

末端巯基化聚己内酯和聚乙二醇-*b*-聚己内酯的 酶促合成及其性质研究*

侯静文 郭圣荣**

(上海交通大学药学院 上海 200240)

摘 要 在固定化脂肪酶 Novozym 435 催化下,分别以 2-巯基乙醇、单甲氧基聚乙二醇(MPEG)为引发剂引发 ϵ -己内酯(ϵ -CL)开环聚合制备了末端巯基化的聚己内酯(HS-PCL)和两亲性嵌段共聚物聚乙二醇-*b*-聚己内酯(PEG-*b*-PCL);用 IR、¹H-NMR、GPC 对聚合产物结构进行了表征;研究了引发剂/单体投料比、聚合时间和温度对聚合产物的影响;考察了 HS-PCL 的巯基在二甲亚砆、四氢呋喃、丙酮中氧化生成二硫键的活性;用动态激光光散射法和¹H-NMR 研究了 PEG-*b*-PCL 在水溶液中自组装体的尺寸和结构.结果表明,合成产物具有预期结构;固定化脂肪酶 Novozym 435 具有较高催化活性,在 70℃ 下催化 ϵ -CL 本体聚合,2 h 的单体转化率达到 80%;2-巯基乙醇和 MPEG 都可有效引发 ϵ -CL 开环聚合;HS-PCL 在大气氛下,在所研究的介质中,于一定温度放置一定时间后,样品的数均分子量增大,但未达到原分子量的 2 倍,表明一部分 HS-PCL 的巯基发生氧化反应生成了 PCL-S-S-PCL;PEG-*b*-PCL 在水溶液中自组装形成具有核壳结构的胶束,随共聚物中[CL]/[EO]由 0.23 增大到 1.70,胶束粒径由 64 nm 增大到 122 nm.

关键词 Novozym 435, HS-PCL, PEG-*b*-PCL, 二硫键, 自组装

聚己内酯(PCL)具有良好的生物相容性和生物可降解性,在生物医学及药物控制释放等方面得到广泛的应用和研究. PCL 一般用有机金属催化 ϵ -CL 单体开环聚合得到,但是苛刻的反应条件和重金属催化剂的残留毒性限制了合成 PCL 的应用.近年来发展起来的酶促内酯开环聚合解决了这一难题.相比其它催化方法,酶促聚合具有反应条件温和、催化剂无毒无残留、立体选择性等优点,受到广泛关注^[1~3].与自由酶相比,固定化酶不仅保持了自由酶的催化特性,而且对热、pH 等的稳定性提高,贮存稳定性高,回收重复使用后仍有较高的催化活性,因此被越来越广泛的应用于酶促聚合研究^[4,5].

巯基官能团的反应活性很高,可以在温和条件下被氧化形成二硫键,还可以与烯烃反应生成硫酯,巯基化合物还被广泛应用于辐射防护领域^[6].高分子链末端引入巯基修饰可以增加高分子的反应活性,进一步反应得到具有特殊结构和功能的新型高分子材料.通常高分子的末端官能化都是采用保护和去保护的化学方法,步骤繁多^[7~9].而脂酶催化具有化学选择性^[10,11],采用酶促聚合反应,可以实现高效简便的末端官能

化^[12]. Hedfors 等首次报道以固定化脂肪酶 Novozym 435 为催化剂,用 2-巯基乙醇引发 ϵ -CL 在 60℃ 下本体聚合制备末端巯基化的 PCL,所得产物巯基化度为 70%^[13];许宁等以三氟甲烷磺酸亚锡为催化剂、2-巯基乙醇为引发剂,引发 ϵ -CL 本体开环聚合得到端基为巯基的 PCL,产率为 50% ~ 70%,将得到的端基为巯基的 PCL 在 DMSO 中于 100℃ 下反应 48 h,能够生成中间含二硫键的 PCL^[14].

PCL 具有很强的疏水性,其生物降解速率也比其它聚酯慢得多.对 PCL 进行亲水性聚乙二醇(PEG)修饰,将使其亲疏水性和生物降解性得到改善,从而可得到新的更广泛的应用^[15]. He 等用 Novozym 435 催化、单甲氧基聚乙二醇(MPEG)引发 ϵ -CL 开环聚合制备了 2 种 PEG-*b*-PCL,产率为 63% 和 66%,分子量分布较宽,所得共聚物中 CL/EO 嵌段含量比值与投料比相差较大^[16].

