

具有还原刺激响应的聚氨酯胶束的制备和表征*

邢喜红 赖荣辉 董平江 罗建斌**

(西南民族大学化学与环境保护工程学院 成都 610041)

摘要 以聚 ε -己内酯二元醇(PCL)为软段,赖氨酸二异氰酸酯(LDI)和胱胺(cystamine)为硬段,合成了以胱胺封端的线性聚氨酯预聚体,然后利用 α -甲氧基- ω -环氧丙基聚乙二醇(EO-MPEG)的环氧基与胱胺的胺基反应,制备了含有二硫键的双亲性聚氨酯.利用 GPC 测试了聚氨酯的分子量, $^1\text{H-NMR}$ 及 FTIR 表征了聚氨酯的结构.利用透析法制备了聚氨酯胶束,荧光探针技术测得其临界胶束浓度为 $5.6 \times 10^{-3} \text{ g/L}$,TEM 分析表明胶束形貌为球形,DLS 分析表明胶束的平均粒径为 82 nm.还原响应实验表明胶束在 10 mmol/L 的谷胱甘肽的作用下粒径明显增大,表明胶束具有还原刺激响应特性.最后,以抗肿瘤疏水药物甲氨喋呤(MTX)为模型药物,研究了载药胶束在谷胱甘肽作用下的药物释放,结果表明谷胱甘肽的存在可刺激药物的释放,该材料可作为细胞内还原响应的载体材料使用.

关键词 聚氨酯胶束,还原响应性,药物载体

许多抗肿瘤药物由于具有很大的副作用而在临床上应用受到限制,而具有如生物相容性好,稳定性较好,对疏水性药物的增容作用等优点的抗肿瘤药物载体的双亲性聚合物胶束成为研究的热点^[1-4].亲水性的聚乙二醇(PEG)与疏水性的聚乳酸(PLA)及聚己内酯(PCL)所形成的双嵌段或三嵌段聚合物,如 PLA-PEG^[5], PCL-PEG^[6], PEG-PLA-PEG^[7], PEG-PCL-PEG^[8]等,常常用于制备抗肿瘤药物的载体材料,但这些聚合物存在包载率低,药物释放慢^[9],反应活性位置少,难于进一步功能化等缺点.多嵌段聚合物分子设计灵活,反应活性位置多,从而可以将多种活性物质或官能团引入聚合物链,得到结构多样性多功能的大分子^[10].

为了提高药物的疗效和利用率,减少毒副作用,能够在肿瘤细胞等病变细胞内定点智能和快速释放药物的载体成为近年来的研究热点.这些智能药物载体对各种化学及物理刺激,如 pH、光、温度、还原环境等,具有很强的敏感性^[11-20],在这些刺激作用下,载体材料发生降解或自组装形态的改变,从而将药物快速释放到病变细胞内.谷胱甘肽是一种还原性物质,在细胞外液中含有微摩尔量的 GSH,而在细胞内液中谷胱甘肽的浓度高

达 10 mmol/L 左右,为细胞外液的 100 到 1000 倍^[21].另外,一些肿瘤细胞质中的谷胱甘肽含量是正常细胞的好几倍^[22].基于谷胱甘肽在肿瘤细胞和正常细胞之间、以及细胞内外之间的巨大差异,研究者设计合成了主链或侧链中含有二硫键的还原响应性聚合物胶束.这种还原响应性胶束中的二硫键可以在较高浓度的谷胱甘肽(如肿瘤细胞内部)的作用下发生降解,从而将药物快速释放出来^[23],达到了在肿瘤细胞内部定点快速释放的目的.

聚氨酯具有良好的生物相容性和灵活的分子设计自由度(可进行分子裁剪)等特点,广泛应用于生物医学工程领域,如组织修复或替代材料等.近年来,无毒可生物降解的聚氨酯广泛用作组织工程和药物传释放领域的载体材料^[24-26].合成聚氨酯的异氰酸酯具有很高的反应活性,含有二硫键的二元醇或二元胺可以很容易的引入聚氨酯的主链,得到具有还原响应性的聚合物药物载体.本文以聚乙二醇单甲醚为亲水链段,聚己内酯二元醇为疏水链段,赖氨酸二异氰酸酯和胱胺为扩链剂合成了新型具有还原响应性的聚氨酯.研究发现所制备的材料能够在水相中自组装成具有疏水内核,亲水外壳的纳米粒子.药物包覆实验发现该

* 2013-10-08 收稿,2013-11-20 修稿;西南民族大学研究生学位点建设项目(项目号 2013XWD-S0703)资助.

