

谷胱甘肽端基修饰聚己内酯的合成及在水溶液中的聚集行为*

许 宁 杜福胜 李子臣**

(北京大学化学学院高分子科学与工程系 北京 100871)

摘 要 用开环聚合合法合成了端基分别为巯基和马来酰亚胺基团的聚己内酯,利用马来酰亚胺与巯基的迈克尔加成反应和巯基之间的偶联反应,合成了两种端基为谷胱甘肽的聚己内酯(GS-PCL 和 GSS-PCL),利用核磁共振氢谱和凝胶渗透色谱表征了两亲性聚己内酯的结构.研究了这两种聚己内酯在水中的聚集行为,发现这两种聚己内酯都可在一定 pH 值下聚集成球形胶束,胶束的形态、大小等受 pH 影响.同时,由 GSS-PCL 形成的聚集体还表现出氧化还原敏感性.

关键词 生物可降解,聚己内酯,谷胱甘肽,pH 敏感性,氧化还原敏感性

两亲性高分子,尤其是生物可降解性的两亲性高分子,由于能够在水中形成稳定的有序分子聚集体(如大分子胶束、囊泡等),在生物模拟、生物化学和药物控制释放体系等领域中具有广泛的应用前景^[1~4].目前研究较多的生物可降解性两亲性嵌段聚合物,包括聚氧乙烯-*b*-聚己内酯(PEO-*b*-PCL)^[5],聚丙交酯-*b*-聚氧乙烯-*b*-聚丙交酯(PLA-*b*-PEO-*b*-PLA),聚氧乙烯-*b*-聚丙交酯(PEO-*b*-PLA)^[6~8]等.由于缺乏功能基团以及对环境的响应性,在应用于药物的靶向释放和控制释放体系时受到一定的限制.因此,设计和合成具有功能性的两亲性生物可降解高分子成为重要课题.多肽分子中含有多个氨基酸残基,对于体系的 pH 值、氧化还原等条件具有一定的响应性.因此,多肽修饰的聚酯可以通过改变体系的 pH 值等方法来调节聚合物的两亲性质.这种利用多肽修饰的聚酯是一类可生物降解的环境响应性两亲聚合物,其中已经获得成功的例子包括多肽-聚酯嵌段共聚物^[9]、接枝共聚物^[10]和树枝状-线型共聚物^[11]等.

谷胱甘肽是生物体内一种重要的三肽,具有多种生物功能和药理应用,在药物释放体系、水凝胶等领域都具有应用价值^[12, 13].选用这种简单的三肽作为两亲性聚酯的亲水段,除了可以增加聚酯的亲水性,还能提高聚合物的环境响应性.当谷胱甘肽与聚酯之间以稳定的化学键连接时,聚合物在缓冲溶液中的聚集行为仅受到水溶液中 pH 值的影响.而当谷胱甘肽与聚酯之间为二硫键连

接时,聚合物形成的聚集体在水溶液还具有氧化还原敏感性.

本文利用两种方法分别合成了两种端基用谷胱甘肽修饰的聚己内酯.这两种聚己内酯能够在水中形成纳米尺度的胶束,其聚集行为受到环境 pH 的影响,同时,含有二硫键的两亲性聚己内酯在还原剂存在时会分解为聚己内酯和谷胱甘肽,使得后者在水中形成的聚集体被破坏.

1 实验部分

1.1 主要原料和测试仪器

ϵ -己内酯(ϵ -CL),98%,Acros.500 mL ϵ -己内酯中加入 2 g CaH_2 在室温下搅拌 48 h 后减压蒸出;三氟磺酸亚锡($\text{Sn}(\text{OTf})_2$),97%,Alfa Aesar;二巯基苏糖醇(DTT),99%,Acros;巯基乙醇,99%,Acros;谷胱甘肽(GSH),生化纯,Sino;二甲基亚砜(DMSO),分析纯,北京化学试剂厂.0.4 nm 分子筛干燥后减压蒸出.*N*-羟乙基马来酰亚胺(HEMI),按文献[14]方法合成.

400 M ^1H -NMR 系 Bruker ARX-400 核磁共振仪,溶剂为 CDCl_3 或 D_2O ;300 MHz ^1H -NMR 系 Varian-300 核磁共振仪,溶剂为 CDCl_3 ;日本 JEOL 公司的 JEM-100 CXII 型透射电子显微镜,加速电压为 100 kV;凝胶渗透色谱仪(GPC)测定,使用 Water 515 高效液相色谱泵,Water 2410 示差折光检测器和 Styragel (HT-2 + HT-3 + HT-4) 凝胶柱,四氢呋喃(THF)为淋洗剂,样品配制成 10 mg/mL

* 2006-09-20 收稿,2006-12-20 修稿.国家自然科学基金(基金号 50573002)和教育部新世纪人才基金资助;** 通讯联系人,E-mail:zcli@pku.edu.cn

的 THF 溶液,淋洗速率为 1 mL/min,凝胶柱温度恒定为 35℃,使用单分散线性聚苯乙烯做参比,数据处理软件为 Millennium 32. 日本 UV-2101 型紫外可见分光光度计,测定波长 500 nm 处的透光率.

