、实施例 1B 以及图 3、实施例 2B 中提供）。另外，该相转变温度可通过测定粘度随温度的变化而确定。当加热至 LCST 时，嵌段或接枝共聚物溶液的粘度随着发生液体-凝胶相转变而显著增加。该相转变可定义为该溶液达到其最大粘度的某一分数（如 25%）时的温度。当共聚物溶液的不透明度在达到液体-凝胶相转温度时不发生显著变化时，优选这类粘度测量。相转变的其他指示包括测量该嵌段或接枝共聚物的溶胀或塌陷。

在一个实施方案中，本发明的嵌段和接枝共聚物具有的 LCST（在 pH4.0-8.0）为 20 - 40 °C，优选 26 - 34 °C，更优选 28 - 32 °C。优选嵌段和接枝共聚物在 pH6.0-8.0，更优选 7.0-7.8，最优选在 7.4 的生理 pH 下具有上述 LCST。在本发明全文中，嵌段和接枝共聚物的 LCST 在通常低于 10wt% 的水溶液浓度下测定。还应理解的是在上述 pH 范围内 LCST 的测定并不排除在 pH 更高或更低的生理条件下使用嵌段和接枝共聚物。例如，胃部的 pH 很低（pH1），本发明的嵌段和接枝共聚物适于经口给药到其中。

在药物输送中，LCST 超出 20 - 40 °C 范围的嵌段和接枝共聚物通常不适用于本发明实践中。LCST 低于 20 °C 的共聚物除难以给药外，而且极难溶解，因而在药物输送中无效。LCST 高于 40 °C 的共聚物在生理温度和 pH 下迅速且完全溶解，因而因在治疗部位停留时间短而不能有

效地延缓药物输送。（本发明的这一方面将从本发明的嵌段和接枝共聚物的生物粘附性能在下面作更详细的讨论）。

如上所述，本发明的嵌段和接枝共聚物的温度敏感性聚合物组分可来源于均聚物或共聚物。在任一情况下，该温度敏感性聚合物组分的 LCST 范围与本发明的嵌段和接枝共聚物相同（即，对于用作药物输送载体，在上面确定的 pH 范围内为 20 - 40 °C，优选 26 - 34 °C，更优选 28 - 32 °C）。因此，对于药物输送应用，本发明的合适温度敏感性聚合物具有 LCST 为 20 - 40 °C，且它们各自的嵌段和接枝共聚物具有相同范围的 LCST。在本发明全文中，温度敏感性聚合物的 LCST 在低于 1wt %，优选 0.01 - 0.5wt %，更优选 0.1-0.3wt % 的水溶液浓度下测定。

本发明的温度敏感性聚合物可以含有酯、醚、酰胺、醇和酸基团。这些聚合物可由乙烯基单体如分别提供聚丙烯酰胺和聚（N - 异丙基丙烯酰胺）的丙烯酰胺或 N - 异丙基丙烯酰胺的聚合而合成，或由丙烯酸或甲基丙烯酸的酯如分别提供聚丙烯酸丁酯或聚甲基丙烯酸丁酯的丙烯酸丁酯或甲基丙烯酸丁酯的聚合而合成。同样，环状醚单体如环氧乙烷的聚合提供聚醚，而乙酸乙烯酯聚合然后水解得到聚醇。合适的酯包括丙烯酸及其各种衍生物如甲基丙烯酸的酯。合适的醚包括环氧乙烷，环氧丙烷和乙烯基甲基醚。合适的醇包括丙烯酸羟丙酯和乙烯醇。合适的酰胺包括 N - 取代的丙烯酰胺，N - 乙烯基吡咯烷酮，N - 乙烯基乙酰胺，N - 乙烯基丙酰胺，N - 乙烯基丁酰胺和乙基噁唑啉。因此，本发明的嵌段和接枝共聚物包括含有聚酯、聚醚、聚醇和聚酰胺的温度敏感性聚合物组分。优选温度敏感性聚合物组分选自聚环氧乙烷和聚环氧丙烷的嵌段共聚物，环氧乙烷和环氧丙烷的无规共聚物，聚乙烯基甲基醚，聚丙烯酸羟丙酯，聚乙烯醇，聚（N - 取代）丙烯酰胺，聚（N - 乙烯基吡咯烷酮）和聚乙基噁唑啉。优选的温度敏感性聚合物包括聚（N - 取代）丙烯酰胺和聚（N - 取代）甲基丙烯酰胺。这些聚丙烯酰胺可来源于未取代或单 - 或二 - N - 取代的丙烯酰胺。这些丙烯酰胺的 N - 取代基可以是 C₁ - C₁₀ 烷基，C₃ - C₆ 环烷基或 C₂ - C₁₀ 烷氧基烷基。二取代的丙烯酰胺可以是环酰胺如环戊基和环己基酰胺衍生物或内酰胺如己内酰胺。在一个优选实施方案中，温度敏感性聚合物组分是聚（N -

烷基取代) 丙烯酰胺。(代表性温度敏感性均聚物 - 聚 N - 异丙基丙烯酰胺 (NIP AAm) 的合成及性能详细说明于实施例 1A1 中)。

另外, 温度敏感性聚合物可以是天然存在的聚合物(即纤维素及其衍生物), 它们可经化学改性而提供具有本发明实践所要求的温度敏感性行为的衍生物。合适的天然存在的聚合物包括纤维素及其衍生物如甲基纤维素、羟丙基纤维素和羟丙基甲基纤维素。

在一个实施方案中, 温度敏感性聚合物组分是由上述单体之一聚合而得的均聚物。另外, 该温度敏感性聚合物组分是无规或嵌段共聚物。合适的温度敏感性共聚物包括(但不限于)来源于如下单体聚合的共聚物: 丙烯酸羟丙酯和丙烯酰胺或丙烯酸羟乙酯; 丙烯酸羟乙酯和双丙酮丙烯酰胺或 N - 异丙基丙烯酰胺; N - 异丙基丙烯酰胺和甲基丙烯酰胺或甲基丙烯酸酯; 乙烯醇和乙酸乙烯酯或丁酸乙烯酯; 以及乙酸乙烯酯和乙烯基吡咯烷酮。对于均聚物和共聚物温度敏感性聚合物组分, 其 LCST 可为 20 - 40 °C, 且可使所产生的嵌段和接枝共聚物的 LCST 在相同范围内。(代表性温度敏感性共聚物 - 聚(N - 异丙基丙烯酰胺)甲基丙烯酸丁酯 (NIP AAm-BMA) 的合成在实施例 3A1 中详细说明)。在一个优选实施方案中, 温度敏感性聚合物组分是聚环氧乙烷和聚环氧丙烷的嵌段共聚物。此类嵌段共聚物可由 BASF - Wyandotte Corp.(Wyandotte, Michigan) 以商标 Pluronic[®] 购得, 通式为 $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_a(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O})_b(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_a\text{H}$, 其中 b 为至少 15, $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{2a}$ 占 20 - 90wt %。(具有接枝于聚 AAc 上的各种 Pluronic[®] 的代表性共聚物的合成及性能在实施例 6 中详细说明)。

如上所述, 本发明的接枝和嵌段共聚物的 pH 敏感性聚合物组分引起溶解, 并赋予该嵌段和接枝共聚物以生物粘附性以及在某些情况下赋予药物结合特性。本文所用的术语“生物粘附”指共聚物 - 药物混合物在该混合物水合和溶胀时粘附到治疗部位的组织上的能力。例如, 当治疗部位是眼睛时, 该共聚物 - 药物混合物与眼睛表面之间的粘附是由该共聚物的化学官能基团和眼睛表面之间的相互吸引作用引起的。该 pH 敏感性聚合物组分的离子性质提供与眼睛表面的粘附作用, 从而延长该共聚物 - 药物混合物在眼睛表面上的停留时间。

在一个实施方案中，pH 敏感性聚合物组分是含羧酸的聚合物，且可来源于包括如下的可聚合羧酸：丙烯酸、甲基丙烯酸、乙基丙烯酸（ethacrylic acid）、 β -甲基丙烯酸、顺式 α -甲基巴豆酸、反式 α -甲基巴豆酸、 α -丁基巴豆酸、 α -苯基丙烯酸、 α -苄基丙烯酸、 α -环己基丙烯酸、 β -苯基丙烯酸、香豆酸和繖形酸。羧甲基纤维素也是合适的含羧酸聚合物。在一个优选实施方案中，含羧酸的聚合物是聚AAc。

在另一实施方案中，pH 敏感性聚合物组分是含胺、含磷酸盐、含硫酸盐或含磺酸盐的聚合物组分，或其混合物。在一个优选实施方案中，pH 敏感性聚合物组分是含胺或含磷酸盐的聚合物组分。

如上所述，pH 敏感性聚合物组分赋予本发明的嵌段和接枝共聚物以生物粘附性。在含羧酸的聚合物组分情况下，当与治疗部位如眼睛或其他粘膜组织接触时，羧酸部分电离变成羧酸盐，例如羧酸钠或羧酸钾。与治疗部位接触时由羧酸转变为羧酸盐导致共聚物-药物混合物的水合。该混合物在水合时产生生物粘附性。在水合前，羧酸形式也可以是生物粘附的。电离成羧酸盐引起凝胶溶胀并变粘，但它在进一步水合时可能失去粘性。同样，含有胺、磷酸盐、硫酸盐和磺酸盐的聚合物组分也能在与治疗部位接触时电离。具体来说，治疗部位中存在的离子被pH 敏感性聚合物组分吸收，中和其可电离的部分。电离反过来又伴随着吸收水，从而使pH 敏感性聚合物组分，因而也是共聚物-药物混合物，溶胀并变成生物粘附。

在一个优选实施方案中，pH 敏感性聚合物组分为均聚物（如聚AAc）。在另一实施方案中，pH 敏感性聚合物组分为来自两种pH 敏感性单体（如丙烯酸和甲基丙烯酸）或一种pH 敏感性单体和一种非pH 敏感性单体的共聚合的共聚物。在每一情况下，共聚单体（即非pH 敏感性单体或不同的pH 敏感性单体）的含量必须不会大到抵消该pH 敏感性聚合物组分的生物粘附性。换句话说，pH 敏感性聚合物组分应基本由单一的重复单体单元组成，存在的其他单体单元的量不会显著减小该pH 敏感性聚合物组分的生物粘附性能。典型地，单一的pH 敏感性聚合物组分包含超过90%的相同pH 敏感性单体，优选超过95%，更优选超过99%。

pH 敏感性聚合物组分的水合不仅赋予该嵌段和接枝共聚物以生物粘附性，还使其溶胀，从而导致共聚物 - 药物混合物最大限度溶解。溶胀和溶解反过来又导致药物释放。对于本发明的嵌段和接枝共聚物，其溶胀和溶解速率或侵蚀速率由温度敏感性聚合物组分对由 pH 敏感性聚合物组分的电离所引起的溶胀的抵抗来控制。

本发明的嵌段和接枝共聚物的 pH 敏感性聚合物组分还可经由离子相互作用任选地结合治疗药物。例如，对于为阳离子（即带正电荷）的治疗药物，pH 敏感性聚合物组分（如含羧酸的聚合物组分）的阴离子性质可离子性地结合阳离子药物。（对于塞吗洛尔 - 马来酸氢盐 - 一种阳离子治疗药物和嵌段共聚物 NIP AAm - b - AAc 的阴离子聚合物组分聚 AAc，这种相互作用在实施例 1C 中说明）。

本发明的共聚物 - 药物混合物可通过物理夹带和/或通过与该嵌段或接枝共聚物的 pH 敏感性聚合物组分的相互作用而将药物掺入该嵌段或接枝共聚物中来制备。这可通过如下方式完成：将该嵌段或接枝共聚物溶于含有药物的溶液，然后将该共聚物 - 药物溶液在该共聚物和药物的非溶剂中沉淀，从而得到共聚物 - 药物颗粒。（例如，药物塞吗洛尔 - 马来酸氢盐和共聚物 NIP AAm - b - AAc 的颗粒的形成在实施例 1C 中说明）。另外，可将该嵌段或接枝共聚物溶于含药物的溶液中，或溶于一种溶液中，然后往其中加入药物，得到液体共聚物 - 药物混合物。这一溶液可进一步浓缩，或可干燥以得到例如一种固态膜。合适的溶剂包括含水溶剂或非水溶剂。在一个实施方案中，该溶液可含有至少 10wt % 非水溶剂，而在另一实施方案中可含有至少 99wt % 非水溶剂。

至于嵌段和接枝共聚物的合成，此类聚合物通常可由具有适当反应活性的温度敏感性聚合物组分与具有适当反应活性的 pH 敏感性聚合物组分的共价偶联而合成。这两种聚合物组分之间的共价键应在局部给药后遇到的条件下耐断裂。因此，合适的共价键包括酰胺、酯、醚、硫酯、硫醚脲、氨基甲酸乙酯和胺键。此类键来自具有适当反应活性的温度敏感性聚合物组分与互补的 pH 敏感性聚合物组分的偶联。例如，酰胺键可通过将氨基封端的温度敏感性聚合物组分与羧酸改性的 pH 敏感性聚合物组分偶联而制备，或通过氨基封端的 pH 敏感性聚合物组分与羧酸封端

的温度敏感性聚合物组分的偶联而制备。其他键同样可由标准方法制备。例如，氨基封端的 pH 敏感性聚合物（聚 AAc）和羧酸改性的温度敏感性聚合物（NIP AAm）的代表性合成分别在实施例 1A1 和 1A2 中详细说明。将这些物质偶联以形成酰胺连接的嵌段共聚物在实施例 1A3 中说明。氨基封端的温度敏感性聚合物组分的代表性合成和其与羧酸改性的 pH 敏感性聚合物组分共价偶联以产生酰胺连接的接枝共聚物在实施例 2A2 中说明。

另外，本发明的接枝共聚物可由合适的 pH 敏感性单体与温度敏感性大单体（macromonomer）的共聚合合成。此种接枝共聚物的代表性合成在实施例 2A1 中详细说明。

在一个实施方案中，本发明的共聚物是嵌段共聚物。嵌段共聚物可通过 pH 敏感性聚合物组分的末端与温度敏感性聚合物组分的末端共价偶联而合成。共价键可以是上述键中的任一种，且在一个优选实施方案中，该键为酰胺键。该嵌段共聚物可通过两种均聚物（例如一种 pH 敏感性均聚物和一种温度敏感性均聚物）、一种均聚物和一种共聚物（例如一种 pH 敏感性均聚物和一种温度敏感性共聚物或一种 pH 敏感性共聚物和一种温度敏感性均聚物）或两种共聚物（例如一种 pH 敏感性共聚物和一种温度敏感性共聚物）的偶联来制备。来源于两种均聚物偶联的嵌段共聚物的代表性实例在实施例 1 中说明。

在药物输送方面，本发明的合适嵌段共聚物具有 20 - 40 °C 的 LCST，且来源于 LCST 为 20 - 40 °C 的温度敏感性聚合物组分。本发明的嵌段共聚物优选具有 5000 - 100000（且可高至 500000）的平均分子量，且温度敏感性聚合物组分优选占该嵌段共聚物的至少 10 - 20wt %。

在另一实施方案中，本发明的共聚物是接枝共聚物。接枝共聚物通过一种具有适当反应活性的聚合物（或者是 pH 敏感性聚合物组分或者是温度敏感性聚合物组分）与骨架聚合物（或者是温度敏感性聚合物组分或者是 pH 敏感性聚合物组分）的侧基共价偶联而合成。该共价键可以是上述键中的任一种，在一个优选实施方案中，该键是酰胺键。该接枝共聚物可通过两种均聚物（例如一种 pH 敏感性均聚物和一种温度敏感性均

聚物)、一种均聚物和一种共聚物(例如一种 pH 敏感性均聚物和一种温度敏感性共聚物或一种 pH 敏感性共聚物和一种温度敏感性均聚物)或两种共聚物(例如一种 pH 敏感性共聚物和一种温度敏感性共聚物)的偶联而制备。如上所述,本发明接枝共聚物的温度敏感性聚合物组分可以是嵌段或无规共聚物,条件是在药物输送方面,该共聚物具有合适的 LCST。同样, pH 敏感性聚合物组分优选为均聚物,尽管可以使用嵌段或无规共聚物,只要该 pH 敏感性聚合物组分的生物粘附性不显著减小。在一个优选实施方案中,该接枝共聚物具有 pH 敏感性均聚物骨架,该骨架上带有侧链温度敏感性聚合物组分。由两种均聚物偶联得到的接枝共聚物的代表性合成在实施例 2 中说明,而由一种侧链温度敏感性共聚物与 pH 敏感性均聚物骨架偶联得到的接枝共聚物的代表性合成在实施例 3 中说明。在一个优选实施方案中,该接枝共聚物具有聚 AAc 的 pH 敏感性均聚物骨架,该骨架带有接枝于其上的侧链温度敏感性 Pluronics[®](即环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物),这在实施例 6 中公开。

