

低取代度两亲性 β -环糊精及其水相中纳米球的制备郭文彦^{a,b} 赵明刚^{a*} 郝爱友^c(^a山西师范大学化学与材料科学学院 临汾 041004; ^b山西师范大学现代文理学院 临汾 041000;^c山东大学化学与化工学院 济南 250100)

摘要 将2-*O*-(2-羟丙基)- β -环糊精与十二烷基、十四烷基、十六烷基和十八烷基缩水甘油醚在吡啶中反应,合成了4个低取代度的两亲性 β -环糊精衍生物(平均取代度分别为1.87、1.95、2.14和1.80)。将上述4个化合物分散于水中自组装成可稳定2~3周的纳米球,并且均呈现出较好的分散度和均匀性。

关键词 两亲性, *O*-(羟丙基)- β -环糊精, 缩水甘油醚, 纳米球

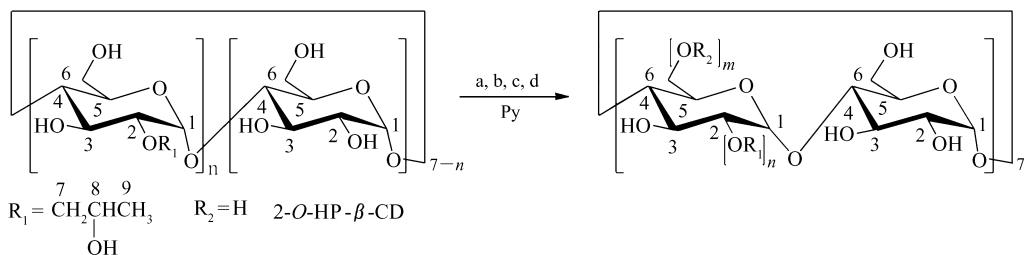
中图分类号: O624.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-0518(2013)03-0260-05

DOI: 10.3724/SP.J.1095.2013.20164

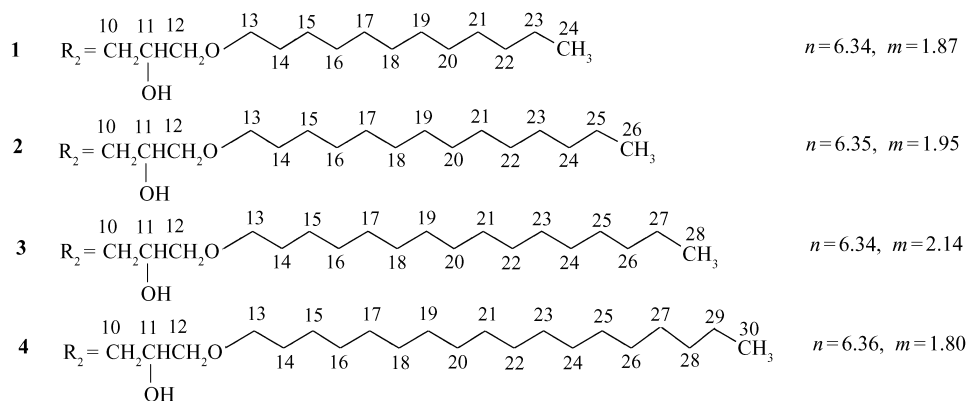
环糊精(cyclodextrins, CDs)是一类由 α -D-吡喃葡萄糖单元通过 α -1,4-糖苷键首尾相连形成的具有腔内疏水、腔外亲水的环形锥筒状分子,通过其疏水空腔与客体分子发生包结作用,可以改善客体分子的水溶性、稳定性和生物相容性等性质。将其作为药物载体在药物靶向输送和控制缓释方面得到了广泛的研究和应用^[1]。但是,天然环糊精的亲水性大大减少了药物包合物与生物膜的接触。如果将环糊精分别用亲水和疏水的取代基团进行修饰,使之具备一面亲水另一面亲脂的两亲性能,就可以有效地解决上述问题^[2-4]。目前,报道的两亲性环糊精衍生物的亲水基团主要是在环糊精的第二面引入羟乙基基团和寡聚乙二醇基团及其键联的 β -D-半乳糖单元、 β -D-葡萄糖单元和氨基,以及在环糊精的第一面引入磺酸铵盐和氨基等^[5-7]。将羟丙基引入 β -环糊精的第二面得到的2-*O*-羟丙基- β -环糊精具有非常好的水溶性和生物相容性^[8],但由其衍生的两亲性环糊精衍生物目前尚未见报道。按文献^[9]以环氧氯丙烷和十二、十四、十六和十八烷基醇在50% NaOH水溶液中合成了十二烷基、十四烷基、十六烷基和十八烷基缩水甘油醚,使之分别与2-*O*-(2-羟丙基)- β -环糊精(平均取代度DS 6.34)在吡啶中反应得到了低取代度的两亲性 β -环糊精衍生物6-*O*-(十二烷氧基-2-羟丙基)-2-*O*-(2'-羟丙基)- β -环糊精(**1**)、6-*O*-(十四烷氧基-2-羟丙基)-2-*O*-(2'-羟丙基)- β -环糊精(**2**)、6-*O*-(十六烷氧基-2-羟丙基)-2-*O*-(2'-羟丙基)- β -环糊精(**3**)和6-*O*-(十八烷氧基-2-羟丙基)-2-*O*-(2'-羟丙基)- β -环糊精(**4**),如Scheme 1所示。据以往文献^[10-13]报道,两亲性环糊精衍生物的疏水烷基链的取代度均较大,能够在水相中自组装成单(多)层膜、囊泡、微胶囊、纳米球和纳米粒子等。疏水烷基链取代度较大的两亲性环糊精衍生物与客体分子包结时,由于其空间位阻的影响,客体分子不能有效地进入环糊精的空腔,而疏水烷基链取代度相对低的两亲性环糊精衍生物与客体包结时,空间位阻的影响较小,客体分子能有效地进入环糊精的空腔形成包结物。将上述4个低取代度的两亲性 β -环糊精衍生物分散于水相中可以自组装成较规整和粒径分布较窄的纳米球,这使其可作为药物载体,在药物靶向输送和控制缓释方面具有潜在的应用前景。