1.2 端基为马来酰亚胺的 PCL 合成 (M-PCL)

以 M-PCL₁₀ 合成为例说明. 将 5 g ε-CL (44 mmol), 100 μL Sn(OTf)₂ (15 mg/mL, 甲苯/THF = 80/20) 加入聚合管中,室温下搅拌 20 min,再加入 0.618 g *N*-羟乙基马来酰亚胺 (4.4 mmol),混合均匀后经过 3 次‘液氮冷却—抽真空—解冻’循环操作,真空条件下封管. 25℃ 下聚合 48 h. 反应结束后将聚合管打开,反应液用 CHCl₃ 稀释,在冷甲醇中沉淀一次,过滤得到聚合物,真空干燥产物,收率为 90%.

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 6.74 (s, 2H, —CH=CH—), 4.24 (t, 2H, —NCH₂CH₂O—), 4.04 ~ 4.09 (m, —CC(O)O—CH₂CH₂—), 3.80 (t, 2H, —N—CH₂CH₂O—), 3.65 (t, 2H, —CH₂CH₂CH₂OH), 2.21 ~ 2.38 (m, —CH₂C(O)OCH₂—), 1.55 ~ 1.73 (m, —CH₂CH₂C(O)OCH₂CH₂—), 1.30 ~ 1.48 (m, —C(O)CH₂CH₂CH₂CH₂O—).

1.3 端基为巯基的 PCL 合成 (T-PCL)

以 T-PCL₁₀ 的合成为例. 将 5 g ε-CL (44 mmol), 100 μL Sn(OTf)₂ (15 mg/mL, 甲苯/THF = 80/20) 加入聚合管中,室温下搅拌 20 min,再加入 0.342 g 巯基乙醇 (4.4 mmol),混合均匀后经过 3 次‘液氮冷却—抽真空—解冻’循环操作,真空条件下封管. 室温下聚合 12 h. 反应结束后将聚合管打开,反应液用 CHCl₃ 稀释后在冷甲醇中沉淀一次,过滤得到聚合物,真空干燥产物,收率为 86%.

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 4.18 ~ 4.20 (t, 2H, HSCH₂CH₂O—), 4.05 ~ 4.08 (m, —C(O)OCH₂—), 3.63 ~ 3.67 (t, 2H, —CH₂CH₂OH), 2.70 ~ 2.80 (m, 2H, HSCH₂CH₂O—), 2.38 ~ 2.21 (m, —CH₂C(O)OCH₂—), 1.73 ~ 1.55 (m, —CH₂CH₂C(O)OCH₂CH₂—), 1.45 ~ 1.51 (t, 1H, HSCH₂—), 1.30 ~ 1.48 (m, —C(O)CH₂CH₂CH₂CH₂O—).

1.4 谷胱甘肽与 M-PCL 的加成 (GS-PCL)

以 GS-PCL₁₀ 的合成为例. 将 0.614 g GSH (2 mmol) 溶于 0.5 mL 水中, 0.5 g M-PCL₁₀ (0.39 mmol) 溶解于 4 mL THF 中. 将 GSH 水溶液逐滴加入 M-PCL 的 THF 溶液中并在室温下搅拌 12 h, 反应体系变为均相. 反应结束后将反应液在水中沉淀一次, 过滤. 再将沉淀溶解于 THF 中并在冷甲醇中沉淀一次. 过滤得到聚合物, 真空干燥产物, 收率为 94%.

¹H-NMR (D₂O, δ): 4.5 ~ 4.6 (s, —CHCH₂S—), 4.2 ~ 4.3 (m, —NCH₂CH₂OC(O)(CH₂)₄CH₂O— and —NHCH₂COOH), 4.0 ~ 4.2 (m, —C(O)(CH₂)₄CH₂O—), 3.4 ~ 3.9 (m, H₂N—CH(COOH)—, —N—CH₂CH₂O—, —C(O)CH(S—)CH₂— and —(CH₂)₄CH₂OH), 3.2 ~ 3.35 (m, —CH₂—S—), 2.6 ~ 3.0 (m, —CH(S—)CH₂C(O)—), 2.4 ~ 2.5 (m, H₂N(HOOC)CHCH₂CH₂C(O)—), 2.1 ~ 2.4 (m, —C(O)CH₂(CH₂)₄O—), 1.8 ~ 2.0 (m, —CH(COOH)CH₂CH₂C(O)—), 1.5 ~ 1.7 (m, —C(O)CH₂CH₂CH₂CH₂O—), 1.2 ~ 1.5 (m, —C(O)CH₂CH₂CH₂CH₂O—).

1.5 谷胱甘肽与 T-PCL 的偶联 (GSS-PCL)

以 GSS-PCL₁₀ 的合成为例. 将 0.614 g 谷胱甘肽 (2 mmol) 和 0.2 g T-PCL₁₀ (0.2 mmol) 溶解于 4 mL DMSO 中, 反应物在 80℃ 中反应 4 h. 反应结束后将反应液在水中沉淀, 过滤, 再将聚合物用 THF 溶解并再次在冷甲醇中沉淀一次. 过滤得到聚合物, 真空干燥产物. 收率为 98%.

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 4.35 ~ 4.40 (t, 2H, —SSCH₂CH₂O—), 4.05 ~ 4.10 (m, —C(O)OCH₂—), 3.60 ~ 3.65 (t, 2H, —CH₂CH₂OH), 2.95 ~ 2.98 (t, 2H, —SSCH₂CH₂O—), 2.38 ~ 2.21 (m, —CH₂C(O)OCH₂—), 1.73 ~ 1.55 (m, —CH₂CH₂C(O)OCH₂CH₂—), 1.30 ~ 1.48 (m, —C(O)CH₂CH₂CH₂CH₂O—).

