

β -环糊精为核的聚酰胺-胺的合成及其 与牛血清白蛋白的相互作用*

黄 怡^{1**} 康 琼² 李维凤³ 尚永辉¹ 王兰英²

(¹咸阳师范学院化学与化工学院 咸阳 712000)

(²西北大学化学与材料科学学院 合成与天然功能分子化学教育部重点实验室 西安 710069)

(³西安交通大学药学院 西安 710061)

摘 要 通过发散法合成了不同代数的 β -环糊精为核的聚酰胺-胺树状大分子(CP),进一步与水杨醛缩合得到 3 种水杨醛改性的 β -环糊精为核的聚酰胺-胺树状大分子(CPS),并采用¹H-NMR,¹³C-NMR,IR 对其结构进行了表征.应用荧光光谱技术研究了不同代数的 CP 及 CPS 分别与牛血清白蛋白(BSA)的相互作用,对其作用的机理进行了初步的分析与探讨.结果表明,两类树状大分子对 BSA 荧光的影响属于静态猝灭,且随着代数的增加,其猝灭常数 K_{sc} 增大.与类似结构的以乙二胺为核的 PAMAM 比较,CP 及 CPS 的猝灭常数 K_{sc} 较大,显示出较强的结合力,表明 β -CD 分子作为核介入树状分子以及末端水杨醛的改性能显著地增强分子间的相互作用.

关键词 β -环糊精,聚酰胺-胺树状大分子,牛血清白蛋白,分子相互作用

树枝状高分子(dendrimers)以其独特的结构和性能在材料科学、生物医学等诸多领域中都受到了日益广泛的关注^[1-3].具有三维立体球形结构的树枝状分子 PAMAM 是目前研究最广泛、最深入的树状大分子之一,该分子不仅具有复合药物分子、连接基因和抗体等生物活性物质的特点,并且具有稳定性、生物相容性以及基因转运效率高特点,目前已成为该领域的研究热点^[4-8].研究表明,基因转运效率与 PAMAM 的表面、分子尺寸及代数有关,而以不同结构的分子为核构筑的 PAMAM 分子具有不同的结构参数,因而直接影响其性能^[9-11].另外,以环糊精为核的星状分子结构能有效地促进基因的转染效率^[12].Alejandro 等^[13]采用了一种简单的方法合成了以环糊精为分子骨架以聚氨基硫脲作为两亲性基团的星状结构的大分子,将其作为基因转移载体的纳米粒子,其转移效率比聚醚酰亚胺高出很多. Marta 等^[14]采用收敛法,合成了以 α -D-吡喃甘露糖和 β -D-吡喃葡萄糖苷为端链的支化结构,并通过将胺和异

硫氰酸酯偶合后的超支化结构单元共价键合到环糊精核上,可以得到直径可达 6 nm 的分子.基于目前该领域国内外的研究发展趋势以及多年来本课题组的研究基础,本文以环糊精为核合成聚酰胺-胺为基本结构单元树状大分子,通过取代度、代数以及端基改性实现分子体积和形态的化学可调性.以牛血清白蛋白生物大分子为模型分子,通过对大分子间相互作用机理的研究,为设计和研究新型树枝状分子药物及基因载体提供理论依据.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

DZF-6020 型真空干燥箱(上海一恒科技有限公司);RE-52 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);低温恒温反应浴(巩义市予华仪器有限公司);红外分光光度计(德国 BRUKER 公司,KBr 压片);Varian INOVA-400 MHz 核磁共振仪(美国 Varian 公司),UV-1900 紫外-可见分光光度计(北

* 2012-09-25 收稿,2012-12-04 修稿;陕西省自然科学基金(基金号 2011JM2012)、陕西省教育厅自然科学基金专项基金(基金号 2010JK898)和西北大学合成与天然功能分子化学教育部重点实验室开放基金资助项目.