** 通讯联系人,E-mail:luojb1971@163.com

纳米粒子的载药量和包封率分别为 10.9% 和 46.5%。在 10 mmol/L 的谷胱甘肽的存在下,还原响应实验表明聚氨酯胶束中的二硫键断裂,从而

快速将药物释放出来。胶束的形成及药物释放释放如图 1 所示。

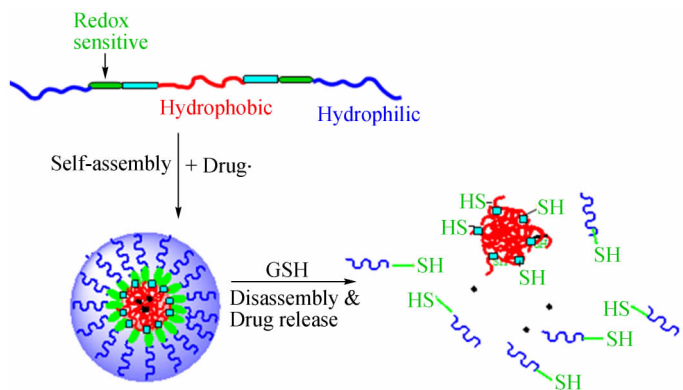


Fig. 1 Schematic illustration of MTX-loaded micelles and their dissociation and release of MTX upon reducing agent GSH

1 实验部分

1.1 实验药品

环氧氯丙烷,化学纯,北京化工厂;氢化钠(NaH),80%,绍兴兴欣化工有限公司;聚乙二醇单甲醚(MPEG, $M_n = 1000$),分析纯,青岛天鑫化工有限公司;聚乙内酯二元醇(PCL, $M_n = 2000$),天宇(深圳)化工原料有限公司;乙醚,分析纯,宏康乙醚有限公司;四氢呋喃(THF):分析纯,美国Bioway公司;胱胺二盐酸盐,分析纯,湖北盛天恒创生物科技有限公司;三乙胺,分析纯,济南聚友化工;赖氨酸二异氰酸酯,实验室自己合成^[27]。

1.2 实验仪器

聚合物的分子量及分子量分布采用 PL-GPC (美国 Polymer Laboratory 公司) 凝胶渗透色谱(GPC)测定,以聚苯乙烯为标样,DMF/LiBr 为流动相。核磁共振(HNMR)采用 Varian Inova-400 核磁共振波谱仪,以氘代氯仿为溶剂,TMS 为内标。胶束的粒径采用动态光散射的方法测定,使用仪器为 Mastersier2000 (英国 Malvern 公司) 激光粒度仪,粒度测试范围 0.02 ~ 2000 μm ,扫描速度 1000 次/秒,光源为高稳定氦氖激光器,波长为 633 nm。胶束的形貌,分布采用 H-600IV (日本日立公司) 透射电镜分析。紫外吸收采用 Unicam UV500 紫外可见光分光光度计测试。荧光光度计采用 Cary Eclipse 荧光光度计(国产)。

1.3 α -甲氧基- ω -环氧丙基聚乙二醇(EO-MPEG)的合成

在 200 mL 干燥的 THF 中分别加入 1.37 g

NaH 和 5.31 g 环氧氯丙烷,10 g 聚乙二醇单甲醚,搅拌下 40 $^{\circ}\text{C}$ 反应 2 h,过滤除去杂质,后用乙醚沉淀,过滤,干燥得 α -甲氧基- ω -环氧丙基聚乙二醇(EO-MPEG)^[28],收率为 75%。

1.4 预聚体 PCL-SS 的合成

将 6 mmol 聚己内酯二元醇与 9 mmol 赖氨酸二异氰酸酯在 80 $^{\circ}\text{C}$ 反应 5 h,降至室温,加入干燥的 THF 将反应物溶解,加入 18 mmol 胱胺二盐酸盐,并加入过量三乙胺中和胱胺二盐酸盐中的 HCl,反应 15 h 后升温到 50 $^{\circ}\text{C}$ 反应 1 h,加入过量胱胺的目的是将胱胺作为封端剂连接在聚合物两端(如图 2 所示),反应完成后将混合溶液倾入蒸馏水中除去未反应的胱胺及其它小分子杂质。然后过滤除去水,将固体产物再次用四氢呋喃溶解,水洗,重复上述溶解水洗操作 3 次,最后将产物在烘箱中 70 $^{\circ}\text{C}$ 烘干,收率为 80%。