¹H-NMR (D₂O, δ): 4.35 ~ 4.40 (m, 2H, —SSCH₂CH₂O— and —NHCHCH₂SS—), 3.9 ~ 4.1 (m, —C(O)OCH₂— and —NHCH₂COOH), 3.75 ~ 3.8 (m, H₂N(HOOC)CHCH₂CH₂C(O)—), 3.60 ~ 3.65 (t, 2H, —CH₂CH₂OH), 3.2 ~ 3.3 (m, —CHSSCH₂CH₂O—), 2.95 ~ 2.98 (t, 2H, —

SSCH₂CH₂O—), 2.1 ~ 2.5 (m, H₂N (HOOC) CHCH₂CH₂C (O)— and —C (O) CH₂ (CH₂)₄O—), 1.8 ~ 2.0 (m, —CH (COOH) CH₂CH₂C (O)—), 1.5 ~ 1.7 (m, —C (O) CH₂CH₂CH₂CH₂O—), 1.2 ~ 1.5 (m, —C (O) CH₂CH₂CH₂CH₂O—).

1.6 临界聚集浓度(CAC)的测定^[15]

以测定 GSS-PCL 的 CAC 为例说明. 配制一系列含不同浓度 GSS-PCL 的缓冲溶液, GSS-PCL 的浓度从 0 到 0.1 mg/mL. 缓冲溶液为硼酸/氢氧化钠/氯化钾缓冲溶液, pH 为 8.0, 浓度为 0.2 mol/L (含有 2 mmol/L 的 EDTA). 以浓度为 0 的纯缓冲溶液为参比, 分别测定不同浓度的溶液在波长为 500 nm 下的透光率, 并以浓度为横坐标, 透光率为纵坐标, 作透光率-浓度的关系图, 图中拐点的浓度即为 CAC. 在测定 GS-PCL 的 CAC 时, 所用缓冲溶液为磷酸盐标准缓冲溶液和邻苯二甲酸氢盐标准缓冲溶液, pH 分别为 6.86 和 4.00, 其他测定条件均相同.

1.7 聚集体样品的制备与观察

将两亲性聚合物溶解在一定 pH 下的缓冲溶液中, 浓度为 0.5 mg/mL, 溶液在室温下搅拌 24 h. 将经过喷碳处理并覆有 Formvar 膜的铜网浸入到制备的聚集体溶液中 30 min, 取出后用滤纸在铜网边缘吸去液体, 室温晾干后, 在 2.0 wt% 的醋酸双氧钨乙醇溶液中染色 1 min. 取出后同样用滤纸在边缘吸去溶液, 室温晾干后, 用 TEM 观察聚集体的形态. 对于 GS-PCL, 缓冲溶液分别为硼酸/硼酸钠缓冲溶液和硼酸/氢氧化钠/氯化钾缓冲溶液, pH 分别为 10.0 和 7.3.

1.8 还原剂对 GSS-PCL 的影响

在 10 mL 浓度为 0.5 mg/mL (0.3 mmol/L) 的 GSS-PCL 聚集体溶液 (硼酸/硼酸钠缓冲溶液, pH 为 8) 中加入 20 mg 还原剂二巯基苏糖醇 (DTT), 使得溶液中 DTT 的浓度为 2 mg/mL (6 mmol/L). 在 N₂ 气氛下 37℃ 下搅拌 24 h. 反应体系从蓝色乳状溶液变为有沉淀形成的悬浊液. 在反应得到的悬浊液中加入 2.5 g NaCl, 离心得到固体, 以纯水洗 2 次, 干燥后测定样品的¹H-NMR.

¹H-NMR (CDCl₃, δ): 4.18 ~ 4.20 (t, 2H, HSCH₂CH₂O—), 4.35 ~ 4.40 (t, 2H, —SSCH₂CH₂O—), 4.05 ~ 4.10 (m, —C (O) OCH₂—), 3.60 ~ 3.65 (t, 2H, —CH₂CH₂OH), 2.95 ~ 2.98 (t, 2H, —SSCH₂CH₂O—), 2.70 ~

2.80 (m, 2H, HSCH₂CH₂O—), 2.38 ~ 2.21 (m, —CH₂C (O) OCH₂—), 1.73 ~ 1.55 (m, —CH₂CH₂C (O) OCH₂CH₂—), 1.30 ~ 1.48 (m, —C (O) CH₂CH₂CH₂CH₂O—).