本文以固定化脂肪酶 Novozym 435 为催化剂,分别采用溶液聚合和本体聚合的方法制备末端巯基化的 PCL,并研究溶液聚合中引发剂/单体投料比对产物巯基化度的影响,以及本体聚合中不同时间和温度对产物分子量和转化率的影响,以期

* 庆祝杨士林先生 90 华诞专稿;2009-03-03 收稿,2009-05-05 修稿;上海市科委重点项目(项目编号 08JC1411500)和上海市教委重点项目(项目编号 09ZZ24)资助; ** 通讯联系人, E-mail: srguo@sjtu.edu.cn

获得高巯基化度的 PCL; 考察末端巯基化的 PCL 在多种介质(DMSO、THF、丙酮和空气)中, 不同温度下巯基的氧化性或稳定性; 以 MPEG 为引发剂引发 ϵ -CL 开环聚合制备两亲嵌段共聚物 PEG-*b*-PCL, 考察投料比对产物分子量和组成的影响, 并研究 PEG-*b*-PCL 在水溶液中的自组装行为。

1 实验部分

1.1 材料与试剂

ϵ -CL, 购自 Acros Organics 公司, 用 CaH_2 干燥除水, 使用前减压蒸馏。单甲氧基聚乙二醇(MPEG), 平均分子量为 5000, 购自 Fluka 公司。固定化脂肪酶 Novozym 435(脂酶 CALB 固定在大孔性丙烯酸树脂上制成, CALB 含量为 10%), 购自 Novozymes 公司, 使用前 25℃ 真空干燥 2 天。2-巯基乙醇、甲苯、二氯甲烷、石油醚、甲醇、二甲亚砜(DMSO)、四氢呋喃(THF)、丙酮均购自上海化学试剂公司。甲苯在 CaH_2 存在下回流 8~12 h, 经蒸馏使用。

1.2 测试仪器及测试条件

红外光谱的测试采用 PARAGON 1000 红外光谱仪, 溴化钾压片。

$^1\text{H-NMR}$ 的测试采用 MERCURYplus 400 核磁共振仪, CDCl_3 或 D_2O 作溶剂, TMS 为内标。

凝胶渗透色谱 GPC, Waters 1525 Binary HPLC Pump, 2414 Refractive Index Detector, 测试温度 40℃, 以 THF 为淋洗剂, 流速 1 mL/min, 以聚苯乙烯为标样。

动态光散射(dynamic light scattering, DLS), Malvern Instrument Zetasizer Nano S, 4.0 mW He-Ne 激光光源, 激光波长 633 nm, 散射角度为 173°, 样品池为聚苯乙烯池, 样品的平衡时间为 15 min。

1.3 末端巯基化的聚己内酯的合成

将 50 mg Novozym 435(Novozym 435/ ϵ -CL = 10 wt%)放入聚合瓶中, N_2 下加入 4.38 mmol ϵ -CL 和一定量的 2-巯基乙醇, 溶液聚合时再加入 1 mL 干燥甲苯, 在磁力搅拌及设定温度下恒温反应一段时间。产物用二氯甲烷溶解或稀释, 过滤除去不溶的酶, 合并滤液并浓缩, 部分滤液直接真空干燥用于测定转化率, 剩余滤液甲醇中沉淀得到聚合产物, 真空干燥至恒重。

1.4 末端巯基化聚己内酯上巯基的氧化性

将 1.3 节合成的分子量为 4800 的 HS-PCL-1 分别加入 DMSO、THF 和丙酮中, 摇匀并在设定温

度下敞口静置 24 h。甲醇沉淀氧化后的产物, 真空干燥至恒重, 用于分析。

1.5 两亲嵌段共聚物 PEG-*b*-PCL 的合成

一定量的 MPEG 和 60 mL 甲苯加入 100 mL 两颈瓶中, 回流一段时间后蒸去 40 mL 甲苯。冷却至室温后, N_2 下加入一定量 Novozym 435 和 ϵ -CL (Novozym 435/ ϵ -CL = 10 wt%), 70℃ 恒温 20 h 后停止搅拌。用二氯甲烷稀释反应混合物, 过滤除去不溶的酶, 合并滤液并浓缩, 用石油醚沉淀, 抽滤, 再用甲醇洗涤除去未反应的 MPEG, 收集并真空干燥。

1.6 嵌段共聚物在水溶液中的自组装

将 20 mg 共聚物溶解在 5 mL 四氢呋喃(THF)中, 然后逐滴加入 10 mL MILLIPORE 超纯水中, 磁力搅拌过夜, 以除去 THF, 用 0.45 μm 水相滤膜过滤^[17]。用 DLS 分别测定共聚物胶束在 25℃、37℃ 和 50℃ 下水溶液中的水合直径与分布。