本发明的接枝共聚物具有一个带有一个或多个侧链温度敏感性聚合物组分的 pH 敏感性聚合物骨架,或一个带有一个或多个侧链 pH 敏感性聚合物组分的温度敏感性聚合物骨架。侧链聚合物组分在骨架聚合物上的取代程度可由化学偶联反应控制。例如,通过调节待与骨架聚合物反应的侧基的比例,可控制接枝共聚物产物的性能并使其达到最佳。具有较高比例温度敏感性聚合物组分的接枝共聚物将具有相对较低的溶解速率。因此,在 pH 敏感性和温度敏感性聚合物组分中的平衡可提供最佳的共聚物,它呈现出对溶解和药物释放的优选温度敏感性行为,以及优选的生物粘附性以在给药时提供延长的停留时间。

本发明的接枝共聚物优选具有平均分子量为 100000 - 600000,更优选为 250000 - 500000。在另一实施方案中,本发明的接枝共聚物可具有平均分子量为 50000 - 1000000。此外,该温度敏感性聚合物组分优选占该接枝共聚物的至少 5 - 10wt %。

在本发明的另一实施方案中,嵌段和接枝共聚物可轻度交联。这些嵌段和接枝共聚物称为“水凝胶”。在一个实施方案中,骨架聚合物组分为带有一个或多个侧链温度敏感性聚合物组分的交联的 pH 敏感性聚

合物组分。在一个优选实施方案中，该水凝胶来源于交联的 pH 敏感性聚合物骨架。另外，嵌段共聚物的 pH 敏感性聚合物组分可以轻度交联。合适的交联剂是众所周知的，且包括（但不限于）较“短”交联剂，如亚甲基双丙烯酰胺和乙二醇二甲基丙烯酸酯（EGDMA），以及较“长”交联剂，如聚乙二醇二甲基丙烯酸酯（PEGDMA）。

嵌段和接枝共聚物的交联水凝胶有效阻止该共聚物的迅速溶解，同时不会妨碍共聚物胶凝。在某些实施方案中，可优选交联密度足够轻，以使水凝胶可溶解或易受侵蚀。在其他实施方案中，可优选交联密度足够大，以使该凝胶为具有永久的三维聚合物网络的永久“化学凝胶”，它能保持其结构并且不可溶或不易受侵蚀。水凝胶中的交联程度通常通过记录溶液中交联剂的摩尔浓度与单体的摩尔浓度之比来估计。然而，因为实际交联仅在交联剂分子与两个不同的聚合物链相连时形成，所以实际交联的数目仅为存在于该凝胶网络中的交联剂单体数目的一小部分。本发明的水凝胶是轻度交联的，且含有优选 0.001 - 10wt %。由这些交联剂分子产生的实际交联程度据信为 0.0001 - 2 % 实际交联。聚合反应中交联剂的合适浓度基于总交联单体为 0.05 - 1wt %，优选 0.10 - 0.50wt %。接枝共聚物水凝胶的合成在实施例 4 中说明。正如上述嵌段和接枝共聚物一样，本发明的水凝胶对于治疗药物的输送是有效的载体。水凝胶共聚物-药物混合物可通过将水凝胶在含有该药物的溶液中溶胀而制备。水凝胶包括其中溶剂为水的凝胶，以及其中溶剂明显为非水的凝胶。在一个实施方案中，该溶液可含有至少 10wt % 的非水溶剂，而在另一实施方案中，可含有至少 99wt % 非水溶剂。本发明的水凝胶包括任何含有 pH 敏感性和温度敏感性组分的接枝或嵌段共聚物，与所产生的水凝胶的 LCST 无关。在本发明的一个实施方案中，水凝胶的 LCST 在生理 pH 下为 20 - 40 °C。

本发明的共聚物-药物颗粒可配制成固体颗粒在药用载体中的悬浮液用于局部给药，且本领域熟练者可使用已知的技术和方法容易地制备合适的配剂。此类配剂包括，但不局限于，溶液，乳剂和凝胶。该共聚物-药物颗粒通常在这些配剂中占总悬浮液的 0.1 - 20wt %，优选总悬浮液的 1 - 10wt %。在本发明实践中，共聚物-药物颗粒的平均粒度小

于约 50 μm (直径), 优选小于约 30 μm 。直径大于 50 μm 的颗粒可通过机械研磨或粉碎减小至适当粒度。

如上所述, 共聚物-药物颗粒可悬浮于一种药用载体中。在一个实施方案中, 该药用载体可以是一种挥发性载体。挥发性载体用来把共聚物-药物颗粒的固体颗粒输送到治疗部位并在接触治疗部位时迅速蒸发, 以有效地将颗粒沉积在治疗部位上。合适的挥发性载体包括碳氟化合物挥发剂(如三氯一氟甲烷和二氯二氟甲烷)且此类挥发剂通常可在共聚物-药物颗粒量的 5 - 20 倍重量范围内存在。共聚物-药物颗粒在挥发性载体中的悬浮液可通过任何适于有效输送该悬浮液的装置施用到治疗部位。该悬浮液的有效输送优选包括共聚物-药物颗粒的准确和重复投药, 且包括计量喷雾器和以液滴输送悬浮液的装置(如滴眼器)。

在另一实施方案中, 本发明的共聚物-药物颗粒可以颗粒在包括蒸馏水或无菌水的含水载体中的悬浮液给药。对于眼科给药, 这些水性组合物的渗透压度优选调到身体舒适的生理渗透压度。这些水性组合物的渗透压度可为约 50 - 400mOsM, 优选约 100 - 300mOsM, 更优选约 150mOsM。合适的渗透压度可通过加入生理上可接受的物质如糖或其他非离子化合物而达到。

在又一实施方案中, 本发明的共聚物可通过将一种或多种共聚物溶于药用载体中配制成液体形式给药。在一个实施方案中, 该共聚物在这些配剂中的存在浓度应足够高, 以使该配剂在与治疗部位接触时胶凝。典型地, 该共聚物在这些配剂中的合适浓度为该配剂的 0.1 - 20wt%, 优选该配剂的 0.5 - 10wt%。在这些配剂中, 药用药物可以可溶或悬浮形式存在, 或与载体结合。当该配剂与治疗部位接触胶凝时, 至少一部分存在于该配剂中的药物截留在该凝胶内。

在又一实施方案中, 本发明的共聚物-药物混合物可配制成溶液、乳剂、凝胶、软膏、片剂、胶囊或栓剂。为此, 栓剂可特别适于该共聚物-药物混合物的直肠给药, 而片剂或胶囊形式适于施用于消化道, 包括胃。溶液、乳剂、凝胶和软膏例如优选用于局部皮肤应用。该共聚物-药物混合物还可用已知技术配制成用于经口或鼻给药。用于普通全身输送的配剂也在本发明范围内, 且易于用已知技术制备。

本发明的嵌段和接枝共聚物与一种或多种聚合物的物理混合物也包含在本发明范围内，该聚合物包括均聚物（如 AAc 均聚物）和共聚物（如 EO/PO/EO 的无规或嵌段共聚物）。

如上所述，在药物施用中，本发明的接枝和嵌段共聚物优选具有 LCST 为 20 - 40 °C。然而，这些接枝和嵌段共聚物（及其水凝胶）不限于仅满足这一要求的嵌段和接枝共聚物。例如，化妆品组合物、伤口绷带（dressing）、离子电渗疗装置、监测电极、粘合剂、晒黑洗剂、乳剂、泡沫、栓剂、片剂和输送凝胶可含有 LCST 正好在上述范围之外的本发明的嵌段和接枝共聚物。此外，通过其使用以及含有它们的轻泻药的使用，经鼻、阴道、口、眼、直肠、皮肤或耳的输送可能同样受益。对于阴道输送，该嵌段或接枝共聚物（或水凝胶）可与杀精子剂、杀卵剂、抗菌剂、抗真菌剂、前列腺素、甾族或非甾族授精剂组合。

这些嵌段和接枝共聚物（及其水凝胶）也可用来控制反应化学，溶液组分的分离，离子物种的分离或化学机械功的控制，以及用于控制粘度或流动。这类共聚物（及水凝胶）还可用来在井套和周围的岩层之间形成水或气体不可透过的阻挡层。在这类工业装置中，本发明的嵌段和接枝共聚物（及水凝胶）可在宽温度范围（- 20 °C - 250 °C）内使用。同样，在工业和药物输送应用中，它们还可在宽 pH 范围（pH0 - 16）内使用。

本发明的嵌段和接枝共聚物，特别是其水凝胶，还可通过将该水凝胶暴露于溶剂或溶液而用作吸收剂，优选用作超吸收剂。在此方面合适的溶剂或溶液包括（但不限于）尿、粪便、水、血、盐水和离子水溶液。因此，水凝胶可用作尿布的吸收组分，且优选溶胀率不低于 15。嵌段和接枝共聚物以及其水凝胶还可用来给治疗部位提供水分、保持治疗部位的水分或提供与治疗部位的水合。

尽管上述公开总的涉及包含 pH 敏感性和温度敏感性组分的嵌段和接枝共聚物，但应认识到可使用对其他环境起动信号敏感的聚合物组分。因此，正如本发明全文所使用的，环境敏感性聚合物是一种随环境条件如温度、pH、溶剂或溶剂浓度、离子或离子浓度，光或压力变化而可逆地发生从主要亲水到主要疏水的变化的聚合物。显示这些变化的物

质和凝胶在本技术领域是已知的。Tanaka, Physical Review Letters 40 (12):820-823, 1978; Tanaka 等人, Physical Review Letters 38(14):771-774, 1978; Tanaka 等人, Physical Review Letters 5 45:1636, 1980; Ilavsky, Macromolecules 15:782, 1982; Hrouz 等人, Europ. Polymer J., 17:361, 1981; Ohmine 等人, J.Chem. Phys. 8:6379, 1984; Tanaka 等人, Science 218:462, 1982; Ilavsky 等人, Polymer Bull. 7:107, 1982; Gehrke, Responsive Gels: Volume Transitions II; ed K. Dusek, Springer-Verlag, New York, pp.81-114, 1993; Li 等人, Ann. Rev. Mat. Sci. 22:243-277, 1992; Galaev 等人, Enzyme Microb. Technol. 15:354-366, 1993 and Taylor 等人, J. Polymer Sci. 13:2551-2570, 1975 (所有的在此引作参考)。亲水性到疏水性的变化可由光透射率(浊点)的降低、粘度的变化或溶胀或塌陷来证实。如上所述, 如果环境敏感性聚合物随温度变化而发生变化, 则它是温度敏感性聚合物, 而如果它随 pH 变化而发生变化, 则它是 pH 敏感性聚合物。

因此, 在本发明的另一实施方案中, 公开了含有对不同起动信号响应的环境敏感性聚合物组分的嵌段和接枝共聚物。例如, 可使用含有两种不同 pH 敏感性聚合物组分或两种不同的温度敏感性聚合物组分的嵌段和接枝共聚物。另外, 本发明的嵌段和接枝共聚物可含有例如光敏性聚合物组分与温度敏感性或 pH 敏感性聚合物组分的组合, 或与不同光敏性聚合物组分的组合, 或与一种对其他起动信号敏感的聚合物组分的组合。

提供如下实施例用于说明但不限制本发明。

实施例

实施例 1

包含温度敏感性和 pH 敏感性均聚物 组分的环境敏感性嵌段共聚物

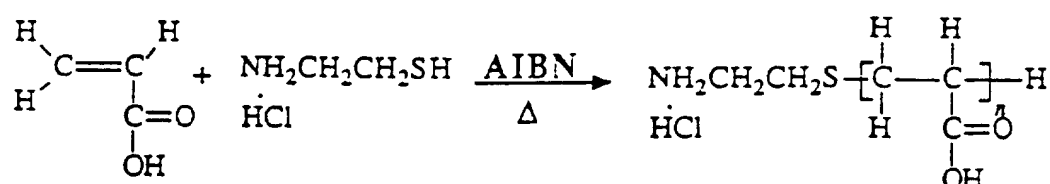
在本实施例中, 说明包含温度敏感性聚合物组分和 pH 敏感性聚合物组分的嵌段共聚物的合成和表征、温度敏感性行为和药物载负及释放性能。

A. 嵌段共聚物 NIP AAm - b - AAc 的合成和表征

由 NIP AAm 和 AAc 的低聚物合成含有温度敏感性聚合物组分 (NIP AAm) 和 pH 敏感性聚合物组分 (AAc) 的嵌段共聚物 (NIP AAm - b - AAc)。该嵌段共聚物通过氨基封端的 AAc 低聚物与活性酯羰基封端的 NIP AAm 低聚物共价偶联得到酰胺连接的嵌段共聚物而制备 (见下面的 3.)。在本方法中, 将氨基引入 AAc 低聚物的一端 (见下面的 1.), 而活性酯基 (N - 羧基琥珀酰亚胺基团) 引入 NIP AAm 低聚物的一端 (见下面的 2.)。

1. 氨基封端的低聚 AAc 的合成

该氨基封端的低聚 AAc 通过使用偶氮二异丁腈 (AIBN) 作引发剂和 2 - 氨基乙硫醇盐酸盐 (AET - HCl) 作链转移剂由丙烯酸 (AAc) 的自由基聚合而合成。聚合反应使用甲醇作溶剂在 60 °C 下进行。聚合后, 通过在乙醚中沉淀、再溶于与三乙胺混合的二甲基甲酰胺 (DMF) 中以除去盐和再在乙醚中沉淀而收集聚合物。通过改变单体与链转移剂的比例可得到具有不同分子量的氨基封端的低聚 AAc。AAc 的氨基封端的低聚物的合成示意如下。



低聚物的分子量由在 Hazra 等人的 Analytical Biochemistry 137:437-43 (1984) 中公开的端基分析法测定。在该方法中, 2, 4, 6 - 三硝基苯磺酸 (TNBS) 与氨基端基反应, 测量产物在 420nm 处的吸光度。使用具有不同碳数的如下三种不同胺作出校准曲线: $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ 、 $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$ 和 $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_5\text{COOH}$ 。表 1 总结了 AAc 聚合合成条件和结果。

表 1: AAc 的聚合

AAc:AIBN:AE T:HCl(摩尔)	聚合时间 (h)	产率 (%w/w)	MW ^a
100:1:1	3.0	90	15200
100:1:2	3.5	73	6600

100:1:4	4.0	77	3500
100:1:6	4.0	55	2200
100:1:8	4.0	56	1500
100:1:10	4.0	42	1200

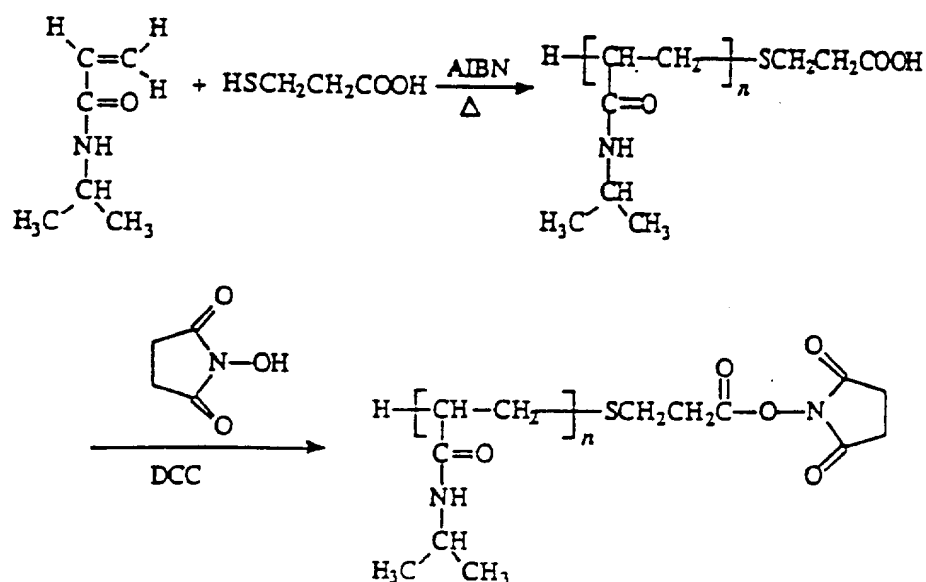
*单体在甲醇中浓度为 3.5mol/L，聚合温度 60 ℃；

a 低聚物的分子量 (MW) 用 TNBS 测定。

低聚物的分子量通过改变单体与链转移剂的比率而控制，得到的分子量范围为 1200 - 15200。从上表中的数据计算出该体系的链转移常数 $C_s = 0.62$ 。这些低聚物用于进一步合成嵌段共聚物 NIP AAm - b - AAc。

