

聚乙二醇-聚谷氨酸-聚丙氨酸三嵌段共聚物的合成 及其胶束的 pH-响应性药物控制释放^{*}

王 铮¹ 于树芳¹ 顾 鑫¹ 伍国琳^{1**} 王亦农¹ 高 辉² 马建标²

(¹ 功能高分子材料教育部重点实验室 南开大学高分子化学研究所 天津 300071)

(² 天津理工大学化学化工学院 天津 300191)

摘 要 通过大分子引发剂 ω -胺基- α -甲氧基聚乙二醇引发 *N*-羧基- α -氨基环内酸酐开环聚合和酸性水解制备了一种具有 pH-响应性的三嵌段共聚物聚乙二醇-聚谷氨酸-聚丙氨酸 (mPEG-PLGA-PLAA). 通过核磁共振、 ζ -电势、动态光散射、电子显微镜等手段表征了此类三嵌段共聚物的自组装过程及所形成胶束的 pH-响应性. 使用圆二色谱和红外光谱, 分析了胶束结构随环境 pH 值转变过程中聚氨基酸链段二级结构的变化. 以阿霉素作为模型药物, 研究了三嵌段共聚物的载药能力和在不同 pH 条件下的药物释放能力. 在碱性条件下, PLGA 链段去质子化, 链段从疏水性变为亲水性, 胶束中间层由于水合作用变得松散, 药物释放速率增加; 在酸性条件下, PLGA 链段质子化, 不带电荷, 与阿霉素药物分子间的静电相互作用消失. 同时, PLGA 链段 α -螺旋含量增加, 形成由链内氢键维持的刚性棒状结构, 将链段周围包埋的药物分子“挤出”, 加速了药物的释放.

关键词 聚天冬氨酸, 药物释放, 阿霉素, 胶束, pH-响应

传统化疗药物在正常组织和肿瘤组织之间缺乏特异性, 使其临床应用受到很大限制. 如何减少非靶器官的药物浓度、增强疗效、减轻毒副作用, 已成为临床抗癌药物应用的一个热门课题. 利用肿瘤细胞外、细胞内和正常组织 pH 环境的差异, 设计根据环境 pH 值变化自动调节结构和形态的聚合物载药纳米粒子、实现肿瘤靶向药物释放, 是目前抗癌药物载体研究的一个重要方面^[1-3]. 聚氨基酸类材料具有良好的生物相容性和生物可降解性广泛应用于药物载体领域^[4-9]. 另外, 一些氨基酸具有丰富的侧链基团, 可通过侧基改性赋予其环境 pH-响应性, 从而智能地识别癌症病灶区, 提高药物的生物利用度, 降低对正常组织的伤害. 聚氨基酸的另一重要特性就是其特殊的二级结构. 高分子链段的二级结构直接影响其链段的运动性能和聚集态结构. 极性聚氨基酸由于其极性侧基的存在(羧基或氨基), 在一定 pH 值范围内, 极性侧基会发生质子化或去质子化, 使侧链带电荷, 在一定程度上会影响到链内和链间氢键的形成, 从而造成聚氨基酸链段二级结构的变化. 聚氨基酸链段的刚性的较高链段压缩比的 α -螺旋结

构(侧基不带电荷时)到伸展状态的较低链段压缩比的无规线团结构(侧基带电荷时)间的转变会随侧基质子化或去质子化和 pH 的变化而可逆发生. 研究发现带有酸性侧基的聚谷氨酸(PLGA), 在酸性环境中链段形成 α -螺旋结构, 在碱性环境中, α -螺旋结构转变为无规线团结构. 通常情况下, α -螺旋结构表现为疏水性, 无规线团结构表现为亲水性. 聚氨基酸通过与亲水性聚合物(如聚乙二醇)共聚, 得到的两亲性聚氨基酸类材料能够自组装形成几十至几百纳米尺度的核壳型胶束粒子^[10]. 聚氨基酸链段聚集形成胶束的核, 可用作负载抗癌药物, 聚乙二醇链段形成水合壳层, 赋予粒子更好的生物相容性同时可以有效延长粒子的体内循环时间^[11, 12]. 然而, 传统的载体聚合物是 AB 或 ABA 型嵌段共聚物, 缺乏良好的物理稳定性, 在药物输运过程中易造成泄露. 同时, 在响应 pH 值上下会发生粒子的完全解体, 这可能会导致在体内药物缓释效果不好, 药物作用时间较短^[13, 14]. 解决这个问题的途径之一是采用 ABC 型三嵌段结构, 其中 A 是亲水部分, B 通常具有一些生物信号或环境刺激的响应性, C 保持