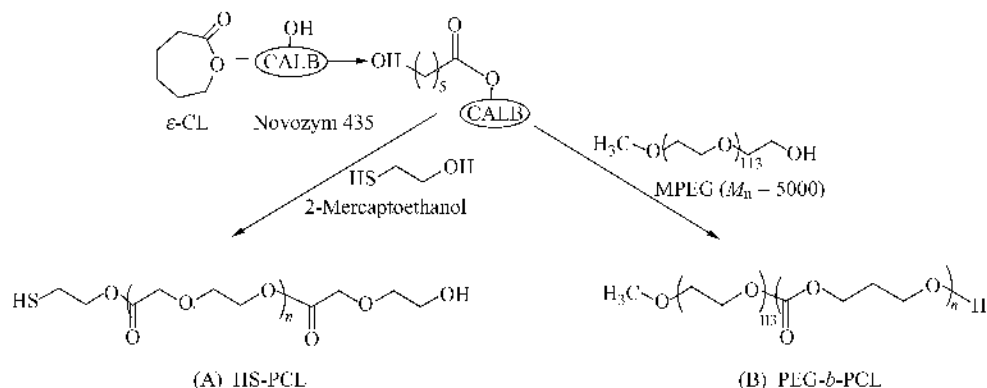
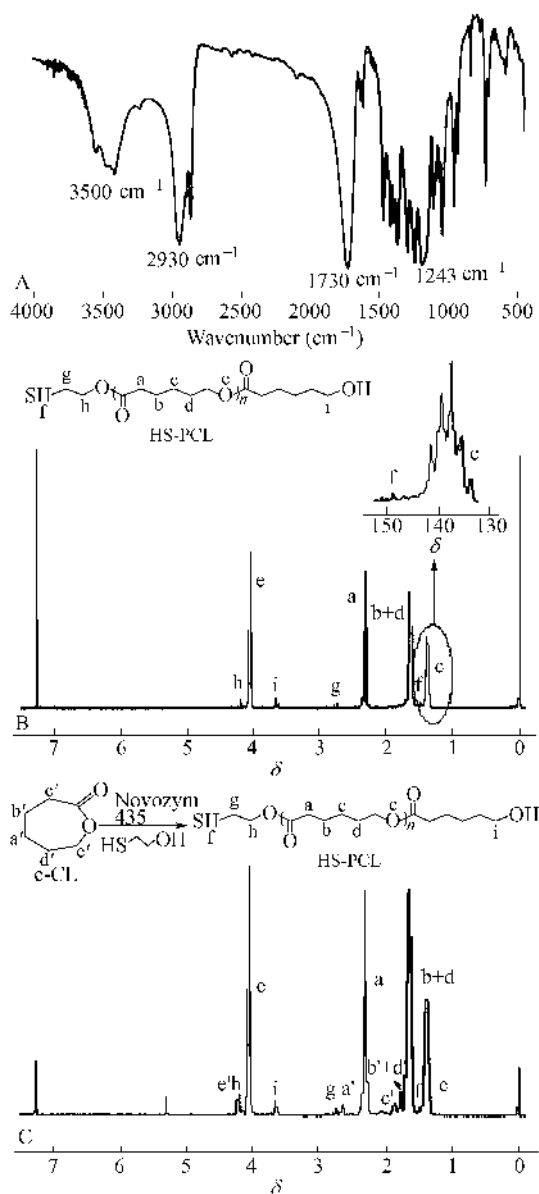
2 结果与讨论

以 Novozym 435 为催化剂, 分别以 2-巯基乙醇和 MPEG 为引发剂, 引发 ϵ -CL 开环聚合得到 HS-PCL 和 PEG-*b*-PCL(图 1)。

2.1 末端巯基化的聚己内酯(HS-PCL)

采用本体聚合, 考察了不同温度(60℃、70℃、90℃、110℃)和不同聚合时间(2、12、20、45、60 h)对聚合反应的影响; 采用溶液聚合(以甲苯为溶剂), 考察了不同 2-巯基乙醇/ ϵ -CL 投料比(1/19.5, 1/39, 1/195 和 1/390, mol/mol)对聚合产物分子量和末端巯基化程度的影响, 得到了巯基化度高达 100% 的聚合产物; 用 GPC、IR 和 $^1\text{H-NMR}$ 表征了所合成产物的结构和分子量; 研究了聚合物上巯基在多种介质(DMSO, THF, 丙酮)中氧化形成二硫键的活性, 还考察了固态下 HS-PCL 末端巯基在空气中的稳定性。