1.5 具有还原响应性的聚氨酯 PCL-SS-MPEG 的合成

取 0.30 mmol PCL-SS 预聚体与 7.5 mmol α -甲氧基- ω -环氧丙基聚乙二醇(EO-MPEG)于干燥的四氢呋喃搅拌反应 72 h。反应结束后将反应物倾入蒸馏水中,使其在水中形成膜状碎片以除去杂质,过滤,将膜状碎片重复用四氢呋喃溶解,再倾入蒸馏水中,重复溶解水洗操作 3 次,最后将膜状碎片于烘箱 70 $^{\circ}\text{C}$ 烘干,收率为 70%。具体合成路线如图 2 所示。

1.6 胶束的制备

取 10 mg PCL-SS-MPEG 在 2 mL DMF 中溶解,搅拌 1 h,后将上述溶液缓慢滴加到 5 mL 去离

(MWC05000),将其浸入在含有 10 mmol/L 或 10 μ mol/L 谷胱甘肽的 20 mL PBS(50 mmol/L, pH = 7.4),37 $^{\circ}$ C 搅拌,不同时间间隔后取上述 PBS 缓冲液 6 mL,再补充 6 mL 含 10 mmol/L 或 10 μ mol/L 谷胱甘肽的 PBS(50 mmol/L, pH = 7.4)于上述 PBS 缓冲液中.以未含有谷胱甘肽的 PBS 溶液作为对照研究药物的释放.根据紫外分光光度计测出不同时间间隔取出的 PBS 缓冲液中 303 nm 处紫外吸光度,计算其药物释放含量.

2 结果与讨论

2.1 PCL-SS-MPEG 的 GPC 分析

图 3 为 PCL-SS-MPEG 的 GPC 图,其中倒峰为溶剂峰,由 GPC 测得 PCL-SS-MPEG 的数均分子量 M_n 为 31400,分子量分布 (M_w/M_n) 为 1.67, GPC 结果表明 PU 不含小分子杂质,并且证明形成了聚合物.

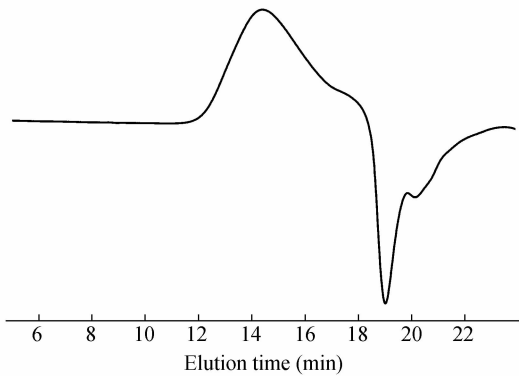


Fig. 3 GPC profile of PCL-SS-MPEG

2.2 PCL-SS 及 PCL-SS-MPEG 的 $^1\text{H-NMR}$ 分析

图 4(A)为赖氨酸二异氰酸酯(LDI)的核磁

共振谱图,图 4(B)为 α -甲氧基- ω -环氧丙基聚乙二醇(EO-MPEG)的核磁共振谱图,图 4(C)为 PCL-SS 和 PCL-SS-MPEG 的核磁共振谱图.图 4(A)中, $\delta = 1.29$ 为甲基 CH_3 的峰, $\delta = 1.47$ 基团 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$) 亚甲基的峰, $\delta = 1.61$ 为基团 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$) 亚甲基的峰, $\delta = 1.73$ 为基团 (CH_2CH) 亚甲基的峰, $\delta = 3.30$ 为 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}$) 亚甲基的峰, $\delta = 3.99$ 为次甲基 CH 的峰, $\delta = 4.23$ 为基团 (CH_2COO) 亚甲基的峰,证实了赖氨酸二异氰酸酯的结构.图 4(B)中, ($\delta = 2.63, 2.80$) 为环氧键中亚甲基 CH_2 的峰, $\delta = 3.16$ 为环氧键中次甲基 CH 的峰, ($\delta = 3.56, 3.80$) 为基团 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) $_n$ - C H_2 亚甲基的峰, $\delta = 3.64$ 为 PEG 中重复的单元 OCH_2CH_2 的峰, $\delta = 3.39$ 为 OCH_3 的峰,证实 EO-MPEG 的结构;图 4(C)中 PCL-SS 的核磁共振谱图中, $\delta = 4.31, 4.19, 3.15, 1.51$ 分别为 LDI 中 $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{OCO}$, $\text{O}=\text{C}-\text{NH}-\text{CH}_2$ 以及与 $-\text{CH}-\text{CH}_2-$ 的峰, $\delta = 1.25$ 为 LDI 中 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}-$ 与 CH_3 的峰, $\delta = 4.06, 3.88, 2.31, 1.65$ 分别为 PCL 中 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$, $-\text{CH}_2\text{COO}$, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ 的峰, $\delta = 1.38$ 为 PCL 中 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 及 LDI 中 $\text{O}=\text{C}-\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2$ 的峰, $\delta = 3.52$ 为胱胺中 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$ 的峰, $\delta = 2.90$ 为 $-\text{CH}_2\text{S}$ 的峰,证实了 PCL-SS 的结构.图 4(C)中 PCL-SS-MPEG 的核磁共振谱图中,除了 LDI, PCL, 胱胺的峰外,还出现了的 $\delta = 3.65$ 和 $\delta = 3.38$ 处 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ 及 OCH_3 的特征峰位置,证实了 EO-MPEG 与 PCL-SS 上的胱胺的胺基发生反应,生成了两性性聚合物 PCL-SS-MPEG.