^{*} 2011-10-08 收稿, 2011-12-27 修稿; 天津市自然科学基金(基金号 09JCYBJC03400, 10JCYBJC26800)、高等学校博士学科点专项科研基金(基金号 20090031120012)和中央高校基本科研业务费专项资金资助项目; ** 通讯联系人, E-mail: guolinwu@hotmail.com

doi:10.3724/SP.J.1105.2012.11303

恒定的疏水性. 无论环境如何变化, 这种材料可以在选择性溶剂中形成核-壳-冠型的三层胶束结构^[15]. 近期, Ahn 及其同事合成了一种可生物降解的聚乙二醇(PEG)-聚(L-赖氨酸)-聚(L-苯丙氨酸)(PEG-PLys-PPha)三嵌段共聚物用于药物释放研究. 其中交联的 PLys 壳层具有一定的氧化还原敏感性, 可用于肿瘤部位的药物输送与靶向释放^[16].

本文利用大分子引发开环聚合和酸性水解的方法制备了 ABC 型三嵌段共聚物聚乙二醇-聚(L-谷氨酸)-聚(L-丙氨酸)(PEG-PLGA-PLAA). 根据各链段的结构特性, PEG-PLGA-PLAA 可自组装形成核-壳-冠型三层胶束粒子, 用于抗肿瘤药物的载体. 其中外层亲水性的 PEG 在增加纳米粒子稳定性的同时还可以增加粒子在血液中的循环时间; 聚谷氨酸链段可以通过静电作用有效地实现抗癌药物阿霉素(DOX)的负载, 同时其二级结构及亲疏水性质受外界环境 pH 影响会发生响应性变化, 用于药物的控制释放; 内层的疏水性聚丙氨酸内核能够稳定在血液循环过程中的纳米粒子的结构.

1 实验部分

1.1 主要原料

mPEG-NH₂ ($M_n = 2000$) (自制^[17]), 谷氨酸苄酯(BLG), 参考文献[18]制备, 白色片状固体, 产

率 51%, mp 为 148℃. 谷氨酸苄酯-N 羧酸酐(BLG-NCA)与丙氨酸-NCA(Ala-NCA), 参考文献[19]制备. BLG-NCA 产率 81%, mp 为 89.3℃, Ala-NCA 产率 48%, mp 为 90.6℃. 结果显示 2 种物质的熔点与文献中的基本一致^[20,21]. HBr/乙酸(33 wt%) (分析纯, 阿尔法艾莎), DOX 盐酸盐(北京华奉联博科技有限公司).

1.2 聚乙二醇-聚谷氨酸苄酯-聚丙氨酸(mPEG-PBLG-PLAA)三嵌段共聚物的合成

按照文献[18]的方法, 在单口瓶中依次加入 mPEG-NH₂, BLG-NCA 和 DMF, 氮气保护下室温反应 48 h 后, 将 Ala-NCA 溶于 DMF 并注入反应瓶, 再反应 72 h. 反应液用无水乙醚沉淀, 过滤, 真空干燥得到三嵌段共聚物聚乙二醇-聚谷氨酸苄酯-聚丙氨酸(mPEG-PBLG-PLAA). 设计聚合度 44:25:15, 根据核磁计算得到实际聚合度为 44:23:13.

1.3 聚乙二醇-聚谷氨酸-聚丙氨酸(mPEG-PLGA-PLAA)三嵌段共聚物的合成

按照文献[22]的方法, 在双口瓶中依次加入 mPEG-PBLG-PLAA, TFA(5 wt%) 和 HBr/HAc 溶液(HBr 相对苄基摩尔量 50 倍过量), 20℃ 磁力搅拌下反应 1 h, 产物在无水乙醚中沉淀, 过滤得到产物, 40℃ 真空干燥 24 h, 得黄色块状固体聚乙二醇-聚谷氨酸-聚丙氨酸(mPEG-PLGA-PLAA)三嵌段共聚物, 产率 84%. 具体合成步骤见图 1.