2012-04-19 收稿, 2012-06-13 修回

教育部高等学校博士学科点专项科研基金资助(20091404110001)

通讯联系人: 赵明刚, 讲师; Tel: 0357-2051192; E-mail: minggangzhao@hotmail.com; 研究方向: 金属有机、有机合成和功能超分子

Scheme 1 Synthesis of amphiphilic β -cyclodextrin derivatives **1** ~ **4**

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

Avance-600 型和 Avance-400 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司);KQ-300 DB 型超声清洗仪(昆山超声仪器有限公司);JEM-100CX II 型透射电子显微镜(日本 JEOL 公司),样品用 2% 磷钨酸染色。

2-*O*-(2-羟丙基)- β -环糊精(山东新大精细化工有限公司),平均取代度 DS 6.34;十二、十四、十六和十八烷基缩水甘油醚按文献[9]方法合成;其它试剂均为分析纯,使用前未纯化。

1.2 6-*O*-(十二烷氧基-2-羟丙基)-2-*O*-(2'-羟丙基)- β -环糊精(**1**)的合成

将 5.4 g 2-羟丙基- β -环糊精溶于 100 mL 新蒸吡啶中,搅拌下缓慢滴加 4 mL 十二烷基缩水甘油醚,30 min 内滴完,升温至 80 $^{\circ}\text{C}$ 继续反应 24 h。反应完毕将溶液浓缩至 20 mL,加入 300 mL 冷丙酮析出沉淀物,抽滤得粗产物。将粗产物加入适量蒸馏水中除去未反应的 2-羟丙基- β -环糊精,抽滤,将不溶物在 80 $^{\circ}\text{C}$ 减压干燥 10 h 后,在索氏提取器中用丙酮回流 8 h 以除去残余吡啶,得 0.70 g 土黄色产物 **1**,收率 9.97%。 ^{13}C NMR(DMSO- d_6 , 600 MHz), δ : 102.10 ~ 100.10 (C-1, C-1'), 81.90, 80.74 (C-4', C-4), 77.73 ~ 65.45 (C-7, C-8, C-2', C-3, C-2, C-5, C-5', C-10, C-11, C-12, C-13), 63.93 ~ 60.06 (C-6', C-6), 48.75 ~ 20.04 (C-14, C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22, C-23), 19.91 (C-9), 14.14 (C-24); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz), δ : 5.03 ~ 4.98 (m, H, H-1, H-1'), 4.52 ~ 3.34 (m, ~ 74.11 H, H-2, H-2', H-3, H-3', H-4, H-4', H-5, H-5', H-6, H-6', H-7, H-8, H-10, H-11, H-12, H-13), 1.26 ~ 1.01 (m, ~ 56.4 H, H-9, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22, H-23), 0.86 ~ 0.84 (t, ~ 5.61 H, H-24)。