** 通讯联系人,E-mail:hxgyhy@126.com

doi:10.3724/SP.J.1105.2013.12300

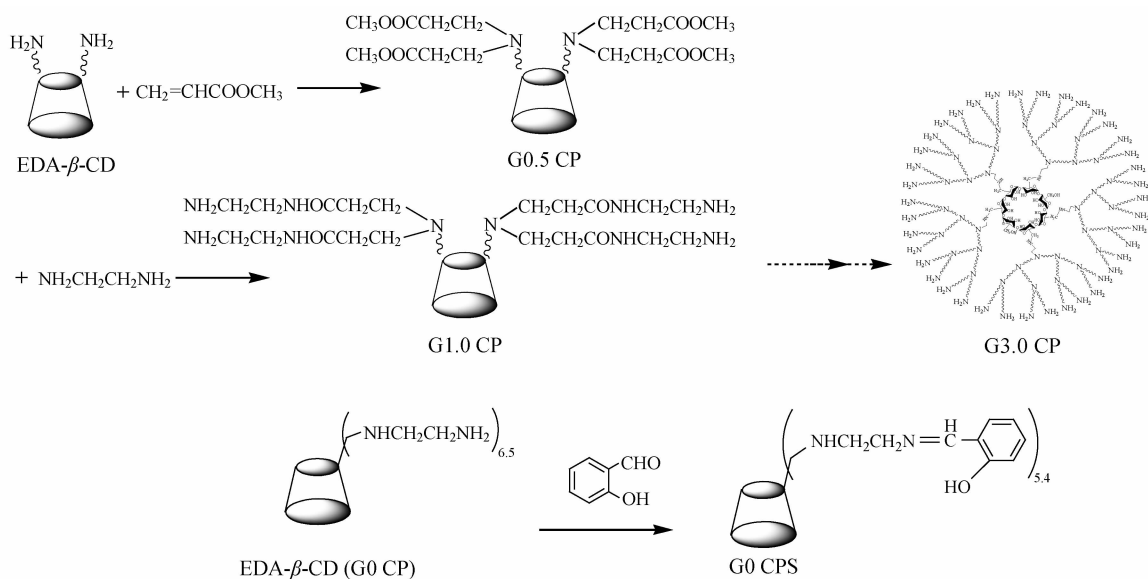
京普析通用仪器有限责任公司); F-4500 荧光分光光度计(日本 HITACHI).

β -环糊精(BR, 汕头市光华化学厂)、对甲基苯磺酰氯(AR, 中国医药集团上海化学试剂公司)重结晶两次, 真空干燥后使用; 丙烯酸甲酯(AR, 天津市科密欧科技开发中心)、乙二胺(AR, 天津市天力化学试剂有限公司)重蒸后使用, 牛血清白蛋白第五组分(BR, 西安博精生物有限公司, M

= 67000); 其他所用试剂均为市售分析纯试剂, 使用前未经处理.

1.2 CP 及 CPS 的合成

首先对 β -CD 进行化学改性, 合成出多氨基取代的 β -CD (EDA- β -CD), 然后借鉴 PAMAM 的合成方法和手段, Micheal 加成反应和酰胺化反应交替进行即可得到 CP 树状大分子, 进而与水杨醛缩合反应得产物 CPS, 其合成路线见示意图 1.



Scheme 1 Synthetic route to dendrimers CP and CPS

1.2.1 G0.5 CP 的合成

将 2.0 g 乙二胺改性的环糊精 (EDA- β -CD)^[15] 于冰水浴溶解在甲醇中, 滴加 20.0 g 丙烯酸甲酯 (MA), 冰水浴中搅拌 30 min 后逐渐升至室温搅拌反应 24 h, 旋转蒸发除去未反应的 MA 和甲醇, 将浓缩液滴加到不断搅拌的丙酮中, 析出白色固体, 抽滤, 将所得固体用甲醇溶解后再滴加到不断搅拌的丙酮中, 经溶解-沉淀反复提纯后真空干燥, 得到 2.5 g 灰白色固体。¹H-NMR (400 MHz, D₂O, δ): 5.11 (H1, β -CD), 3.87 (H3, H5, β -CD), 3.68 ~ 3.62 (—CH₂CH₂CO₂CH₃, PAMAM, H6, H2, H4, β -CD), 2.79 ~ 2.55 (—NHCH₂CH₂N—, —NCH₂CH₂CO—, PAMAM); IR (KBr, ν , cm⁻¹): 3400 (s, $\nu_{\text{N-H}} + \nu_{\text{O-H}}$), 2966 (w, $\nu_{\text{C-H}}$), 2843 (w, $\nu_{\text{C-H}}$), 1736 (s, $\nu_{\text{C=O}}$), 1641 (s, $\nu_{\text{C=O}}$), 1439 (m, $\delta_{\text{C-H}}$), 1030 (s, $\nu_{\text{C-O}}$).

1.2.2 G1.0 CP 的合成

将 1.0 g G0.5 CP 溶解在甲醇中, 滴加 12 g

乙二胺 (EDA), 冰水浴中搅拌 30 min 后逐渐升至室温反应 48 h, 减压蒸馏除去过量的 EDA 和甲醇, 再将浓缩液滴加到不断搅拌的丙酮中, 析出白色固体, 抽滤后经甲醇溶解丙酮沉淀法重复提纯, 真空干燥, 得到 0.8 g 黄褐色固体.