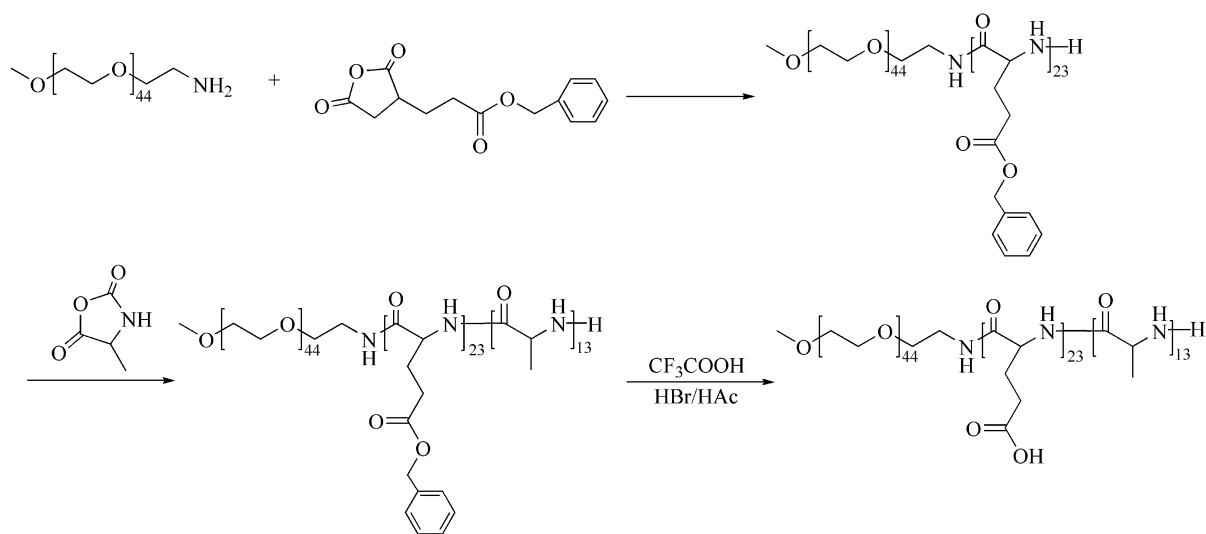


Fig. 1 Synthesis of mPEG-PLGA-PLAA triblock copolymer

1.4 聚合物胶束和载药胶束的制备

采用透析法制备共聚物胶束及载药共聚物胶

束. (1) 将 5 mg 的聚合物加入到 4 mL 二甲基亚砜(DMSO)中, 磁力搅拌 24 h 使之完全溶解. 缓慢

滴加蒸馏水 16 mL 并继续搅拌 24 h 使胶束稳定. 胶束溶液转移到截留分子量为 3500 的透析袋中, 用蒸馏水透析 72 h. 得到聚合物胶束溶液. (2) 将一定质量的 mPEG-PBLA-PLAA (100 mg), DOX · HCl (20 mg) 和三乙胺 (15 μ L) 加入到 DMSO (40 mL) 中, 避光、磁力搅拌 24 h 使之完全溶解, 之后缓慢滴加二次蒸馏水 (160 mL) 并继续搅拌 24 h 使载药胶束稳定. 载药胶束溶液转移到截留分子量为 3500 的透析袋中, 避光状态下以 pH = 7.4 的磷酸缓冲溶液透析 24 h. 透析液冻干后得红色粉末状固体即载药胶束. 依中国药典 2005 年版含量测定, 按照紫外-可见分光光度法, 取 450 ~ 550 nm 波长范围内最大吸收值检测载药胶束封装率和载药量. 封装率 (entrapment efficiency, EE) 通过式 (1) 计算:

$$EE\% = \frac{W_e}{W_0} \times 100\% \quad (1)$$

其中 W_e (mg) 是聚合物胶束包载的 DOX 质量. 使用 5 mL DMSO 完全溶解 5 mg 载药胶束后测试其浓度, 并推算全部载药胶束包载的 DOX 质量. W_0 (mg) 是制备载药胶束时投入的 DOX 的质量.

载药量 (loading efficiency, LE) 通过式 (2) 计算:

$$LE\% = \frac{W_e}{P_0} \times 100\% \quad (2)$$

其中 W_e (mg) 同式 1, P_0 (mg) 是指包载 W_e (mg) DOX 的载药胶束的质量. 计算结果, 胶束的封装率为 86.8%, 载药量为 14.8%.

1.5 药物释放试验

称 10 mg 载药胶束, 以 2 mL 指定 pH 值缓冲溶液溶解后转移到截留分子量为 3500 的透析袋中, 放在 8 mL 相同 pH 值缓冲溶液中, 在 37 $^{\circ}$ C、120 r/min 恒温水浴摇床中振荡. 每隔一定时间取出 4 mL 袋外缓冲液, 利用紫外分光光度计检测释药量, 并同时补充 4 mL 同 pH 值缓冲液. 累积药物释放量 (cumulative drug release, CDR) 通过公式 (3) 计算:

$$CDR\% = \frac{W_t}{W_0} \times 100\% \quad (3)$$

W_t (mg) 是指 t 时间内从载药胶束放出的药物质量总和 (通过分光光度计法检测计算得出), W_0 (mg) 是用于放药的胶束所含 DOX 的总质量.