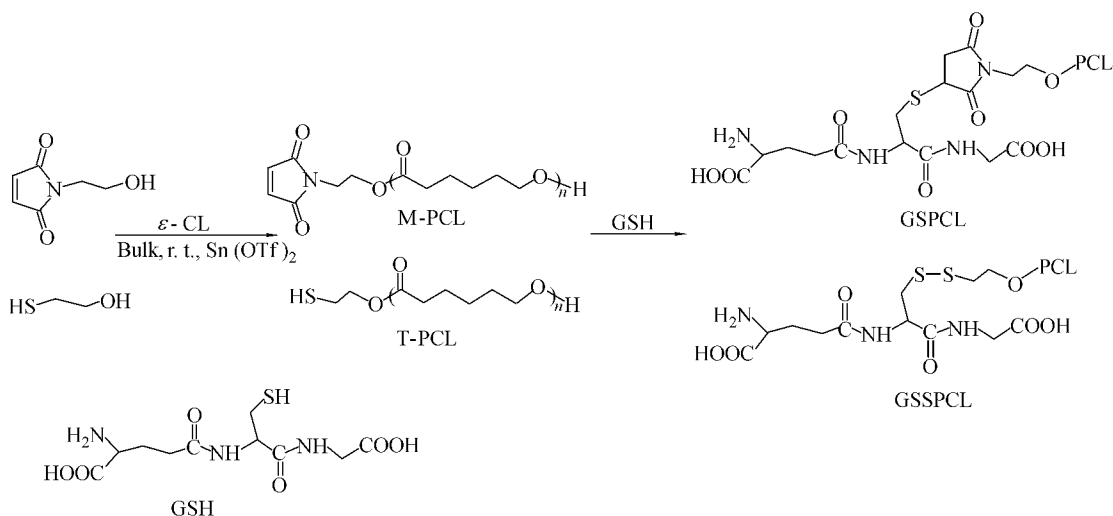
2 结果与讨论

2.1 含功能化端基聚己内酯的合成

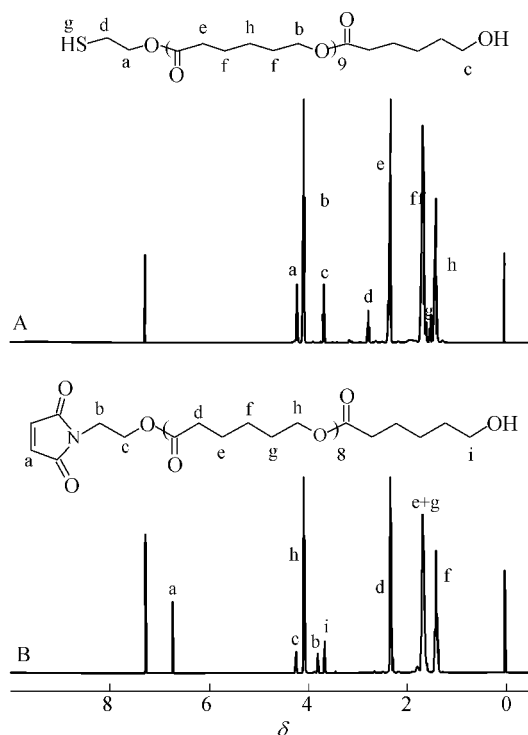
利用含功能化官能团的引发剂引发内酯或交酯的聚合, 可得到含功能化端基的窄分子量分布聚酯^[16]. 当催化剂为三氟磺酸亚锡 (Sn (OTf)₂) 时, ε-己内酯的聚合可以在室温下进行, 定量得到窄分布聚己内酯^[17]. 因此, 端基为马来酰亚胺和巯基的聚己内酯分别以 *N*-羟乙基马来酰亚胺 (HEMI) 和巯基乙醇为引发剂, Sn (OTf)₂ 为催化剂, 本体条件下室温聚合而得 (示意图 1), 聚合结果列于表 1. 通常情况下, 利用巯基乙醇直接引发己内酯的开环聚合, 可能会导致巯基引发的聚合反应. 一般文献中在聚己内酯末端引入巯基需要将巯基保护再进行反应或以酶为催化剂进行聚合^[18, 19], 但在本文的条件下, 可以直接利用巯基乙醇在 Sn (OTf)₂ 催化下引发己内酯聚合, 得到分子量可控的窄分布聚己内酯, 同时聚合物中由巯基引发的聚酯含量在 5% 以下. 从图 1 (A) 中可知, 化学位移 δ = 2.75 处的四重峰是与巯基相连的亚甲基的质子峰 (HSCH₂CH₂O—), 与 δ = 3.67 处聚酯末端与羟基相连亚甲基质子峰 (—CH₂CH₂OH) 的积分比值可知, 聚己内酯端基为巯基. 通过 δ = 4.0 与 δ = 3.67 处质子峰的积分比值计算出 T-PCL 的聚合度为 9, 与设计的聚合度 10 一致. 同时, 通过 GPC 可知 T-PCL 的分子量分布比较窄, 说明我们用一步法合成了窄分布的端基为巯基的聚己内酯. 用同样的分析方法, 也可以计算出端基为马来酰亚胺的聚己内酯的聚合度为 10, 同时每个聚酯分子末端都含有一个马来酰亚胺基团 (图 1B).