1.2.3 G1.5 CP ~ G3.0 CP 的合成

取上步提纯物, 按照 G0.5 CP 和 G1.0 CP 的实验步骤, 以甲醇为溶剂, 交替与丙烯酸甲酯和乙二胺反应, 可得到 G1.5 CP ~ G3.0 CP 的产物, 结构表征数据见表 1.

1.2.4 G0 CPS 的合成

将 6.0 g 水杨醛溶解在无水乙醇中, 充分冷却后, 逐滴加入 1.0 g β -CD-EDA (G0 CP) 水溶液中, 然后于 -2 °C 搅拌反应 33 h, 将析出的红棕色沉淀抽滤后用 DMF 溶解, 经反复溶解-析出提纯产物后真空干燥, 得到 0.1 g 棕色固体.

1.2.5 G1.0 CPS 和 G2.0 CPS 的合成

合成方法与 G0 CPS 类似, 其光谱数据如表 1.

Table 1 ¹H-NMR, ¹³C-NMR and FTIR data of the CP and CPS

Spectrum		Wavenumber (cm ⁻¹) or δ					
		G1.0 CP ^a	G2.0 CP ^a	G3.0 CP ^a	G0 CPS ^b	G1.0 CPS ^b	G2.0 CPS ^b
¹ H-NMR	—CH=N—	—	—	—	8.40	8.43	8.45
	—CH=CH—	—	—	—	7.48~6.82	8.10~6.84	8.16~6.83
	(OH ₂ , OH ₃),	—	—	—	5.76	5.90	5.90
	H1 (β-CD)	5.04	5.02	5.02	4.81	4.85	4.86
	H3, H5, H6, H2, H4 (β-CD)	3.90~3.44	3.90~3.44	3.87~3.44	3.80~3.04	3.80~3.32	3.80~3.32
	—NHCH ₂ CH ₂ N=,						
	—NCH ₂ CH ₂ CO—,						
	—NHCH ₂ CH ₂ N<,	3.44~2.17	3.44~2.15	3.44~2.18	3.04~2.40	3.50~2.10	3.50~2.10
	—NHCH ₂ CH ₂ NH ₂						
	>C=O	171.56	171.82	171.80	—	171.16	171.67
¹³ C-NMR (DMSO-d ₆)	—CH=N—	—	—	—	166.17	166.17	166.68
	—CH=CH—	—	—	—	161.01~116.58	161.82~115.94	160.88~116.56
	C1, C2, C3, C4, C5, C6 (β-CD)	102.46~50.37	102.59~52.26	102.62~52.56	102.10~50.05	101.31~57.30	101.33~57.93
	—NHCH ₂ CH ₂ N=,						
	—NCH ₂ CH ₂ CO—,						
	—NHCH ₂ CH ₂ N<,	48.79~27.60	50.24~28.61	51.64~29.41	50.05~30.79	49.05~30.27	52.09~33.14
	—NHCH ₂ CH ₂ NH ₂						
	ν _{N—H} , ν _{O—H}	3424	3438	3438	3325	3310	3347
	ν _{C=O} , ν _{C=C}	—	—	—	1636	1636	1636
	ν _{C=O}	1650	1650	1650	—	—	—
FIR (KBr, cm ⁻¹)	δ _{N—H} + ν _{C—N}	1540	1540	1540	—	1557	1555
	δ _{C—H}	1455	1460	1460	1455	1457	1459
	δ _{O—H}	—	—	—	1274	1274	1278
	ν _{C—O}	1035	1035	1035	1035	1035	1035
	δ _{C—H}	—	—	—	753	754	755

^a The solvent in ¹H-NMR is D₂O. ^bThe solvent in ¹H-NMR is DMSO-d₆.

1.3 CP 和 CPS 与 BSA 的相互作用

TE 缓冲溶液的制备:配制 0.25 mol/L 的 Tris (三羟甲基氨基甲烷) 和 0.05 mol/L EDTA-2Na 的储备液,混合后调节 pH = 7.4, Tris 和 EDTA 的终浓度分别为 10 mmol/L 和 1 mmol/L.

配制 200 μg/mL 的 BSA 的 TE 溶液和 10⁻³ mol/L 的不同类别及不同代数树状大分子的储备溶液,向 3 mL 200 μg/mL 的 BSA 的 TE 溶液中用微量进样器注入浓度为 10⁻³ mol/L 的树状大分子溶液,加入以 20 μL 为单位. 大分子对 BSA 的荧光性能的影响如图 4 所示. 测试条件为室温,激发和发射光谱狭缝宽均为 5.0 nm,样品池为 1 cm × 1 cm × 4 cm 石英比色皿.