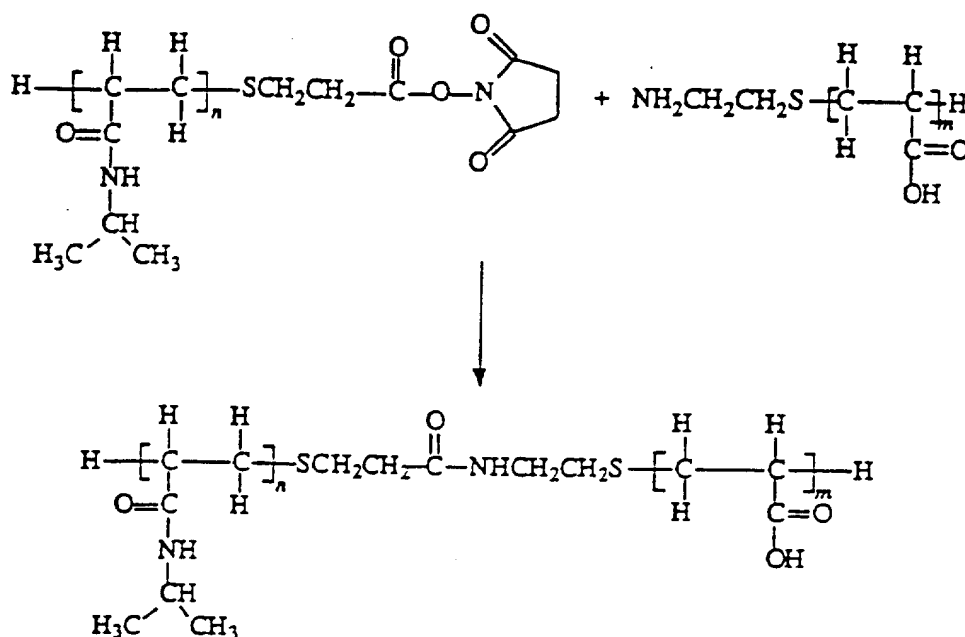
2. NHS 活化的低聚 NIP AAm 的合成

NHS 活化的低聚 NIP AAm 以两步制备。首先，使用 AIBN 作引发剂和 2 - 巯基丙酸作链转移剂由自由剂聚合制备羧基封端的低聚 NIP AAm。该聚合使用叔丁醇作溶剂在 60 ℃ 下进行，且聚合物通过在乙醚中沉淀而收集。其次，用 N - 羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 在活化试剂二环己基碳二亚胺 (DCC) 存在下在二氯甲烷中于 0 - 20 ℃ 将低聚 NIP AAm 末端的羧基活化 24 小时。活化之后，通过在乙醚中沉淀回收该聚合物 (参见 Chen and Hoffman, *Bioconjugate Chem.* 4:509-14,1993)。NIP AAm 的 NHS 活化的低聚物的合成示意如下。



3. 嵌段共聚物 NIP AAm - b - AAc 的合成

NIP AAm - b - AAc 的嵌段共聚物通过将低聚 AAc 的氨基与低聚 NIP AAm 的 NHS 活化的羧基在 60 °C 下于 DMF 中反应一夜偶联而合成。NIP AAm - b - AAc 嵌段共聚物的合成示意如下。



将反应混合物倾入乙酸乙酯中，沉淀出嵌段共聚物产物和未反应的低聚 AAc。未反应的低聚 NIP AAm 可溶且保留在溶液中。含产物嵌段共聚物和未反应的低聚 AAc 的沉淀物然后通过过滤收集并溶于 pH7.4 的磷酸盐缓冲液中。加入饱和硫酸铵水溶液使通过过滤收集的嵌段共聚物沉淀，并用稀盐酸洗涤以除去残留的硫酸铵。在真空烘箱中干燥嵌段共聚物一夜。表 2 提供了该嵌段共聚物合成的结果。

表 2：嵌段共聚物 NIP AAm - b - AAc 的组成

	1	2	3	4
NIP AAm 的百分比	76 %	58 %	43 %	24 %
低聚 NIP AAm MW	4800	4800	4800	4800
低聚 AAc MW	1500	3500	6600	15200

总 MW	6300	8300	11400	20000
------	------	------	-------	-------

合成出具有四种不同组成的 NIP AAm - b - AAc 嵌段共聚物。这些嵌段共聚物的温度敏感性能如下所述。

B. NIP AAm - b - AAc 嵌段共聚物的温度敏感性行为

该嵌段共聚物的相转变行为对于局部药物输送是一个关键性能。为研究共聚物的相转变行为，使用光谱方法来测定该共聚物溶液在 500nm 处的透光率（或吸光度）在恒定升温速率期间随时间的变化。低于相转变温度（又称 LCST 或浊点）时，透光率为 100%。然而，当达到相转变温度时，该聚合物开始凝聚且溶液的透光率降低，吸光度增加。

如图 1 中所示，所有如上所述制备的嵌段共聚物呈现在 32 °C（比眼睛温度低 2 °C）附近的浊点（LCST）。然而，仅 NIP AAm 含量最高的嵌段共聚物（76wt%）显示较明显的相转变。不同的嵌段共聚物的共同浊点表明低聚 NIP AAm 组分的温度敏感性在末端与其他亲水性聚合物连接后变化很少。

C. NIP AAm - b - AAc 嵌段共聚物的药物载负和释放

1. 药物载负

通常，在本方法中，将嵌段共聚物 NIP AAm - b - AAc 和药物噻吗洛尔马来酸氢盐（噻吗洛尔）溶于溶剂（甲醇）中，得到该嵌段共聚物和药物的溶液。通过非溶剂（乙醚）中沉淀来回收该嵌段共聚物 - 药物颗粒。例如，使用具有 20wt% NIP AAm 和总分子量为 19000（低聚 NIP AAm 为 4000，低聚 AAc 为 15000）的嵌段共聚物来制备示例的嵌段共聚物 - 药物颗粒。制备 0.6g 该共聚物和 6.0mg 该药物在 8ml 甲醇中的溶液。将该溶液在 800ml 乙醚中沉淀。通过过滤回收沉淀的嵌段共聚物 - 药物颗粒，用乙醚洗涤三次并在真空下于室温干燥。回收率为 65%，药物含量为 1.1wt%。在一对照实验中，以与上述相同的程序制备均聚物（聚 AAc） - 药物颗粒，不同的是使用分子量 250000 的均聚 AAc 代替嵌段共聚物 NIP AAm - b - AAc。在该实验中，百分回收率为 93%，药物含量为 1%。将这些物质研磨成小颗粒（约 20 - 40 μ ），用

于下述药物释放研究。

2. 药物释放

制备 10mg 如上制备的具有 1.1wt % 药物的嵌段共聚物和具有 1 % 药物的聚 AAc 在 15ml PBS 缓冲液 (pH7.4) 中的溶液。将这些溶液在药物释放过程中充分搅拌。通过将该缓冲液循环至测量该药物溶液在 294nm 处的吸光度随时间的变化的吸光度分光光度计而测定药物从这些聚合物的释放量。药物释放结果示于图 2。

尽管均聚 AAc 的分子量较高 (分子量 15000)，但嵌段共聚物 NIP AAm - b - AAc (分子量 4000) 的药物释放显著较低。参照上图 2，嵌段共聚物的 80 % 药物释放需 12 分钟，而对均聚 AAc 同样程度的药物释放需 5 分钟。为了对比，接枝共聚物 NIP AAm - g - AAc 和无规共聚物 NIP AAm - AAc 的释放数据示于图 5。注意到对于接枝共聚物 NIP AAm - g - AAc (20wt % NIP AAm)，80 % 药物释放在 8 分钟内达到，而对于无规共聚物 NIP AAm - AAc (30wt % NIP AAm) 在 3 分钟内达到。

从嵌段共聚物中释放的速率较低可归因于其温度敏感性组分，NIP AAm。在 34 ℃，NIP AAm 组分凝聚并变为疏水，产生一种嵌段共聚物 - 药物混合物凝胶，从而降低溶解速率和药物释放速率。事实上，已发现该嵌段共聚物在 34 ℃ PBS 缓冲液 (pH7.4) 中不十分可溶但仅溶胀。

图 2 表明通过使用嵌段共聚物作基质，甚至对于总分子量仅为 19000 和仅有 20wt % NIP AAm 组分的嵌段共聚物，与均聚 AAc 相比得到降低的药物释放速率。

实施例 2

包含温度敏感性和 pH 敏感性

均聚物组分的环境敏感性接枝共聚物

在该实施例中，说明包含温度敏感性均聚物组分和 pH 敏感性均聚物组分的接枝共聚物的合成和表征、温度敏感性行为和药物载负及药物释放性能。由于接枝共聚物的本质，两种普通的实施方案是可能的。该接枝共聚物可具有 pH 敏感性聚合物骨架，该骨架带

有一个或多个侧链温度敏感性聚合物组分。另外，该接枝共聚物可具有温度敏感性聚合物骨架，该骨架带有一个或多个侧链 pH 敏感性聚合物组分。该实施例涉及一种带有 pH 敏感性均聚物骨架的接枝共聚物，该骨架带有侧链温度敏感性均聚物组分。

A. 接枝共聚物 NIP AAm - g - AAc 的合成和表征

包含温度敏感性均聚物组分 (NIP AAm) 和 pH 敏感性均聚物组分 (AAc) 的接枝共聚物 (NIP AAm - g - AAc) 由两种方法合成。由 AAc 与 NIP AAm 大单体共聚和由低聚 NIP AAm 与聚 AAc 结合而合成接枝共聚物。

1. 大单体共聚法

丙烯酸和合适的 NIP AAm 大单体的共聚导致形成齿状接枝共聚物，具有带低聚 NIP AAm 侧链的聚 AAc 骨架。适于与丙烯酸共聚的 NIP AAm 大单体由如下所述的氨基封端的低聚 NIP AAm 制备。

a. 氨基封端的低聚 NIP AAm 的合成及其相应大单体

由 NIP AAm 在甲醇溶液 (2.5M NIP AAm) 中进行自由基聚合而合成低聚 NIP AAm，分别使用 AIBN 和 AET - HCl 作引发剂和链转移剂。聚合在 60 °C 下进行 22 小时。两个代表性合成的结果示于下表 3。

表 3: NIP AAm 的聚合

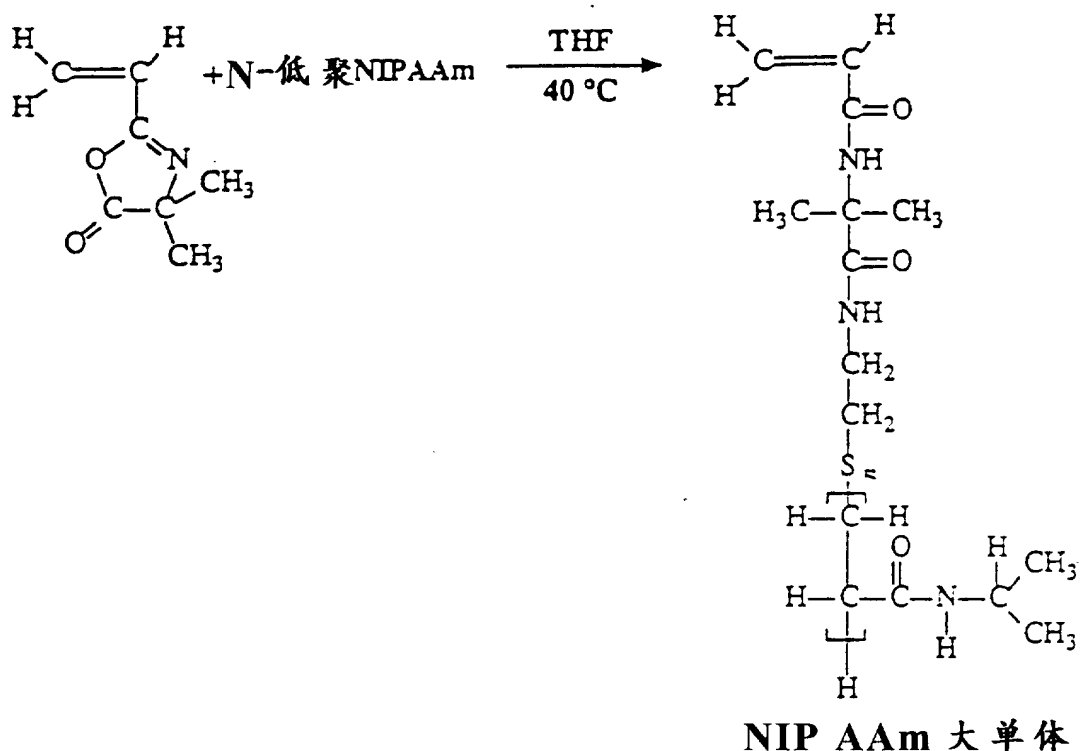
NIP AAm:AIBN:AET-HCl	产率	MW ^a
100:1:12	59.7	3300
100:1:8 ^b	68.5	2200

^a 用氢氧化钠由电导滴定法测定分子量。

^b 单体溶液的 pH 在聚合前调至 1.0。

NIP AAm 大单体可由氨基封端的低聚 NIP AAm 与乙烯基吡内酯反应而制备。在一个代表性合成中，将 5.0g (2.27mmol) 氨基封端的低聚 NIP AAm (MW2200) 和 0.94g (6.79mmol) 乙烯基吡内酯在 120ml 四氢呋喃中的溶液在 40 °C 下搅拌 16 小时。将反应混合物在 1000ml 乙醚中沉淀，过滤收集所产生的沉淀。分离

产物，产率 82 %。大单体 NIP AAm 的合成示意如下。



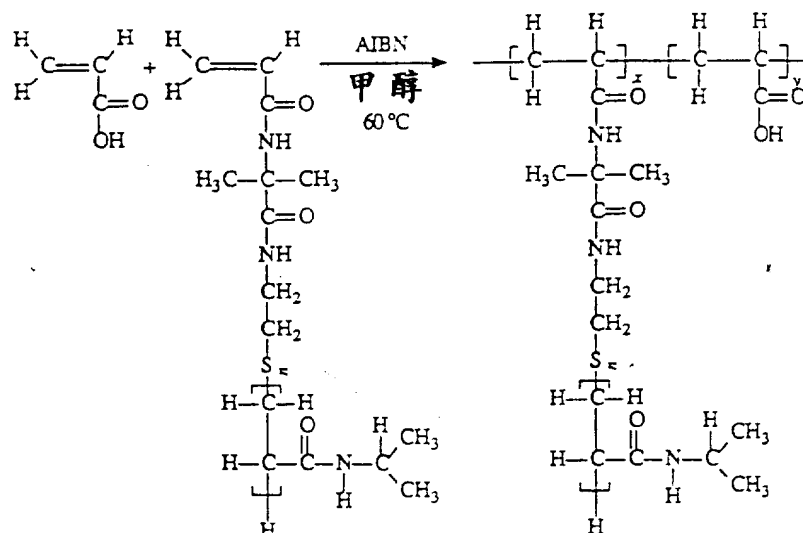
b. 共聚合反应

接枝共聚物 NIP AAm - g - AAc 通过 AAc 与如上所述制备的 NIP AAm 大单体共聚而制备。在一个代表性聚合中，单体浓度在甲醇中为 12 % (W/V)，AIBN 为引发剂。聚合反应在 60 °C 下进行 1.5 小时。共聚物产物通过在甲乙酮中沉淀而收集，并通过在四氢呋喃中再沉淀而进一步提纯。两个代表性合成的结果示于下表 4。

表 4: AAc 与 NIP AAm 大单体的共聚

进料		共聚物	
$W_{AAc}/W_{NIP AAm}$	产率	$W_{AAc}/W_{NIP AAm}$	$M_{AAc}/M_{NIP AAm}$
60/40	68	55/45	97/3
80/20	66	72/28	99/1

由共聚方法合成接枝共聚物 NIP AAm - g - AAc 示意如下。



2. 结合方法 NIPAAm 大单体 聚 (NIPAAm-g-AAc)

