

半乳糖-聚乙二醇-聚-L-赖氨酸共聚物的制备与分析*

胡海梅^{1,2}, 潘仕荣², 张璇², 温玉婷², 郭振寰²

(1. 广东药学院生命科学与生物制药学院, 广东 广州 510224;

2. 中山大学附属第一医院, 广东 广州 510080)

摘要: 将相对分子质量为4 000的聚乙二醇中活性较弱的羟基转化为氨基, 利用乳糖分子中含有半缩醛结构, 可与双端氨基聚乙二醇(AT-PEG)分子中的伯氨基形成Schiff碱, 然后在氰基硼氢化钠作用下选择性还原为稳定的C-N单键, 使半乳糖连接在PEG的一个氨基上, 合成半乳糖-单端氨基聚乙二醇(Gal-PEG-NH₂), 以Gal-PEG-NH₂为大分子引发剂, 引发N^ε-苄氧羰基-L-赖氨酸-N-羧酸酐[Lys(Z)-NCA]开环聚合制备一系列半乳糖-聚乙二醇-聚-L-赖氨酸(PLL-PEG-Gal)嵌段共聚物, 通过调节Lys(Z)-NCA和Gal-PEG-NH₂的摩尔比例([A]/[I])可控制聚合物的相对分子质量。利用IR、¹³C-NMR、UV等方法进行共聚物结构分析, 并对其接糖率进行了分析。结果表明, 乳糖与双端氨基聚乙二醇反应生成的带有一侧氨基的聚乙二醇能引发Lys(Z)-NCA聚合生成Gal-PEG-PLL, 其中半乳糖的接入率为8.3%。随着[A]/[I]的增加, 共聚物的相对分子质量变大。

关键词: 半乳糖; 半乳糖-聚乙二醇-聚-L-赖氨酸共聚物; 开环聚合; 生物降解聚合物

中图分类号: O625.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2008) 06-0038-06

基因载体的研究是基因治疗药物发展的关键, 非病毒型基因载体中聚阳离子型基因载体聚赖氨酸无抗原性, 体内应用安全; 组成明确, 易大量制备; 同时化学结构的多样性使设计和研制新的更理想的载体系统成为可能^[1]。聚乙二醇(PEG)是一种具有优良生物、血液相容性和亲水性, 无免疫原性的聚醚类高分子化合物, 已广泛应用于蛋白质、多肽、酶等生化药物和新型生物医用材料的合成和改性中, 当把PEG和聚赖氨酸偶合时, 可以制备出性能优良的非病毒型基因载体。对于受体介导的基因转移是近年来发展起来的一种新的基因转移策略, 具有安全、高效、靶向性强, 因而有独特的优势, 其中常用的靶向性配基有: 肝细胞特异性的去唾液酸糖蛋白及合成的半乳糖化蛋白配基^[2]、肿瘤细胞特异性的转铁蛋白^[3]、整合蛋白结合多肽^[4]和抗CD3抗体^[5]等。1966年, Morell等^[6]发现并证实哺乳动物肝细胞上存在的半乳糖受体可以使糖蛋白定向转运至肝细胞, 此类受体由于其良好的靶向性、较大的载药容量以及较好的稳定性而引起了国内外学者的广泛兴趣。其中, 研究最多的是脱唾液酸糖蛋白受体(asialoglycoprotein receptor, ASGP-R), 它能专一性识别并结合含半乳糖残基的糖蛋白, 并通过胞吞作用将其转运到肝细胞内的溶