2 结果与讨论

2.1 CP 和 CPS 的合成与结构表征

在聚酰胺-胺链段的合成中,反应温度、时间

和反应物的用量对合成反应影响较大,温度过高, Micheal 加成发生逆反应和酰胺化发生副反应而得到环状的物质,更高的温度则会导致—NH₂的氧化;如果反应时间过短, Micheal 加成和酰胺化反应不完全而影响产物的结构和产率;反应中乙二胺或者丙烯酸甲酯要适当过量,否则就会导致分子内的环化反应和反应不完全. 因此,本实验在制备聚酰胺-胺链段中,反应温度均采用 25℃,并随着代数的增加,反应时间和反应物的过量的倍数要不断增加. 反应结束后,进行减压蒸馏,尽可能的除去过量的反应原料,防止未除去原料和下步原料进行反应生成低代数的产物,对终产物的纯度产生影响,在处理中除了采用减压蒸馏除去过量原料以外,还采用“溶解—析出”的方法进行反复提纯.

图 1(a) 是 G0.5 ~ 2.5 CP 的红外光谱图,图 1(b) 是 G1.0 ~ 3.0 CP 的红外光谱图. 图 1(a) 中

波数 1747 cm^{-1} 附近显示了 G0.5 ~ 2.5 PAMAM 产物酯基中 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动; 1650 cm^{-1} (仲酰胺 I 谱带)是由酰胺的 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动产生的, 1540 cm^{-1} (仲酰胺 II 谱带)是由 $\text{N}-\text{H}$ 弯曲振动和 $\text{C}-\text{N}$ 伸缩振动组合吸收产生的. G0.5 CP 由于不存在酰胺键,所以在红外谱图中不应该有这两个峰,但需要注意的是由于环糊精分子在 1650 cm^{-1} 附近存在 β -CD 中羟基面内弯曲振动的吸收峰,因此 G0.5 CP 在 1650 cm^{-1} 处仍有吸收峰. 图 1(b)中 1650 cm^{-1} 附近同样显示了酰胺键中 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动, 1540 cm^{-1} 附近显示了酰胺键中

$-\text{NH}-$ 的弯曲振动. 对比图 1(a) 和图 1(b), 波数 1747 cm^{-1} 和 1438 cm^{-1} 分别显示了 G0.5 ~ 2.5 分子中酯基 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动峰和 $-\text{CH}_3$ 的反对称弯曲振动吸收峰, 这表明由 G0.5 ~ 2.5 到 G1.0 ~ 3.0 的转化中, 发生了酯的酰胺化反应. 另外, 由于环糊精的存在, 3400 cm^{-1} 附近的宽吸收峰应是环糊精分子中 $-\text{OH}$ 的和 G1.0 ~ 3.0 CP 分子中伯胺 ($-\text{NH}_2$) 的伸缩振动吸收峰, 1035 cm^{-1} 处均出现了环糊精特征吸收峰 ($\text{C}-\text{O}$ 伸缩振动谱带), 且该吸收峰的强度随不同代数中环糊精含量的不同而有差异.

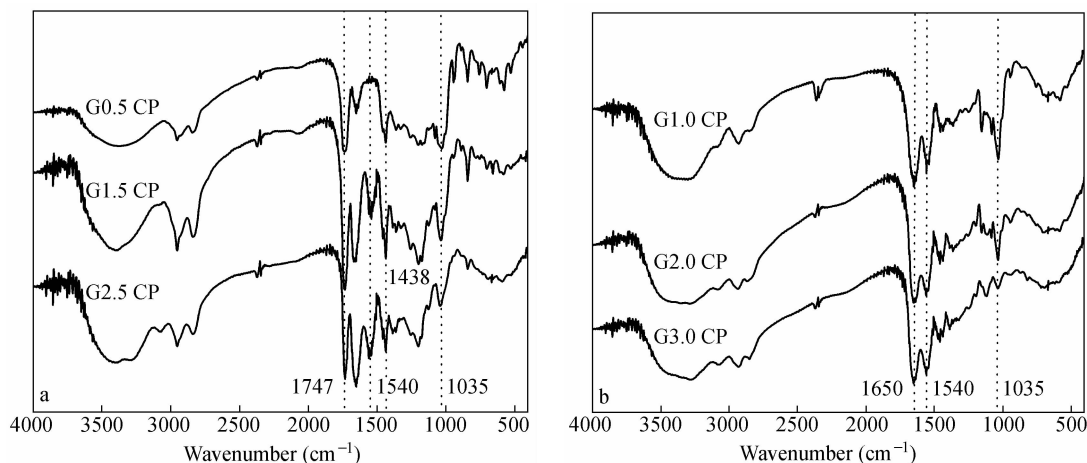


Fig. 1 IR spectra of CP dendrimers with generation 0.5 ~ 3.0

图 2 是 CP 经过水杨醛改性后的产物 CPS 的红外光谱, 从图中可见, 水杨醛结构单元的苯环中 $-\text{C}=\text{C}-$ 伸缩振动吸收出现在 1636 cm^{-1} , 同时 750 cm^{-1} 左右出现了邻位取代的芳环质子的面外变形振动.