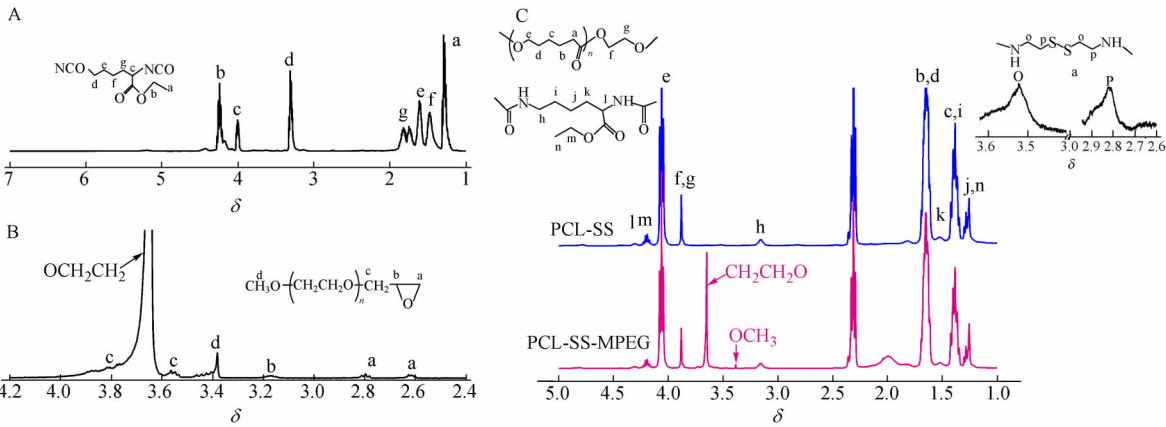


Fig. 4 $^1\text{H-NMR}$ spectra of EO-MPEG (A), LDI (B) and PCL-SS and PCL-SS-MPEG in CDCl_3 (C)

2.3 PCL-SS-MPEG 的 FTIR 表征

图 5 为 LDI, PCL-SS 与 PCL-SS-MPEG 的红外谱图, S—S, S—CH₂ 表现不出明显的特征峰, 因此容易被其他的峰覆盖难以辨认^[31]. 由 LDI 的红外谱图可以看出, 2265 cm⁻¹ 为 N=C=O 的伸缩振动; 2954, 2869 cm⁻¹ 分别为 CH₃, CH₂ 的伸缩振动; 1740, 1670 cm⁻¹ 的红外吸收为羰基 (C=O) 的伸缩振动; 1245, 1103 cm⁻¹ 为 O=C—O 的对称和非对称伸缩振动. 由 PCL-SS 红外谱图可以看出, 2220 cm⁻¹ N=C=O 的伸缩振动消失说明 LDI 反应完全; 3400 cm⁻¹ 处为 N—H 的伸缩振动; 2945, 2856 cm⁻¹ 分别为 CH₃, CH₂ 的伸缩振动; 1734, 1644 cm⁻¹ 的红外吸收对应于羰基 (C=O) 的伸缩振动; 1260, 1080 cm⁻¹ 为 O=C—O 的对称和非对称伸缩振动. 由 PCL-SS-MPEG 红外谱图可以看出, 3400, 2945, 2850 cm⁻¹ 为 N—H, CH₃, CH₂ 的伸缩振动, 1734, 1647 cm⁻¹ 对应于羰基 (C=O) 的伸缩振动, 1255 cm⁻¹ 为 O=C—O 的对称伸缩振动, 1093 cm⁻¹ 为 MPEG 中 C—O—C 的伸缩振动和 O=C—O 非对称伸缩振动.