酶体中进行代谢。因此, 制备安全、高效的肝靶向配体是实现肝靶向基因载体的关键之一, ASGP-R是内源性配体, 由于来源少, 纯化复杂, 产量低, 使其作为肝靶向配体的应用受到限制, 而含有一定数量半乳糖的大分子(如蛋白质、聚肽)也可被肝细胞表面的ASGP-R专一性识别结合, 这种糖配基称为拟糖蛋白, 如将半乳糖接入白蛋白、血清类粘蛋白上制备的拟糖蛋白有明显的肝靶向性, 由于天然蛋白质具有结构复杂, 相对分子质量不均一, 携带传染病等缺点, 因此选用可生物降解的合成多肽为骨架, 化学合成靶向性非病毒基因载体成为该领域的研究热点之一。同时大量研究表明, 许多非病毒基因载体经半乳糖基修饰后, 均表现出良好的肝靶向性。目前, 已有大量的关于半乳糖基修饰的肝靶向性基因载体的文献报道^[7-8]。本文将相对分子质量为4 000聚乙二醇活性较弱的羟基转化为氨基, 以双端氨基聚乙二醇、乳糖、氰基硼氢化钠为原料, 合成半乳糖-单端氨基聚乙二醇, 以半乳糖-单端氨基聚乙二醇为大分子引发剂, 引发N^ε-苄氧羰基-L-赖氨酸-N-羧酸酐[Lys(Z)-NCA]开环聚合制备半乳糖-聚乙二醇-聚-L-赖氨酸嵌段共聚物, 并对其结构和性质进行了初步分析。

* 收稿日期: 2008-05-13

作者简介: 胡海梅(1975年生), 女, 博士研究生; 通讯联系人: 潘仕荣; E-mail: gzhm368@163.com

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

相对分子质量为 4 000 聚乙二醇 ($M_n = 4\ 000$, Fluka 公司, 美国), 120 °C 下减压脱水 4 h; 二氯甲烷 (CH_2Cl_2), 氯仿 (CHCl_3) (广州试剂二厂, 分析纯), CaCl_2 干燥 2 d 后蒸馏; 吡啶 (广州化学试剂厂, 分析纯), 用新熔制的 KOH 干燥 1 d, 吸取清液再用新活化的分子筛干燥 1 d 后蒸馏; 对甲苯磺酰氯 (TsCl) (广州化学试剂厂, 化学纯), 用苯与石油醚 (沸程 60 ~ 90 °C) 为 1:20 (体积比) 的混合溶剂重结晶 1 次, 真空烘箱 40 °C 减压干燥 1 d; 四氢呋喃 (THF) (广州化学试剂厂, 分析纯), 二氧六环 (广州试剂二厂, 分析纯), 经金属钠回流 2 d 后蒸馏。氰基硼氢化钠 (Sigma 公司, 进口分装); 四硼酸钠 (天津化工厂, 分析纯); 透析袋 (上海绿鸟科技发展有限公司), 相对分子质量透析范围 < 3 500; 乳糖 (上海生化试剂二厂); $\varphi = 6\%$ 的苯酚: 由纯苯酚配成 $\varphi = 80\%$ 溶液, 放在冰箱中, 用时稀释; 无水乙醇 (广州化学试剂厂, 分析纯); 乙醚 (广州化学试剂厂, 分析纯); 碳酸氢钠 (NaHCO_3) (广州试剂二厂, 分析纯); 盐酸 (HCl) (广州试剂二厂, 分析纯); N^ϵ -苄氧羰基-L-赖氨酸-N-羧酸酐 [Lys (Z) -NCA], 氯化氢、溴化氢气体均为实验室自制, 其余试剂直接使用。

真空干燥箱, 高温电炉, 定时恒温磁力搅拌器 JB-3 型, 红外光谱仪 (Nicolet/Nexus 670 型), 核磁共振谱仪 (INOVA-500 型, 美国 Varian 公司), 紫外分光光度计 (TU-1901 型, 北京普析); 冷冻干燥机 (LGJ-18 型, 北京四环科学仪器厂); 定时恒温磁力搅拌器 JB-3 型; 50 mL 酸式滴定管。