1.3 6-*O*-(十四烷氧基-2-羟丙基)-2-*O*-(2'-羟丙基)- β -环糊精(**2**)的合成

与上述步骤相同,投入原料为 5.42 g 2-羟丙基- β -环糊精和 4 mL 十四烷基缩水甘油醚,得 0.65 g 土黄色化合物 **2**,收率为 9.85%。 ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz), δ : 102.54 ~ 100.40 (C-1, C-1'), 81.98, 80.82 (C-4', C-4), 77.80 ~ 65.52 (C-7, C-8, C-2', C-3, C-2, C-5, C-5', C-10, C-11, C-12, C-13), 64.06 ~ 60.03 (C-6', C-6), 48.81 ~ 20.34 (C-14, C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22, C-23, C-24, C-25), 19.81 (C-9), 14.04 (C-26); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz), δ : 5.02 ~ 4.96 (m, 7H, H-1, H-1'), 4.48 ~ 3.31 (m, ~ 74.7 H, H-2, H-2', H-3, H-3', H-4, H-4', H-5, H-5', H-6, H-6', H-7, H-8, H-10, H-11, H-12, H-13), 1.28 ~ 1.03 (m, ~ 65.85 H, H-9, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22, H-23, H-24, H-25), 0.85 (t, ~ 5.85 H, H-26)。

1.4 6-*O*-(十六烷氧基-2-羟丙基)-2-*O*-(2'-羟丙基)- β -环糊精(**3**)的合成

与上述步骤相同,投入原料为 5.3 g 2-羟丙基- β -环糊精和 4 mL 十六烷基缩水甘油醚,得 0.58 g 土黄色化合物 **3**,收率为 8.95%。 ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 103.01 ~ 100.15 (C-1, C-1'), 81.96, 80.82 (C-4', C-4), 77.85 ~ 65.54 (C-7, C-8, C-2', C-3, C-2, C-5, C-5', C-10, C-11, C-12, C-13), 64.02 ~ 59.96 (C-6', C-6), 33.17 ~ 22.06 (C-14, C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22, C-23, C-24, C-25, C-26, C-27), 19.84 (C-9), 13.92 (C-28); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ : 5.04 ~ 4.99 (m, 7H, H-1,

H-1'), 4.69 ~ 3.34 (m, ~76 H, H-2, H-2', H-3, H-3', H-4, H-4', H-5, H-5', H-6, H-6', H-7, H-8, H-10, H-11, H-12, H-13), 1.24 ~ 1.03 (m, ~78.94 H, H-9, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22, H-23, H-24, H-25, H-26, H-27), 0.86 (t, ~6.42 H, H-28)。

1.5 6-*O*-(十八烷氧基-2-羟丙基)-2-*O*-(2-羟丙基)- β -环糊精(**4**)的合成

合成步骤同上,投入原料为 5.35 g 2-羟丙基- β -环糊精和 4 mL 十八烷基缩水甘油醚,得 0.60 g 土黄色化合物 **4**,收率为 8.84%。¹³C NMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ :100.80 ~ 99.87 (C-1, C-1'), 81.53, 79.85 (C-4', C-4), 78.30 ~ 65.30 (C-7, C-8, C-2', C-3, C-2, C-5, C-5', C-10, C-11, C-12, C-13), 63.81 ~ 59.88 (C-6', C-6), 31.25 ~ 20.26 (C-14, C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22, C-23, C-24, C-25, C-26, C-27, C-28, C-29), 19.85 (C-9), 13.91 (C-30); ¹H NMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ :5.03 ~ 4.98 (m, 7H, H-1, H-1'), 4.69-3.23 (m, ~73.68H, H-2, H-2', H-3, H-3', H-4, H-4', H-5, H-5', H-6, H-6', H-7, H-8, H-10, H-11, H-12, H-13), 1.23 ~ 1.02 (m, ~76.68 H, H-9, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22, H-23, H-24, H-25, H-26, H-27, H-28, H-29), 0.85 ~ 0.83 (t, ~5.40 H, H-30)。