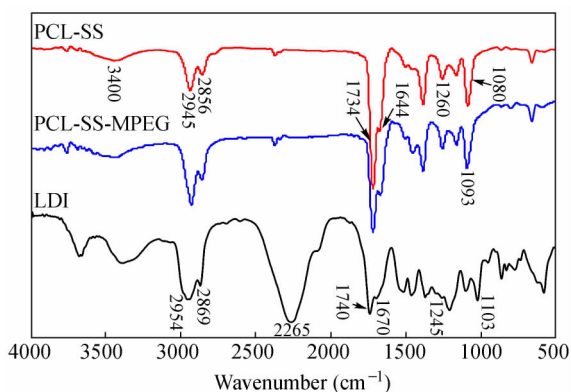


Fig. 5 FTIR spectra of LDI, PCL-SS and PCL-SS-MPEG

2.4 临界胶束浓度

共聚物临界胶束浓度 (CMC) 根据胶束中芘的含量变化作图确定. 由于芘在水中最大激发波长为 333 nm, 随着共聚物浓度增加, 最大激发波长渐渐红移至 339 nm^[32], 因此吸光度比值 (I_{339}/I_{333}) 随浓度的拐点即为临界胶束浓度. 图 6 所示为 PCL-SS-MPEG 胶束的临界胶束浓度图, 作图得到其临界胶束浓度为 5.6×10^{-3} g/L.

2.5 胶束及载药胶束的透射电镜图

图 7(a), 7(b) 分别为胶束与载有药物的胶束的 TEM 图. 图 7(a) 可以看出胶束的形貌为球形, 直径为 80 nm 到 100 nm 左右, 图 7(b) 可以看

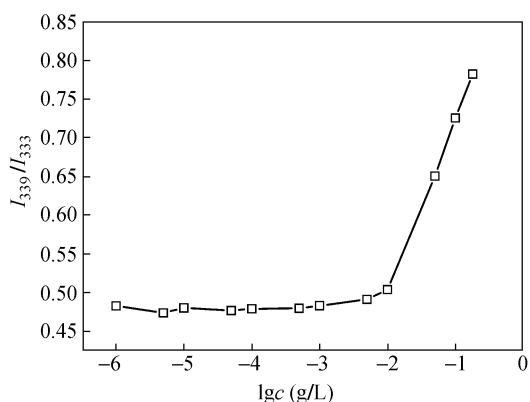


Fig. 6 The critical micelle concentration of PCL-SS-MPEG

出, 载有药物的胶束的形貌为球形, 粒径为 80 nm 到 120 nm 左右, 由透射电镜分析可知, 载药胶束与空白胶束的粒径相差不大.

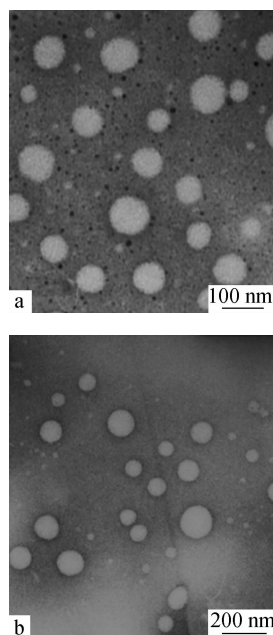


Fig. 7 TEM images of micelles (a) and micelles with drug (b)

2.6 空白胶束与载药胶束的 DLS 分析以及 GSH 对胶束的还原刺激响应

图 8 为空白胶束与载药胶束的 DLS 图, DLS 测试得到空白胶束与载药胶束的平均粒径分别为 82 nm 和 84 nm, 载药胶束与空白胶束粒径相差不大, 与透射电镜分析一致. 为了研究胶束在还原剂 GSH 存在下的响应及粒径变化情况, 我们研究了胶束在 10 mmol/L GSH 作用下, 不同时间段胶束的 DLS 粒径分析测试, 并以 0 mmol/L GSH 作用为对照. 图 9(B) 为 37 °C 10 mmol/L GSH 作用下不同时间段胶束的 DLS 粒径图与 0 mmol/L GSH

