

# 基于 $\beta$ -环糊精的多肽支臂星状聚合物的制备及性能

杨庆华<sup>1</sup>, 王龙刚<sup>2</sup>, 柳杰<sup>1</sup>, 陆勇<sup>3</sup>, 许华建<sup>1</sup>, 陈天云<sup>3</sup>

(1. 合肥工业大学生物与医学工程学院, 合肥 230009;

2. 燕山大学环境与化学工程学院, 秦皇岛 066004;

3. 合肥工业大学化学化工学院, 合肥 230009)

**摘要** 以 $\beta$ -环糊精( $\beta$ -CD)为起始原料, 通过磺酰化及乙二胺基取代等过程, 制备具有端氨基的中间体 $\beta$ -环糊精(6-en- $\beta$ -CD); 再以6-en- $\beta$ -CD为引发剂, 通过赖氨酸 $N$ -羧基环内酸酐(Lys-NCA)和谷氨酸 $N$ -羧基环内酸酐(Glu-NCA)的混合开环聚合(ROP)和脱苄氧羰基(Cbz)保护等反应, 制备了以 $\beta$ -CD为核、混聚多肽为支臂的星状聚合物[6-聚(谷氨酸-赖氨酸)- $\beta$ -CD]。以基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)、核磁共振波谱(NMR)和傅里叶变换红外光谱(FTIR)等对星状聚合物及中间体结构进行表征; 同时采用圆二色光谱(CD)和噻唑蓝(MTT)法对该聚合物的二级结构和体外毒性进行了考察。结果表明, 所得星状聚合物的重均分子量( $M_w$ )为4626, 多分散系数(PDI)为1.10, 平均聚合度(DP)为27.1; 在水溶液中星状聚合物的二级结构是无规则线团; 在5 mg/mL浓度下, 细胞存活率可达到94%以上, 没有呈现明显体外细胞毒性, 具有潜在的药用前景。

**关键词**  $\beta$ -环糊精; 开环聚合;  $N$ -羧基环内酸酐; 星状聚合物; 生物相容性

**中图分类号** O631.5 **文献标志码** A

天然 $\beta$ -环糊精( $\beta$ -CD)在实际应用中存在着某些局限性, 如在水中的溶解度低、所含羟基形成的内部氢键影响药物的稳定性等<sup>[1]</sup>。因此, 对 $\beta$ -CD进行各种结构修饰和性能改造, 克服其存在的一些性能缺陷, 使其成为更适合的药物/基因载体, 是环糊精化学的研究热点之一<sup>[2-6]</sup>。Zhang等<sup>[7]</sup>报道了一种基于 $\beta$ -CD的由聚乙二醇(PEG)及 $\beta$ -CD构成的二嵌段亲水性共聚物PEG-b-PCDs多功能纳米药物载体。PEG-b-PCDs可以在香豆素、布洛芬、吡哆美辛、雷帕霉素和地塞米松等疏水性药物的诱导下实现自组装装载药物并能实现缓释作用; Xu等<sup>[8]</sup>通过原子转移自由基聚合(ATRP)反应, 制备了以 $\beta$ -CD为核、以聚-[2-(二甲氨基)-乙基甲基丙烯酸酯][P(DMAEMA)]或者在此基础上再加一段以聚-(乙基封端的寡乙二醇甲基丙烯酸酯)[P(PEGEEMA)]为支臂的聚合物, 可将质粒DNA(pDNA)浓缩为100~200 nm粒子, 显示了很好的基因转染能力; Kang等<sup>[9]</sup>通过凝胶-溶胶法开发了同时具有温度和 $H_2O_2$ 双重刺激响应性的两嵌段共聚物单甲氧基聚乙二醇-二茂铁和聚( $N$ -异丙基丙烯酰胺)- $\beta$ -环糊精复合物(mPEG-Fc/PNIPAM- $\beta$ -CD), 其在水溶液中自组装成稳定的胶束, 装载多柔比星后对A549肿瘤细胞显示了与游离药物类似的抑制活性; Xu等<sup>[10]</sup>将磺丁基醚- $\beta$ -环糊精(SBE- $\beta$ -CD)与抗糖尿病药那格列奈(NTG)通过主客体识别作用形成包合物, 具有比原药更高的水溶性和稳定性。目前, 尚未发现通过NCA混合ROP方法在 $\beta$ -CD表面引入多肽支臂的相关研究报道。我们在文献[11~15]基础上, 通过在 $\beta$ -CD的表面引入氨基,  $N$ -羧基环内酸酐(NCA)混合开环聚合(ROP)制备了以 $\beta$ -CD为疏水内核、以亲水性多肽为支臂的 $\beta$ -CD星状聚合物[6-聚(谷氨酸-赖氨酸)- $\beta$ -CD], 并进行综合表征。与含不可生物

收稿日期: 2017-08-17. 网络出版日期: 2018-03-12.