1.2 双端氨基聚乙二醇的合成

采用文献 [9] 方法合成, 路线如下式: 称取 20 g 聚乙二醇 ($M_n = 4\ 000$) 于 250 mL 干燥的三口瓶中, 120 °C 抽真空干燥 4 h, 然后加入 100 mL 无水二氯甲烷, 50 mL 吡啶和 5 g 对甲苯磺酰氯 (TsCl), 室温下避光反应 24 h。反应液用 3 mol/L HCl 萃取洗涤, 有机层用 5 g NaHCO_3 洗涤、过滤; 除去溶剂, 得 PEG-对甲苯磺酸酯粗品, 用 8 mL THF 溶解, 将溶液慢慢滴加到过量的无水乙醚中得白色沉淀, 干燥, 得 PEG-对甲苯磺酸酯纯品 18.6 g, 产率为 87%。将 18 g PEG-对甲苯磺酸酯与 250 mL 浓氨水置于耐压容器中, 于 140 °C 下反应 6 h。反应混合物冷却至室温, 用同体积的 CH_2Cl_2 萃取, 得 PEG-对甲苯磺酸氨盐/ CH_2Cl_2 溶

液, 与同体积 1 mol/L NaOH 充分搅拌 2 h, 有机层用水洗至中性, 以得到自由氨基产物双端氨基聚乙二醇 (AT-PEG), 产率为 84%, 通过滴定法^[10]测定氨基转化率为 86.8%。

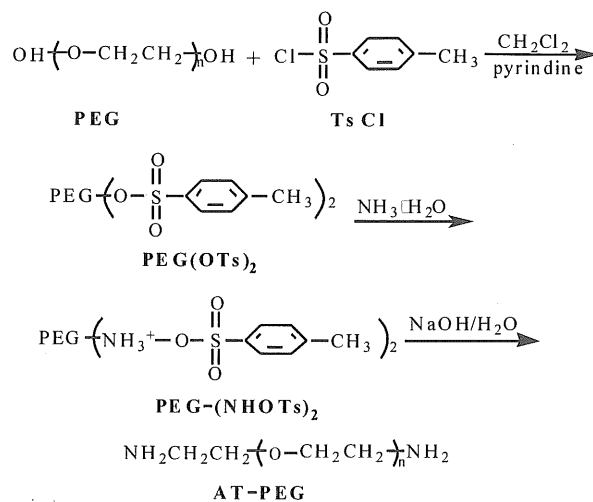


图1 AT-PEG的合成过程

Fig. 1 Synthesis procedure of AT-PEG

1.3 半乳糖-单端氨基聚乙二醇的合成

将 AT-PEG 与乳糖以摩尔比为 4:1 进行反应, 即称取 AT-PEG 10.0 g (氨基转化率按 80.0% 计算), 乳糖 0.18 g, 溶解于 70 mL, 0.1 mol/L NaBH_4 缓冲液中 (pH 9.0), 加入 NaBH_3CN 0.157 g 混合, 搅拌, 40 °C 反应 48 h, 产物用 M_n 为 3 500 的透析袋透析 48 h, 再将其埋入聚乙二醇中吸取大部分水分, 然后取出产物冷冻干燥, 得干燥的白色蜡状固体, 半乳糖-单端氨基聚乙二醇 (Gal-PEG- NH_2) 3.0 g。

1.4 半乳糖-单端氨基聚乙二醇氨基的测定

准确称取 Gal-PEG- NH_2 样品 1.0 g, 溶解于 5 mL 蒸馏水中, 再加入 10 mL, 0.1 mol/L 的盐酸, 振摇混合 2 min, 加入酚酞作指示剂, 用 0.1 mol/L NaOH 滴定过量的酸, 溶液为无色变为紫色 (10 s 内不返色), 记下消耗 NaOH 的体积 $V_{\text{标}}$, 同时作空白滴定, 得到空白值为 V_0 。上述实验平行滴定 3 次取平均值, 按下列公式计算得到 Gal-PEG- NH_2 的端氨基的量。

$$b(\text{NH}_2) = \frac{[(V_0 - V_{\text{标}}) \times c_{\text{NaOH}}]}{1000 \times m_{\text{样}}}$$

式中, $b(\text{NH}_2)$ 为每克 Gal-PEG- NH_2 样品中含有氨基的摩尔量 (mol/g); c_{NaOH} 为 NaOH 的摩尔浓度 (mol/L); $m_{\text{样}}$ 为 Gal-PEG- NH_2 样品的质量 (g)。