下胶束的 DLS 粒径图,从图中可以看出,随着 GSH 作用时间的增长,胶束的粒径明显增大,10 mmol/L 作用下,胶束的平均粒径从 82 nm 变化至 628 nm,并且分布变宽,原因是 GSH 的加入使 PCL-SS-MPEG 胶束中二硫键断裂,使亲水性的 MPEG 壳与疏水核分离,导致疏水链段之间聚集产生大的粒子(降解过程如图 1 所示)^[33-35];图 9 (A)为 37 ℃ 下 0 mmol/L GSH 与 10 mmol/L GSH 作用 48 h 后胶束的外观变化,放置 48 h 后,0 mmol/L GSH 作用下胶束仍然为淡蓝色透明的液体,10 mmol/L GSH 作用下胶束变浑浊,进一步证明了 GSH 使聚氨酯胶束中二硫键断裂,使亲水性的 MPEG 壳与疏水核分离,导致疏水链段之间聚集产生大的粒子,其他具有还原响应性的胶束的研究也表现出了相似的结果^[33-35]。

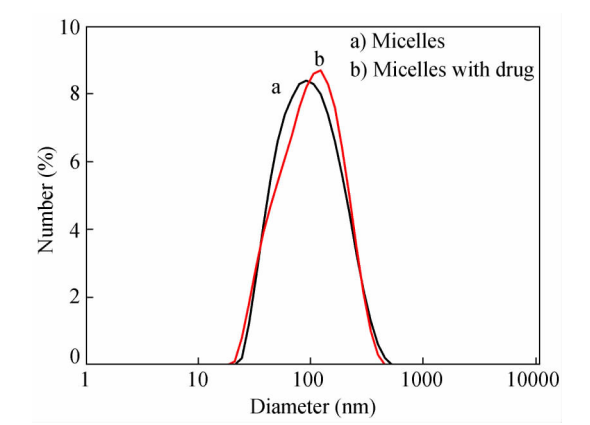


Fig. 8 DLS curves of micelles and micelles with drugs

2.7 药物的包载及谷胱甘肽作用下药物的释放

氨甲喋呤,作为治疗骨肉瘤,肺癌,乳腺癌的一种抗肿瘤药物^[36],用作模型疏水性药物来研究药物的包载及释放,通过将 MTX/PCL-SS-MPEG 的混合 DMF 溶液在水中透析得到载有氨甲喋呤的胶束,根据紫外测得载药量为 10.9%,包封率为 46.5%。为了研究载药胶束在谷胱甘肽作用下药物的释放情况,用紫外分光光度计测试了载药胶束在 10 mmol/L 与 10 μmol/L GSH 作用下的药物释放量,并且以未加谷胱甘肽下载药胶束的释放作比较,结果如图 10 所示。由图 10 可以看出,10 μmol/L GSH 与无 GSH 作用下,药物的释放曲线基本重合,说明其释放速率相差不大,12 h 后释放药物量约为 28.5%,而 10 mmol/L GSH 作用下,12 h 后 62.9% 的药物释放,明显高于 10 μmol/L GSH 与无谷胱甘肽作用下药物的释放量,原因是 10 mmol/L GSH 的加入使得胶束中二

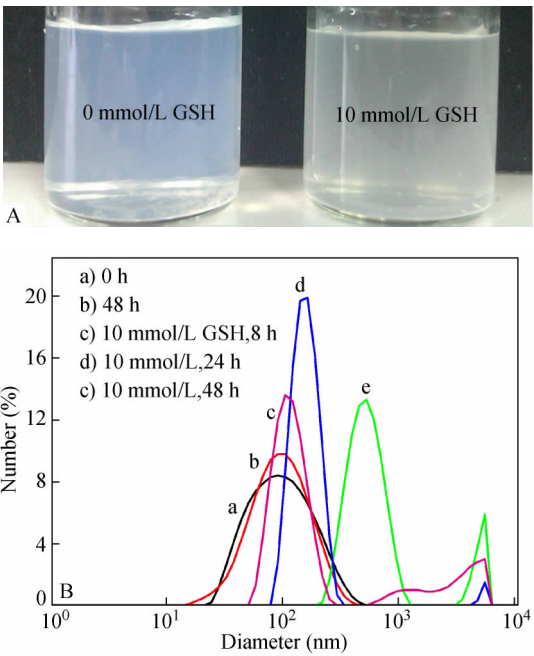


Fig. 9 Digital photographs of micelles in response to 0 mmol/L GSH and 10 mmol/L GSH (A) and size change of micelles in response to 10 mmol/L GSH (B)

硫键断裂,亲水段 MPEG 与疏水段断裂,胶束结构破坏,使得包裹的药物释放出来(如图 1 所示),而当 GSH 的量太少或没有 GSH 作用时不足以或不能使胶束中的二硫键断裂,药物不能很快释放出来。胶束的药物释放实验表明,聚氨酯胶束的二硫键在高浓度的谷胱甘肽(细胞内)的作用下可以还原断裂,使得胶束结构破坏,从而加速药物的释放^[33-35],而在低浓度的谷胱甘肽(细胞外)下对药物释放的促进作用并不明显,这种具有还原刺激响应的快速释放药物的特性,克服了传统胶束在肿瘤细胞中药物释放慢,释放量少的