基金项目: 中国博士后科学基金(批准号: 2015M571918)、合肥工业大学优秀青年人才培养B计划项目、中央高校基本科研业务费专项资金(批准号: JZ2014HGBZ0330)和合肥工业大学校级大学生创新训练计划项目(批准号: 2017CXCY490)资助。

联系人简介: 杨庆华, 男, 博士, 讲师, 主要从事生物医用材料的制备和表征方面的研究. E-mail: yqhsina@126.com

降解的聚乙二醇类<sup>[7,9,16,17]</sup>和甲基丙烯酸酯类<sup>[8,18~20]</sup>的载体化合物相比,这种带多肽支臂的 $\beta$ -CD不仅可以和相关药物分子形成包合物,增大药物分子的溶解度和生物利用度,而且多肽支臂具有良好的生物相容性和生物可降解性,不会在机体内累积,材料本身及其降解产物也不会对机体产生任何毒副作用,在药物/基因载体应用领域具有较大的优势.

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

保护性谷氨酸[H-L-Glu(OBzL)-OH, 纯度 98.7%], 上海翰鸿化学有限公司; 保护性赖氨酸[H-Lys(Z)-OH, 纯度 98%], 吉尔生化(上海)有限公司;  $\beta$ -环糊精( $\beta$ -CD, 纯度 99%)、三光气(BTC, 纯度 99%)和三氟乙酸(TFA, 纯度 99%), 上海阿拉丁试剂有限公司; 33% (质量分数) HBr/HOAc, Sigma-Aldrich 中国有限公司; 无水乙醚( $C_4H_{10}O$ , 纯度 99.7%)、乙二胺( $C_2H_8N_2$ , 纯度 99.0%)、对甲基磺酰氯(TsCl, 纯度 99%)和 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MIT, 噻唑蓝), 国药集团化学试剂有限公司.

VNMRS 400 型超导核磁共振波谱(NMR)仪, TMS 为内标, 美国 Agilent Technologies 公司; ESCALAB250Xi 型 X 射线光电子能谱(XPS)仪, Mg  $K\alpha$  ( $h\nu=1253.6$  eV), 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; Nicolet 67 型傅里叶红外光谱(FTIR)仪, KBr 压片, 美国 Thermo Nicolet 分析仪器公司; Autoflex Speed™ 型基质辅助激光解吸飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)仪, 美国 Bruker 公司; Jasco-810-CD 型椭圆偏振光谱仪, 日本分光株式会社; Molecular Device SpectraMax M2 型多功能酶标仪, 美国 Molecular Devices 公司.