2.1.1 结构表征 以 2-巯基乙醇引发 ϵ -CL 聚合得到产物的 GPC 曲线为一较窄的对称的单峰, 初步说明酶促聚合反应成功, 得到产物比较均匀。从聚合产物的 IR 图谱(图 2A)可见 3500 cm^{-1} 处有一 OH 伸缩振动引起的特征吸收峰; 1730 cm^{-1} 处有较大的吸收峰, 归属于 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动; 1243 cm^{-1} 处的特征峰由酯单元 $\text{COO}-\text{CH}_2$ 中 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 伸缩振动引起; 2930 cm^{-1} 处有一 CH_2 中 $\text{C}-\text{H}$ 伸缩振动的特征吸收峰。从聚合产物的 $^1\text{H-NMR}$ 图谱(图 2B)可见 $\delta = 4.07$ (e)、2.29 (a)、

Fig. 1 Synthetic process of (A) HS-PCL and (B) PEG-*b*-PCL

1.66 (b + d)和 1.40 (c)处具有质子峰,它们分别归属于聚己内酯重复结构单元的不同亚甲基上的质子; $\delta = 1.49$ (f)处的特征峰对应于巯基上的质子; $\delta = 2.73$ (g)和 4.19 (h)处的特征峰分别归属于巯基相邻亚甲基上的质子; $\delta = 3.65$ (i)处的特征峰归属于羟基相邻亚甲基上的质子; $\delta = 5.4$ 处质子峰归属于残留的二氯甲烷中的亚甲基.基于上述结果可知,以 Novozym 435 为催化剂,2-巯基乙醇为引发剂,引发 ϵ -CL 开环聚合得到了末端巯基化的聚己内酯(HS-PCL).

图 2(C)是本体聚合时间为 12 h 的反应混合物的¹H-NMR谱图,除了图 2(B)中已归属于 HS-PCL 的质子特征峰之外,图 2(C)中还有位于 $\delta = 4.24$ (e'), 2.64 (a'), 1.87 (c')和 1.77 (b' + d')处的特征峰,分别对应于 ϵ -CL 单体的亚甲基质子,由 $\delta = 4.07$ (e)和 4.24 (e')处特征峰的积分面积比可以计算得出 ϵ -CL 单体的转化率.

2.1.2 温度对酶促 ϵ -CL 开环聚合的影响 从表 1 可知,随温度从 60℃升高到 90℃,聚合产物的分子量不断增大;单体转化率在 70℃下最高;在 110℃下,未能分离得到聚合产物.这表明温度对聚合产物的分子量及转化率都有影响,温度过高会导致催化剂失活.值得一提的是在 90℃下单体转化率只有 60%,而聚合产物的分子量相对较高,这可能是由于 2-巯基乙醇在较高温度下有较多的蒸气,而使单体溶液中 2-巯基乙醇的量降低.综合考虑聚合温度对转化率和分子量的影响,选 70℃的聚合温度条件开展后续的实验.

Fig. 2 IR (A), ¹H-NMR (B) spectra of purified HS-PCL and ¹H-NMR (C) spectrum of crude HS-PCL

Table 1 Bulk ring-opening polymerization of ϵ -CL at different temperatures^a

Entry	Temperature (°C)	Conversion ^b (%)	$M_{n, GPC}$	PDI _{GPC}
1	60	85	4600	1.7
2	70	95	9800	1.3
3	90	60	12300	1.3
4	110	—	—	—

^a Polymerization time: 20 h; 2-Mercaptoethanol: 0.22 mmol; Novozym 435: 50 mg; ϵ -CL: 4.38 mmol; ^b Based on the ¹H-NMR data (see Fig. 2C)

2.1.3 时间对酶促 ϵ -CL 开环聚合的影响 在 Novozym 435 浓度为 10 wt%、 ϵ -CL 投料量为 26 mmol、2-巯基乙醇 1.35 mmol、聚合温度 70℃ 的条件下,考察反应时间对聚合产物的分子量和转化率的影响.从图 3 可见,2 h 时 ϵ -CL 单体转化率就已经达到 80%,12 h 时升高到 92%,45 h 时转化率接近 100%;在 2~20 h 范围内随反应时间延长,聚合产物的分子量增大,20 h 以后,聚合物的分子量反而随聚合时间延长而降低.反应时间过长引起的分子量降低可能与酶促反应是一种平衡反应有关.酶既催化聚合,也能催化降解.反应初期,主要是酶催化聚合;反应后期,单体基本转化完全,酶催化降解作用逐渐显现,导致分子量降低.