Table 1 Synthesis of end-functionalized PCL ^a					
Sample	Initiator	DP ^b	<i>M</i> _n ^c	<i>M</i> _w / <i>M</i> _n ^c	Yield ^d (%)
M-PCL ₁₀	HEMI	10	2800	1.09	94
T-PCL ₁₀	HS(CH ₂) ₂ OH	9	2600	1.15	86

^aPolymerizations were catalyzed by Sn (OTf)₂ (THF/toluene (20/80, 15 mg/mL) at 25℃ for 48 h (or 12 h for T-PCL), [M]/[I] = 10; ^bCalculated from ¹H-NMR spectra; ^cObtained from GPC; ^dObtained gravimetrically



Scheme 1 Synthesis of the two kinds of amphiphilic PCL

Fig. 1 ^1H -NMR spectra of (A) T-PCL and (B) M-PCL

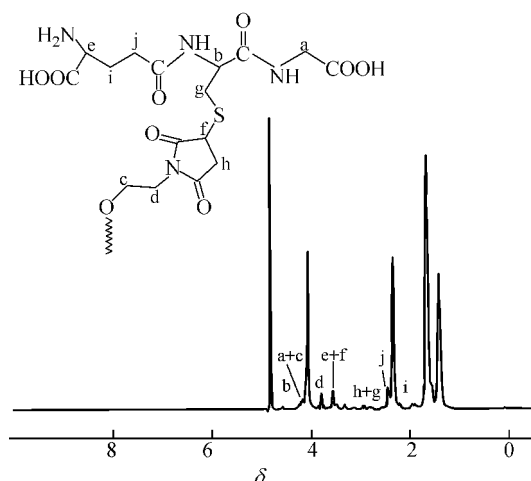
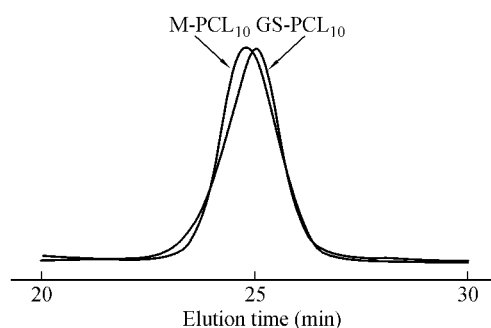
2.2 利用迈克尔加成反应制备谷胱甘肽-聚己内酯 (GS-PCL)

谷胱甘肽具有很强的亲水性,在大多数有机溶剂中溶解度较小.文献中也有报道马来酰亚胺与多肽中的巯基在水中进行的加成反应^[16],但考虑到 PCL 的溶解性,这里采用混合溶剂的方法进行反应.马来酰亚胺与巯基进行加成的速度远大于相同条件下与氨基加成的速度^[16],因此在谷胱甘肽过量的条件下,可以保证加成反应都发生在

马来酰亚胺基团与巯基之间.反应 24 h 后 $\delta = 6.8$ 处 PCL 的端基双键的质子峰完全消失,证明 M-PCL 端基的马来酰亚胺基团已经完全转化(图 2),反应的收率达到 94%.同时,在以 D_2O 为溶剂的 ^1H -NMR 图谱中观察到 GSH 部分的质子峰, $\delta = 4.5 \sim 4.6$ 处为 GSH 中半胱氨酸残基的 α -亚甲基的特征质子峰.说明 GSH 已经连接在聚合物的末端.从图 3 中的 GPC 曲线可以看到,测定的 GS-PCL 的数均分子量比 M-PCL 略小,二者的分子量分布类似,这是因为引入亲水性的端基使得聚己内酯分子在 THF 中收缩,因此引起用 GPC 测定的 GS-PCL 表观数均分子量减小.总之,通过 ^1H -NMR 和 GPC 表征,说明引入亲水的 GSH 组分没有影响聚合物的主链,同时也说明了巯基与马来酰亚胺加成反应的高效性.

2.3 含可逆二硫键的 GSS-PCL 的合成

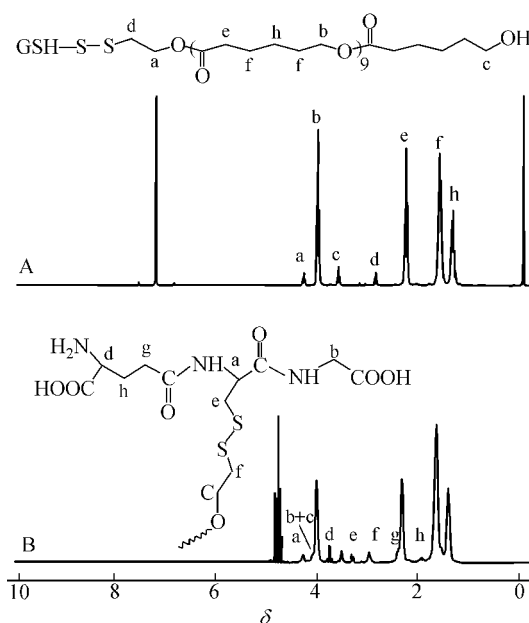
二硫键在一定条件下是可逆的,因此在生物材料方面有广泛的应用^[20, 21].马来酰亚胺和巯基加成后形成的 C-S 键在一般条件下比较稳定,所以 GSH 和 M-PCL 加成得到的聚合物 GS-PCL 在水溶液中聚集时仅对环境的 pH 值敏感,而当 GSH 及端基为巯基 T-PCL 偶联形成连接键为二硫键的 GSS-PCL 时,则此聚合物除了具有 pH 敏感性外,还能在一定还原条件下分解,从而可应用于药物释放体系中.巯基可在氧化条件下直接生成二硫键,本文利用 GSH 和 T-PCL 在 DMSO 中共热形成 GSS-PCL 的方法^[22],合成了含有二硫键的 GSH 端基修饰的聚己内酯.从反应的配比来看, GSH 是 10 倍过量的,这样可以大大减小两个 PCL

Fig. 2 ^1H -NMR spectrum of GS-PCL₁₀ in D₂OFig. 3 GPC traces of M-PCL₁₀ and GS-PCL₁₀