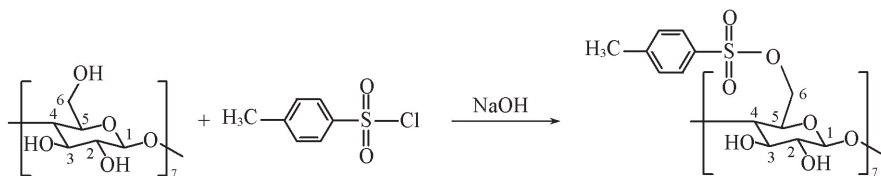
### 1.2 实验过程

参照文献[21~23]方法制备 Glu-NCA. 将 4.75 g (0.02 mol) H-L-Glu(OBzL)-OH 悬浮于 100 mL 乙酸乙酯中, 再将 3.05 g (0.01 mol) 三光气溶于 25 mL 乙酸乙酯后, 用恒压漏斗滴加到三口瓶中; 在  $N_2$  保护下回流反应 0.5 h, 溶液澄清后继续反应 0.5 h; 反应结束后在  $N_2$  保护下冷却至室温, 将反应液滴加到正己烷中. 冰浴冷却结晶、抽滤, 滤饼用正己烷洗涤 2~3 次, 真空干燥 1 d 后得白色固体 2.85 g, 收率 54.2%.  $^{13}C$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz),  $\delta$ : 172.34 (C—CO—O), 169.27 (CH<sub>2</sub>—CO—O), 151.64 (NH—CO—O), 135.21 [CH<sub>2</sub>—C(苯环)], 128.80 (苯环), 67.05 (O—CH<sub>2</sub>—Ph), 57.28 (NH—CH—CO), 29.80 (CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—COOH), 27.05 (CH—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>). FTIR,  $\tilde{\nu}/cm^{-1}$ : 3294 (Glu-NCA 中 N—H 的伸缩振动吸收峰); 1732 和 1653 (Glu-NCA 中 2 个羰基的反对称伸缩振动峰); 1169 (Glu-NCA 中的 C—O—C 的伸缩振动吸收峰); 1450, 1500 和 1586 (苯环 C=C 骨架的伸缩振动特征吸收峰); 2950 (苯环=C—H 的伸缩振动特征吸收峰).

参照文献[21~23]方法制备 Lys-NCA. 将 5.60 g (0.02 mol) H-Lys(Z)-OH 悬浮于 100 mL 乙酸乙酯中, 再将 2.13 g (0.007 mol) 三光气溶于 25 mL 乙酸乙酯后, 用恒压漏斗滴加到三口瓶中; 在  $N_2$  保护下回流反应 0.5 h, 溶液澄清后继续反应 0.5 h; 反应结束后在  $N_2$  保护下冷却至室温, 将反应液滴加到正己烷中; 冰浴冷却结晶, 抽滤, 滤饼用正己烷洗涤 2~3 次, 真空干燥 1 d 后得白色固体 5.13 g, 收率 83.8%.  $^{13}C$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz),  $\delta$ : 69.91 (CH—CO—O), 156.93 (NH—CO—O), 152.60 (N—CO—O), 136.23 (苯环), 128.75 (苯环), 128.17 (苯环), 127.96 (苯环), 66.99 (O—CH<sub>2</sub>—Ph), 57.36 (NH—CH—CO), 40.00 (CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—NH<sub>2</sub>), 30.84 (CH—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>), 29.12 (CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—NH), 21.44 (CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—NH<sub>2</sub>). FTIR,  $\tilde{\nu}/cm^{-1}$ : 3293 (Lys-NCA 中 N—H 的伸缩振动吸收峰); 1732 和 1649 (Lys-NCA 中两个羰基的反对称伸缩振动峰); 1164 (Lys-NCA 中的 C—O—C 伸缩振动吸收峰); 1458 和 1542 (苯环 C=C 骨架的伸缩振动特征吸收峰); 2944 (苯环=C—H 的伸缩振动特征吸收峰).

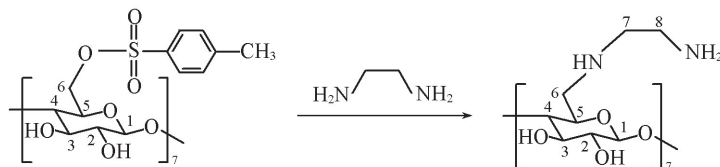
6-对甲苯磺酰- $\beta$ -CD (6-OTs- $\beta$ -CD) 的制备: 在圆底烧瓶中加入 5.0 g  $\beta$ -CD (4.4 mmol)、氢氧化钠 (1.8 g, 45 mmol) 和 100 mL 蒸馏水, 搅拌至完全溶解; 冰浴条件下, 向反应液中加入 TsCl (1.68 g, 8.8 mmol), 搅拌反应 5 h. 过滤除去未反应的 TsCl, 用 1.0 mol/L 盐酸调 pH 值至 6~7, 冰浴静置过夜;

过滤后, 滤饼用蒸馏水洗涤 2 次, 干燥即得 6-OTs- $\beta$ -CD 1.07 g, 收率 18.9%, 合成路线如 Scheme 1 所示.  $^1\text{H NMR}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz),  $\delta$ : 7.68~7.78(2H, 苯环), 7.40~7.44(2H, 苯环), 5.57~5.86(14H, OH-2, 3), 4.70~4.88(7H, H-1), 4.32~4.51(6H, OH-6), 4.28~4.32(1H, H-6), 4.15~4.20(1H, H-6), 3.17~3.70(40H, H-2, 6), 2.32~2.33(3H,  $\text{CH}_3$ , -OTs).