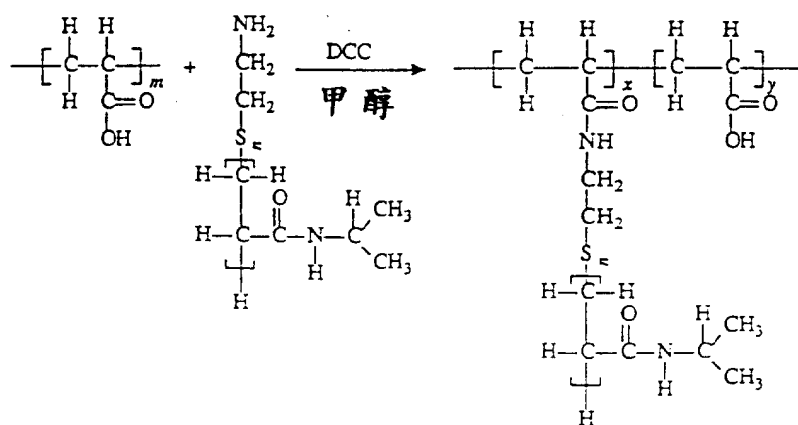
通过氨基封端的低聚 NIPAAm 的氨基与聚丙烯酸骨架上的羧基反应合成接枝共聚物 NIPAAm - g - AAc。在一个代表性反应中，在室温下于甲醇中用二环己基碳二亚胺处理聚丙烯酸（MW 250,000）和氨基封端的低聚 NIPAAm（MW 3300）24 小时而形成酰胺键。接枝共聚物产物通过在甲基乙基酮中沉淀而分离，并通过在四氢呋喃中再沉淀而进一步纯化。结合的结果示如下表 5。

表 5: NIPAAm 与聚 AAc 的结合

进料中的 NIPAAm			共聚物中的 NIPAAm ^a	
mol%	wt%	产率	mol%	wt%
0.5	20	83	0.5	19
0.7	25	78	0.7	24
0.9	30	93	0.9	29
2.1	50	91	2.0	49

^aNIPAAm 的组成由聚 AAc 组分的反滴定测定。

通过结合方法合成接枝共聚物 NIPAAm - g - AAc 示意如下。



N-低聚 NIPAAm 聚(NIPAAm - g - AAc)

B. 接枝共聚物的温度敏感性行为

通过共聚和结合而制备的接枝共聚物的热敏性显示同样的温度敏感性。通过直接同 20 - 50 % NIPAAm 结合制备的接枝共聚物在 30 - 35 °C 之间出现相分离并且最适于作为药物输送的载体。接枝共聚物 NIPAAm - g - AAc 的温度敏感性行为示如图 3。接枝共聚物组合物在 32 °C 附近开始相分离，其对温度的响应因骨架 $\text{COO}^- \text{Na}^+$ 部分的影响而相当宽。

C. 接枝共聚物的药物载负和释放

1. 药物载负

接枝共聚物的药物载负通常如实施例 1C1 所述进行。将 0.5g 接枝共聚物与 5.0mg 塞吗洛尔马来酸盐于 8ml 甲醇中的溶液在 800ml 乙醚中沉淀。得到平均直径 2 - 3mm 的接枝共聚物的白色球状颗粒。百分回收率为 92 % 且载负的药物为 1wt %。将材料磨成 20 - 40 μ 的颗粒用于药物释放实验。

2. 药物释放

制备 40mg 接枝共聚物 NIPAAm - g - AAc/塞吗洛尔混合物在 40ml PBS 缓冲液中的悬浮液。如在实施例 1C2 中所述，通过测量该溶液的吸光度来测定药物从该复合物中的释放量随时间的变化。在 34 °C 和 37 °C 下的药物释放结果分别示于图 4 和 5。

如图 4 所示，在 34 °C 下药物从接枝共聚物的释放低于从具有相同组成的无规共聚物颗粒的释放。释放介质的温度增加到 37 °C (图 5) 降低了从接枝共聚物的释放速率但未降低从无规共聚物的释放速率。结果表明接枝链的疏水性增加使药物释放变慢。

另外，将共聚物-药物混合物浇注在玻璃片上可同时测定共聚物溶解和药物释放。在该方法中，将共聚物-药物混合物浇注到玻璃片上，形成薄膜。涂覆的玻璃片然后悬浮于合适的介质如磷酸盐缓冲盐水（pH7.4）或蒸馏水中。也可控制药物释放到介质中的温度，以研究温度对溶解和药物释放的影响。该方法便于通过如上所述测量介质吸光度随时间的变化来测定释放的药物，同时可通过测量浇注到悬挂的玻璃片上的薄膜重量来测定共聚物-药物混合物的溶解量。

由在玻璃片上浇注的薄膜法测定的接枝共聚物-噻吗洛尔混合物的药物释放和溶解结果示于图6和7。图6说明用于如上所述制备的接枝共聚物中的低聚NIPAAm的MW对药物释放的影响，而图7说明接枝共聚物NIPAAm-g-AAc（30wt%NIPAAm）的释放和溶解速率的差别。

图8比较了聚合物结构对噻吗洛尔从不同聚合物-药物铸膜中释放的速率的影响。将噻吗洛尔从均聚AAc（分子量250000）中释放的速率与各自含30wt%NIPAAm的不同聚合物-药物混合物（即无规共聚物，接枝共聚物及均聚NIPAAm与均聚AAc的物理混合物）相比较。结果表明从无规共聚物中的释放在约5分钟内基本完全，而从接枝共聚物中的释放时间最长，几乎全部释放要花约20分钟。药物从均聚NIPAAm和均聚AAc的物理混合物中的释放与从均聚AAc中的释放速率相当，说明温度敏感性和pH敏感性均聚物的物理混合物不比仅使用pH敏感性均聚物更有效，且显著不如相应的接枝共聚物有效。

实施例3

包含温度敏感性共聚物和pH敏感性均聚物组分的环境敏感性接枝共聚物

在本实施例中，说明包含温度敏感性共聚物组分和pH敏感性均聚物组分的接枝共聚物的合成及表征、温度敏感性行为和药物载负及药物释放性能。两个普通实施方案是可能的。该接枝共聚物可具有pH敏感性聚合物骨架，该骨架带有一个或多个侧链温度敏感

性聚合物组分。另外，该接枝共聚物可具有温度敏感性聚合物骨架，该骨架带有一个或多个侧链 pH 敏感性聚合物组分。该实施例涉及一种具有带侧链温度敏感性共聚物组分的 pH 敏感性均聚物骨架的接枝共聚物。

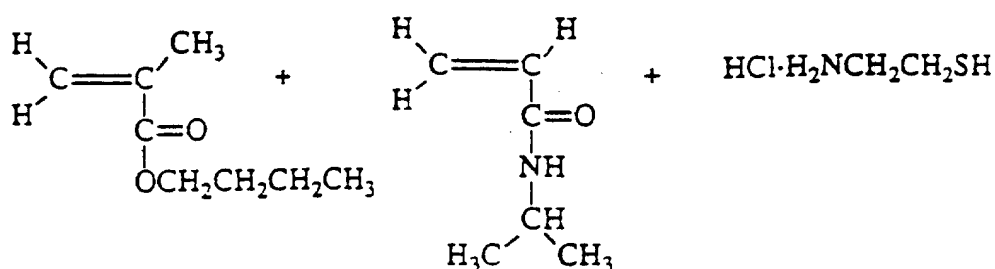
A. 接枝共聚物 NIP AAm - BMA - g - AAc 的合成及表征

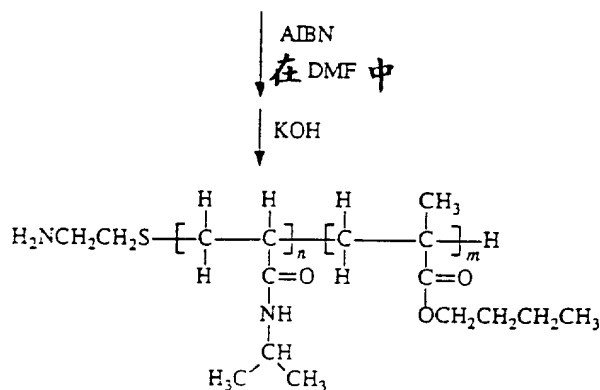
由 NIP AAm - BMA 和 AAc 的低聚物合成包含温度敏感性共聚物组分 (NIP AAm - BMA) 和 pH 敏感性均聚物组分 (AAc) 的接枝共聚物 (NIP AAm - BMA - g - AAc)。通过将氨基封端的 NIP AAm - BMA 低聚物 (见下面的 1.) 共价偶联到聚 AAc 骨架 (见下面的 3.) 上的一个或多个羧基上合成接枝共聚物。

1. 氨基封端的共聚低聚 (NIP AAm - BMA) 的合成

NIP AAm 与更为疏水的单体的共聚产生 LCST (浊点) 低于均聚物聚 NIP AAm 的共聚物。较低 LCST 的共聚低聚物通过 NIP AAm 与更为疏水的共聚单体甲基丙烯酸丁酯 (BMA) 在链转移剂 2 - 氨基乙硫醇盐酸盐 (AET - HCl) 存在下共聚合得到氨基封端的共聚低聚物 NIP AAm - BMA 而合成。然后将该共聚低聚物接枝于聚 AAc 上。

在一个代表性合成中，加入 3mol % BMA 和 97mol% NIP AAm，单体与引发剂 (AIBN) 与链转移剂 (AET - HCl) 的摩尔比为 100:1:5。使用 40ml DMF 作溶剂并在 60 °C 下聚合 1 小时。由此形成的共聚低聚物通过在乙醚中沉淀而回收。产率为 45 %，由蒸气压渗透法 (VPO) 测得的该共聚低聚物的数均分子量为 3100。在该共聚低聚物中 BMA 组成经 ¹H - NMR 测量为 4mol %。该共聚低聚物 NIP AAm - BMA 的合成示意如下。





2. 共聚低聚物 NIP AAm - BMA 的 LCST 的测定

该共聚低聚物的 LCST 在 500nm 处由光谱法测定，使用如实施例 1B 中所述在纯水或 PBS 缓冲液 (pH7.4) 中的 0.2 % 聚合物溶液。结果分别示如图 9 和 10 中。

参照图 9 和 10，该共聚低聚物在 30 ℃ 纯水中显示相转变，比低聚 NIP AAm 低约 4 ℃，而且还保留了同样明显的响应。在 PBS 缓冲液中，该共聚低聚物出现甚至更低的相转变，为 24 ℃，比低聚 NIP AAm 低约 5 ℃。该共聚低聚物在 PBS 中的相转变较在水中的低据信是由于盐的作用。BMA 共聚单体单元引入低聚 NIP AAm 中提供 LCST (浊点) 较低聚 NIP AAm 低的共聚低聚物 NIP AAm - BMA。共聚低聚物 NIP AAm - BMA 与低聚物 NIP AAm 相比 LCST 的 4 - 5 ℃ 的差异在本发明的接枝共聚物的温度敏感性聚合物组分中提供了增加的通用性。

3. 共聚低聚 NIP AAm - BMA - g - AAc 的接枝共聚物的合成

共聚低聚 [NIP AAm - BMA] - g - AAc 的接枝共聚物通过氨基封端的共聚低聚物 NIP AAm - BMA 的氨基与聚 AAc 骨架上的羧基反应而合成。在室温二环己基碳二亚胺 (DCC) 存在 24 小时下形成酰胺键。用于该反应的聚 AAc 与共聚低聚物之重量比为 1，即 50/50 (wt/wt)，从 50/50 变化到 95/5 (wt/wt)。通过在四氢呋喃 (THF) 中沉淀而回收该接枝共聚物，产率 75 - 90 %。

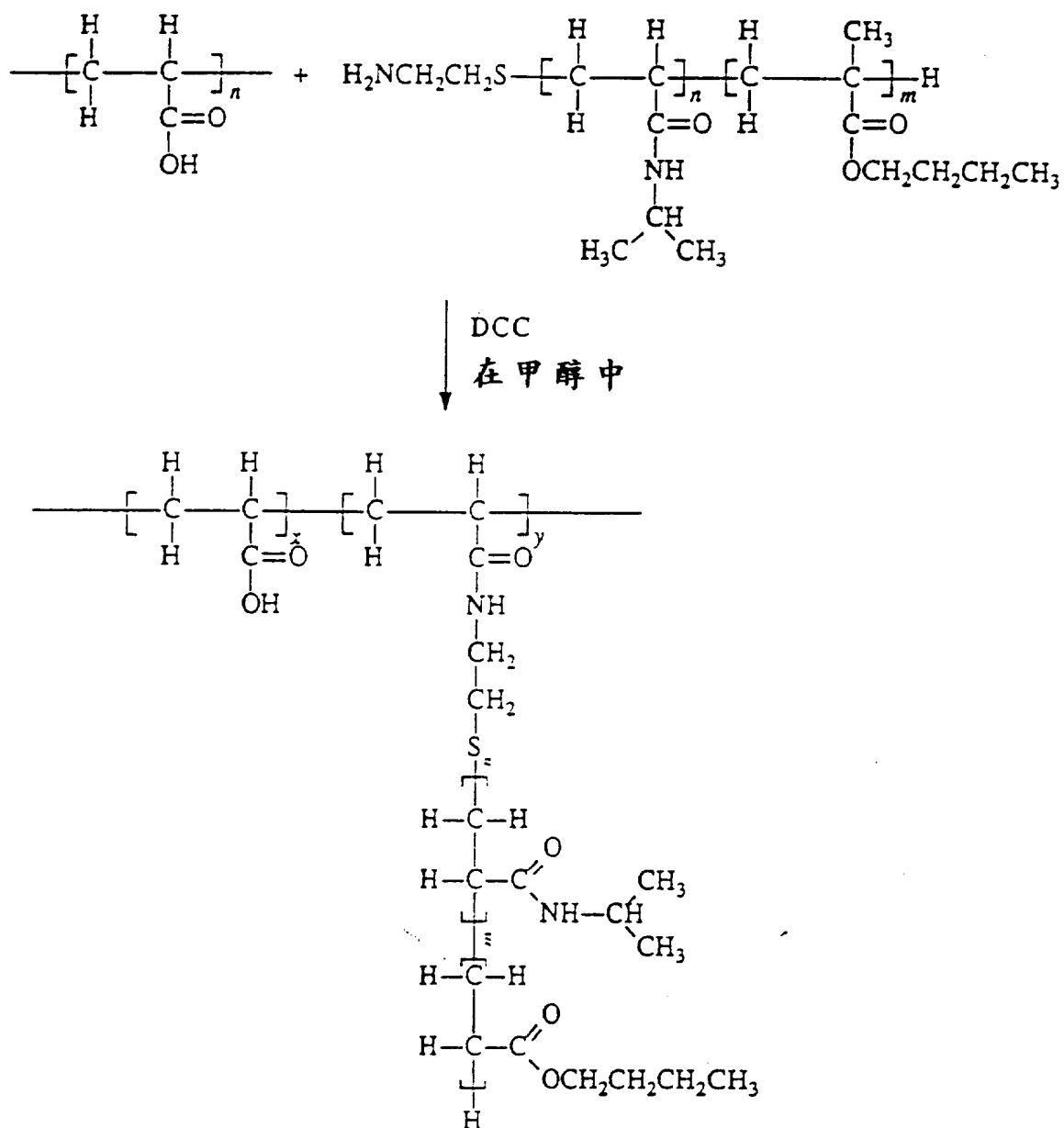
表 6: 接枝共聚物合成结果

样品号	进料中共聚	产率	共聚物中共聚
-----	-------	----	--------

	低聚物, wt%		低聚物 ^a wt %	
1	50	91	45.5	
2	20	80	19.0	
3	30	77	28.0	
4	10	74	8.9	
5	5	82	4.5	

^a接枝共聚物中共聚低聚物的组成由聚 AAc 组分的反滴定测定。

接枝共聚物 (NIP AAm - BMA) - g - AAc 的合成示意如下。



B. 接枝共聚物的温度敏感性行为

如实施例 1B 中所述测定接枝共聚物 NIPAAm - BMA - g - AAc 的相转变行为。接枝共聚物 (NIPAAm - BMA) - g - AAc、共聚低聚物 NIPAAm - BMA 和均聚丙烯酸的相转变数据示于图 11。参考图 11, 接枝共聚物在 PBS 中在 28 °C 开始相转变, 在 34 °C 相转变几乎完成。通过引入疏水性共聚单体单元 (BMA) 到低聚 NIPAAm 中, 如上所述的接枝共聚物的热诱导相转变温度明显降低。在眼睛温度 (34 °C), 接枝共聚低聚物链变得足够疏水而明显降低药物释放速率。