1.6 测试与表征

红外光谱测定是将样品与 KBr 粉末研磨制

片, 采用 Bio-Rad FTS 6000 傅立叶红外光谱仪测定.

$^1\text{H-NMR}$ 测定使用 Varian UNITY Plus-400 核磁共振谱仪, 以 CF_3COOD 或 D_2O 为溶剂, 以 NaOD 或 DCl 调节溶液的 pH 值, 室温下测定 $^1\text{H-NMR}$ 谱.

扫描电子显微镜 (SEM) 测定使用 JSM-6700 场发射扫描电子显微镜, 喷金时间为 5 min.

透射电子显微镜 (TEM) 测定将透析得到的载药胶束的水溶液滴在铜网上, 在 Tecnai G220 Stwin 透射电子显微镜上观测胶束的形态结构, 加速电压为 200 kV.

聚合物胶束及载药胶束的粒径和 ζ -电势测定使用 Malvern Nano-ZS90 动态光散射仪测定, 测试前使用孔径 0.45 μm Millipore 过滤膜除尘.

圆二色谱 (CD) 测定使用 J-715-150S UV 圆二色分光光度计, 水相中测定.

紫外-可见分光光度计使用岛津 UV2450, 1 cm $\times$ 1 cm $\times$ 3 cm 石英池, 双光路检测.

2 结果与讨论

2.1 嵌段共聚物的合成

三嵌段聚合物 mPEG-PBLG-PLAA (A) 和水解产物 mPEG-PLGA-PLAA (B) 的 $^1\text{H-NMR}$ 核磁谱图如图 2 所示. 图 2 (A) 中苄氧基在 $\delta = 4.99$ 和 7.10 处的峰水解后完全消失. 根据聚乙二醇单甲醚的端甲基质子信号峰 (a), PLGA 的 γ 位亚甲基质子信号峰 (e) 和 PLAA 的 β 位甲基质子信号峰 (f) 积分面积计算得到水解产物的聚合度为 44:23:13,

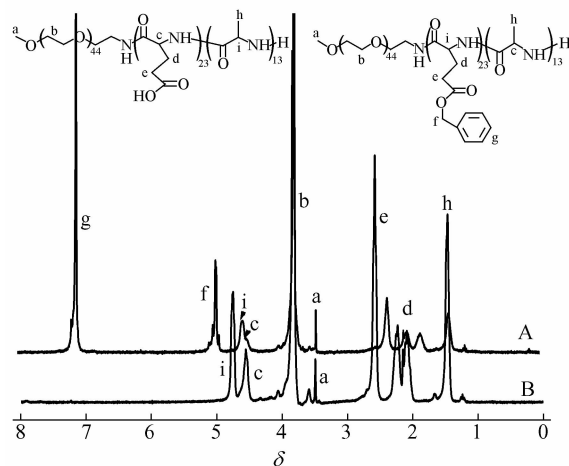


Fig. 2 $^1\text{H-NMR}$ Spectra of mPEG-PBLG-PLAA (A) and mPEG-PLGA-PLAA (B) in CF_3COOD

与水解前基本一致, GPC 测得 $PDI = 1.06$, 水解反应基本完全.

2.2 嵌段共聚物的两亲性和 pH-响应性

嵌段共聚物在水溶液中自组装形成粒径 200 nm 左右的胶束粒子(图 3). 考虑到干燥后的粒径收缩, SEM 测试胶束粒径和粒径分布与动态光散射数据基本一致. 利用嵌段共聚物各链段在三氟乙酸和选择性溶剂中不同 pH 条件下的核磁信息追踪胶束的形成过程和 pH-响应性. 共聚物 $mPEG_{44}$ - $PLGA_{23}$ - $PLAA_{13}$ 在氘代三氟乙酸和重水中的 ^1H -NMR 谱图见图 4. 嵌段共聚物在选择性溶剂(如水)中, 其亲水链段($mPEG$)形成胶束的壳, 可以使用 ^1H -NMR 检测其相应质子信号; 而疏水链段($PLAA$)自聚集形成胶束的核, 链段处于“冻结”状态, 相应的质子核磁信号峰消失(图 4(B)~(C)). 聚合物在强极性溶剂氘代三氟乙酸中(图 4(A))中完全溶解, PEG 、聚谷氨酸和聚丙氨酸链段的质子信号峰完全展现; 而在碱性水溶液中(图 4(B)), 聚丙氨酸链段形成疏水性核心, 其质子信号(i, h)消失, 聚谷氨酸链段由于侧链羧基的去质子化, 链段亲水性增加, 仍可观察到聚谷氨酸链段的质子信号(c, d, e); 当溶液的 pH 值由碱性变为酸性时(图 4(C)), 谷氨酸链段由于侧基羧基的质子化而水溶性下降, 由亲水转为疏水, 聚集到胶束的疏水内核周围, 其对应的质子信号(c, d, e)也随之消失. 作为亲水链的 PEG 在氘代三氟乙酸和重水中均可溶解, 其质子信号(a, b)保持不变.