Scheme 1 Synthesis route of 6-OTs- $\beta$ -CD

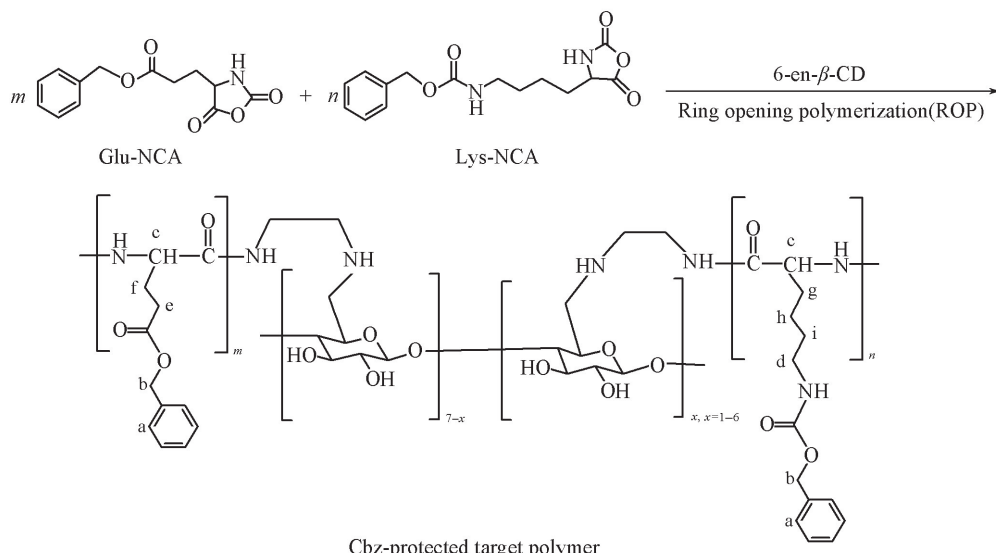
6-en- $\beta$ -CD 的制备: 将 1.07 g(0.83 mmol) 6-OTs- $\beta$ -CD 溶于 10 mL 乙二胺中, 在  $\text{N}_2$  保护及  $70^\circ\text{C}$  下搅拌反应 10 h; 反应结束后, 蒸除大部分溶剂; 在剧烈搅拌下, 将反应液逐滴加到丙酮中, 过滤得白色沉淀; 再以少量水将白色沉淀溶解后, 滴加到丙酮中, 过滤, 干燥后即得 6-en- $\beta$ -CD 0.71 g, 收率 72.6%, 合成路线如 Scheme 2 所示.  $^1\text{H NMR}$ ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz),  $\delta$ : 4.89~4.94(7H, H-1), 3.77~3.85(7H, H-6), 3.65~3.77(21H, H-2, 3, 5), 3.46~3.52(7H, H-4), 4.15~4.20(7H, H-6), 2.80~2.86(2H, H-7), 2.64~2.70(2H, H-8).



Scheme 2 Synthesis route of 6-en- $\beta$ -CD

在 MS 谱图中, 在  $m/z$  1177.20 处出现的准分子离子峰  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 与理论计算值 ( $m/z$  1176.20) 一致, 进一步证实了 -OTs 被乙二胺基取代后得到目标分子 6-en- $\beta$ -CD.

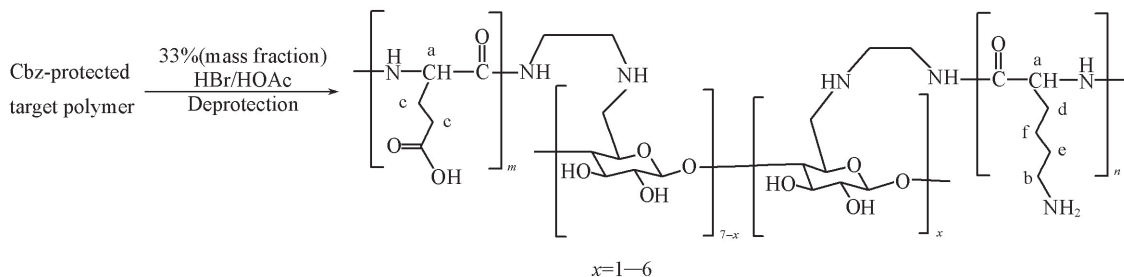
苄氧羰基 (Cbz) 保护的目标聚合物 {6-聚[苄氧羰基-(谷氨酸-赖氨酸)]- $\beta$ -CD} 的制备及 Cbz 的脱除. 将 0.02 g(0.017 mmol) 6-en- $\beta$ -CD 与 2.0 g(7.14 mmol) Glu-NCA 和 2.0 g(7.15 mmol) Lys-NCA 溶于 15 mL DMF, 在  $25^\circ\text{C}$  及  $\text{N}_2$  保护下搅拌反应 48 h; 反应结束后, 将反应液逐滴加到丙酮中, 离心后得白色沉淀; 将白色沉淀用 DMF/丙酮重结晶, 抽滤, 滤饼真空干燥过夜, 得 6-聚[苄氧羰基-(谷氨酸-赖氨酸)]- $\beta$ -CD 1.14 g, 收率 28.6%, 合成路线如 Scheme 3 所示.  $^1\text{H NMR}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz),  $\delta$ : 7.05~7.49(10H,  $\text{H}_a$ ), 4.90~5.10(4H,  $\text{H}_b$ ), 4.25~4.20(1H,  $\text{H}_c$ ), 3.56~3.70(1H,  $\text{H}_d$ ), 2.89~3.00