分子中的 2 个结构单元环糊精和聚酰胺-胺质子的出峰彼此分离, 化学位移在 $\delta = 3.44$ 以上的为环糊精单元的质子峰, $\delta = 3.44$ 以下的为聚酰胺胺的亚甲基质子.

G0.5 ~ 2.5 CP 的 $^1\text{H-NMR}$ 中, 除了 $\delta = 3 \sim 4$ 环糊精和 $\delta = 2 \sim 3$ 左右亚甲基质子的出峰外, 在

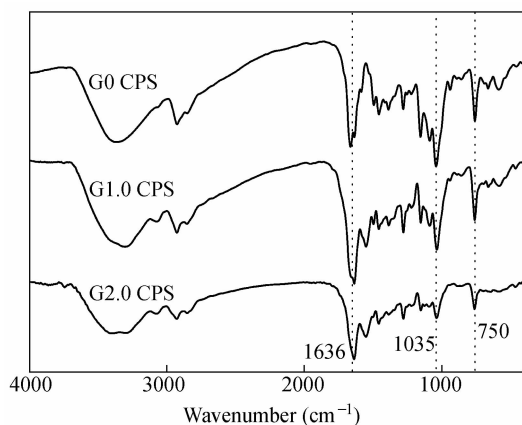


Fig. 2 IR spectra of CPS dendrimers with generation 0 ~ 2.0

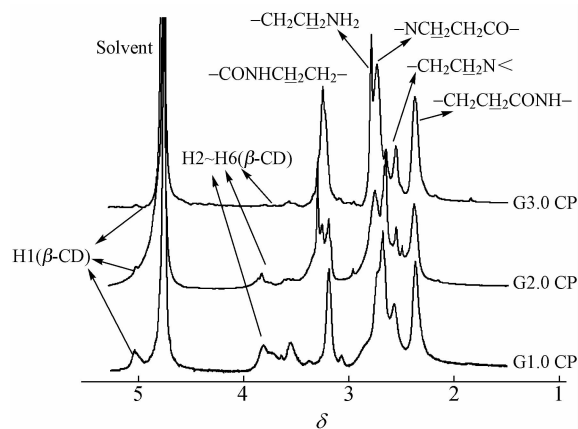


Fig. 3 $^1\text{H-NMR}$ spectra of CP dendrimers with generation 1.0 ~ 3.0

$\delta=3.7$ 左右出现了与酯基相连的甲基质子峰;而在 G1.0 ~ 3.0 CP 的¹H-NMR 中,酯基上的一CH₃峰消失.在¹H-NMR 中,G1.0 ~ 3.0 的 CP 经过 SA 改性后,在 $\delta=7 \sim 8$ 左右处还出现了苯环质子的出峰,以及 $\delta=8.4$ 左右—CH=N—中质子的峰.

在¹³C-NMR 中,化学位移 $\delta=170$ 左右出现了羰基 C 的吸收峰, $\delta=52 \sim 100$ 中间出现了 β-CD 中的 C 的吸收峰, $\delta=28 \sim 50$ 中间出现了 PAMAM 支链中的 C 原子的吸收峰. CPS 中,还在 $\delta=115 \sim 167$ 中间还出现了苯环骨架上 C 的吸收峰.

表 2 给出了各代树状大分子 CP 及 CPS 的取代度(D. S.)及摩尔质量,由于合成树状大分子是在乙二胺修饰环糊精(EDA-β-CD)即 G0 CP 的基础上,经 Micheal 加成和酰胺化交替反应得到的,其分子的摩尔质量通过确定各代的 D. S. 依次计算得到,而各代的取代度 D. S. 可由¹H-NMR 谱中不同质子的积分面积确定. 首先确定 EDA-β-CD (G0 CP)的取代度,EDA-β-CD (G0 CP)分子为多取代产物,其取代度由¹H-NMR 中 β-CD H1 与乙二胺中亚甲基中质子的积分面积比确定,经计算得平均取代度约为 6.5,由此计算 EDA-β-CD (G0 CP)的摩尔质量约为 1408.51 g/mol. 对于 G0.5 ~ 2.5 分子,可由¹H-NMR 中 β-CD H1 的质子数与 $\delta=3.7$ 左右的酯基上的甲基质子的积分面积比确定. 水杨醛改性的 CPS 取代度可根据—CH=N—上质子的峰面积算得.