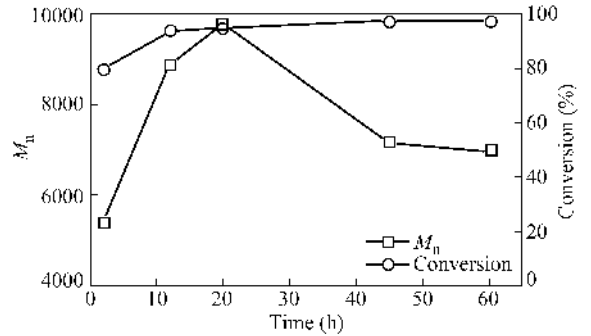


Fig. 3 Influences of the reaction time on M_n of HS-PCL and conversion of ϵ -CL

2.1.4 引发剂/单体投料比对聚己内酯巯基化度的影响 采用酶促溶液聚合制备 HS-PCL,聚合产物中 HS-PCL 的含量可以由¹H-NMR 谱图中的末端巯基邻位的亚甲基质子(g)和末端羟基邻位的亚甲基质子(i)的特征峰面积(图 2B)比计算得出.从表 2 可知,随引发剂/单体投料比降低,聚合产物的分子量增大;在引发剂/单体投料比为 1/19.5~1/195 (mol/mol)范围内,聚合产物末端巯基化的比例为 96%以上;当引发剂/单体投料比太低

(1/390, mol/mol)时,聚合产物末端巯基化的比例只有 70%,这可能是因为体系中的痕量水与 2-巯基乙醇竞争引发 ϵ -CL 开环聚合,2-巯基乙醇的量降低时,水引发的聚合相对增多,聚合物的巯基化度便会降低.引发剂/单体投料比降低,也就是单体量相对引发剂增大,从而导致聚合物分子量增大.

Table 2 Effects of the feed ratio of 2-mercaptoethanol to ϵ -CL on M_n and the fraction of HS-PCL^a

Polymers	2-Mercaptoethanol/ ϵ -CL (mol/mol)	Fraction of HS-PCL ^b (%)	$M_{n, GPC}$	PDI _{GPC}	Yield (%)
HS-PCL-1	1/19.5	100	4800	1.7	86
HS-PCL-2	1/39	100	8900	1.5	76
HS-PCL-3	1/195	96	12400	2.0	86
HS-PCL-4	1/390	70	21300	1.5	86

^a Polymerization temperature: 70℃; Polymerization time: 20 h; ϵ -CL: 4.38 mmol; Novozym 435: 50 mg; Toluene: 1 mL; ^b Based on the ¹H-NMR data

2.1.5 HS-PCL 上巯基的氧化性 图 4 是将 HS-PCL-1(表 2)溶解在 DMSO 中,于大气环境中静置 24 h 后分离得到的产物的¹H-NMR 谱图.和图 2 (B)相比,图 4 中位于 $\delta = 1.49$ 处的末端巯基质子特征峰消失,其它质子峰依然存在,表明末端的巯基可能被氧化.

用 GPC 表征了氧化前后的聚合物分子量变化.分子量为 4800 的 HS-PCL-1 室温下在空气中放置 48 h 后分子量没有变化,¹H-NMR 谱图中依然有一-SH 的特征峰,说明末端巯基没有发生氧化.将 HS-PCL-1 于 70℃下加热溶解在 DMSO 中,在大气环境中放置 6 h 后,所得产物分子量为 7400,放置时间延长至 24 h 后,分子量增大为 9200;而在 37℃下放置 24 h 后,所得产物分子量为 6600.这表明所得产物在相同温度下,随时间延长,分子量增大;在相同时间内,随温度升高,分子量增大.应该指出的是在各种条件下得到的氧化产物的分子量虽有增大,但均不大于 HS-PCL 分子量的 2 倍.产物分子量增大可能是由于部分 HS-PCL 分子上巯基发生氧化反应生成分子量为 HS-PCL 2 倍的 PCL-S-S-PCL(图 4 所示结构式).将 HS-PCL-1 于 37℃溶解在其它溶剂如 THF 或丙酮中,在大气环境中静置 24 h 后,产物的分子量都有不同程度的提高,分别为 8200 和 7400,均小于 HS-PCL 分子量的 2 倍.