C. 接枝共聚物的药物载负和释放

1. 药物载负

通常如实施例 1C1 中所述进行接枝共聚物的药物载负。将 0.5g 接枝共聚物和 5.0mg 噻吗洛尔 - 马来酸盐于 8ml 甲醇中的溶液在 800ml 乙醚中沉淀, 得到平均直径为 2 - 3mm 的接枝共聚物的白色球形颗粒。百分回收率为 92 %, 载负的药物为 1wt %。将材料研磨成约 10 - 20 μ 的颗粒用于药物释放实验。

2. 药物释放

制备 40mg 接枝共聚物 (NIPAAm - BMA) - g - AAc/药物混合物于 40ml PBS 缓冲液中的悬浮液。如上实施例 1C2 所述, 通过测量溶液吸光度来确定从混合物中释放的药物量随时间的变化。药物释放结果示于图 12 中。为了对比, 接枝共聚物 NIPAAm - g - AAc 和无规共聚物 NIPAAm - AAc 的药物释放数据示于图 5。

参考图 5 和 12, 药物从接枝共聚物聚 ([NIPAAm - BMA] - g - AAc) 中完全释放需 80 到 90 分钟, 而从以纯低聚 NIPAAm 作接枝组分的接枝共聚物中完全释放仅需约 20 分钟。结论为接枝的低聚物越疏水, 释放速率越低。同聚丙烯酸相比, 通过提高接枝共聚物的疏水性, 明显降低药物的释放速率。含有少于 20wt % 的共聚低聚物的接枝共聚物易受侵蚀, 其药物释放速率降低。含有大于 20wt % 的共聚低聚物的接枝共聚物也明显降低其药物释放速

率，但这些接枝共聚物不易受侵蚀。

药物从浇注在玻璃片上的共聚物 - 药物混合物薄膜中的释放示于图 13。图 13 比较噻吗洛尔从不同共聚低聚物 NIPAAm - BMA 和均聚 AAc 含量的接枝共聚物 [NIPAAm - BMA] - g - AAc 的药物复合物铸膜中的释放速率。所示数据比较了由分子量为 250000 的均聚 AAc 和分子量为 3100 的共聚低聚物 NIPAAm - BMA 得到的共聚物在 34 °C 下药物释放到磷酸盐缓冲盐水 (pH7.4) 中的情况。均聚 AAc 参照物的分子量为 250000。

将疏水性组分单元 BMA 引入到低聚 NIPAAm 中降低热诱导的相转变温度。如图 13 所示，在生理温度和 pH 下，共聚低聚物链 NIPAAm - BMA 将疏水性赋予接枝共聚物，同均聚 AAc 相比，该疏水性足以明显降低药物释放速率。然而，含有 20 % 或更多的共聚低聚物 NIPAAm - BMA 的接枝共聚物太疏水，因而其在上述药物释放条件下不易侵蚀。含有低于 20 % 共聚低聚物 NIPAAm - BMA (即 5 % 和 10 % 共聚低聚物) 的接枝共聚物确实侵蚀并同均聚 AAc 相比提供较长时间的药物释放。而且，侧链温度敏感性聚合物组分含量较低的这些接枝共聚物维持足以使其不仅对药物释放有效，而且对在治疗部位延长的停留时间有效的生物粘附性能。因此，共聚低聚物 NIPAAm - BMA 含量为 5 - 20 % 的接枝共聚物 [NIPAAm - BMA] - g - AAc 适于持续释放的药物输送，且优选共聚低聚物含量为 10 - 15 % 的接枝共聚物。

实施例 4

包含温度敏感性和 pH 敏感性

均聚物组分的环境敏感性水凝胶

在本实施例中，说明包含含羧酸的聚合物骨架和侧链温度敏感性聚合物组分的轻度交联的接枝共聚物的合成和表征、溶胀以及药物载负和释放性能。该交联的含羧酸的聚合物在温度敏感性聚合物接枝后制备。

A. 交联水凝胶 NIPAAm - g - AAc 的合成及表征

使用在蒸馏水中的固定量的引发剂过硫酸铵和不同量的交联

剂乙二醇二甲基丙烯酸酯 (EGDMA) 由 AAc 单体溶液 (40wt% AAc 单体) 制备一系列水凝胶。EGDMA 的浓度基于总 AAc 单体为 0.3wt%、0.5wt%、1.0wt% 和 2.0wt%。在一个代表性合成中, 该溶液用氮气去氧, 并注入两玻璃板间的 1.5mm 空间中。聚合在 60 °C 下进行 17 小时。所得水凝胶板通过悬浮在乙醇浴中 48 小时而洗涤。通过用木塞钻孔器 (直径 15mm) 切割该凝胶板而得到圆形水凝胶, 然后在空气中干燥 48 小时并在真空下干燥 24 小时。

为了将温度敏感性聚合物组分接枝到 pH 敏感性交联水凝胶上, 将上述制得的干燥凝胶于含不同量的分子量为 3300g/mol 的氨基封端的 NIPAAm 的甲醇溶液 (溶液浓度从 0.65 克/升到 32.89 克/升) 中溶胀。该溶胀在室温下进行 48 小时。从凝胶的平衡溶胀体积算出该凝胶吸收的氨基封端的 NIPAAm。然后通过将该水凝胶浸入含过量三倍 (相对于该氨基封端的 NIPAAm) 的偶联剂二环己基碳二亚胺 (DCC) 的甲醇溶液中而将该水凝胶吸收的氨基封端的 NIPAAm 接枝 (共价偶联) 于聚 AAc 骨架上。该偶联在室温下进行 48 小时。用甲醇洗涤所产生的接枝水凝胶, 并在空气中干燥 48 小时, 在真空下干燥 24 小时。该接枝共聚物水凝胶的合成示意于图 14 中。接枝程度通过比较纯聚 AAc 水凝胶和产品接枝水凝胶的干重而确定。接枝度图示于图 15。

通常, 接枝百分数随溶液中氨基封端的 NIPAAm 的浓度而线性增加, 当交联密度下降时起始接枝反应速率较高。对所有样品都达到一个接枝率平台。

B. 接枝水凝胶的溶胀

为测定如上所述制备的接枝水凝胶的溶胀特性, 将接枝水凝胶圆片在 0.05M 含 0.15M 氯化钠的磷酸盐缓冲溶液 (pH7.4) 中于 34 °C 下保温放置。使用 Lab - Line 水摇浴控制温度。在一个代表性测定中, 将接枝水凝胶的溶液在 150rpm 下振摇并通过在不同时间称重样品来测量水凝胶的溶胀重量。从缓冲液中取出水凝胶并用称量纸吸掉粘附的水后测量重量。溶胀比以溶胀重量/干重

(Wt/W_0) 测定并示于图 16 中。

在高交联密度下，接枝于聚 AAc 上的 NIPAAm 量越大，起始溶胀速率越慢。较慢的溶胀速率可能是因为 NIPAAm 侧链使接枝水凝胶的疏水性增加。在低交联密度下，吸收速率更快，而接枝对这些速率的影响不太重要。

C. 接枝水凝胶的药物载负和释放

1. 药物载负

通过将该水凝胶在药物 - 甲醇溶液中于室温溶胀 24 小时而将噻吗洛尔马来酸氢盐载负于该接枝共聚物水凝胶中。该药物载负的水凝胶在空气中干燥 24 小时，在真空下干燥 24 小时。测得药物载负为该干燥共聚物水凝胶的 2wt%。

2. 药物释放

通常用实施例 1C2 中所述的方法测定接枝共聚物水凝胶的药物释放。起始药物释放速率取决于接枝率和接枝链的长度。接枝率越高和/或接枝链长度越短，水凝胶释放药物越慢。接枝共聚物水凝胶的药物释放示于图 17。如图 17 所示，接枝程度越大或低聚 NIPAAm 侧链的分子量越低，药物从水凝胶中释放的速率越慢。

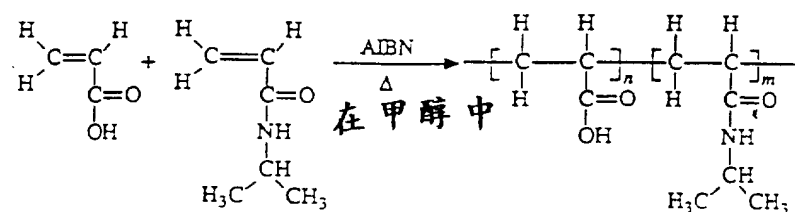
实施例 5

从 NIPAAm 和 AAc 的共聚得到的无规共聚物

为了与本发明的环境敏感性嵌段和接枝共聚物对照，该实施例说明从 N - 异丙基丙烯酰胺 (NIPAAm) 和丙烯酸 (AAc) 聚合而得的无规共聚物的合成，表征、温度敏感性行为和药物载负与释放性能。

A. NIPAAm 和 AAc 的无规共聚物的合成和表征

通过标准的自由基聚合方法共聚 N - 异丙基丙烯酰胺和丙烯酸而合成无规共聚物。通过改变 NIPAAm 单体在聚合反应中的摩尔百分数制备不同的无规共聚物。该无规共聚物的合成示意如下。



该无规共聚物的合成结果和温度敏感性行为总结于表 7。

表 7: 无规共聚物的合成及温度敏感性性能

^I NIPAAm		^F NIPAAm ^a			LCST	
(在单体中) mol %	聚合时间 (h)	转化率 (wt.%)	(在共聚物中) wt%	Mw ^b (× 10 ⁻⁵)	pH4.0	pH7.4
100	20.0	76.3	100	100	30.7	32.6
92	2.3	55.0	93	89	32.2	64.1
85	2.3	45.0	88	82	34.6	>95
72	4.0	41.0	79	71	2.01	38.1
49	3.0	35.7	67	56	2.01	61.0
30	3.0	26.7	57	46	2.01	>95
10	4.0	18.3	46	35	1.75	>95
7	6.0	41.2	38	28	1.75	>95
3	6.5	59.5	33	24	1.70	>95

*单体浓度 [NIPAAm + AAc] = 8.0 % (重量/体积); 引发剂浓度 [AIBN] = 0.02 % (重量/体积); 溶剂为甲醇; 聚合温度为 60 ℃;

a 用 0.1N NaOH 电导滴定法检测 AAc 单体单元的羧基而测定共聚物中 NIPAAm 的组成;

b 共聚物的分子量用 GPC 确定, 该测量中以聚丙烯酰胺为标准, 水为洗脱剂。

B. 无规共聚物的温度敏感性行为

通常用实施例 1B 中所述的方法研究上述制得的无规共聚物的温度敏感性行为。无规共聚物的 LCST 概括在表 7 中, 而包含 89mol % NIPAAm 的无规共聚物的温度敏感性行为示于图 18 中。结果表明 AAc 大于约 10mol % 的 NIPAAm 和 AAc 的无规共聚物在生理

pH (7.4)或生理温度 (34 ℃)下不发生热相转变。如图 18 所示, 该无规共聚物在 pH4.0、 31 ℃ 和 pH7.4、 64 ℃ 发生明显相转变。

上述无规共聚物在本发明实践中是无效的, 因为存在于该无规共聚物中以达到所需的温度敏感性的 AAc 的摩尔百分数将该共聚物的生物粘附性降低到对持续释放药物有效以下的程度。此外, 对于那些发生相转变的无规共聚物, 相转变所要求的温度或 pH 在正好生理条件之外。

C. 无规共聚物的药物载负和释放

1. 药物载负

通常无规共聚物 - 药物混合物如实施例 1C1 中所述的方法制备。

通过将 0.5g 聚合物和 5mg 塞吗洛尔 (进料比为 1wt %) 溶于 10ml 甲醇, 然后在 500ml 乙醚中沉淀, 制备无规共聚物 - 药物颗粒。沉淀物在真空下干燥一夜。通过将颗粒溶解形成溶液, 然后用分光光度法测量药物溶液在 294nm 处的吸光度来测定颗粒中的药物含量。如上所述制备的无规共聚物和如实施例 3 所述制备的接枝共聚物的药物载负结果列于表 8 中。

表 8 无规共聚物和接枝共聚物的药物载负对比

聚合物	无规共聚物	接枝共聚物
NIPAAm 在共聚物中的 wt %	26 32 39	20 30 50
加入的聚合物 (g)	0.5 0.5 0.5	0.5 0.5 0.5
加入的药物 (mg)	5.0 5.0 5.0	5.0 5.0 5.0
聚合物回收率 (% w/w)	94 94 94	74 90 90
负载的药物 (mg/g 聚合物)	9.4 9.2 9.1	9.9 10.0 10.8

2. 药物释放

通常如实施例 1C2 所述测定无规共聚物 - 药物颗粒的药物释放。各种无规共聚物在 34 ℃ 和 37 ℃ 的药物释放结果与类似组成的接枝共聚物的比较分别示于图 4 和 5 中。结果表明 34 ℃ 时无规共

聚物的药物释放速率是接枝共聚物的大约两倍。对于无规共聚物，药物在 10 分钟内完全释放。37 °C 的结果定性地与 34 °C 的结果相似，但药物的完全释放需约 24 分钟。

实施例 6

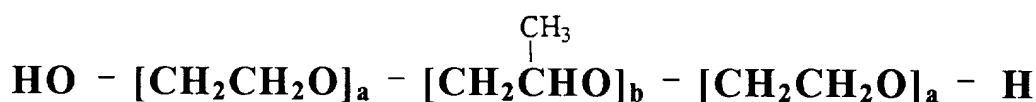
包含温度敏感性共聚物和 pH 敏感性均聚物组分的环境敏感性接枝共聚物

在本实施例中说明包含温度敏感性共聚物和 pH 敏感性均聚物组分的接枝共聚物的合成和表征、温度敏感性行为和药物载负和药物释放性能。具体地说，温度敏感性共聚物组分为环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物（“EO/PO/EO”），而 pH 敏感性均聚物组分为均聚丙烯酸。该丙烯酸均聚物用作该接枝共聚物的骨架。

A. 接枝共聚物 EO/PO/EO - g - AAc 的合成和表征

1. 氨基封端的嵌段共聚物 EO/PO/EO 的合成

嵌段共聚物 EO/PO/EO 作为表面活性剂从 BASF - Wyandotte 公司（Wyandotte, Michigan）买到，其商标为 Pluronic[®]。该种 EO/PO/EO 嵌段共聚物的结构一般如下：



其中比例 a:b:a 的变化如下表 9 示：

表 9

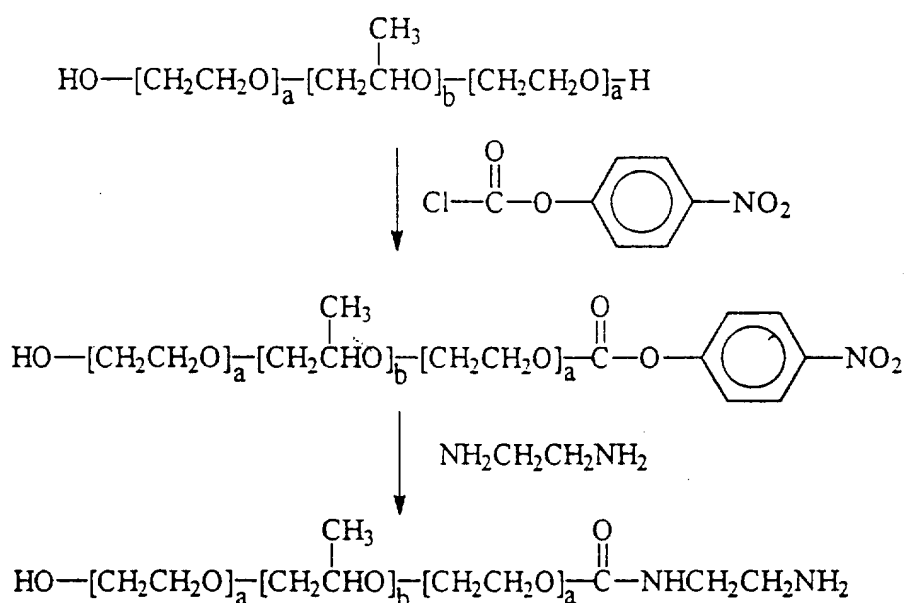
嵌段共聚物 EO/PO/EO

Pluronic [®]	EO/PO/EO 比例	总分子量（平均）
L - 61	4/30/4	2,000
L - 81	7/38/7	2,750
L - 92	10/50/10	3,650
L - 122	13/69/13	5,000