Table 2 Molecular weight of dendrimers CP and CPS		
Generation	D. S. ^a	Molecular weight
G0 CP	6.5	1408.51
G0.5 CP	12.0	2441.59
G1.0 CP	12.0	2946.55
G1.5 CP	25.6	5150.45
G2.0 CP	21.0	6034.13
G0 CPS	5.4	1970.65
G1.0 CPS	12.5	4247.80
G2.0 CPS	20.0	8116.13

^a D. S. (substitution degree of dendrimers) calculated by¹H-NMR

2.2 CP 和 CPS 与 BSA 的相互作用

为了探索和研究以环糊精为核的聚酰胺-胺树状大分子与 BSA 的作用机理,我们同时考察了类似结构的以乙二胺为核的聚酰胺-胺(PAMAM)及其水杨醛修饰物(PAMAMS)^[16]与 BSA 的相互作用. 不同类别及不同代数的树状大分子对 BSA 的荧光光谱影响的测试结果见表 3.

BSA 的荧光主要来自于分子内色氨酸残基,

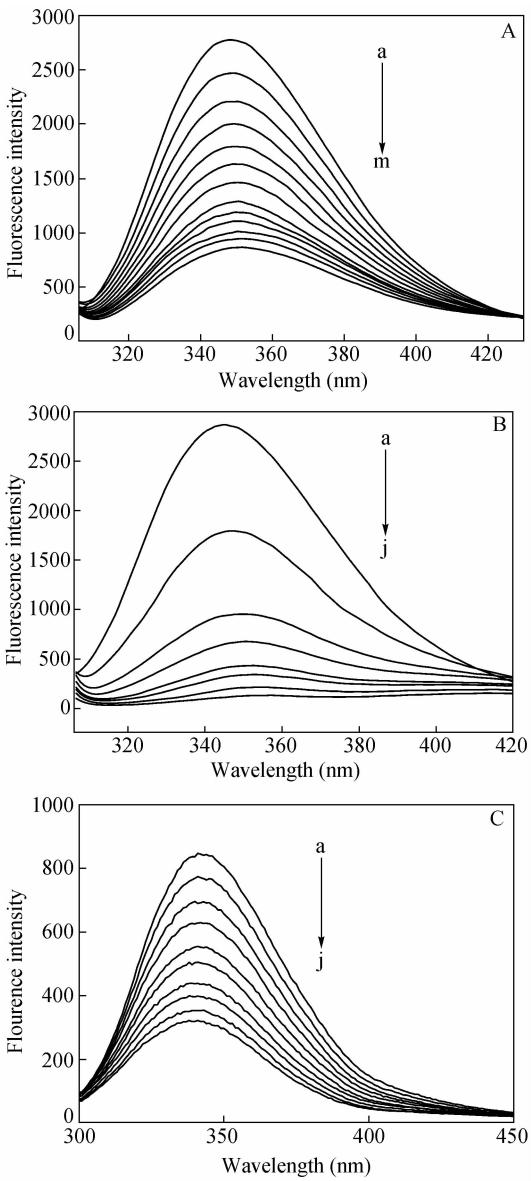


Fig. 4 Influence CP, CPS and PAMAMS dendrimers on fluorescence spectra of BSA

A) From a to m: $c(\text{BSA}) = 3.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, $c(\text{G2.0 CP}) : 0 \sim 1.2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$; B) From a to j: $c(\text{BSA}) = 3.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, $c(\text{G1.0 CPS}) : 0 \sim 9.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$; C) From a to j: $c(\text{BSA}) = 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, $c(\text{G1.0 PAMAMS}) : 0 \sim 1.8 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$; $\lambda_{\text{ex}} = 295 \text{ nm}$

利用色氨酸残基的荧光变化考察了各类树状大分子与 BSA 的作用,当激发波长为 295 nm 时,其荧光光谱的出峰在 348 nm 左右.图 4 是在 pH = 7.4 的 TE 缓冲溶液中测定,不同浓度 CP, CPS 和 PAMAMS 对 BSA 荧光强度的影响.可以看出,这些高分子的加入导致了 BSA 荧光猝灭,这说明两类分子之间存在着相互作用.这种作用可以用 Stern-Volme 方程式(1)^[17]来说明:

$$F_0/F = 1 + K_{sv}[Q] \tag{1}$$

其中, F_0 表示未加入高分子的 BSA 荧光强度, F 为加入以后的荧光强度, $[Q]$ 为加入的浓度, K_{sv} 是 Stern-Volme 方程的猝灭常数, K_{sv} 越大说明高分子和 BSA 之间的相互作用越强.