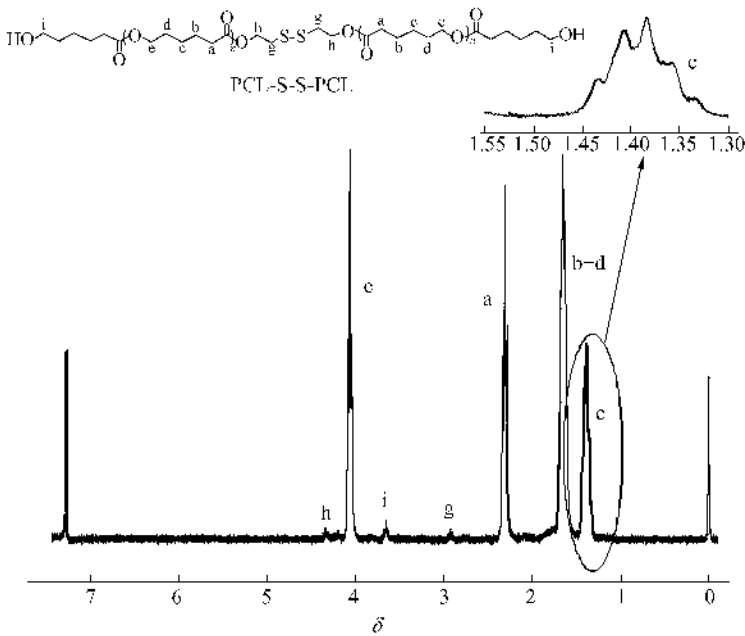


Fig. 4 ¹H-NMR spectrum of HS-PCL-1 in DMSO for 24 h in ambient atmosphere at 70°C

2.2 两亲性嵌段共聚物 PEG-*b*-PCL

以 Novozym 435 为催化剂、MPEG 为大分子引发剂,引发 ε-CL 聚合,制备了 4 种不同组成和分子量的产物,产率高达 86% ~ 94%,分子量分布

较窄,为 1.2 ~ 1.4, GPC 测得的聚合物分子量与由投料比计算得到的理论分子量基本吻合(表 3),表明说明酶促聚合反应成功,产物均匀,得到的产物分子量可控.

Table 3 Molecular weights and composition of the PEG-*b*-PCL diblock copolymers

Polymers	[CL]/[EO] in feed (mol/mol)	[CL]/[EO] in product ^a (mol/mol)	<i>M</i> _n ^b	<i>M</i> _{NMR}	<i>M</i> _{n, GPC}	PDI _{GPC}	Yield (%)
PEG- <i>b</i> -PCL-1	1.54	1.70	25000	27000	26800	1.4	94
PEG- <i>b</i> -PCL-2	0.72	0.77	14300	15000	14300	1.2	86
PEG- <i>b</i> -PCL-3	0.39	0.35	10000	9600	9800	1.2	90
PEG- <i>b</i> -PCL-4	0.21	0.23	7700	8000	8100	1.2	88

^a Calculated according the ¹H-NMR data; ^b Calculated by the feed ratio

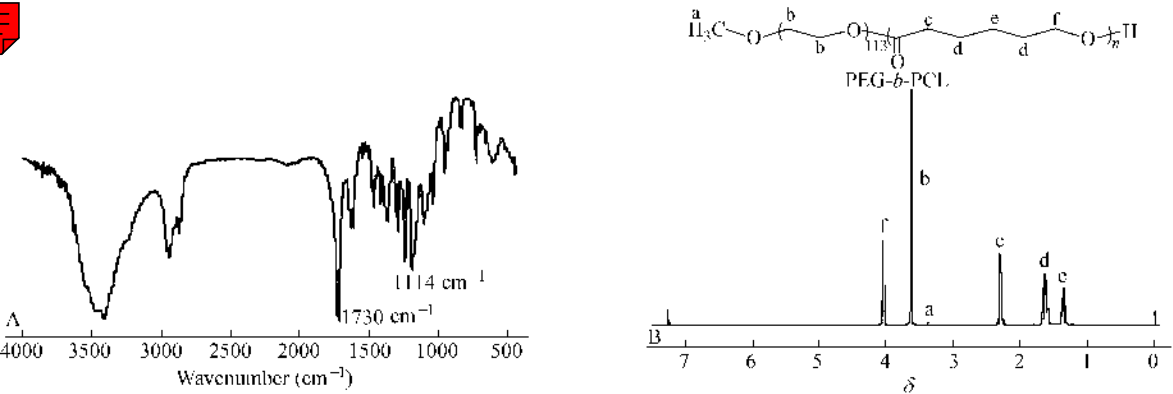


Fig. 5 IR (A) and ¹H-NMR (B, in CDCl₃) spectra of PEG-*b*-PCL

从聚合产物的 IR 图谱(图 5A)可知,在 1730 cm⁻¹ 处有一强的吸收峰,归属于 PCL 嵌段中—C=O 的伸缩振动;1114 cm⁻¹ 处的吸收峰,归属

于 PEG 嵌段的 C—O—C 强伸缩振动.从¹H-NMR 图谱(图 5B)可知,各个特征峰分别可归属于 PEG-*b*-PCL 分子中各质子(a, b, c, d, e, f).以上结果表

明聚合产物为 PEG-*b*-PCL. 由位于 $\delta = 4.05$ 和 3.65 处的特征峰面积之比以及 PEG 嵌段的分子量可以计算得到聚合产物的分子量 M_{NMR} (表 4), M_{NMR} 与理论分子量基本一致, 说明 ϵ -CL 单体基本上都是通过 MPEG 引发开环聚合的.