1.5 半乳糖-聚乙二醇-聚-L-赖氨酸共聚物的合成

将新制备的 Lys (Z) -NCA 4.0 g 溶于 40 mL

氯仿中, 加入一定量的 Gal-PEG-NH₂, Lys (Z) - NCA 和 Gal-PEG-NH₂ 中端氨基浓度比 (简称 [A] / [I]) 为 75/1、145/1、255/1。充分混合后, 室温搅拌 72 h, 反应物变成无色黏稠溶液, 加入二氧六环 40 mL 使其完全溶解为澄清, 溶液首先通入无水氯化氢气体 40 min, 溶液保持澄清, 然后

通入无水溴化氢气体, 10 min 后, 沉淀析出, 持续 60 min 停止, 密闭放置 1 d, 使沉淀完全析出, 过滤, 利用索氏脂肪抽提器以丙酮为溶剂抽提 1 d, 沉淀物由桔黄色变成白色, 真空干燥, 得白色半乳糖-聚乙二醇-聚-L-赖氨酸共聚物 1.8 g (产率 68.95%)。合成路线如图 2。

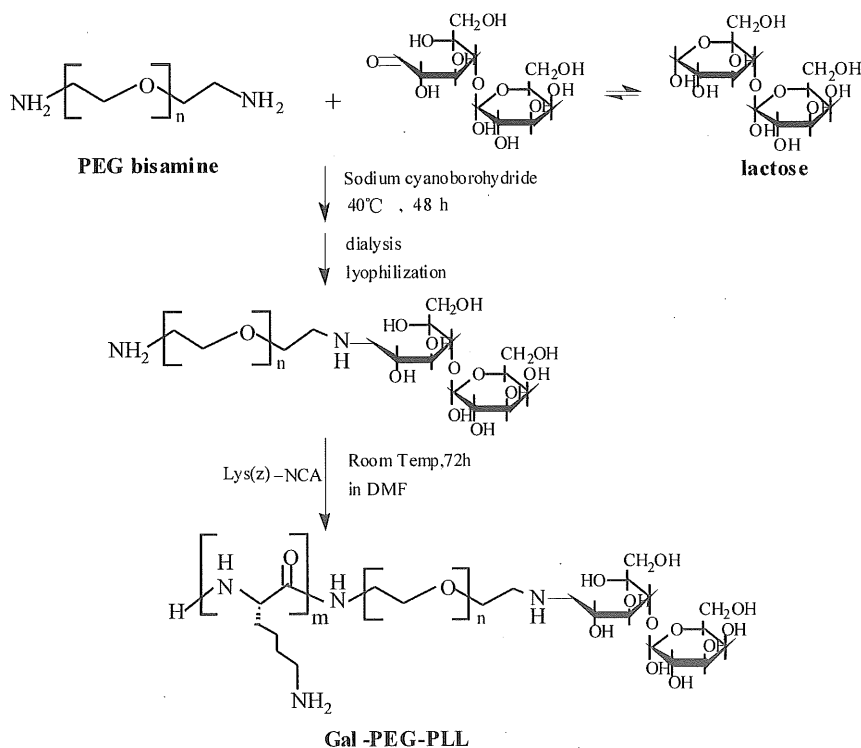


图 2 Gal-PEG-PLL 的合成过程

Fig. 2 Synthesis procedure of Gal-PEG-PLL

1.6 半乳糖接入率的测定

1.6.1 标准工作曲线的绘制

精密称量 1.000 0 g 乳糖, 用蒸馏水定容至 250 mL; 取上述溶液 2.5 mL 定容至 250 mL 得 40 μg/mL 乳糖母液。分别取母液 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8 mL, 加入新配制的 φ = 6.0% 的苯酚溶液 1.0 mL, 分别加入水 1.6, 1.4, 1.2, 1.0, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2 mL, 各加入 5.0 mL 浓硫酸, 放置 10 min, 摇匀, 30 min 后用紫外分光光度计测定其紫外吸收, 绘制其标准曲线, 如图 3。