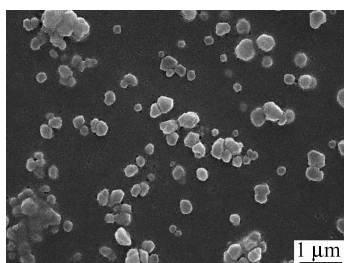


Fig. 3 SEM images of $mPEG$ - $PLGA_{23}$ - $PLAA_{13}$ micelles

三嵌段聚合物胶束溶液的 ζ -电势和粒径随 pH 值的变化曲线如图 5 所示. 三嵌段共聚物 $mPEG$ - $PLGA$ - $PLAA$ 的中间链段侧基为羧基, 胶束的 ζ -Potential 电势随 pH 值的升高而逐渐降低. 胶束溶液透析后($pH \sim 4$)胶束粒径最小, 随着 pH 值的上升, 谷氨酸部分的羧基去质子化, 此链段亲水性增强并逐渐从胶束核心转换为胶束壳层, 表

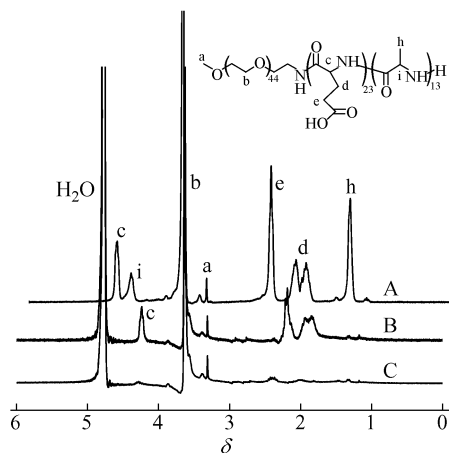


Fig. 4 ^1H -NMR spectra of $mPEG$ - $PLGA$ - $PLAA$ copolymer in CF_3COOD (A), D_2O ($pH = 8$, B) and D_2O ($pH = 3$, C)

现为胶束粒径增大. 当 pH 值从 4 下降, 聚谷氨酸部分二级结构变化, α -螺旋含量增加, 链段形成刚性棒状结构, 将聚合物胶束“撑起”, 导致了胶束的粒径增加.

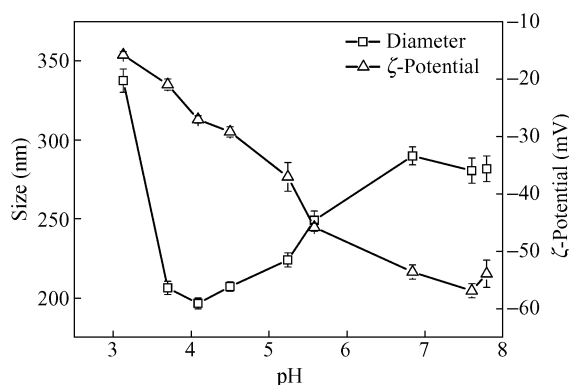


Fig. 5 Mean diameter and zeta-potential of $mPEG$ - $PLGA$ - $PLAA$ copolymer aggregates at different pH values measured by DLS

2.3 嵌段共聚物的二级结构随 pH 值的变化

聚谷氨酸链段侧链羧基会随 pH 变化而得失质子, 导致其二级结构也会随之发生变化, 进而使其连段的亲疏水性质发生变化. 图 6 是嵌段共聚物 $mPEG$ - $PLGA$ - $PLAA$ 在不同 pH 值下的圆二色谱. 在低 pH 值时, 聚谷氨酸部分主要以 α -螺旋形式存在, 形成刚性棒状结构, 是造成酸性条件下胶束粒径增大的主要原因. 随着 pH 值的上升, 氨基酸部分逐渐从 α -螺旋变为无规线团, 链段由疏水变为亲水, 链段更加伸展, 使得碱性条件下胶束粒径增大. 聚合物胶束直接冻干后得到的固体可保持其溶液状态下的二级结构. 通过 IR 检测归属于