分子进行偶合的几率.从 ^1H -NMR 中(图 4A)可以看出,化学位移在 $\delta = 2.75$ 的质子峰对应于巯基相邻的亚甲基,形成二硫键后移动到 $\delta = 2.95$,同时,位于 $\delta = 4.2$ 的与氧相连的亚甲基也移动到 $\delta = 4.4$,说明二硫键的形成,即 GSS-PCL 的形成.在 CDCl_3 中,GS-PCL 部分由于强烈的氢键作用而运动受阻,因此在 ^1H -NMR 图谱中没有信号.化学位移 $\delta = 4.0$ ($-\text{OCH}_2-$) 和 3.6 ($-\text{CH}_2\text{OH}$) 处质子峰的积分比为修饰后的聚合物主链的聚合度,在反应前后没有变化,说明在 DMSO 中加热没有影响聚合物的主链.在 D_2O 中的 ^1H -NMR 图谱中,可以清楚观察到 GS-PCL 部分的质子峰,说明我们已经合成了 GSS-PCL (图 4B).

2.4 GS-PCL 和 GSS-PCL 在水中的聚集行为

由于含有亲水的 GS 端基,GS-PCL 和 GSS-PCL 表现出两亲性质,能够在一定 pH 值的水溶液中形成具有蓝色乳光的溶液.我们首先测定了其临界聚集浓度 (CAC).利用透光率测得的 GS-PCL 在 pH 为 10.0, 6.86 和 4.00 下的临界聚集浓度分

Fig. 4 ^1H -NMR spectra of GSS-PCL₁₀ (A) in CDCl_3 and (B) in D_2O

别为 0.029 mg/mL, 0.021 mg/mL 和 0.014 mg/mL; 在 pH 为 8 时, GSS-PCL 的 CAC 为 0.016 mg/mL. 可以看到, GS-PCL 在较低 pH 下具有较低 CAC, 说明低 pH 值下 GS-PCL 更容易聚集. 图 5 为 GS-PCL 在 pH 值分别为 9.0 和 7.3 的水溶液中形成的聚集形态的透射电镜照片, 聚集态浓度为 0.5 mg/mL, 远高于此时的临界聚集浓度. 可以看到, 当 pH 为 9.0 时, 聚集态为球形聚集态. 而当 pH 变为 7.3 时, 聚集态尺寸发生较大改变. GS-PCL 是由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸组成的三肽, 分子中有两个羧基和一个氨基, 因此可以粗略地将 GS-PCL 看成一个大的氨基酸分子 (示意图 2), 那么可以估算 GS-PCL 中各个羧基和氨基的 pK_a , 从而可以近似地知道在不同 pH 下 GS-PCL 所带的电荷数, 定性比较 GS-PCL 修饰聚合物的亲水性. 当 pH 为 9.0 时, 聚合物在水中形成直径大小为 50 nm 的聚集态; 当 pH 降低时, GS-PCL 中部分羧酸根变为羧基而使平均带电荷量减少, 亲水性降低, GS-PCL 就需要改变聚集态形态来达到新的亲水/疏水平衡, 此时聚集态为直径约 80 nm 的球形聚集态. 如果 pH 再降低, GS-PCL 的亲水链段就不能稳定所形成的聚集态, 而使得聚合物从水中沉淀出来. 这种在同一个聚合物中, 由于环境因素改变导致亲水性降低而使水中形成的聚集态尺寸形态发生改变的现象, 与报道中的两亲性嵌段共聚物的 pH 响应性是一致的^[23] 相似地, GSS-PCL 也具有 pH 敏感性, 图 6 分

别给出 GSS-PCL 在不同 pH 的水溶液中形成的聚集体的 TEM 照片,从中可以看出,随着 pH 的降

低,GSS-PCL 在缓冲溶液中形成的聚集体尺寸从直径 25 nm 增加到 40 nm.

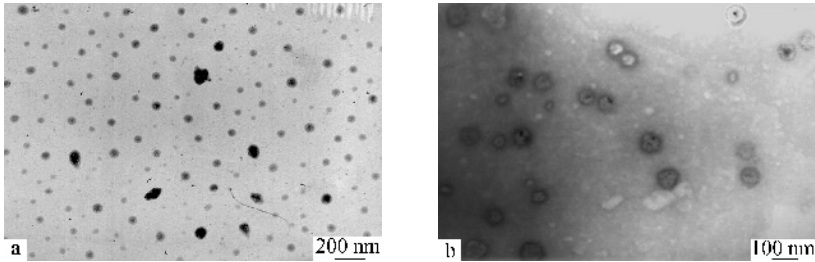
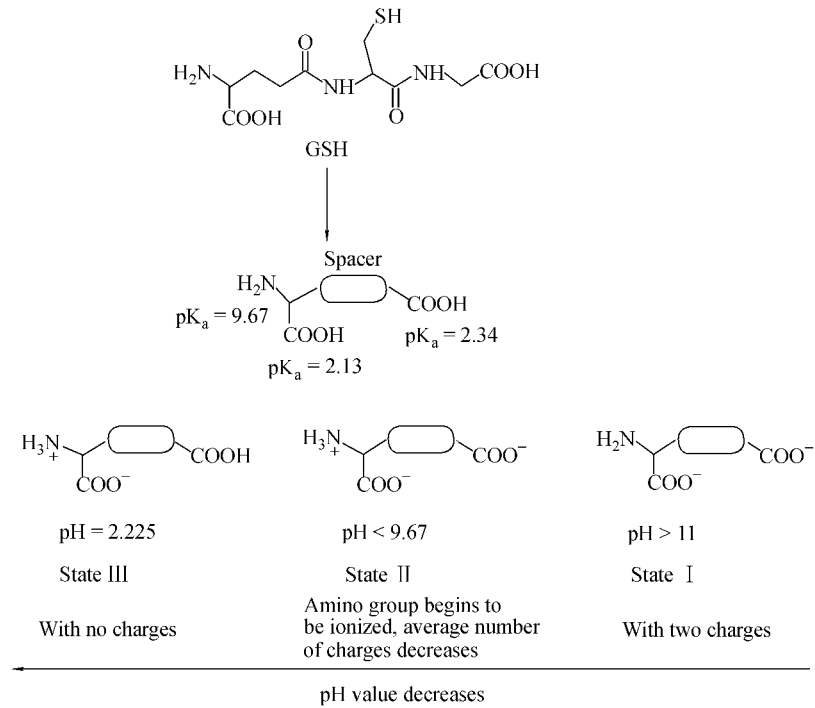