表 3 列出了 5 类不同类型树状大分子的 K_{sv} 数据,5 类树状大分子分别是以乙二胺为核的聚酰胺-胺 PAMAM 及其水杨醛修饰物 PAMAMS;以 β -CD 为核的聚酰胺-胺 CP 及其水杨醛修饰物

CPS;末端分别为羟基和苯甲酰基的聚酰胺-胺(PAMAM-OH 和 PAMAM-PC).从表中的数据可以看出,水杨醛改性前后不同代数以环糊精为核的 CP 和以乙二胺为核的 PAMAM 和 BSA 之间均有着较强的作用.由于各类猝灭剂对 BSA 的动态猝灭常数都小于 200 L/mol,而本实验中的猝灭常数均大于 200 L/mol^[18],所以大分子对 BSA 荧光的影响属于静态猝灭^[19].

Table 3 The stern-volmer constants of the quenching of BSA fluorescence after addition of different dendrimers

Dendrimers			Dendrimers		
$K_{sv} \times 10^{-4} \text{ (L} \cdot \text{mol}^{-1})$			$K_{sv} \times 10^{-4} \text{ (L} \cdot \text{mol}^{-1})$		
PAMAMS	G1.0	19.40	PAMAM	G2.0	0.06
	G2.0	29.98		G3.0	0.14
	G3.0	40.30		G3.0	0.11 ^[20]
	G0	0.95		G3.5	0.38 ^[21]
CP	G1.0	17.92	PAMAM-OH	G4.0	0.84 ^[21]
	G2.0	21.53		G6.0	2.57 ^[22]
	G0	123.71		G4.0	0.29 ^[21]
CPS	G1.0	231.56	PAMAM-PC	G5.5	0.78 ^[22]
	G2.0	279.85		G6.0	4.85 ^[22]

实验数据表明,以 β -CD 为核的聚酰胺-胺 CP 及其水杨醛修饰物 CPS 与 BSA 相互作用强弱的趋势与以乙二胺为核的聚酰胺-胺类似,即 K_{sv} 值随代数的增加而增大,但明显以 β -CD 为核的聚酰胺-胺较相应类别的以乙二胺为核的聚酰胺-胺 K_{sv} 值大得多,可见将环糊精以核的形式引入树状分子中能较大幅度地增强其与 BSA 的相互作用.已有的研究结果^[17]表明,在 pH = 7.4,分子内部所有的氨基全部质子化,易与 BSA 中氨基酸残基发生静电作用,并且随着代数的增加氨基的数目不断增多,相互作用也随之增大.显然,此时 K_{sv} 值的大小已不再是仅仅由端氨基的数目所决定的了,我们分析认为,可能是由于环糊精分子的刚性结构对于支撑树状大分子的分子骨架更有利.另外,对于水杨醛修饰物 CPS 与 BSA 较强的作用力应归因于分子中酚羟基与 BSA 的氢键作用、苯环

的疏水作用及其与 BSA 中色氨酸残基吡啉环发生的 π - π 共轭.

3 结 论

本文合成了不同代数以 β -CD 为核的聚酰胺-胺树状大分子 CP,并对整代分子的末端官能团进行改性合成了 3 种不同代数的水杨醛改性的聚酰胺-胺 CPS.通过荧光光谱技术分析了 CP 和 CPS 与 BSA 的相互作用,结果表明,两类树状大分子对 BSA 荧光的影响属于静态猝灭,且猝灭常数 K_{sv} 随着代数的增大而增大.另外, β -CD 为核的以及末端水杨醛改性的树状大分子的 K_{sv} 比类似结构的以乙二胺为核的 PAMAM 的 K_{sv} 大,表明 β -CD 刚性分子以及末端水杨醛的介入能够显著地增强树状分子与 BSA 分子间的相互作用.