各二级结构的特征峰,可得到聚合物在不同 pH 值下的二级结构信息. 共聚物不同 pH 值下胶束溶液冻干产物的 IR 谱见图 7. IR 光谱位于 $1700 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ 的酰胺 I 带 (amide I) 及 $1600 \sim 1500 \text{ cm}^{-1}$ 的酰胺 II 带 (amide II) 可用于归属蛋白质的二级结构并探讨其内部氢键结合的情况. 如图 7,通过嵌段共聚物在不同 pH 条件下的冻干样品在酰胺 I 带及酰胺 II 带的红外信号峰可以判断,在 $\text{pH} = 4.05$ (a) 时聚氨基酸链段主要以 α -螺旋结构存在. 酰胺 I 带中 1660 cm^{-1} 处的峰对应的是 α -螺旋结构,酰胺 II 带的信号峰发生了交迭,但在 1540 cm^{-1} 处仍可以看到一个很强的 α -螺旋结构的特征峰. 在 $\text{pH} = 7.8$ (c) 的碱性条件下,酰胺 I 带 1640 cm^{-1} 处的峰对应的是无规线团结构. IR 分析的结果与 CD 结果一致.

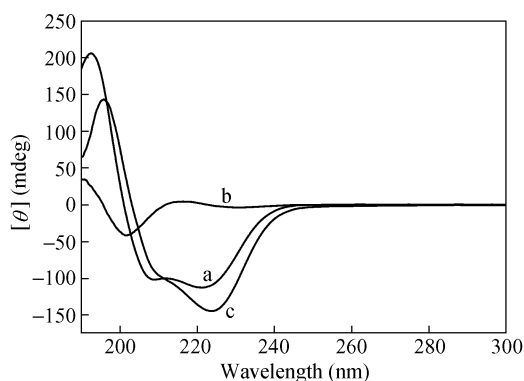


Fig. 6 CD Spectra of mPEG-PLGA-PLAA_m icelles solutions at $\text{pH} = 4.05$ (a), 7.8 (b) and 2.74 (c)

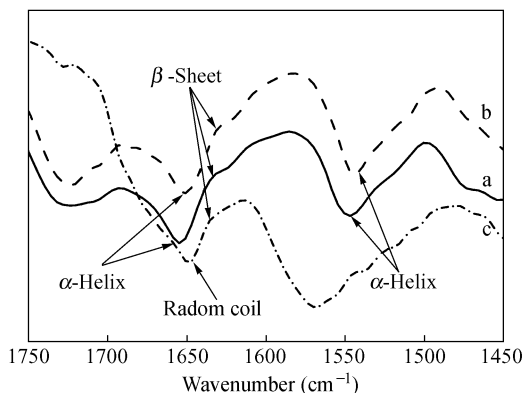


Fig. 7 IR spectra of frozen dried mPEG-PLGA-PLAA_m icelles from solutions at different pH: 4.05 (a), 2.74 (b) and 7.8 (c)

2.4 载药聚合物的释药性能研究

为进一步研究聚乙二醇-聚谷氨酸-聚丙氨酸三嵌段共聚物的药物负载和释放能力,采用阿霉

素 (doxorubicin, DOX, 商品名称是 Adriamycin) 作为模型药物. DOX 是一种抗肿瘤抗生素,可通过抑制 RNA 和 DNA 的合成起到细胞毒性,对多种肿瘤均有杀灭作用. 早在 20 世纪 50 年代 DOX 就被用于癌症治疗,但随后人们发现 DOX 在人体内非特异性分布在杀灭癌细胞的同时也会杀死正常细胞,典型的副作用如心脏毒性可能导致受治疗者死亡. 阿霉素较多用于化疗药物载体的研究中,主要是因为它具有较强疏水基团可通过疏水相互作用进行物理包埋,同时分子结构上的多功能基团又使其易于修饰. 此外,阿霉素还具有较强的紫外吸收和荧光发射能力. 嵌段共聚物 mPEG-PLGA-PLAA 的载药胶束的 TEM 照片如图 8 所示,粒径为 100 nm 左右. 胶束中的黑点为物理包埋的 DOX. 通过 TEM 可直观证明 DOX 已成功包裹到胶束中.