1.6 纳米球的制备

将 30 mg 化合物 **1** 分散于 20 mL 氯仿中,超声溶解 5 min。在室温放置 1 h,减压抽滤除去不溶物,用旋转蒸发仪在 50 °C 除去氯仿。随后加入 10 mL 二次蒸馏水,超声分散 40 min 得到可自组装成纳米球水溶液。化合物 **2** ~ **4** 水溶液的制备方法与此相同。

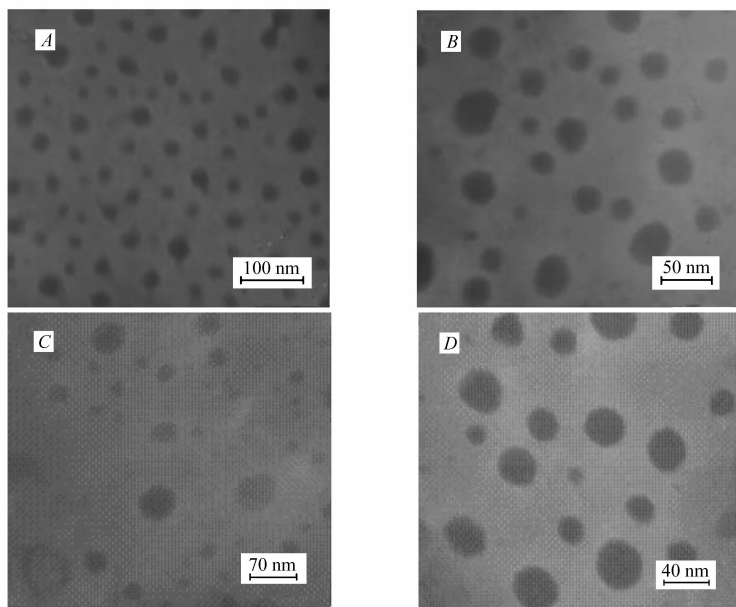


图1 化合物 **1**(A)、**2**(B)、**3**(C)和**4**(D)形成的纳米球的 TEM 照片

Fig.1 TEM images of nanoparticles obtained from compounds **1**(A), **2**(B), **3**(C) and **4**(D)

2 结果与讨论

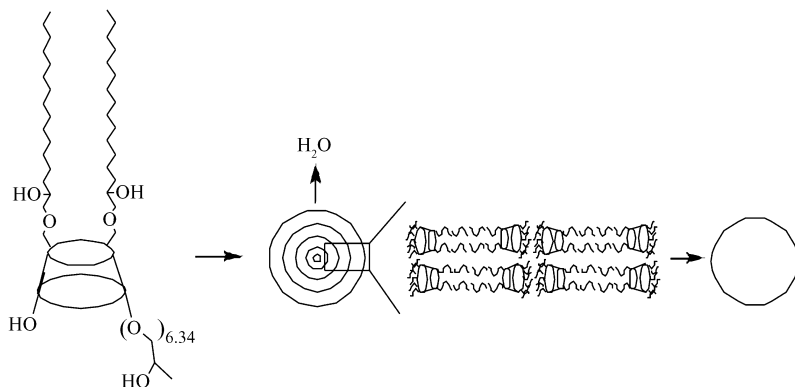
2.1 化合物 **1** ~ **4** 取代位置的确定和平均取代度的计算

由¹³C NMR 谱可知,产物 **1** ~ **4** 的 C-6 发生裂分,其化学位移明显移向低场,依次分别为 C-6 (60.06→63.93)、C-6 (60.03→64.06)、C-6 (59.96→64.06) 和 C-6 (59.88→63.81),与文献^[14]所给出的结果一致,证明十二、十四、十六和十八烷基缩水甘油醚已经键接到 2-*O*-(羟丙基)- β -环糊精的 C-6 位上。

由于十二、十四、十六和十八烷基羟丙基中的甲基和 β -环糊精 H-1 在¹H NMR 谱上的化学位移相隔较远,且互不干扰^[15-16],因此由其积分面积比可得到十二、十四、十六和十八烷氧基羟丙基的取代度分别为 1.87、1.95、2.14 和 1.80。

2.2 两亲性 β -环糊精衍生物形成纳米球机理

以化合物 6-*O*-(十四烷氧基-2-羟基丙基)-2-*O*-(2-羟基丙基)- β -环糊精(**2**)为例,当其分散于水中时,带有疏水链的尾部朝内,而亲水的头部面向水,可以自组装成双层或多层的纳米球,如 Scheme 2 所示。



