

AB型两亲聚 *L*-谷氨酸-苄酯-聚乙二醇嵌段共聚物的合成与表征^{*}

张国林¹ 吴秋华² 潘 彤³ 马建标^{1**}

(¹南开大学高分子化学研究所 吸附分离功能高分子材料国家重点实验室 天津 300071)

(²辽宁大学化学科学与工程学院 沈阳 110036) (³长沙理工大学化学系 长沙 410077)

摘 要 利用 *L*-谷氨酸和苯甲醇反应制备了 *L*-谷氨酸-苄酯,然后将其与三聚光气反应制备了 *N*-羧基-*L*-谷氨酸-环内酸酐(NCA).以聚乙二醇单甲醚(MPEG)为原料,制备了端氨基聚乙二醇单甲醚(MPEG-NH₂),并以此作为引发剂,引发 NCA 开环聚合,合成了不同分子量的聚 *L*-谷氨酸-苄酯-聚乙二醇单甲醚(PBGM)嵌段共聚物.利用 IR、¹H-NMR、DSC、GPC 等方法对共聚物结构进行了表征.结果表明,MPEG-NH₂ 引发 NCA 开环聚合得到的是嵌段共聚物,通过¹H-NMR 谱得到共聚物组成及数均分子量;随着共聚物中 MPEG 含量的增高,聚 *L*-谷氨酸-苄酯的亲水性有所改善.

关键词 聚 *L*-谷氨酸-苄酯, NCA, 开环聚合, 嵌段共聚物

聚氨基酸是氨基酸的环内酸酐开环聚合的产物,是一类具有低毒、生物相容性好、容易被机体吸收、代谢等优点的生物降解高分子,因此在医学领域如药物控释^[1,2]、组织工程^[3,4]等方面具有广泛的应用.聚谷氨酸是目前研究较多的聚氨基酸类材料之一,早在 20 世纪 70 年代,有人合成了聚谷氨酸,并将其作为药物载体材料进行研究.通过体外模拟释放和动物体内释放试验研究表明,聚谷氨酸材料在降解后成为氨基酸单体而不在体内滞留.Hideki^[5]等的研究表明了聚谷氨酸作为治疗癌症药物的载体材料具有广阔的应用前景.Hoste^[6]等把 3-羟丙基接入聚谷氨酸分子中,然后将 Natrex-one 药物结合到材料上,接入率可达 33.8%.虽然聚谷氨酸具有许多优点,但是其均聚物的降解周期及速度难以控制,应用具有一定的局限性.人们通过共聚的方法将亲水性聚醚类化合物引入聚谷氨酸链段中制备两亲性嵌段共聚物,研究其在选择性溶剂中的自组装及在药物控制释放等方面的应用^[7,8].聚乙二醇(PEG)是一种具有优良生物相容性的聚醚类高分子化合物,已广泛应用于新型生物材料的合成和改性中^[9,10].当把 PEG 和其它分子偶合时,可以制备出性能优良的嵌段共聚物.聚 *L*-谷氨酸-苄酯是疏水性聚氨基酸,PEG 是强亲水性高分子,二者结合可以得到新的两亲性生物降解高分子.本文选用与聚乙二醇具有相同性质的亲水性聚乙二醇单甲醚

(MPEG)为聚醚段,采用溶液聚合的方法,以氨基聚乙二醇单甲醚为大分子引发剂,引发氨基酸的环内酸酐开环聚合制备了新型的具有两亲结构的 AB 型聚 *L*-谷氨酸-苄酯-聚乙二醇嵌段共聚物,并对其结构和性质进行了初步表征.