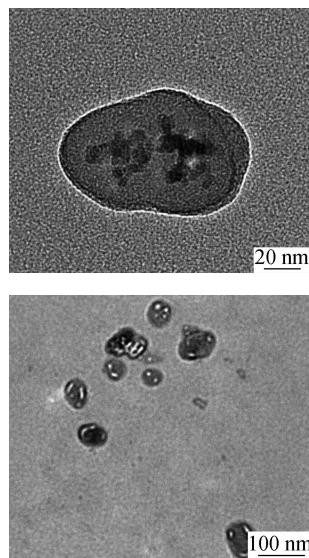


Fig. 8 TEM images of DOX loaded micelles formed by mPEG-PLGA-PLAA triblock copolymer

mPEG-PLGA-PLAA 载药胶束在不同 pH 值下的药物释放曲线见图 9. 在 $\text{pH} = 7.4$ 时,胶束相对稳定,有着较低的药物累积释放量和释放速率. 主要由于 DOX 上胺基的 pK_a 为 8.2 ,聚谷氨酸上羧基的 pK_a 为 4.07 . 在 $\text{pH} = 7.4$ 条件下,质子化的胺基与去质子化的羧基存在较强的静电作用,阻碍了药物的释放. 在碱性条件 ($\text{pH} = 8.6$) 下,最初 10 h 内药物释放量达到 60% ;但随后释放较为缓慢. 这是由于碱性条件下 PLGA 链段去质子化程度增加,链段亲水性增加. 聚谷氨酸链段由疏水核层向亲水壳层转移,物理包埋的大部分药物随着 PLGA 链段的亲水性增加而扩散释放,造成包埋

药物释放量提高;10 h 达到平衡后包裹于胶束疏水内核 (PLAA) 的部分 DOX 释放相对缓慢. 而在酸性条件下 ($\text{pH} = 5.5$), PLGA 链段质子化, 不带电荷, 与阿霉素药物分子间的静电相互作用消失. 同时, 由于 PLGA 链段在酸性条件下生成较高链段压缩比的 α -螺旋结构, 链内氢键使得链段形成刚性棒状结构, 对链段周围原本包裹的药物分子

产生“挤出”作用, 加速了药物的释放. 在这一 pH 值下药物释放量最高, 60 h 后接近完全释放, 而此 pH 值对应的正是癌细胞内涵体的 pH 值.

3 结论

利用大分子引发剂 ω -胺基- α -氨基聚乙二醇 (mPEG-NH_2), 逐步引发 BLG-NCA 和 Ala-NCA 开环聚合的方法, 合成了聚乙二醇-聚谷氨酸苄酯-聚丙氨酸三嵌段共聚物. 通过酸性水解得到聚乙二醇-聚谷氨酸-聚丙氨酸三嵌段共聚物 mPEG-PLGA-PLAA . 此三嵌段共聚物可在选择性溶剂中自组装形成胶束. 在中性条件下, 胶束形成规整的核-壳-冠三层结构, PLAA 链段作为核心, PEG 链段作为冠层, PLGA 链段作为壳层. 利用静电相互作用可以将阿霉素物理包埋到胶束内. 在酸性条件下, 静电相互作用消失, 随着 PLGA 链段高压缩比的 α -螺旋结构的生成, 对链段周围的药物分子产生“挤出”作用, DOX 的释放速率明显加快. 实验证明合成的纳米复合粒子能够通过 pH 调节药物的释放速率, 具有良好的应用前景.

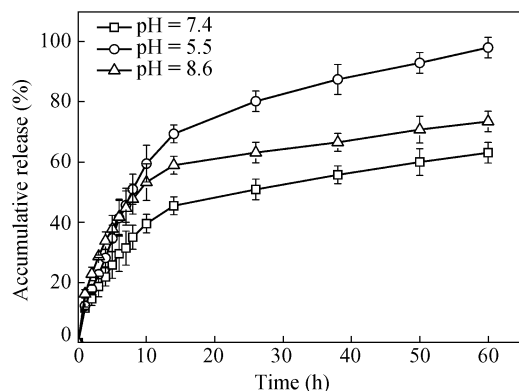


Fig. 9 pH-dependent DOX release profiles of DOX loaded mPEG-PLGA-PLAA micelles at $\text{pH} = 5.5$, 7.4 and $\text{pH} = 8.6$ at 37°C