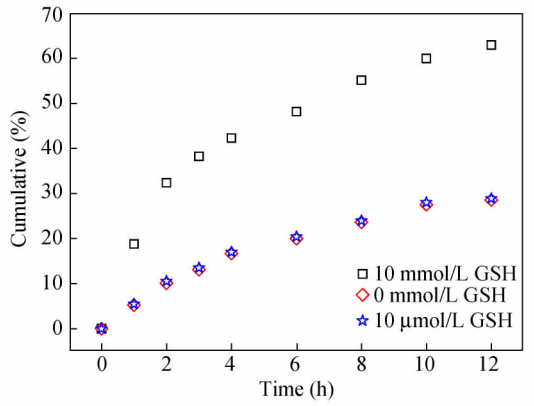


Fig. 10 *In vitro* release of MTX from micelles in PBS (50 mmol/L, pH = 7.4) at 37 ℃ with 10 mmol/L, 10 μmol/L and 0 mmol/L treatment of GSH

问题^[37].

3 结论

本文基于聚乙二醇单甲醚,聚己内酯二元醇,赖氨酸二异氰酸酯,脘胺合成了新型含有二硫键的具有还原响应性聚氨酯,研究表明,该聚氨

酯在水中能形成球状的胶束,且胶束能够在谷胱甘肽的作用下将二硫键还原断裂,并且谷胱甘肽能够将载药胶束中药物快速释放出来,因此该聚氨酯胶束有望应用于药物传输领域解决抗癌药物在肿瘤细胞中释放量少和副作用的问题.