1 实验部分

1.1 主要试剂

聚乙二醇单甲醚(MPEG, $M_n = 2000$, Fluka 公司);*L*-谷氨酸(生化试剂,北京新经科生物技术公司,室温真空干燥),对甲基苯磺酰氯(化学纯,上海松江粘胶剂厂,氯仿/正己烷重结晶),邻苯二甲酰亚胺(分析纯,上海试剂一厂),水合肼(85%,北京顺义卫新化工厂),苯甲醇(分析纯,天津化学试剂厂),吡啶(分析纯,天津市博迪化工有限公司, KOH 回流干燥),三聚光气(化学纯,威海燕威橡塑公司,未处理),四氢呋喃(分析纯,天津天泰精细化学品有限公司,金属钠回流干燥),石油醚(分析纯,天津化学试剂二厂,金属钠回流干燥),其它试剂均为分析纯试剂,都经严格除水.

1.2 大分子引发剂(MPEG-NH₂)的制备

参考文献[11]的方法,合成路线如图 1 所示.称取 20 g 聚乙二醇单甲醚($M_n = 2000$)于 250 mL 干燥的三口瓶中,80℃抽真空干燥 3 h.然后加入 100 mL 无水二氯甲烷、7 mL 吡啶和 11.5 g 对甲苯

磺酰氯(TsCl), 室温、 N_2 气氛下反应 12 h. 浓缩反应液, 继续反应 2 h. 将反应混合液慢慢滴加到过量的无水乙醚中得白色沉淀. 沉淀用乙醇溶解, 滤去不溶物, 滤液滴加到无水乙醚中得白色沉淀, 抽滤、无水乙醚洗涤、干燥得 **1**, 产率 85.7%.

称取 17 g **1**、2.1 g 邻苯二甲酰亚胺钾、120 mL N,N -二甲基甲酰胺(DMF)于 250 mL 三口瓶中, 120℃ 反应 4 h. 冷却反应液, 抽滤除去少量不溶物, 滤液倒入过量无水乙醚中得白色沉淀. 沉淀用二氯甲烷溶解, 滤去不溶杂质, 滤液滴入无水乙醚

中得白色沉淀, 抽滤、无水乙醚洗涤、干燥得 **2**, 产率 90%.

称取 15 g **2**、120 mL 无水乙醇、4 mL 水合肼于 250 mL 三口瓶中回流 12 h. 将反应混合液冷却、过滤, 滤液滴加到过量的无水乙醚中得沉淀, 沉淀用二氯甲烷溶解, 滤去不溶物, 滤液滴加到过量无水乙醚中得白色沉淀, 抽滤、无水乙醚洗涤、干燥得大分子引发剂 MPEG-NH₂, 产率 92.2%. 用元素分析测得氨基化率为 72%.

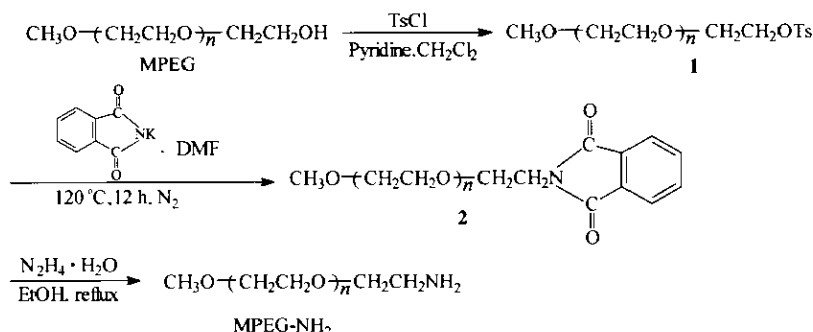


Fig. 1 Synthetic scheme for the preparation of amine-terminated MPEG

1.3 L-谷氨酸-苄酯的合成

参考文献[12]的方法. 称取 33.2 g L -谷氨酸于 500 mL 三口瓶中, 加 165 mL 苯甲醇和 54 mL 40% 氢溴酸. 然后缓慢加热, 反应温度控制在 70℃ 左右. 待 L -谷氨酸全部溶解后, 将反应混合液冷却到 30℃, 然后倒入由 66 mL 吡啶和 440 mL 95% 乙醇配制的混合溶液中, 3℃ 下放置 12 h, 使其充分沉淀. 沉淀过滤, 分别用乙醇、乙醚洗涤得到白色固体即为粗产物. 粗产物用 5% 的乙醇重结晶、干燥得白色固体即为产物, 产率 24.3%. mp 172 ~ 173℃ (文献值 mp 172 ~ 173℃^[12]).