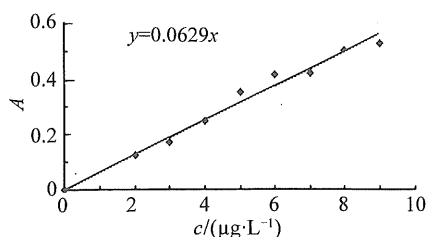


图 3 半乳糖的标准曲线

Fig. 3 Standard curve of galactose

1.6.2 半乳糖接入率的测定

精密称取半乳糖-聚乙二醇-聚-L-赖氨酸样品 20 mg, 定容至 50 mL, 用苯酚-硫酸法^[11]测定总糖含量, 取 2 mL 溶液加 1 mL φ = 6% 苯酚液, 5 mL 浓硫酸放置 10 min, 摇匀, 30 min 后用紫外分光光度计在 490 nm 处测定其吸光度 A, 根据标准工作曲线求出乳糖的质量摩尔浓度。

$$b(\text{乳糖}) = \frac{A_{490}}{0.0629} \times 200$$

$$= \frac{M_{\text{乳糖}}}{m_{\text{样品}}} \times m_{\text{样品}}$$

式中, 0.0629 为标准工作曲线的斜率值; 200 为稀释倍数; $M_{\text{乳糖}}$ 为乳糖的摩尔质量 (g/mol); $m_{\text{样品}}$ 为样品的质量 (g)。

1.7 结构分析

采用 KBr 压片法, 在 Nicolet/Nexus 670 红外光谱仪上测定红外光谱; 使用 INOVA-500 核磁共振谱仪, 以 D₂O 为溶剂, 室温下测定聚合物的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱; 用 TU-1901 紫外分光光度计测定聚合物中半乳糖的接入率。

2 结果与讨论

2.1 半乳糖-聚乙二醇-聚-L-赖氨酸共聚物的合成

如图2,在乳糖与双端氨基聚乙二醇的反应中,氰基硼氢化钠作为温和的还原剂,它广泛用于醛、酮的还原,特别是酮的还原胺化作用。而乳糖具有 β -D-半乳糖苷(1 $\leftrightarrow$ 4)-D-葡萄糖的结构,其中乳糖分子中含有半缩醛结构,可与双端氨基聚乙二醇分子中的伯氨基形成Schiff碱,然后在氰基硼氢化钠作用下选择性还原为稳定的C-N单键,从而将一分子完整的半乳糖残基连接于PEG分子上。根据反应机制,乳糖与双端氨基聚乙二醇的连接应在偏酸性介质中进行较为有利,能提高合成亚胺的速度。但酸性介质易使氰基硼氢化钠分解,影响反应的进行。本研究采用pH = 9.0的缓冲液作为介质,可以确保反应稳定进行不会导致氰基硼氢化钠的大量分解。由于该反应中,乳糖必须与双端氨基聚乙二醇的其中一个氨基反应因此反应要严格控制反应物的摩尔比,以免聚乙二醇的游离氨基完全与乳糖连接,影响下一步反应的进行。

PEG的端氨基转化率为86.8%,AT-PEG中以NH₂-PEG-NH₂为主,但也含有少量的OH-PEG-OH和OH-PEG-NH₂,经透析,除去未反应的小分子物质,这时所得产物里含有Gal-PEG-NH₂、Gal-PEG-Gal、OH-PEG-Gal和未反应的NH₂-PEG-NH₂及少量的OH-PEG-OH和OH-PEG-NH₂,其中Gal-PEG-NH₂和未反应的NH₂-PEG-NH₂,OH-PEG-NH₂可以作为大分子引发剂,在氯仿溶液中引发Lys(Z)-NCA开环聚合,通过控制不同的Lys(Z)-NCA/-NH₂的投料比,得到不同含量和相对分子质量的聚合物,所得的聚合物有PLL-b-PEG-Gal,PLL-b-PEG-b-PLL和PLL-PEG,而Gal-PEG-Gal、OH-PEG-Gal和OH-PEG-OH在除氧羰基的过程中可除去。所以反应混合物里包括三嵌段共聚物PLL-PEG-PLL、两嵌段共聚物PLL-PEG及PLL-PEG-Gal,并且3种物质不可分离。为此,本实验需严格控制双端氨基聚乙二醇中氨基与乳糖的摩尔比,以此得到的主要产物为PLL-PEG-Gal。