REFERENCES

- Bae Y, Jang W D, Nishiyama N, Fukushima S, Kataoka K. *Mol Biosyst*, 2005, 1: 1242 ~ 1250
- Bae Y, Nishiyama N, Fukushima S, Koyama H, Yasuhiro M, Kataoka K. *Bioconjugate Chemistry*, 2005, 16: 122 ~ 130
- Lee E S, Na K, Bae Y H. *J Control Release*, 2003, 91: 103 ~ 113
- Afsaneh L, John S, Glen S K. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2002, 54: 169 ~ 190
- Karel U. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2004, 56: 1023 ~ 1050
- Gaucher G, Dufresne M H, Sant V P, Kang N, Maysinger D, Leroux J C. *Journal of Controlled Release*, 2005, 109: 169 ~ 188
- Jiang Chao (江超), Sheng Mingming (盛明明), He Bin (何斌), Wang Gang (王刚), Wu Yao (吴尧), Gu Zhongwei (顾忠伟). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2011, (8): 845 ~ 852
- Gao Xiaoye (高晓晔), He Chaoliang (贺超良), Zhuang Xiuli (庄秀丽), Zhao Changwen (赵长稳), Xiao Chunsheng (肖春生), Chen Xuesi (陈学思). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2011, (8): 883 ~ 888
- Zhu Rong (朱荣), Luo Kui (罗奎), Xu Xiangyun (徐翔晖), Wu Yao (吴尧), He Bin (何斌), Gu Zhongwei (顾忠伟). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2011, (6): 679 ~ 686
- Kataoka K, Harada A, Nagasaki Y. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001, 47: 113 ~ 131
- Kataoka K, Kwon G S, Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y. *J Controlled Release*, 1993, 24: 119 ~ 132
- Otsuka H, Nagasaki Y, Kataoka K. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2003, 55: 403 ~ 419
- Lee S W, Chang D H, Shim M S, Kim B O, Kim S O, Seo M H. *Pharmacological Research*, 2007, 24: 1508 ~ 1516
- Ko J, Park K, Kim Y S, Kim M S, Han J K, Kim K, Par R W, Lee D S, Kwo I C. *Journal of Controlled Release*, 2007, 123: 109 ~ 115
- Hadjichristidis N, Iatrou H, Pitsikalis M, Pispas S. *Progress in Polymer Science*, 2005, 30: 725 ~ 782
- Koo A N, Lee H J, Kim S E, Chang J H, Park C, Kim C, Park J H, Lee S C. *Chemical Communications*, 2008, 48: 6570 ~ 6572
- Zhang G L, Ma J B, Li Y H, Wang Y N. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2003, 14 (12): 1389 ~ 1400
- Zhang Jie (张洁), Wu Guolin (伍国琳), Wang Zheng (王铮), Xu xu (徐旭), Wang Yinong (王亦农), Ma Jianbiao (马建标). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2009, (12): 1179 ~ 1185
- William H D, Drew P. *Tetrahedron Letters*, 1988, 29 (46): 5859 ~ 5862
- Blout E R. *J Am Chem Soc*, 1956, 78: 941 ~ 946

- 21 Zhu Kalin(朱卡琳), Tang Guping(汤谷平), Chen Qiqi(陈启琪). *Acta Pharmaceutica Sinica*(药学报), 1998, 33(12): 906 ~ 909
- 22 Babin J, Taton D, Brinkmann M. *Macromolecules*, 2008, 41: 1384 ~ 1392

SYNTHESIS OF POLY(ETHYLENE GLYCOL)-POLY(GLUTAMIC ACID)- POLY(ALANINE ACID) TRIBLOCK COPOLYMER AND THE pH-SENSITIVE DRUG DELIVERY OF NANOPARTICLES THEREFROM

Zheng Wang¹, Shu-fang Yu¹, Xin Gu¹, Guo-lin Wu¹, Yi-nong Wang¹, Hui Gao², Jian-biao Ma²

(¹ Key Laboratory of Functional Polymer Materials, Institute of Polymer Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071)

(² School of Chemistry and Chemical Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300191)

Abstract A novel pH-responsive and biodegradable triblock copolymer, poly(ethylene glycol)-poly(L-glutamic acid)-poly(L-Alanine acid) (PEG-PLGA-PLAA), was prepared by *N*-carboxyl anhydride ring-opening polymerization and acidic hydrolysis. It was found that this amphiphilic copolymer can self-assemble into micelles in aqueous solution. The PLAA, PLGA and mPEG segments serve as a hydrophobic core, a pH-responsive shell and a hydrophilic corona, respectively. The morphology and properties of the micelles such as pH sensitivity, zeta potential, secondary structure and mean diameter were investigated. Doxorubicin (DOX) was encapsulated into the micelles to explore the release profiles, which exhibited *in vitro* pH-dependence. In acidic environment, with the formation of α -helix secondary structure of poly(L-glutamic acid) segments, the PLGA segments in the triblock copolymers shrank and relocated in the micelles to trigger the release of drugs. As a result, these DOX-loaded polymeric micelles showed rapid release of DOX from the micelles in weakly acidic environments (pH = 5.5) but very slow release under physiological condition (pH = 7.4).

Keywords Poly(aspartic acid), Drug delivery, DOX, Micelle, pH-Responsive