1.4 L-谷氨酸-苄酯-NCA 的制备

参考文献[13]的方法. 称取 10 g 新鲜制备的 L -谷氨酸-苄酯于 250 mL 装有回流冷凝管、温度计、碱吸收装置的三口瓶中, 加入 100 mL 无水四氢呋喃, 升温至 50℃. 磁搅拌下加入 15 g 三聚光气. 待反应悬浊液变澄清后, 充氮气 30 min, 以除去反应生成的氯化氢及剩余的光气. 冷却并浓缩反应液, 倒入过量的无水石油醚中, -20℃ 放置 12 h, 过滤得白色针状结晶即为粗品. 将粗品用乙酸乙酯/正己烷重结晶得到白色针状晶体即为产物, 产率 61%. mp 96 ~ 97℃ (文献值 mp 96 ~ 97℃^[13]).

1.5 嵌段共聚物(PBGM)的合成

参考文献[14]的方法, 按表 1 的投料比称取新鲜制备的 L -谷氨酸-苄酯-NCA 和 MPEG-NH₂ 于反应瓶中, 以无水二氯甲烷为溶剂, 室温、氮气保护、搅拌下反应 72 h. 然后将反应混合液倒入过量的无水乙醚中沉淀, 将沉淀过滤, 用无水乙醚洗涤, 干燥得粗品. 粗产物用四氢呋喃为溶剂抽提得白色固体聚合物.

1.6 表征

采用 KBr 压片法, 在 Nicolet 5 DX FTIR 红外光谱仪上测定红外光谱; 使用 Varian UNITY Plus-400 核磁共振谱仪, 以 $CDCl_3$ 为溶剂, 室温下测定聚合物的 ¹H-NMR 谱; 用 NETZSCH DSC 204 差示扫描量热仪测定共聚物的 DSC 曲线, 程序升温速率为 10 K/min; 在 Waters 510/410 示差折光检测器上测定聚合物的 GPC 谱图, 聚苯乙烯作为标准物, 以三氯甲烷为流动相.

吸水实验是将 100 mg 左右的样品, 用压片机压成直径为 11 mm、厚度 1 mm 左右的薄片, 真空干燥至恒重 (W_1), 然后在蒸馏水中浸泡, 每隔一定时间取出样品, 用滤纸吸干表面水分后称重 (W_2).

$$\text{Absorption of water}(\%) = [(W_2 - W_1)/W_1] \times 100\%$$

2.3 差热分析

图 5 中 a、b 和 c 分别是共聚物 PBGM-1、PBGM-2 和 PBGM-3 的 DSC 曲线.在 PBGM-1 共聚物中,聚乙二醇单甲醚的含量相对较高,曲线上低温一侧(聚乙二醇单甲醚段)峰面积为 46.72 J/g,表明聚乙二醇单甲醚在聚合物中的结晶性较强;而随着共聚物中聚 L-谷氨酸-苄酯含量的增加,PBGM-2、PBGM-3 共聚物在低温一侧峰面积分别为 19.25 J/g 和 1.802 J/g,表明聚乙二醇单甲醚的结晶性被破坏.同样在高温一侧出现吸热峰,并且峰的强度随聚 L-谷氨酸-苄酯含量的增大而增强.由此表明共聚物存在微相分离,具有嵌段共聚物的特征.