Pluronic[®] L - 122 的 LCST 通过测量吸光度随温度的变化而测得。具体地说，制备 0.5wt % 的 L - 122 溶液（PBS 缓冲液，pH7.4），测量其在 15 °C 到 30 °C 温度下的吸光度（在 500nm 处）。该 L - 122 溶液的 LCST 为 26 °C，该实验结果示于图 19。

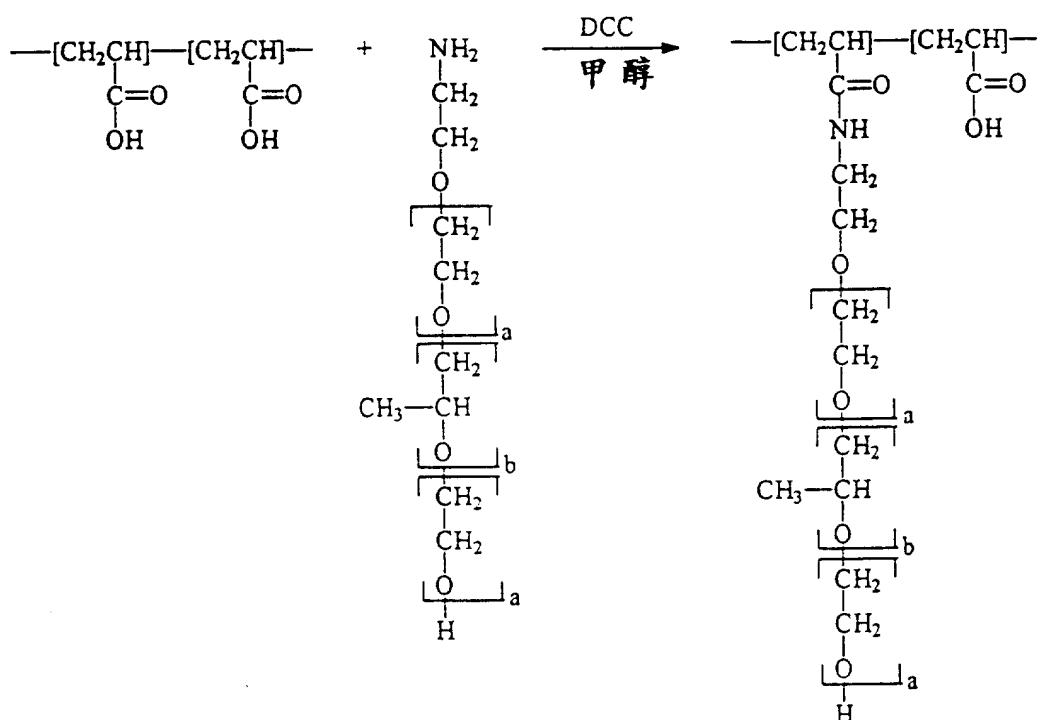
上述嵌段共聚物 EO/PO/EO 然后经两步反应衍生得到活性端氨基。首先将 20g L-122 (4mmol) 与 1.0g (5mmol) 氯甲酸 4-硝基苯基酯在三乙胺存在下于氯代甲烷中室温反应 4 小时, 得到甲酸 4-硝基苯基酯化衍生中间体。该中间体用石油醚萃取三次回收, 得到 14g 产物, 产率为 72wt%。在第二步中, 将 10g (2mmol) 中间体与 0.36g (6mmol) 二氨基乙烷在二氯甲烷中室温反应一夜。用石油醚萃取三次回收氨基封端的 L-122 衍生物, 在蒸馏水中以截止分子量为 3500 的膜渗析三天, 并将水蒸发得产物 (8.8g, 产率 88wt%)。该氨基封端的衍生物的官能度经滴定测定为 0.91 ± 0.1 。

其它的嵌段共聚物 EO/PO/EO 同样经下示反应路线衍生得到活性氨基:



2. 接枝共聚物 EO/PO/EO - g - AAc 的合成

通过将衍生的嵌段共聚物 EO/PO/EO 的活性端氨基偶联于 AAc 的均聚物骨架上制备接枝共聚物 EO/PO/EO - g - AAc。具体而言, 氨基封端的 EO/PO/EO 衍生物的氨基和 AAc 的羧基之间在二环己基碳二亚胺 (DCC) 存在下的反应形成酰胺键。该反应在甲醇 (100ml) 中于室温进行 24 小时, 嵌段共聚物 EO/PO/EO 与 DCC 的摩尔比为 2:1。接枝共聚物 EO/PO/EO - g - AAc 的合成示意如下:



通过在 THF 或乙醚中沉淀从反应溶液中回收所产生的接枝共聚物。该接枝共聚物的表征使用具有 Waters 500Å、10³Å 和 10⁴Å Ultrastylene[®] 柱的 GPC 进行，以 DMF 作流动相，温度为 40 ℃，洗脱速率为 0.7ml/分钟。

接枝共聚物以不同的组分比例制备，并使用如表 10 所示的各种嵌段共聚物 EO/PO/EO。

表 10

嵌段共聚物 EO/PO/EO 和聚 AAc 的接枝共聚物

Pluronic [®]	Pluronic [®] /聚 AAc	收率 (%)
L - 61	10/90(wt%)	79
L - 61	20/80(wt%)	55
L - 61	30/70(wt%)	86
L - 92	30/70(wt%)	94
L - 122	10/90(wt%)	80
L - 122	20/80(wt%)	80
L - 122	30/70(wt%)	68
L - 122	40/60(wt%)	78

B.接枝共聚物 EO/PO/EO - g - AAc 的温度敏感性行为

本实施例的接枝共聚物 EO/PO/EO 在约 32 °C 形成半透明凝胶。因此,其溶液-凝胶转变温度的测定不使用 LCST 吸光度测量,而是通过用下述方法测量粘度随温度的变化而测定。

称重含搅拌棒的闪烁管,并将 2.8g 含 0.76 % NaCl 和 1.25 % NaOH 的水溶液加入其中。接着,加入 0.125g L - 122 - 30/70 (wt%) 接枝共聚物,然后加入 1.2g 0.76 % NaCl 溶液。通过将溶液在冰浴中搅拌约 2 小时而溶解 L - 122 - 30/70 (wt%) 接枝共聚物,然后将闪烁管在冰箱中保持一夜。往该溶液中加入足量 1N NaOH,得到 pH7.2。往其中加入 0.05g 8.5 % NaCl,并加入足量水使溶液重 5.0g。所得溶液含有 2.5wt % L - 122 - 30/70 (wt%) 接枝共聚物, pH 为 7.2。

然后用装有 CP - 52 锭子的 Brookfield DV III RV 粘度计在 25 °C - 40 °C 的不同温度下测量该溶液的粘度。通过将水从恒温水浴循环通过粘度计杯的夹套来控制温度。将约 0.6ml 溶液放入该粘度杯中。在固定温度下于 0.1rpm (剪切速率 0.2/秒) 下测量粘度 3 分钟。记录 3 分钟结束后的粘度值,将这些测量结果示于图 20 中。正如该技术所测定的, L - 122 - 30/70 (wt%) 接枝共聚物的 LCST 在最大粘度的 25 % 处为 32 °C。

C.接枝共聚物 EO/PO/EO - g - AAc 的药物载负和释放

通过如实施例 1C2 所述在玻璃圆片上浇注一层共聚物-药物混合物(含 5wt % 塞吗洛尔马来酸盐)的薄膜来测定该共聚物-药物混合物的药物载负和释放。在这些实验中,薄膜厚度约为 150 μ ,直径约为 0.54 - 0.58mm,各膜的重量约为 5mg。将涂覆的玻璃圆片悬浮于 34 °C 的 PBS 缓冲液 (pH7.4) 中,测定药物释放量随时间的变化。该实验的结果示于图 21、22 和 23 中。

具体而言,图 21 说明不同比率 EO/PO/EO 与 AAc (即接枝 30 % L - 61 的 70 % AAc,接枝 20 % L - 61 的 80 % AAc 和接

枝 10 % L - 61 的 90 % AAc) 的接枝共聚物 EO/PO/EO - g - AAc 的药物释放。为了对比, 也将药物从 AAc 的均聚物 (即 100 % AAc) 以及 80 % AAc 均聚物和 20 % L - 61 的物理混合物中的释放示于图 21。在本实施例中, EO/PO/EO 和 AAc 的接枝共聚物与单独的 AAc 均聚物和其与 L - 61 的物理混合物相比显示明显延迟的药物释放曲线。此外, 当 L - 61 含量为 20 % (或更高时), 与 AAc 相比, 完全药物释放延迟到 1 小时以上。

图 22 说明使用 L - 122 作嵌段共聚物 EO/PO/EO 的接枝共聚物的药物释放。在本实验中, 使用比例在 90 % AAc/10 % L - 122 至 50 % AAc/50 % L - 122 内变化的接枝共聚物 L - 122 - g - AAc。当 30 % (或更多) L - 122 接枝于 AAc 上时, 完全释放药物的时间大于 4 小时。

最后, 图 23 说明与不同嵌段共聚物 EO/PO/EO - 即 L - 61, L - 92 和 L - 122 的使用有关的药物释放性能。测试 70 % AAc 与 30 % L - 61、L - 92 或 L - 122 的接枝共聚物。当接枝于 AAc 骨架时, 嵌段共聚物 L - 122 产生 4 小时以上的延长药物时间。此外, 温度敏感性聚合物 (如 Pluronic[®] L - 122) 与本发明共聚物 - 药物混合物的物理混合物在某些情况下可延长药物从其中的释放, 且也在本发明范围之内。