Scheme 2 Proposed mechanism for forming nanospheres of compound **2** in water

2.3 疏水烷基链的长度对纳米球的影响

图 1 为化合物 **1~4** 分散在水中自组装形成的纳米球的透射电子显微镜(TEM)照片。从图 1 可以看到,化合物 **1~4** 的直径分别为 20~30、30~50、20~60 和 30~40 nm,粒径分布较窄,并且能稳定存在 2~3 周。化合物 **1** 形成的纳米球形状不够规整,可能是它的疏水烷基链长度较短所致,因为疏水烷基链长度越长(在一定范围内)疏水性越好,越有利于形成较规整的纳米球^[5-6]。

2.4 疏水烷基链的取代度对纳米球的影响

以往报道^[5-7,11-13]的分散在水中可以自组装成囊泡、微胶囊和纳米粒子等两亲性环糊精衍生物的疏水烷基链为全取代的或聚合物长链单取代的。一般情况下,全取代的且疏水烷基链较长的两亲性环糊精衍生物自组装形成囊泡和微胶囊,而较短的烷基链则趋向于形成纳米粒子^[7]。有聚合物长链衍生的单取代两亲性环糊精衍生物同样倾向于形成纳米粒子^[11]。而化合物 **1~4** 的疏水烷基链的平均取代度只有 2.0 左右,将其分散在水中同样可以形成粒径分布较窄的纳米球。由此可见,低取代度的两亲性环糊精衍生物分散于水中也趋向于形成纳米粒子或纳米球。由于取代度较低,与客体分子包结时,空间位阻效应较小,客体分子能有效地进入环糊精的空腔形成包结物,可以作为有潜力的药物载体。

2.5 超声分散时间对纳米球的影响

化合物 **1~4** 室温时在水中的超声分散时间能影响纳米粒子的形成。超声分散时间太短,纳米球的形貌、分散度和均匀性不好;超声分散时间太长,形成的纳米粒子直径太小。结果表明,超声分散 40 min 左右时形成的纳米球的形貌、分散度和均匀性较好^[5-6]。

3 结 论

由 2-*O*-(2-羟基丙基)- β -环糊精和长链缩水甘油醚反应合成了 4 个低取代度的两亲性 β -环糊精衍生物,将其分散于水中可以自组装成粒径分布较窄和较规整的纳米球,初步探讨了疏水烷基链的长度、取代度和分散时间对纳米球的影响。结果表明,两亲性环糊精衍生物的疏水烷基链越长越有利于形成较规整的纳米球;低取代度的疏水烷基链趋向于形成纳米球;超声分散 40 min 左右时形成的纳米球的形貌、分散度和均匀性较好。由于较低的取代度与客体分子包结时,空间位阻的效应影响小,客体分子能有效地进入环糊精的空腔形成包结物,使其可以作为潜在的药物载体,在药物靶向输送和控制缓释方面具有一定的应用潜力。

参 考 文 献

[1] Uekama K, Hirayama F, Irie T. Cyclodextrin Drug Carrier Systems[J]. *Chem Rev*, 1998, **98**(5):2045-2076.