Table 1 Contents and number-average molecular weights (M_n) of Poly-(γ -benzyl-L-glutamate)/poly(ethylene glycol) monomethyl ether (PBGM) diblock copolymers

Sample	MPEG/ NCA (mol)	Contents of PBG in mol% ^a	M_n (MPEG)	M_n (total)	$M_{n, GPC}$	M_w/M_n
PBG		100	-	-		
PBGM-1	1/10	17.8	2000	4100	3470	1.30
PBGM-2	1/25	34.3	2000	6980	5765	1.37
PBGM-3	1/50	52.6	2000	12800	10450	1.39

^aContents and M_n of the copolymers were calculated from ¹H-NMR measurements

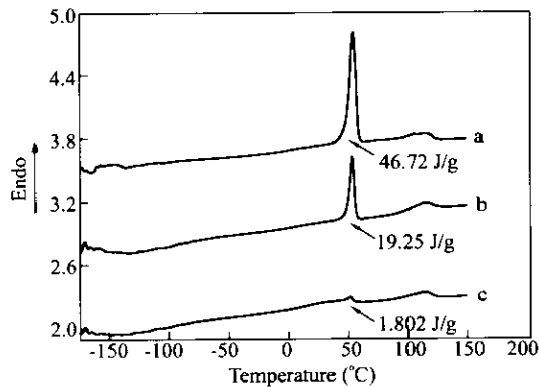


Fig. 5 DSC Curve of PBGM block copolymers
a) PBGM-1; b) PBGM-2; c) PBGM-3

2.4 凝胶渗透色谱

图 6 是聚合物 PBGM-1 的 GPC 图.在曲线上只有一个单峰出现,表明产物里只有一种物质,没

有其它物质.聚合物 PBGM-2、PBGM-3 的 GPC 结果与 PBGM-1 的结果一致.与 ¹H-NMR 计算得到的分子量相比,GPC 测得的聚合物分子量要小(见表 1),这可能与流动相选用的溶剂有关.聚合物 PBGM 在氯仿中的溶解性不太好,因此它与溶剂之间的亲和力小于与载体之间的亲和力,导致聚合物在固定相与流动相之间的配位效应,使聚合物实际淋出的体积大于体积排斥效应所决定的淋出体积.实际淋出体积大,得到的分子量就小,并且分子量分布较宽.结合上述 DSC 等结果,可以确定得到的是嵌段共聚物.

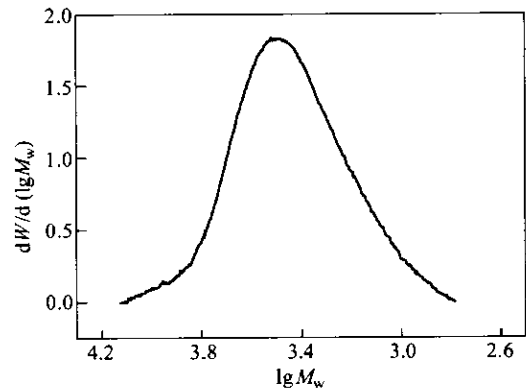


Fig. 6 GPC trace of PBGM-1 block copolymer

2.5 共聚物吸水性质

聚合物 PBGM 及均聚物 PBG 的吸水实验表明,随着亲水性聚乙二醇单甲醚链段在聚合物中含量的增大,材料的吸水率有所增大,其顺序为 PBGM-1(18%) > PBGM-2(15%) > PBGM-3(9%) > PBG(5%).表明聚乙二醇单甲醚链段的引入能够提高的聚 L-谷氨酸-苄酯的亲水性,因此可以通过引入亲水的聚乙二醇单甲醚链段来改善聚 L-谷氨酸-苄酯的亲水性能.

综上所述,本文通过 MPEG-NH₂ 在溶液中引发 NCA 开环聚合得到了聚 L-谷氨酸-苄酯和聚乙二醇的双嵌段共聚物,而不是均聚物或者是嵌段共聚物与均聚物的混合物;向疏水性聚 L-谷氨酸-苄酯中引入 MPEG 链段能够改善其亲水性.