2.3 Gal-PLL-PEG的结构测定

2.3.1 IR测定

galactose、AT-PEG、PEG-PLL、Gal-PEG-NH₂、Gal-PEG-PLL的IR分别见图4,(b)线中2889 cm⁻¹为C-H伸缩振动峰,3428 cm⁻¹为NH₂伸缩振动峰,1113 cm⁻¹为C—O—C弹性伸缩振动峰,962为C—O伸缩振动峰。(c)线中1106,2867 cm⁻¹为PEG的特征吸收峰,1651,1540 cm⁻¹的

单峰为酰胺I和酰胺II特征吸收峰,从(b)和(c)线可知,PEG上的羟基转化为氨基引发了Lys(Z)-NCA的开环聚合生成了PEG-PLL。(a)和(c)相比较,3400 cm⁻¹附近糖的羟基峰和PEG的氨基峰重叠,无法分辨。(e)和(c)线较相似,均有1651,1540 cm⁻¹的单峰为酰胺I和酰胺II特征吸收峰,1106,2867 cm⁻¹为PEG的特征吸收峰。由于(d)和(e)中糖含量较低,其中糖的羟基峰和PEG-PLL的氨基峰重叠,无法分辨,只有通过其他检测来确定半乳糖是否连接上。

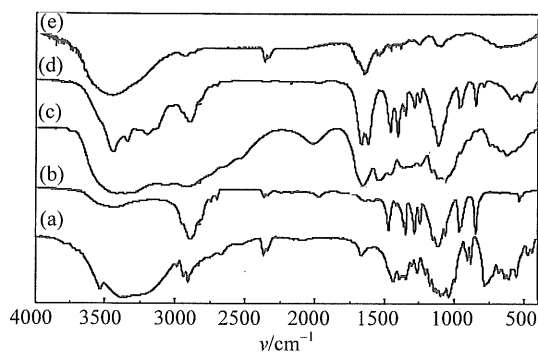


图4 galactose (a), AT-PEG (b), PEG-PLL (c), Gal-PEG-NH₂ (d), Gal-PEG-PLL (e) 的红外谱图

Fig. 4 IR spectra of: (a) galactose, (b) AT-PEG (c) PEG-PLL (d) Gal-PEG (e) Gal-PEG-PLL

2.3.2 紫外吸收测定

按照文献苯酚-硫酸法可测游离的己糖、寡糖或由己糖组成的多糖,这些糖经浓无机酸处理脱水生成糠醛或糠醛衍生物,生成物与酚缩合生成有色物质;但PEG-PLL的分子结构中碳上所连接的不是羟基而是氨基,不能在同样条件下脱水生成糠醛,也就不能用苯酚-硫酸法测定PLL的含量;故可用苯酚-硫酸法测定共价连接到PEG-PLL上的乳糖,PEG-PLL的存在不会影响乳糖的测定。如图5所示,490 nm处有半乳糖的紫外吸收,说明有Gal-PEG-PLL的生成,根据标准工作曲线与所测得的吸收值计算产物中所含半乳糖的量,得到半乳糖与聚赖氨酸的摩尔比,即每个聚赖氨酸分子上连有半乳糖分子数目,与文献[12]报道一致(如表1)。