Fig. 5 TEM images of aggregates formed by GS-PCL₁₀ at different pH
a) pH = 9.0 ; b) pH = 7.3 ; [GS-PCL₁₀] = 0.5 mg/mL.



Scheme 2 GSH at different pH

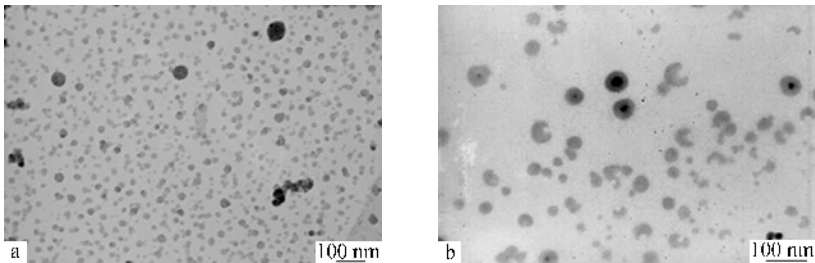


Fig. 6 TEM images of aggregates formed by GSS-PCL₁₀ at different pH
a) pH = 10 ; b) pH = 8 ; [GSS-PCL₁₀] = 0.5 mg/mL.

2.5 GSS-PCL 在 DTT 下的分解

DTT 是一种很强的还原剂,常用来在水相中还原二硫键.在 pH 为 8.0 的硼酸/硼酸钠缓冲溶液中,GSS-PCL 可以形成直径约为 40 nm 的稳定

聚集体,当一部分 GSS-PCL 被还原后,聚集体亲水性降低不足以维持稳定的球形形态,聚集体即被破坏,聚合物沉淀出来.测定沉淀样品在 CDCl₃ 中的¹H-NMR 图谱,发现在还原 24 h 后,大约一半

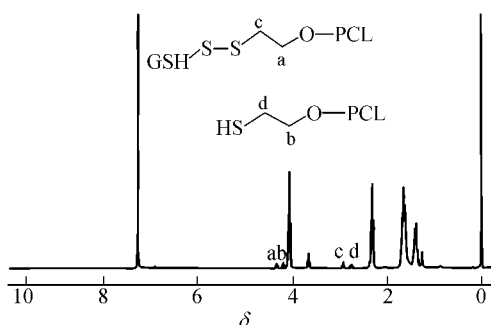


Fig. 7 ^1H -NMR spectrum of GSS-PCL₁₀ after being reduced by dithiothreitol (DTT)

GSS-PCL 被还原为 T-PCL(图 7).从图 7 中可以看到,还原后的沉淀物中, $\delta = 3.6$ 处的质子峰对应聚合物末端与羟基相连的亚甲基, $\delta = 4.0$ 处聚合物主链质子峰与之积分比可以算出聚合物的平均聚合度为 9,证明还原反应只是破坏二硫键而不

涉及聚酯的降解.由于生物体内某些细胞中存在着还原性环境^[24],因此 GSS-PCL 很有可能作为一种新型的生物可降解药物载体材料应用于药物释放体系中.

综上所述,用两种方法合成了谷胱甘肽端基修饰的聚己内酯,(1) GSH 与端基为马来酰亚胺基团的 PCL 的迈克尔加成反应;(2) GSH 与端基为巯基的 PCL 的偶联反应.这两种端基修饰的方法,还可以广泛应用于其他生物降解性聚酯的端基修饰.所得两种两亲性聚己内酯能够在水中形成聚集体,由于亲水端基的亲水性受溶液 pH 影响,因而聚集体表现出 pH 敏感性,在 pH 高时,聚集体为球形胶束,随着 pH 的降低,聚集体尺寸增大,或改变形态.同时,由 GSS-PCL 形成的聚集体在还原剂存在下,可部分还原为 PCL 和 GSH,聚集体被破坏.