- [2] Gao H, Wang Y N, Fan Y G, *et al.* Conjugates of Poly (*DL*-lactide-co-glycolide) on Amino Cyclodextrins and Their Nanoparticles as Protein Delivery System[J]. *J Biomed Mater Res (Part A)*, 2007, **80A**(1):111-122.
- [3] Gao H, Wang Y N, Fan Y G, *et al.* Synthesis of A Biodegradable Tadpole-shaped Polymer *via* the Coupling Reaction of Polylactide onto Mono(6-(2-aminoethyl) amino-6-deoxy)- β -cyclodextrin and Its Properties as the New Carrier of Protein Delivery System[J]. *J Control Release*, 2005, **107**(1):158-173.
- [4] Liu Y, Chen Y. Cooperative Binding and Multiple Recognition by Bridged Bis(β -cyclodextrin)s with Functional Linkers [J]. *Acc Chem Res*, 2006, **39**(10):681-691.
- [5] Ravoo B J, Darcy R. Cyclodextrin Bilayer Vesicles[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2000, **39**:4324-4326.
- [6] Falvey P, Lim C W, Darcy R, *et al.* Bilayer Vesicles of Amphiphilic Cyclodextrins: Host Membranes that Recognize Guest Molecules[J]. *Chem Eur J*, 2005, **11**:1171-1180.
- [7] Nolan D, Darcy R, Ravoo B J. Preparation of Vesicles and Nanoparticles of Amphiphilic Cyclodextrins Containing Labile Disulfide Bonds[J]. *Langmuir*, 2003, **19**:4469-4472.
- [8] Bassani V L, Krieger D, Duchene D, *et al.* Enhanced Water-solubility of Albendazole by Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Complexation[J]. *J Inclusion Phenom Macrocyclic Chem*, 1996, **25**:149-152.
- [9] Urata K, Yano S, Kawamata A, *et al.* A Convenient Synthesis of Long-chain 1-*O*-Alkyl Glyceryl Ethers[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1988, **65**:1299-1302.
- [10] HUANG Naiju, ZHOU Chuner. Synthesis of New LB Film Material of Cyclodextrin Derivatives and Its Properties[J]. *J Fudan Univ (Nat Sci)*, 1997, **36**(4):445-448 (in Chinese).
黄乃聚, 周春儿. 环糊精类 LB 膜新材料的合成和性质[J]. 复旦学报(自然科学版), 1997, **36**(4):445-448.
- [11] Cavalli R, Donalisio M, Civra A, *et al.* Enhanced Antiviral Activity of Acyclovir Loaded into β -Cyclodextrin-poly(4-acryloylmorpholine) Conjugate Nanoparticles[J]. *J Control Release*, 2009, **137**:116-122.
- [12] Quaglia F, Ostacolo L, Mazzaglia A. Chitosan-Alginate Blended Nanoparticles as Carriers for the Transmucosal Delivery of Macromolecules[J]. *Biomaterials*, 2009, **30**:374-382.
- [13] Ringard L C, Bochot A, Memisoglu E, *et al.* Effect of Spread Amphiphilic β -Cyclodextrins on Interfacial Properties of the Oil/water System[J]. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2002, **25**(2):109-117.
- [14] Tong L H, Hou Z J, Inoue Y, *et al.* Molecular Recognition by Modified Cyclodextrins, Inclusion Complexation of β -Cyclodextrin 6-*O*-Monobenzoate with Acyclic and Cyclic Hydrocarbons[J]. *J Chem Soc Perkin Trans*, 1992, **2**:1253-1257.
- [15] Zhao M G, Hao A Y, Li J, *et al.* New Cyclomaltoheptaose (β -cyclodextrin) Derivative 2-*O*-(2-Hydroxybutyl) cyclomaltoheptaose; Preparation and Its Application for the Separation of Enantiomers of Drugs by Capillary Electrophoresis [J]. *Carbohydr Res*, 2005, **340**:1563-1565.
- [16] Zhao M G, Hao A Y, Li J, *et al.* 6-*O*-(Hydroxypropyltrimethylammonia)- β -cyclodextrin with Low Degree of Substitution; Convenient Preparation and Its Application as a Chiral Selector in Capillary Electrophoresis[J]. *Chinese Chem Lett*, 2006, **17**:407-410.

Synthesis of Amphiphilic β -Cyclodextrins and Their Nanospheres in Water

GUO Wenyan^{a,b}, ZHAO Minggang^{a*}, HAO Aiyu^c

(^aSchool of Chemistry and Materials Science, Shanxi Normal University, Linfen 041004, China;

^bModern College of Arts and Science of Shanxi Normal University, Linfen 041000, China;

^cSchool of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Ji'nan 250100, China)

Abstract Four amphiphilic bifunctionalized β -cyclodextrin derivatives with low degree of substitution (DS) were conveniently synthesized *via* the reaction of 2-*O*-(2-hydroxypropyl)- β -cyclodextrin with Lauryl glycidol ether, tetradecyl glycidol ether, hexadecyl glycidol ether and octadecyl glycidol ether in pyridine, respectively. The four amphiphilic β -CD derivatives (DS 1.87, 1.95, 2.14 and 1.80, respectively) could self-assemble in water to form stable nanospheres with improved dispersion degree and uniformity up to 2 ~ 3 weeks.

Keywords amphiphilic, *O*-(hydroxypropyl)- β -cyclodextrin, glycidol ether, nanospheres