从前述可以理解, 尽管本文为了说明而描述了本发明的具体实施方案, 但在不背离本发明的要旨和范围的条件下可作各种修改。因此本发明除受所附权利要求限制外不受限制。

说明书附图

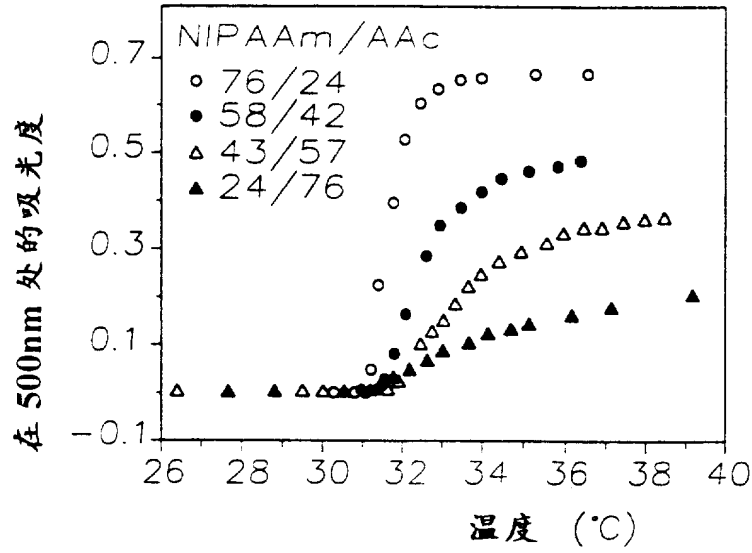


图 1

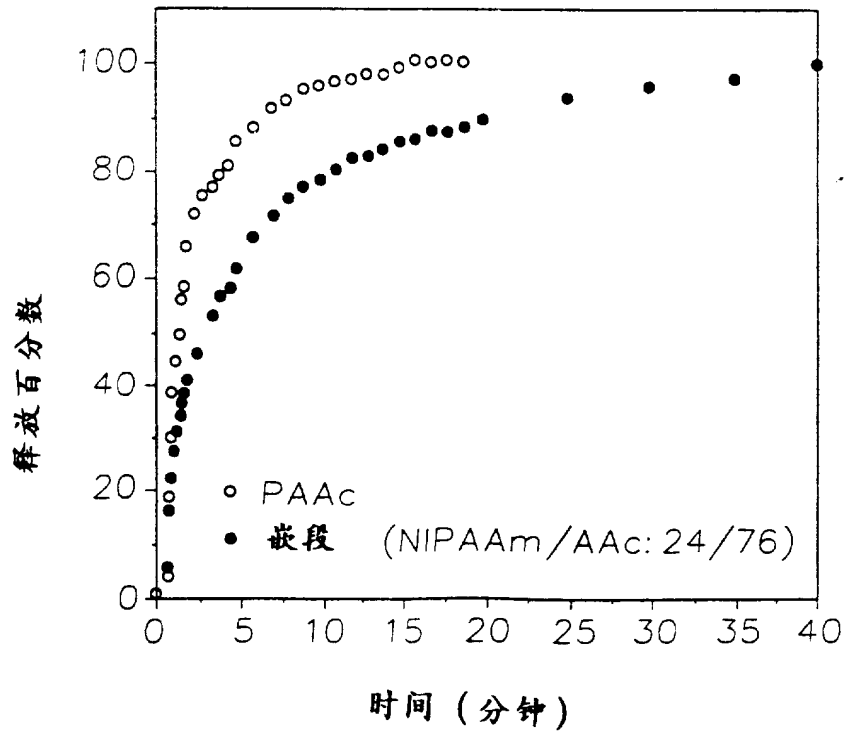


图. 2

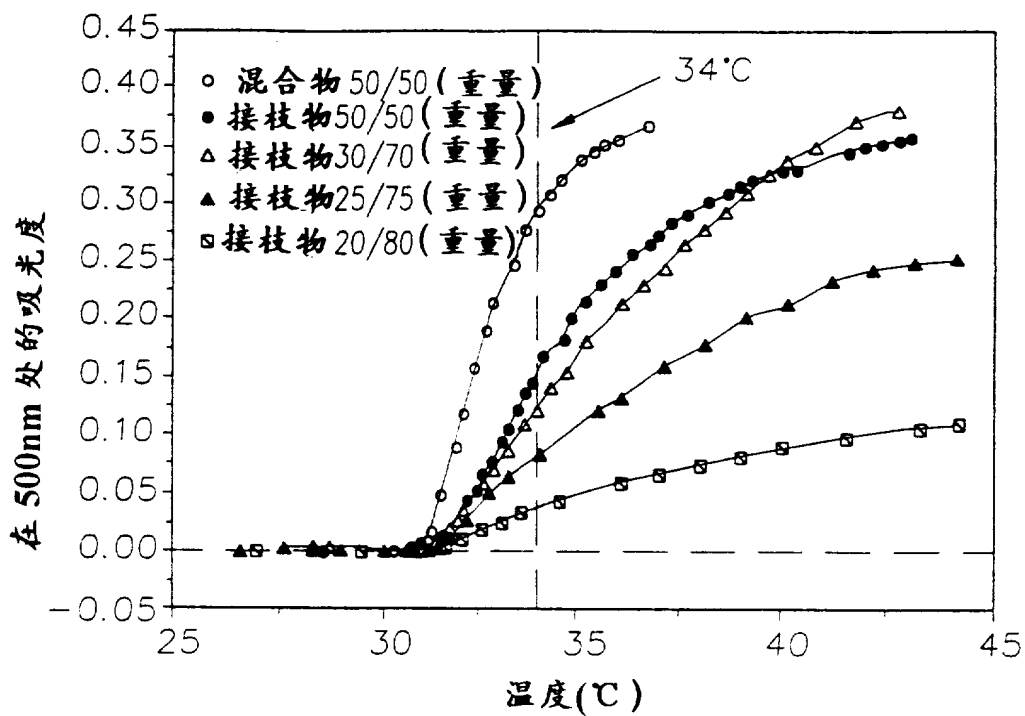


图 3

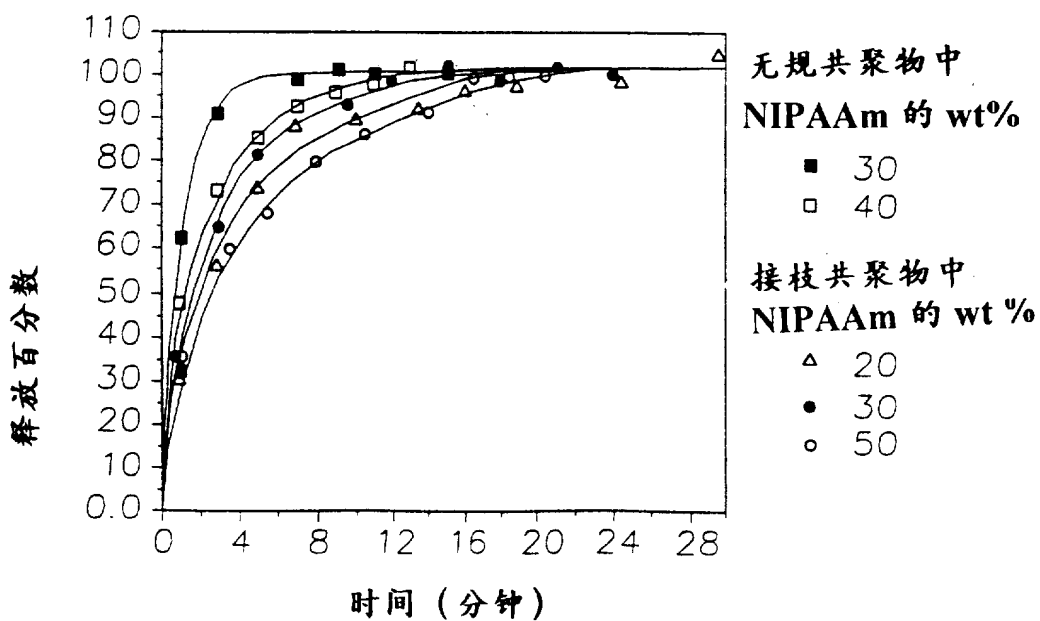


图 4

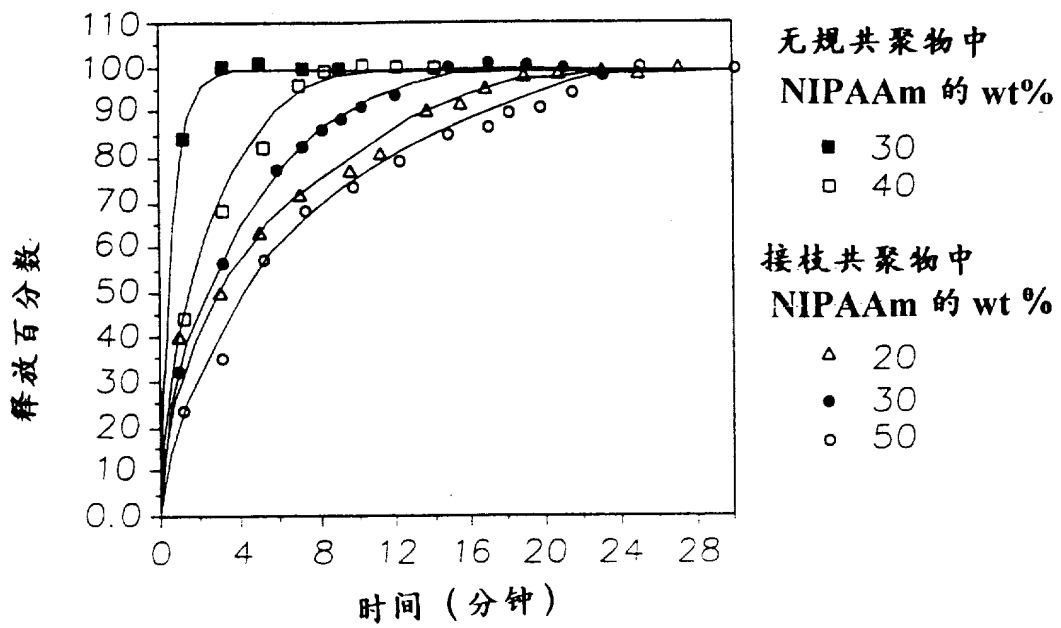


图 5

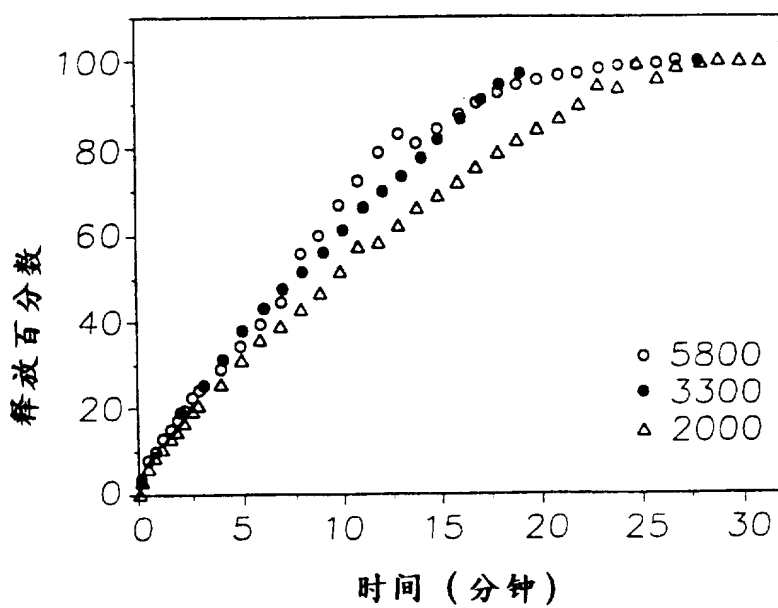


图 6

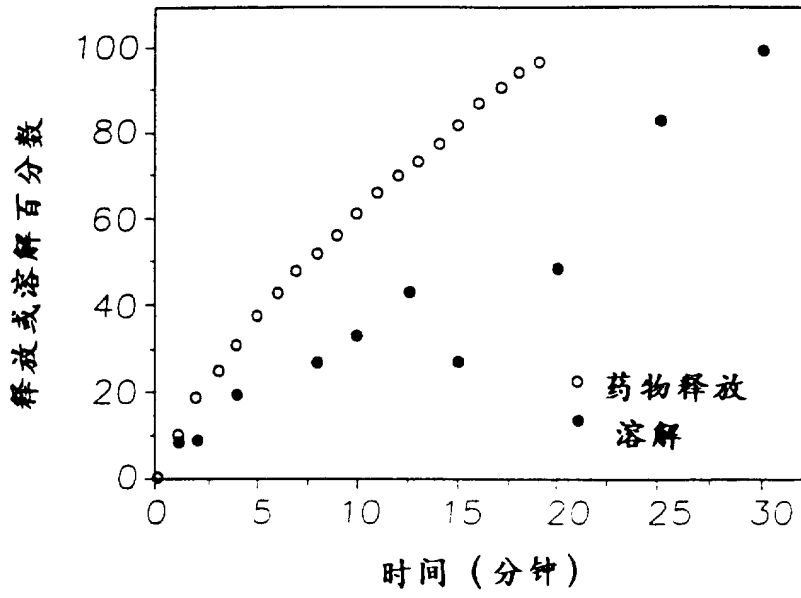


图 7

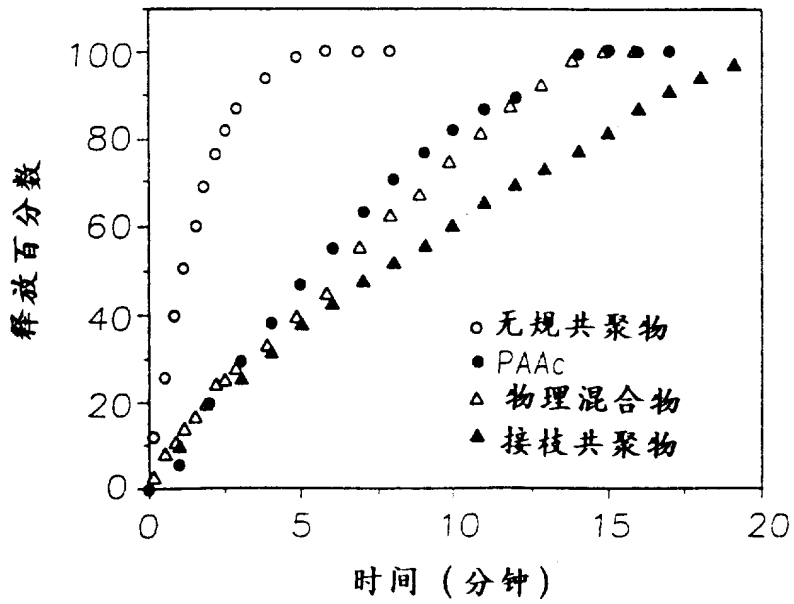


图 8

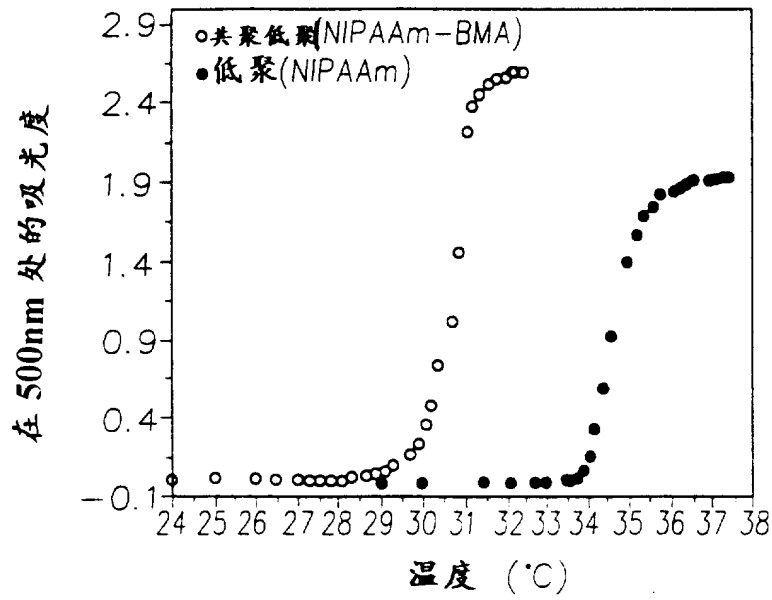


图 9

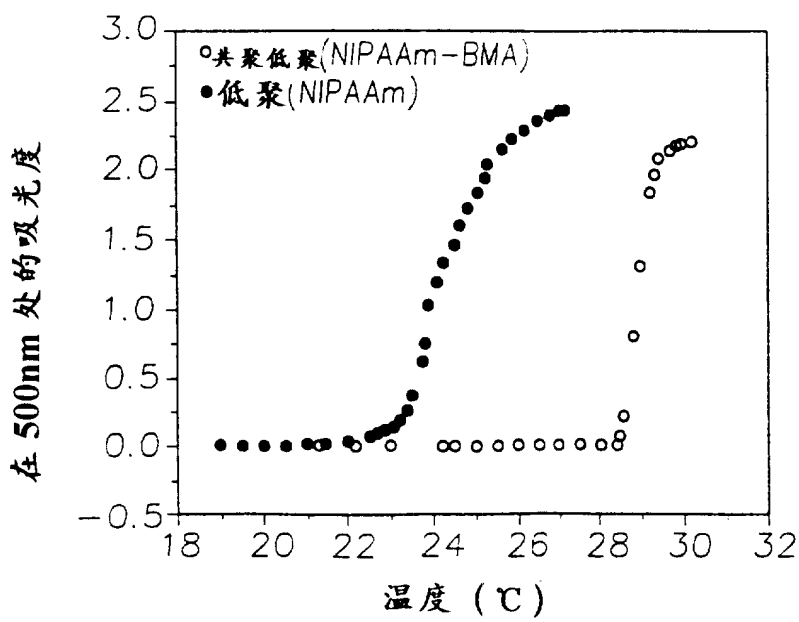