将 PEG-*b*-PCL 的 THF 溶液滴加到水中, 除去 THF 后, 用动态光散射法测定样品. 从表 4 可知,

PEG-*b*-PCL 在水中形成了纳米粒子, 不同聚合物形成纳米粒子的粒径在 50 ~ 130 nm 之间, 多分散指数 PDI 均小于 0.25, 表明粒径分布相当均匀; 对同一聚合物样品来说, 在 25 ~ 50℃ 范围内, 纳米粒子粒径变化不大, 保持稳定; 随着 PEG-*b*-PCL 的分子量增大 (PCL 链段增长), 纳米粒子粒径增大.

Table 4 Hydrodynamic diameters of the MPEG-PCL diblock copolymer nanoparticles

Polymers	Diameters (nm) (25℃)	PDI (25℃)	Diameters (nm) (37℃)	PDI (37℃)	Diameters (nm) (50℃)	PDI (50℃)
PEG- <i>b</i> -PCL-1	122.2 ± 0.8	0.132 ± 0.017	116.8 ± 0.9	0.147 ± 0.039	110.7 ± 1.0	0.092 ± 0.035
PEG- <i>b</i> -PCL-2	76.8 ± 1.0	0.187 ± 0.013	75.3 ± 0.8	0.174 ± 0.015	71.3 ± 0.2	0.171 ± 0.019
PEG- <i>b</i> -PCL-3	63.7 ± 0.2	0.140 ± 0.007	61.3 ± 0.3	0.125 ± 0.013	60.0 ± 0.1	0.099 ± 0.022
PEG- <i>b</i> -PCL-4	64.4 ± 0.3	0.216 ± 0.001	57.5 ± 0.4	0.170 ± 0.008	52.2 ± 0.3	0.127 ± 0.015

和图 5(B)相比, 图 6 中 PEG-*b*-PCL 中 PEG 链段的质子峰信号强烈, 而 PCL 链段的质子峰微弱或不明显, 表明 PEG 嵌段在水中呈伸展状态, 而 PCL 嵌段在水中呈高度收缩状态, 为固态. 结合表 5, 可以认为, PEG-*b*-PCL 在水中自组装形成了由 PCL 链段高度收缩聚集形成的核和 PEG 链段溶解在水中并充分舒展形成的壳构成的具有一定尺寸的纳米粒子, 即胶束.

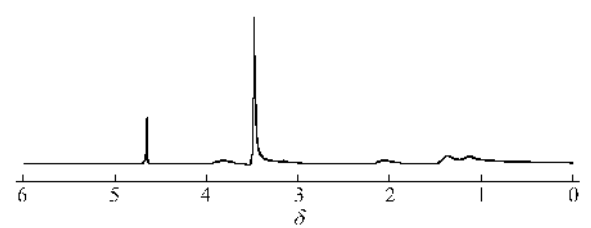


Fig. 6 ^1H -NMR spectrum of PEG-*b*-PCL in D_2O

3 结论

在固定化脂肪酶 Novozym 435 催化下, 采用溶液聚合的方法, 以 2-巯基乙醇为引发剂, 引发 ϵ -CL 开环聚合制备了巯基化度高达 100% 的 HS-PCL; 以 MPEG 为大分子引发剂制备的两亲性嵌段共聚物 PEG-*b*-PCL 的分子量和组成可通过改变引发剂/单体投料比进行有效调节; 固态 HS-PCL 在室温下置于空气中不会发生氧化; 将 HS-PCL 溶解在 DMSO、THF 和丙酮中会氧化生成 PCL-S-S-PCL; PEG-*b*-PCL 在水中可以自组装形成胶束, 随着共聚物中 PCL 嵌段含量的增加, 胶束的粒径变大. 酶催化合成的这两类聚合物不含有毒催化剂残留物, 具有良好的安全性.