REFERENCES

1 Zhang L, Eisenberg A. Polym Adv Technol, 1998, 9(10-11): 677 ~ 699

2 Duncan R. Nat Rev Drug Discov, 2003, 2(5): 347 ~ 360

3 Lukyanov A, Torchilin V. Adv Drug Deliv Rev, 2004, 56(9): 1273 ~ 1289

4 Kabanov A. Adv Drug Deliv Rev, 2006, 58(15): 1597 ~ 1621

5 Riley T, Heald C, Stolnik S, Garnett M, Illum L, Davis S. Langmuir, 2003, 19(20): 8428 ~ 8435

6 Mikhail A, Allen C. Biomacromolecules, 2010, 11(5): 1273 ~ 1280

7 He G, Ma L, Pan J, Venkatraman S. Int J Pharmaceut, 2007, 334(1): 48 ~ 55

8 Wei X, Gong C, Gou M, Fu S, Guo Q, Shi S, Luo F, Guo G, Qiu L, Qian Z. Int J Pharmaceut, 2009, 381(1): 1 ~ 18

9 Zou T, Li S, Zhang X, Wu X, Cheng S, Zhuo R. Polym Chem-UK, 2007, 45(22): 5256 ~ 5265

10 Bucknall D, Anderson H. Science, 2003, 302(5652): 1904 ~ 1905

11 Chen W, Meng F, Li F, Ji S, Zhong Z. Biomacromolecules, 2009, 10(7): 1727 ~ 1735

12 Biaglowć J, Donahue J, Tuttle S, Held K, Chrestensen C, Mieyal J. Anal Biochem, 2000, 281(1): 77 ~ 86

13 Savić R, Luo L, Eisenberg A, Maysinger D. Science, 2003, 300(5619): 615 ~ 618

14 Rapoport N. Prog Polym Sci, 2007, 32(8): 962 ~ 990

15 Rodriguez-Hernandez J, Chécot F, Gnanou Y, Lecommandoux S. Prog Polym Sci, 2005, 30(7): 691 ~ 724

16 Meng F, Zhong Z, Feijen J. Biomacromolecules, 2009, 10(2): 197 ~ 209

17 Husseini G, Rapoport N, Christensen D, Pruitt J, Pitt W. Colloid Surface B, 2002, 24(3): 253 ~ 264

18 Khoukh S, Oda R, Labrot T, Perrin P, Tribet C. Langmuir, 2007, 23(1): 94 ~ 104

19 You Y, Hong C, Pan C. Macromolecules, 2009, 42(3): 573 ~ 575

20 Schmaljohann D. Adv Drug Deliver Rev, 2006, 58(15): 1655 ~ 1670

21 Saito G, Swanson J, Lee K. Adv Drug Deliver Rev, 2003, 55(2): 199 ~ 215

22 Russo A, DeGraff W, Friedman N, Mitchell J. Cancer Res, 1986, 46(6): 2845 ~ 2848

23 Ryu J, Roy R, Ventura J, Thayumanavan S. Langmuir, 2010, 26(10): 7086 ~ 7092

24 Ding M, Li J, Fu X, Zhou J, Tan H, Gu Q, Fu Q. Biomacromolecules, 2009, 10(10): 2857 ~ 2865

25 Ding M, Zhou L, Fu X, Tan H, Li J, Fu Q. Soft Matter, 2010, 6(9): 2087 ~ 2092

26 Ding M, Li J, He X, Song N, Tan H, Zhang Y, Lv H, Zhou J, Li C, Hou L, Zhang Q. Adv Mater, 2012, 24(27): 3639 ~ 3645

27 Nowick J, Powell N, Nguyen T, Noronha G. J Org Chem, 1992, 57(26): 7364 ~ 7366

28 Cho K, Kim C, Lee J, Park J. Macromol Rapid Comm, 1999, 20(11): 598 ~ 601

29 Wilhelm M, Zhao C, Wang Y, Xu R, Winnik M, Mura J, Riess G, Croucher M. Macromolecules, 1991, 24: 1033 ~ 1040

30 Astafieva I, Zhong X, Eisenberg A. Macromolecules, 1993, 26: 7339 ~ 7352

31 Wang J, Zheng Z, Chen L, Tu X, Wang X. J Biomat Sci-Polym E, 2013, 24(7): 831 ~ 848

32 Guo H, Zhao X, Wang J. J Colloid Interf Sci, 2005, 284: 646 ~ 651

33 Liu J, Pang Y, Huang W, Zhu Z, Zhu X, Zhou Y, Yan D. Biomacromolecules, 2011, 12(6): 2407 ~ 2415

34 Sun H, Guo B, Cheng R, Meng F, Liu H, Zhong Z. Biomaterials, 2009, 30(31): 6358 ~ 6366

35 Sun H, Guo B, Li X, Cheng R, Meng F, Liu H, Zhong Z. Biomacromolecules, 2010, 11(4): 848 ~ 854

36 Koo A, Lee H, Kim S, Chang J, Park C, Kim C, Park J, Lee S. Chem Commun, 2008(48): 6570 ~ 6572

37 Langer R. Nature, 1998, 392(6679 Suppl): 5 ~ 10

Preparation and Characterization of Redox-responsive Polyurethane Micelles

Xi-hong Xing, Rong-hui Lai, Ping-jiang Dong, Jian-bin Luo *

(College of Chemistry and Environment Protection Engineering, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041)

Abstract A new type of biodegradable micelles for glutathione-mediated drug delivery was developed on the basis of amphiphilic polyurethane (PCL-SS-MPEG) with disulfide linkages between the hydrophobic and hydrophilic moieties. The disulfide contained amphiphilic polyurethane was synthesized as follows: first, cystamine capped linear prepolymer polyurethane was synthesized with poly(ϵ -caprolactone diol) (PCL) as soft segment, lysine diisocyanate (LDI) and cystamine as hard segment, then epoxy group of α -methoxy- ω -epoxy propyl glycol (EO-MPEG) reacted with amine of cystamine capped linear prepolymer polyurethane. The molecular weight of polyurethane was characterized by GPC, the structure was characterized by $^1\text{H-NMR}$ and FTIR. Polyurethane micelles was prepared by dialysis method, the critical micelle concentration was 5.6×10^{-3} g/L measured by fluorescence technique. TEM analysis showed that the morphology of micelles is spherical, DLS analysis showed that the average particle size of micelles was 82 nm, both TEM and DLS analysis indicated that PCL-SS-MPEG was able to self-assemble into micelles in aqueous solutions benefitting from its amphiphilic structure. Reduction-triggered destabilization of PCL-SS-MPEG was determined by DLS measurements, the results showed the size of micelles significantly increased under 10 mmol/L glutathione, indicating that the micelles had reduction sensitive characteristics. Finally, a hydrophobic anti-cancer drug methotrexate (MTX) was used as a model drug to study drug release in glutathione, the results indicated glutathione can accelerate the release of the drug by breaking the disulfide bridge linkages and destabilizing the micelle structure. This result shows that the polyurethanes are promising to be used as reduction-stimulus materials in drug delivery.

Keywords Polyurethane micelles, Reduction-sensitive, Drug carriers

* Corresponding author: Jian-bin Luo, E-mail: luojb1971@163.com