图 10

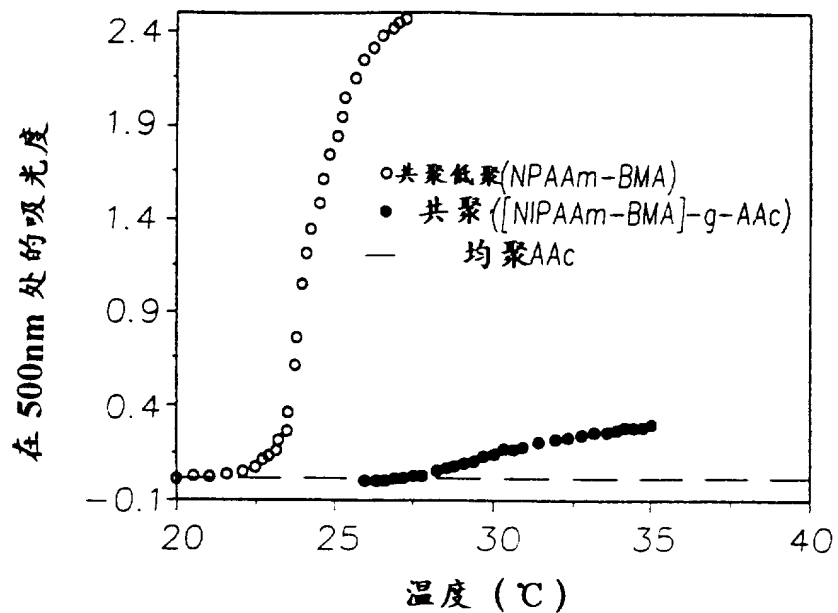


图 11

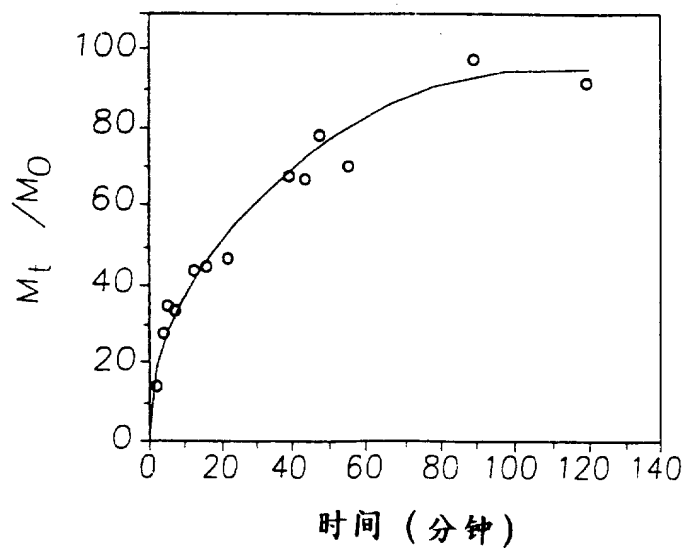


图 12

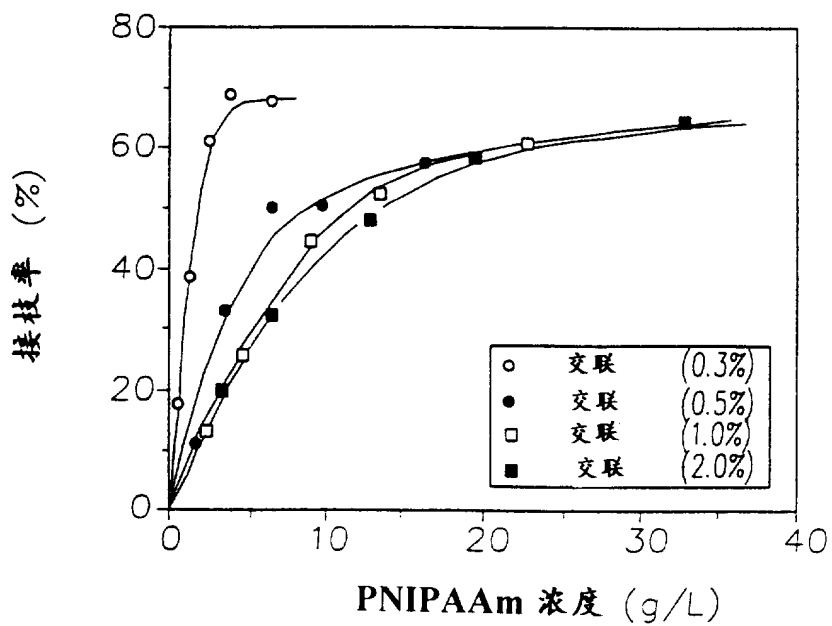


图 15

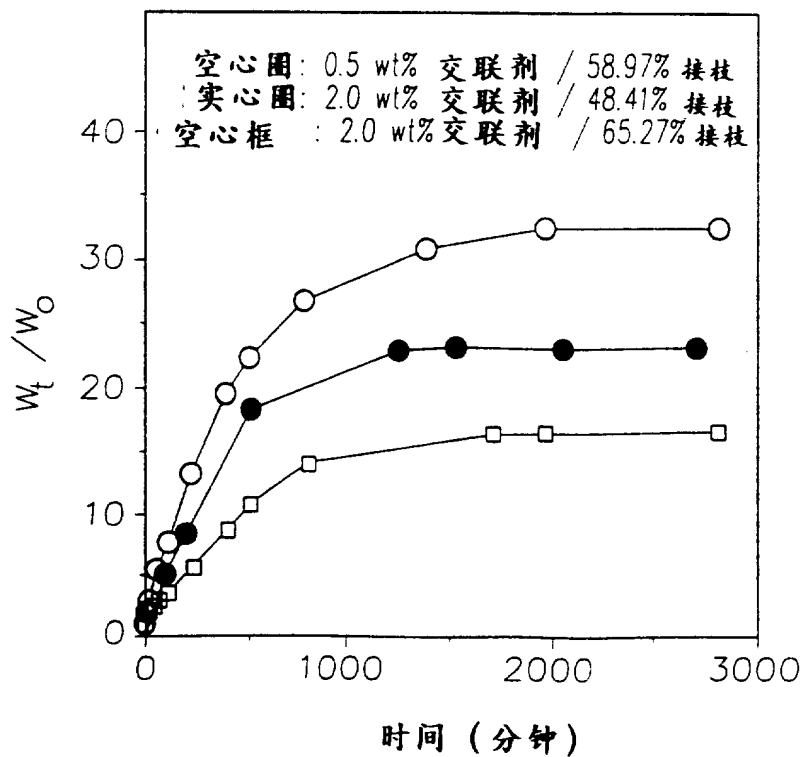


图 16

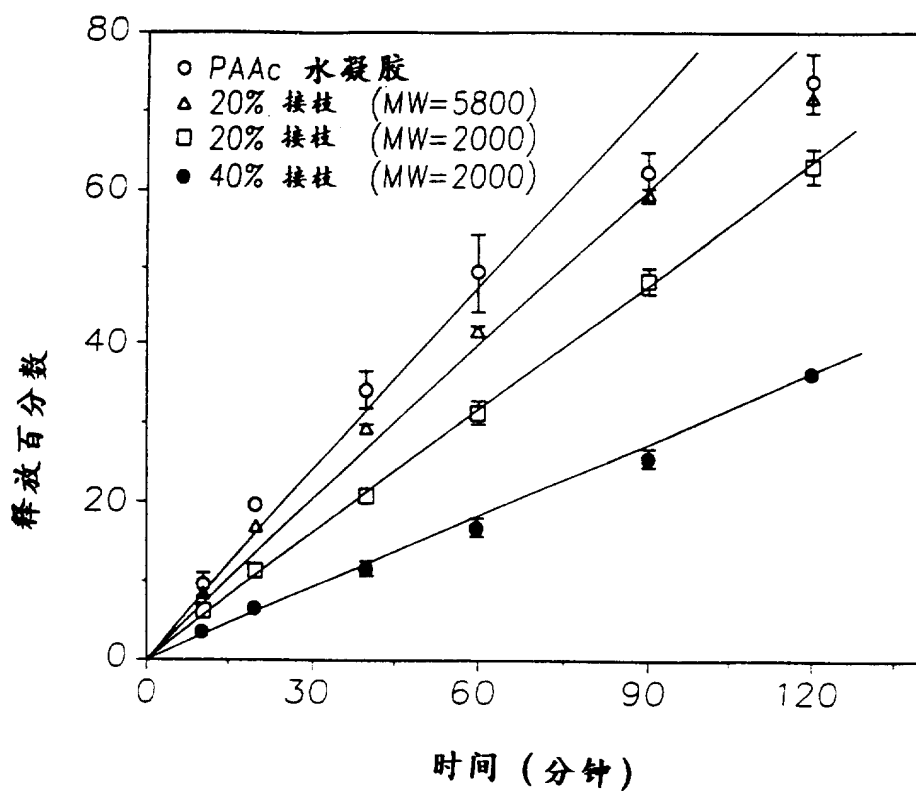


图 17

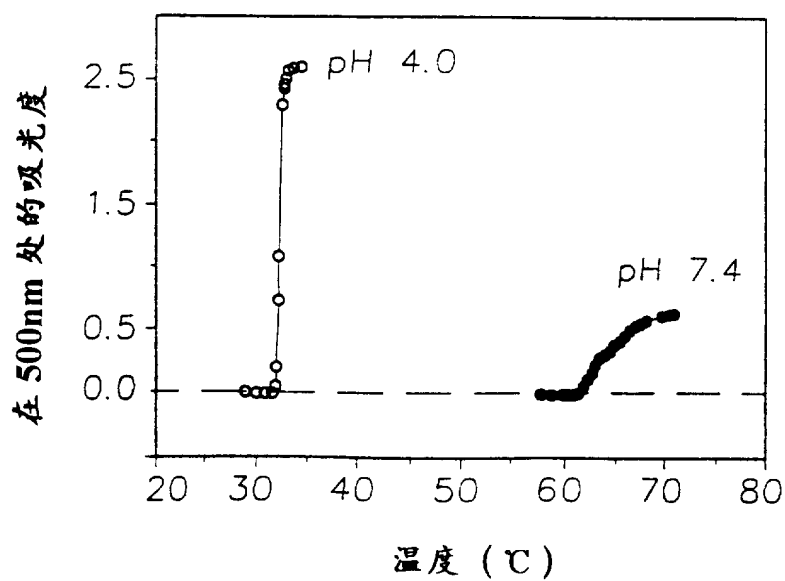


图 18

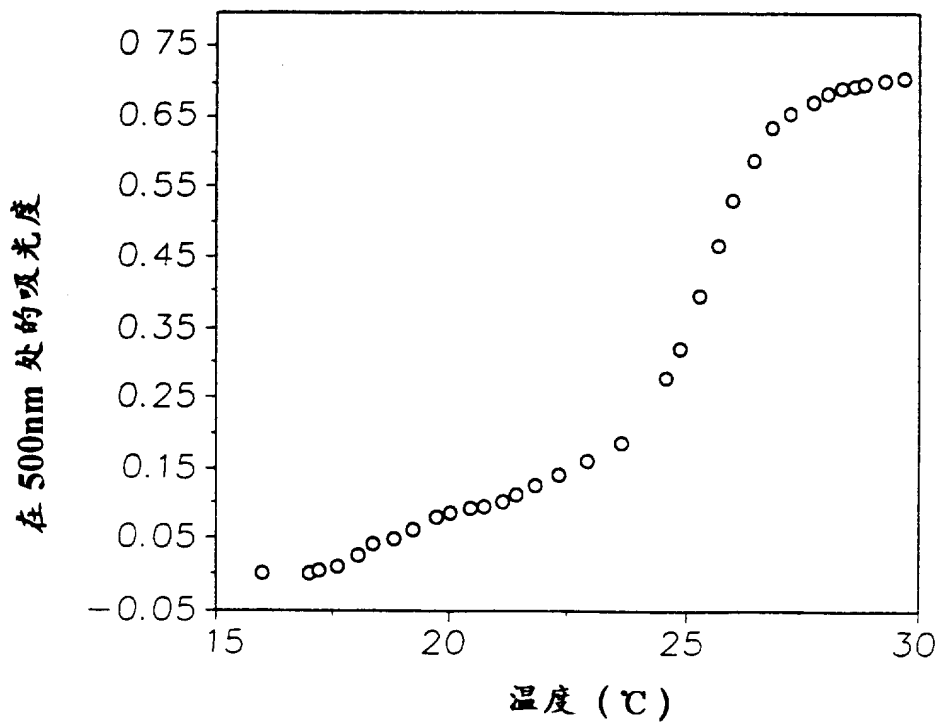


图 19

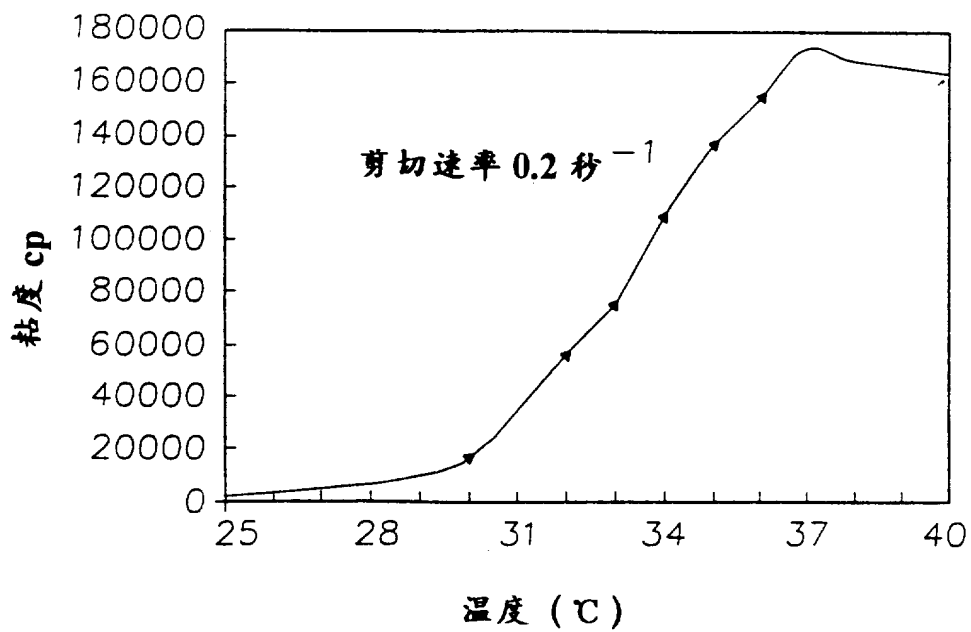


图 20

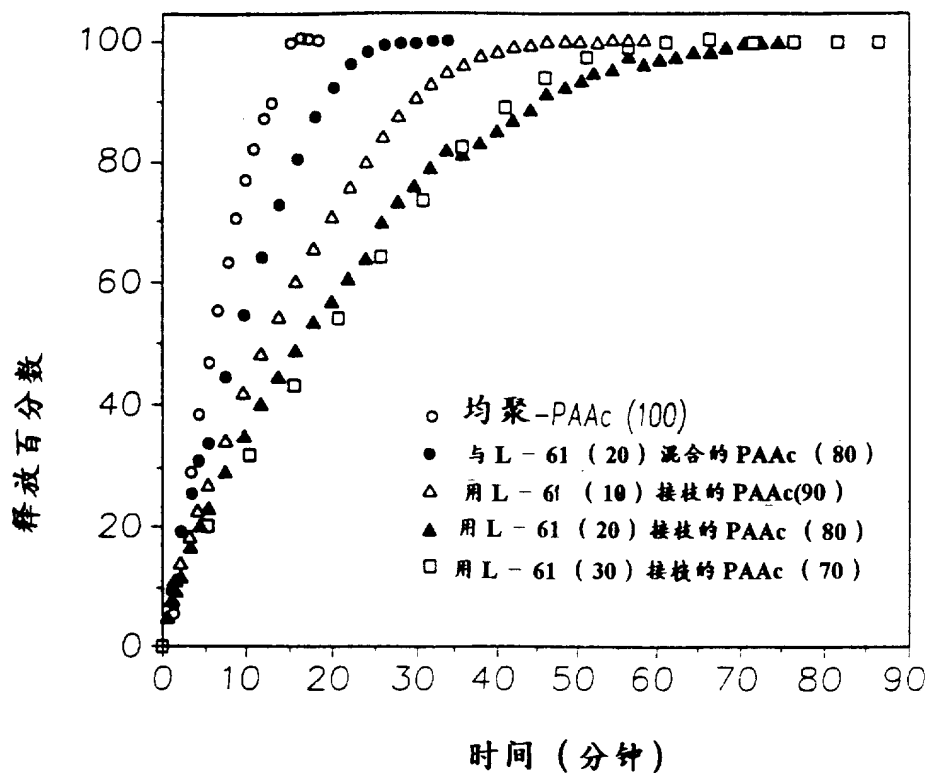


图 21

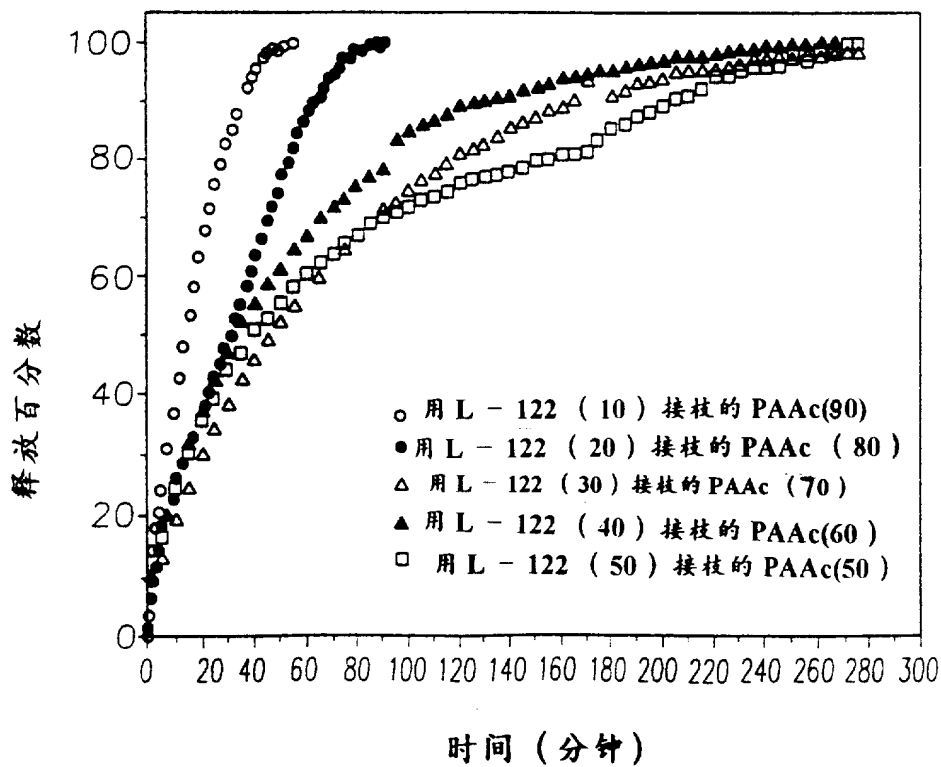


图 22

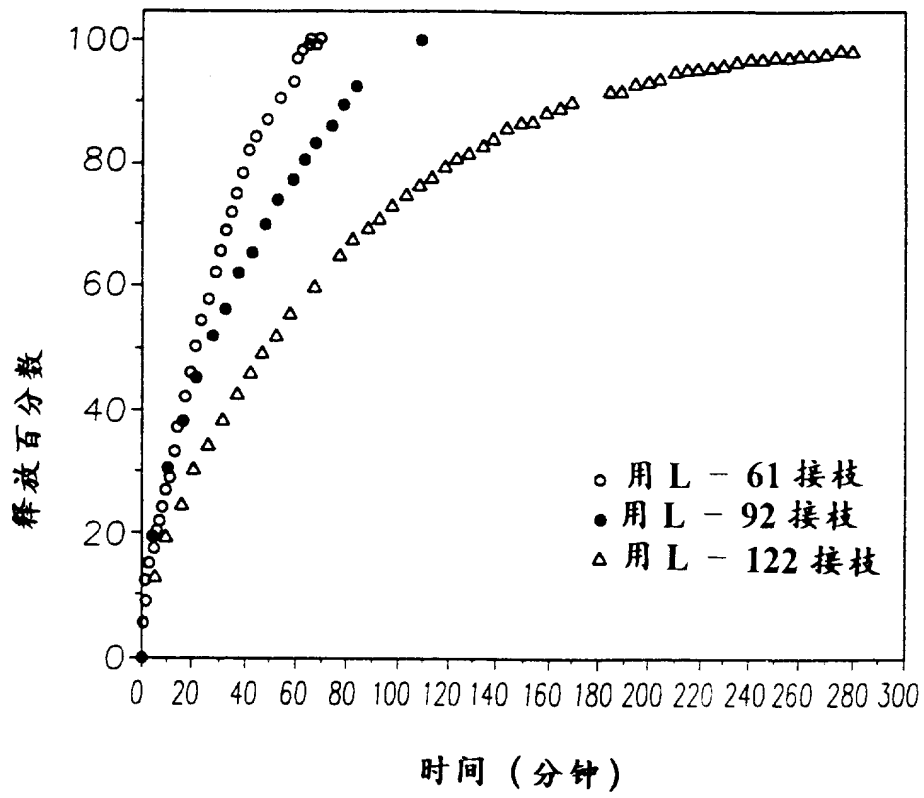


图 23