REFERENCES

1 Al-Azemi T F, Bisht K S. J Polym Sci Part A: Polym Chem, 2002, 40: 1267 ~ 1274
2 Gross R A, Kumar A, Kalra B. Chem Rev, 2001, 101: 2097 ~ 2124
3 Kobayashi S, Uyama H, Kimura S. Chem Rev, 2001, 101: 3793 ~ 3818
4 Feng Jun(冯俊), Wang Hua fen(王华芬), Li Shuangfeng(李双凤), Zhuo Renxi(卓仁禧). Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 2008, (7): 686 ~ 1096
5 Varmaa I K, Albertssonb A C, Rajkhowaa R, Srivastava R K. Prog Polym Sci, 2005, 30: 949 ~ 981
6 Fomenko D E, Mariano S M, Gladyshev V N. Mol Cells, 2008, 26: 228 ~ 235
7 Kast C E, Bernkop-Schnürch A. Biomaterials, 2001, 22: 2345 ~ 2352
8 Lele B S, Leroux J C. Macromolecules, 2002, 35: 6714 ~ 6723
9 Carrot G, Hilborn J, Hedrick J L, Trollsås M. Macromolecules, 1999, 32: 5171 ~ 5173
10 Iglesias L E, Baldessari A, Gros E G. Bioorg Med Chem Lett, 1996, 6: 853 ~ 856
11 Sproull K C, Bowman G T, Carta G, Gainer J L. Biotechnol Prog, 1997, 13: 71 ~ 76
12 Kato M, Toshima K, Matsumura S. Biomacromolecules, 2009, 10: 366 ~ 373
13 Hedfors C, Stmark E, Malmström E, Hult K, Martinelle M. Macromolecules, 2005, 38: 647 ~ 649
14 Xu Ning(许宁), Wang Rui(王睿), Du Fusheng(杜福胜), Li Zichen(李子臣). Chemical Journal of Chinese Universities(高等学校化学学报),

2007, 28: 1791 ~ 1795

- 15 Park J S, Woo D G, Sun B K, Chung H M, Im S J, Choi Y M, Park K, Huh K M, Park K H. *J Control Release*, 2007, 124: 51 ~ 59
- 16 He F, Li S M, Vert M, Zhuo R X. *Polymer*, 2003, 44: 5145 ~ 5151
- 17 Zhang Y Q, Guo S R, Lu C F, Liu L, Li Z H, Gu J R. *J Polym Sci Part A: Polym Chem*, 2007, 45: 605 ~ 613

LIPASE-CATALYZED SYNTHESIS AND PROPERTIES OF THIOL END-FUNCTIONALIZED POLYCAPROLACTONE AND POLY(ETHYLENE GLYCOL)-*b*-POLYCAPROLACTONE

HOU Jingwen, GUO Shengrong

(*School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240*)

Abstract Thiol end-functionalized polycaprolactone (HS-PCL) and amphiphilic poly(ethylene glycol)-*b*-polycaprolactone (PEG-*b*-PCL) were synthesized *via* ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone (ϵ -CL) using Novozym 435 (immobilized form of lipase B from *Candida antarctica*) as biocatalyst, and 2-mercaptoethanol and methoxy poly(ethylene glycol) (MPEG) as initiators, respectively. The structure of the obtained polymers was characterized by means of IR, ^1H -NMR and GPC. The effects of the feed ratio of initiator to CL, polymerization temperature and time on the monomer conversions and molecular weights of polymers were investigated. Oxidation of the thiol end groups of HS-PCL to form disulfide bonds was studied in a series of solvents including DMSO, THF and acetone. The structure and sizes of the copolymer PEG-*b*-PCL micelles were analyzed by means of DLS and ^1H -NMR. The results showed that the obtained polymers had the expected structure; Novozym 435 had high catalytic activity, for the bulk polymerization with 10 wt% Novozym 435, the monomer conversion achieved *ca.* 80% within 2 h at 70°C; 2-mercaptoethanol and MPEG could effectively initiate the ring-opening polymerization of CL; HS-PCL samples were placed in DMSO (or THF or acetone) under ambient atmosphere at a certain temperature, such as 37°C or 70°C, the molecular weights of the oxidized products increased, but less than 2 times that of HS-PCL, indicating that some HS-PCL molecules were oxidized to form PCL-S-S-PCL. The PEG-*b*-PCL copolymers could self-assemble into nano-sized micelles composed of hydrophobic PCL core and hydrophilic PEG shell in aqueous solution. The hydrodynamic diameters of micelles varied from 64 nm to 122 nm as the increase of $[\text{CL}]/[\text{EO}]$ of copolymer from 0.23 to 1.70.

Keywords Novozym 435, HS-PCL, PEG-*b*-PCL, Disulfide bonds, Self-assembly