REFERENCES

- Allen C, Han J, Yu Y S, Maysinger D, Eisenberg A J. *Controlled Release*, 2000, 63 :275 ~ 286
- Gref R, Minamitake Y, Peracchia M T, Trubetskoy V S, Torchilin V P, Langer R. *Science*, 1994, 263 :1600 ~ 1603
- Xiong X Y, Tam K C, Gan L H. *J Controlled Release*, 2005, 103 :73 ~ 82
- Li S, Garreau H, Pauvert B, McGrath J, Toniolo A, Vert M. *Biomacromolecules*, 2002, 3 :525 ~ 530
- Luo L, Tam J, Maysinger D, Eisenberg A. *Bioconjugate Chem*, 2002, 13 :1259 ~ 1265
- Li S M, Rashkov I, Espartero J L, Manolova N, Vert M. *Macromolecules*, 1996, 29 :57 ~ 62
- Jeong B, Kibbey M R, Birnbaum J C, Won Y Y, Gutowska A. *Macromolecules*, 2000, 33 :8317 ~ 8322
- Yuan Jianjun(袁建军), Li Yingshun(李英顺), Zhu Huiguang(朱慧光), Cheng Shiyuan(程时远), Jiang Lei(江雷), Feng Linxian(封麟先), Fan Zhiqiang(范志强). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2004, (1) :1 ~ 7
- Arimura H, Ohya Y, Ouchi T. *Biomacromolecules*, 2005, 6 :720 ~ 725
- Parrish B, Breitenkamp R B, Emrick T. *J Am Chem Soc*, 2005, 127 :7404 ~ 7410
- Li Y, Li Q B, Zhang H Y, Jia L, Yu J Y, Fang Q, Cao A M. *Biomacromolecules*, 2006, 7 :224 ~ 231
- Hamilton D S, Ding Z, Ganem B, Creighton D J. *J Am Chem Soc*, 2006, 128 :1078 ~ 1079
- Mahajan S S, Paranj R, Mehta R, Lyon R P, Atkins W M. *Bioconjugate Chem*, 2005, 16 :1019 ~ 1026
- Deng G H, Chen Y M. *Macromolecules*, 2004, 37 :18 ~ 26
- Dai S, Ravi P, Tam K. C, Mao B W, Gan L H. *Langmuir*, 2003, 19 :5175 ~ 5177
- Nasongkla N, Shuai X T, Ai H, Weinberg B D, Pink J, Boothman D A, Gao J M. *Angew Chem Int Ed*, 2004, 43 :6323 ~ 6327
- Möller M, Känge R, Hedrick J L. *J Polym Sci Part A :Polym Chem*, 2000, 38 :2067 ~ 2074
- Carrot G, Hilborn J G, Trollsås M, Hedrick J L. *Macromolecules*, 1999, 32 :5264 ~ 5269
- Hedfors C, Ostmark E, Malmström E, Hult K, Martinelle M. *Macromolecules*, 2005, 38 :647 ~ 649
- Shu X Z, Liu Y C, Luo Y, Roberts M C, Prestwich G D. *Biomacromolecules*, 2002, 3 :1304 ~ 1311
- Heredia K L, Bontempo D, Ly T, Byers J T, Halstenberg S, Maynard H D. *J Am Chem Soc*, 2005, 127 :16955 ~ 16960
- Liang Z A, Meng Y Z, Li L, Du X S, Hay A S. *Macromolecules*, 2004, 37 :5837 ~ 5840
- Cameron N S, Corbierre M K, Eisenberg A. *Can J Chem*, 1999, 77 :1311 ~ 1326
- Oishi M, Hayamam T, Akiyama Y, Takae S, Harada A, Yamasaki Y, Nagatsugi F, Sasaki S, Nagasaki Y, Kataoka K. *Biomacromolecules*, 2005, 6 :2449 ~ 2454

SYNTHESIS OF GLUTATHIONE-TERMINATED POLY(ϵ -CAPROLACTONE) AND ITS SELF-ASSEMBLY IN AQUEOUS SOLUTION

XU Ning, DU Fusheng, LI Zichen

(Department of Polymer Science & Engineering, College of Chemistry, Peking University, Beijing 100871)

Abstract Two kinds of end-functionalized poly(ϵ -caprolactone)s, maleimido-PCL and HS-PCL, were synthesized by the ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone (ϵ -CL) with *N*-hydroxyl ethyl maleimide (HEME) and 2-mercaptoethanol (ME) as initiators, respectively. Polymerizations were catalyzed by tin (II) trifluoromethane ($\text{Sn}(\text{OTf})_2$) in bulk under mild conditions. These polymers showed low polydispersities and have functional groups at both ends. Two glutathione-terminated poly(ϵ -caprolactone) (GS-PCL and GSS-PCL) were then synthesized by Michael addition reaction of the maleimido-PCL with glutathione, or the coupling reaction of HS-PCL with glutathione, respectively. The structures of the two amphiphilic polyesters were confirmed by ^1H -NMR and GPC measurements. Glutathione groups on the chain end increased the hydrophilicity of PCL, therefore, the polyesters can self-assemble in aqueous buffer solutions. Transmission electron microscopy (TEM) measurements confirmed the formation of spherical aggregates with the diameter range from 20 ~ 80 nm, and the size of the aggregates was found to increase with the decrease of the pH of the buffer. In addition, aggregates from GSS-PCL showed redox-sensitive properties.

Key words Biodegradable, Poly(ϵ -caprolactone), Glutathione, pH-sensitive, Redox-sensitive