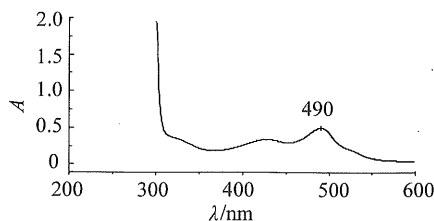


图5 Gal-PEG-PLL-1 的紫外谱图

Fig. 5 UV spectrum of Gal-PEG-PLL-1

表 1 半乳糖与聚-L-赖氨酸的摩尔比和接糖率

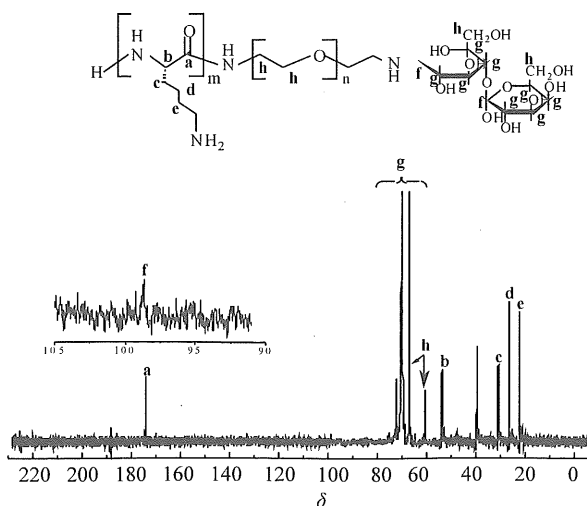
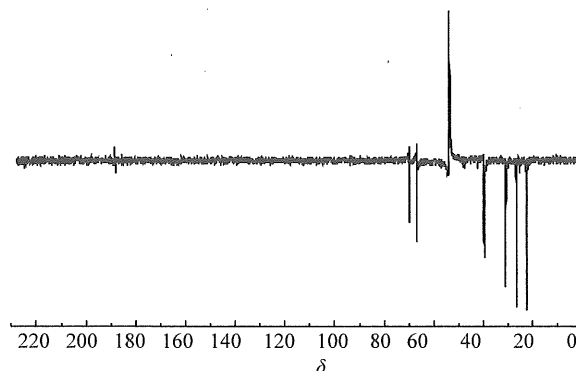
Tab. 1 The mole ratio of galactose to PLL and the mass fraction of galactose:

样品	n (Lys (Z) -NCA) :	M_n		n (Gal) :	接糖率/%
	n (MPEG-NH ₂)	PEG	PLL	n (PLL)	
Gal-PEG-PLL-1	75:1	4000	82000	20:1	8.34
Gal-PEG-PLL-2	145:1	4000	167000	12.75:1	2.68
Gal-PEG-PLL-3	255:1	4000	574000	17.14:1	1.07

2.3.3 核磁共振测定

由于 Gal-PEG-PLL 的糖含量较低, 分子非常复杂, $^1\text{H-NMR}$ 较难分辨分子中各类氢的信号。碳谱的化学位移比氢谱大十几倍, 化合物在结构上的细微变化可期望在碳谱上得到反映, 本研究采用碳谱进行了分析, Gal-PEG-PLL 分子中存在 18 种不同类型的碳原子, 因此在 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱存在 18 个信号峰 (见图 6), 化学位移为 173.9 一般为羰基碳的信号峰, 因此它是主链酰胺碳的信号峰; 参看文献 [13] 推断得出化学位移为 98.6, 75.3, 72.18, 70.7, 67.0, 64.7 处出现半乳糖环上 6 个碳原子的信号峰。化学位移为 53.8, 31.0, 26.7, 22.5 分别为聚赖氨酸上 α 、 β 、 γ 、 δ 位碳原子的信号峰。

在核磁共振谱中, DEPT 技术和 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱同时使用可用于鉴别碳原子的类型^[14], 由此推断化合物在于碳原子相连的氢的数目, 在 DEPT 谱 (见图 7) 中在化学位移为 53.8 处有一个叔碳信号, 在整个分子中只有主链上存在一个叔碳原子; 仲醇碳原子信号出现在化学位移为 70 左右, 由此可见, Gal-PEG-NH₂ 确实引发 Lys (Z) -NCA 开环聚合有 Gal-PEG-PLL 的生成。

图 6 Gal-PEG-PLL-1 的 ^{13}C 核磁共振谱图Fig. 6 ^{13}C NMR spectrum of Gal-PEG-PLL-1图 7 Gal-PEG-PLL-1 的 ^{13}C 核磁共振谱图Fig. 7 ^{13}C DEPT NMR spectrum of Gal-PEG-PLL-1

参考文献:

- [1] NISHIKAWA M, HUANG L. Nonviral vectors in the new millennium: Delivery barriers in gene transfer [J]. Human Gene Ther, 2001, 12: 861 - 870.
- [2] WU G Y, WU C H. Receptor-mediated delivery of foreign genes to hepatocytes [J]. Adv Drug Deliv Rev, 1998, 29: 243 - 248.
- [3] WAGNER E, COTTEN M, FOISNER R. Transferrin-poly-cation-DNA complexes: the effect of polycations on the structure of the complex and DNA delivery to cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 4255 - 4259.
- [4] JENKINS RG, HERRICK S E, MENG Q H, et al. An integrin-targeted non-viral vector for pulmonary gene therapy [J]. Gene Ther, 2000, 7: 393 - 400.
- [5] O'NEIL M M, KENNEDY C A, BARTON R W, et al. Receptor-mediated gene delivery to human peripheral blood mononuclear cells using anti-CD3 antibody coupled to polyethylenimine [J]. Gene Ther, 2001, 8: 362 - 368.
- [6] MORELL A G, IRVINE R A, STERNLIEB D W, et al. Metabolic studies on sialic acid-free ceruloplasmin *in vivo* [J]. J Biol Chem, 1968, 243: 155 - 165.
- [7] LIM Dong Woo, YEOM Young Il, PARK Tae Gwan. Poly (DMAEMA-NVP)-b-PEG-galactose as gene delivery vector for hepatocytes [J]. Bioconjugate Chem, 2000, 11: 688 - 695.
- [8] CHITTIMA M, SHIGERU K, MAKIYA N, et al. Targeted and sustained drug delivery using PEGylated galactosylat-

- ed liposomes[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2003, 266: 77-84.
- [9] NEAL J C, STOLNIK S, SCHACHT E, et al. In vitro displacement by rat serum of adsorbed radiolabeled poloxamer and poloxamine copolymers from model and biodegradable nanospheres[J]. Pharm Sci, 1998, 87 (10): 1242-1248.
- [10] 董炎明. 高分子材料实用剖析技术[M]. 北京: 中国石化出版社出版, 1997: 80-81.
- [11] 张冀伸. 糖的定量测定——苯酚-硫酸法. 见: 张惟杰. 复合多糖生化研究技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987: 6-7.
- [12] WENDELMOED N E, van DIJK W, van de WATER L, et al. Synthesis and characterization of poly-L-lysine with controlled low molecular weight [J]. Macromol Chem Phys, 1997, 198: 3893-3906.
- [13] 龚运准. 天然有机化合物的¹³C核磁共振化学位移[M]. 昆明: 云南科技出版社, 1986: 407-457.
- [14] 林永成. 有机化合物结构鉴定与有机波谱学[M]. 北京: 科学出版社, 2001.

Synthesis and Characterization of Block Copolymers of Galactose-polyethyleneglycol-poly (L-lysine)

HU Hai-mei^{1,2}, PAN Shi-rong², ZHANG Xuan², Guo Zhen-huan², WEN Yu-ting²

(1. School of Life Science and Biopharmacology, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510224, China;

2. First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: Amino-terminated polyethylene glycol with 4 000 molecular weight was synthesized using the method of toluenesulfonate esterification. Amine-terminated poly (ethylene glycol) -galactose (Gal-PEG-NH₂) was then synthesized by conjugating the hemiacetal groups of lactose and the primary amine groups of PEG-bis (amine) in 0.1 mol/L sodium tetraborate buffer at pH 9.0 for 48 h using sodium cyanoborohydride. A series of block copolymers of galactose-polyethyleneglycol-poly (L-lysine) (Gal-PEG-PLL) with different molecular weights were finally synthesized through the ring-opening polymerization of Lys (Z) -NCA initiated by galactose-PEG-NH₂. Their structures were characterized by IR, ¹³C NMR and UV analyses. The results confirmed the expected block structures. The block contents and number-average molecular weights of the copolymers were adjusted by changing the feeding ratio of Lys (Z) -NCA to macroinitiator. The content of galactose in copolymer reached 8.3%.

Key words: galactose; galactose-polyethyleneglycol-poly (L-lysine); ring-opening polymerization; biodegradable copolymer