REFERENCES

1 Zeng F W, Zimmerman S C. Chem Rev, 1997, 97: 1681 ~ 1712
2 Casas A, Battah S, Venosa G D, Dobbin P, Rodriguez L, Fukuda H, Batlle A, MacRobert A J. J Controlled Release, 2009, 135 (2): 136 ~ 143
3 Han H J, Kannan R M, Wang S X, Mao G Z, Kusanovic J P, Romero R. Adv Funct Mater, 2010, 20: 409 ~ 421
4 Sweeta D M, Kolhatkarb R B, Rayd A, Swaanb P, Ghandehari H. Journal of Controlled Release, 2009, 138 (1): 78 ~ 85
5 Fant K, Esbjörner E K, Lincoln P, Nordén B. Biochemistry, 2008, 47: 1732 ~ 1740
6 Svenson S. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2009, 71 (3): 445 ~ 462
7 Kono K, Fukui T, Takagishi T, Sakurai S, Kojima C. Polymer, 2008, 49 (12): 2832 ~ 2838

- 8 Mishra M K, Gérard H C, Whittum-Hudson J A, Hudson A P, Kannan R M. *Mol Pharmaceutics*, 2012, 9(3): 413 ~ 421
- 9 Malik N, Wiwattanapatapee R, Klopsch R, Lorenz K, Frey H, Weener J W, Meijer E W, Paulus W, Duncan R. *J Controlled Release*, 2000, 65: 133 ~ 148
- 10 Zhang X Q, Wang X L, Huang S W, Zhuo R X, Liu Z L, Mao H Q, Leong K W. *Biomacromolecules*, 2005, 6: 341 ~ 350
- 11 Kuo J H S, Liou M j, Chiu H C. *Mol Pharmaceutics*, 2010, 7(3): 805 ~ 814
- 12 Xu F J, Zhang Z X, Ping Y, Li J, Kang E T, Neoh K G. *Biomacromolecules*, 2009, 10: 285 ~ 293
- 13 Alejandro D M, Patricia B, Marta G G. *Chem Commun*, 2008, 17: 2001 ~ 2003
- 14 Marta G G, Juan M B, Anna P B. *J Org Chem*, 2012, 77(3): 1273 ~ 1288
- 15 Tomoyuki N, Yasushi M, Kensaku I, Hiromi K. *Macromolecules*, 1996, 28(2): 522 ~ 524
- 16 Song Z W, Zhu J J, Chen X, Liu P. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2011, 31(11): 1835 ~ 1841
- 17 Gelamo E L, Silva C H T P, Imasato H, Tabak M. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2002, 1594: 84 ~ 89
- 18 Ware W R. *J Phys Chem*, 1962, 66: 455 ~ 458
- 19 Lepecq J B, Paoletti C. *Anal Biochem*, 1966, 17: 100 ~ 107
- 20 Klajnert B, Bryszewka M. *Bioelectrochemistry*, 2002, 55(1-2): 33 ~ 35
- 21 Barbara K, Lidia S, Maria B, Bartłomiej P. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1648(1-2): 115 ~ 126
- 22 Wang Y M, Song Y, Kong D L, Yu Y T. *Chin Sci Bull*, 2005, 50(21): 2436 ~ 2441

SYNTHESIS OF POLY(AMIDOAMINE) DENDRIMERS WITH CYCLODEXTRIN CORE AND THEIR INTERACTION WITH BOVINE SERUM ALBUMIN

Yi Huang¹, Qiong Kang², Wei-feng Li³, Yong-hui Shang¹, Lan-ying Wang²

(¹ School of Chemistry and Chemical Engineering, Xianyang Normal University, Xianyang 712000)

(² Key Laboratory of Synthetic and Natural Functional Molecule Chemistry of Ministry of Education,
College of Chemistry and Materials Science, Northwest University, Xi'an 710069)

(³ College of Pharmacy, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061)

Abstract In this article, our main goal is to establish a novel functional poly(amidoamine) dendrimer with cyclodextrin core for further application in the complex drugs delivery system. Therefore, the different generation poly(amidoamine) dendrimers with a core of cyclodextrin (CP) were synthesized *via* the divergent approach by using (aminoethyl) amino- β -cyclodextrin (EDA- β -CD) and methyl acrylate as the starting materials. Then the CP modified by salicylaldehyde (CPS) having different generations was obtained by condensation reaction. All of them were characterized by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and IR. The molecular interaction between various dendrimers with bovine serum albumin (BSA) was investigated by fluorescence in buffer solution (pH = 7.4). The results show that BSA fluorescence was strongly quenched by the two types of dendrimers. As shown by K_{sv} values, the quenching mechanism was a static quenching one, and the data increase with the increases of generation. In addition, the two types of dendrimers (CP and CPS) possess higher interaction ability than the corresponding dendrimers with an ethylenediamine core, which indicates that the dendrimers with a core of cyclodextrin and end groups modified by salicylaldehyde can enhance the ability of interaction between dendrimers and BSA.

Keywords Poly(amidoamine) dendrimer, β -Cyclodextrin, Bovine serum albumins, Fluorescence quenching, Molecular interaction