REFERENCES

1 Yu B G, Okano T. Journal of Controlled Release, 1998, (53): 131 ~ 136
2 Yu L, Kwon G S. Pharm Res, 2000, 17(5): 607 ~ 611
3 Lescure F, Gurny R, Dorlker E. J Biomed Mater Res, 1989, (23): 1299 ~ 1313
4 Kim H J, Choi E Y. Biomaterials, 2000, (21): 131 ~ 141

- 5 Hideki H, Makiya N, Yoshinobu T. *Pharm Res*, 1996, 13(6): 880 ~ 889
- 6 Hoste k, Schacht E, Seymour L. *J Control Release*, 2000, (64): 53 ~ 61
- 7 Harada A, Kataoka K. *Macromolecules*, 1998, (31): 288 ~ 294
- 8 Kataoka K, Matsumoto T, Yokoyama M. *J Control Release*, 2000, (64): 143 ~ 153
- 9 Jiang Yong(姜勇), Ding Enyong(丁恩勇), Li Guokang(黎国康). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2000, (6): 681 ~ 687
- 10 Zhang Yong(张勇), Zhang Aiyong(张爱英), Feng Zengguo(冯增国), Ye Ling(叶玲), Xu Ruixing(徐瑞兴). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2002, (2): 167 ~ 172
- 11 Pillai V N, Mutter M. *J Org Chem*, 1980, (45): 5364 ~ 5370
- 12 Blout E R, Karlson R H. *J Am Chem Soc*, 1956, 78: 941 ~ 948
- 13 William H, Daly and Drew P. *Tetrahedron Lett*, 1988, 29(46): 5859 ~ 5862
- 14 Zhang Guoling(张国林), Ma Jianbiao(马建标). *Chem J Chinese Univ(高等学校化学学报)*, 2001, 23(10 z): 227 ~ 231
- 15 Yamashita Y, Iwaya Y, Ito K. *Die Makromolekulare Chemie*, 1976, (176): 1207 ~ 1216

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF AMPHIPHILIC AB DIBLOCK COPOLYMERS OF POLY(γ -BENZYL-*L*-GLUTAMATE) AND POLY(ETHYLENE GLYCOL) MONOMETHYL ETHER

ZHANG Guolin¹, WU Qiuhua², PAN Tong³, MA Jianbiao¹

(¹ State Key Laboratory of Functional Polymer Materials for Adsorption and Separation, Institute of Polymer Chemistry,
Nankai University, Tianjin 300071)

(² School of Chemical Science and Engineering, Liaoning University, Shenyang 110036)

(³ Department of Chemistry, Changsha University of Science and Technology, Changsha 410077)

Abstract γ -Benzyl-*L*-glutamate was synthesized by the reaction of *L*-glutamate and benzyl alcohol. *N*-Carboxy- γ -Benzyl-*L*-glutamate anhydride (NCA) was synthesized from γ -benzyl-*L*-glutamate and triphosgen. MPEG was used to prepare amine-terminated poly(ethylene glycol) monomethyl ether (MPEG-NH₂), which was used to initiate NCA ring opening polymerization and produce poly(ethylene glycol) monomethyl ether/poly(γ -benzyl-*L*-glutamate) (PMBG) diblock copolymers with various block contents and molecular weights. The structural characteristics of copolymers were attested by means of IR, ¹H-NMR, DSC and GPC measurements. The results showed that products of NCA ring opening polymerization initiated by MPEG-NH₂ were block copolymers. Their block contents and number-average molecular weights were calculated from ¹H-NMR. The hydrophilicity of homopolymer poly(γ -benzyl-*L*-glutamate) was improved by adding hydrophilic MPEG blocks.

Key words Poly(γ -benzyl-*L*-glutamate), NCA, Ring opening polymerization, Block copolymer