Scheme 3 Synthesis route of Cbz-protected target polymer

(2H, H<sub>e</sub>), 2.31~2.49(1H, H<sub>d</sub>), 2.07~2.30(2H, H<sub>f</sub>), 2.07~1.51(4H, H<sub>g</sub>, H<sub>h</sub>), 1.34~1.49(2H, H<sub>i</sub>).

聚合物保护基 Cbz 用 33% (质量分数) HBr/HOAc 脱除<sup>[14]</sup>. 将 6-聚[苄氧羰基-(谷氨酸-赖氨酸)]-β-CD (0.16 g) 溶于 12 mL 由 TFA 和 HBr/HOAc (体积比, 1:1) 组成的混合液中反应 6 h 后, 将反应液倒入乙醚中, 静置分层, 分离出上层清液得黄色油状物. 将黄色油状物溶于水, 用饱和碳酸氢钠溶液调 pH 值为 7~8, 透析, 冻干得 6-聚(谷氨酸-赖氨酸)-β-CD 36 mg, 收率 22.5%. 合成路线如 Scheme 4 所示. <sup>1</sup>H NMR(D<sub>2</sub>O, 400 MHz), δ: 4.02~4.23(2H, H<sub>a</sub>), 2.75~2.85(1H, H<sub>b</sub>), 1.99~2.20(4H, H<sub>c</sub>), 1.82~1.99(2H, H<sub>d</sub>), 1.70~1.82(2H, H<sub>e</sub>), 1.36~1.68(2H, H<sub>f</sub>), 1.14~1.35(1H, H<sub>g</sub>).



Scheme 4 Synthesis route of the target polymer

### 1.3 星状聚合物的毒性测试

以每孔  $1 \times 10^4$  Cell 的密度, 将人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 接种在 96 孔板中培养 24 h (培养基为 RPMI-1640, 含 10% FBS) 后, 用新鲜的 RPMI-1640 培养基 (不含 10% FBS) 洗涤 2 次, 每孔再加入 100  $\mu$ L 含不同浓度聚合物的 RPMI-1640 培养基, 于 37  $^{\circ}$ C 培养 24 h. 移除培养基, 每孔加入 5  $\mu$ g/mL MTT (100  $\mu$ L) 工作溶液, 于 37  $^{\circ}$ C 培养 4 h. 移除培养基, 每孔加入 100  $\mu$ L DMSO 培养 10 min, 以酶标仪测定 570 nm 条件下的吸光度, 每个聚合物浓度对应 3 个重复孔.

## 2 结果与讨论

### 2.1 重要中间体引发剂 6-en-β-CD 的表征

以 β-CD 为起始原料, 通过磺酰化及乙二氨基取代等步骤得到重要中间体化合物 (6-en-β-CD); 在此基础上, 通过赖氨酸和谷氨酸的 NCA 混合开环聚合后, 再以 HBr/HOAc 脱除保护基团 Cbz 后得到目标聚合物 [6-聚(谷氨酸-赖氨酸)-β-CD]. 中间体化合物 6-en-β-CD 中所有非活泼氢均可以从其 <sup>1</sup>H NMR 谱图中得到指认. 同时 MS 检测结果显示, 目标分子的准分子离子峰 [M+H]<sup>+</sup> ( $m/z$  为 1177.2) 与理论计算值  $m/z$  1176.2 一致.

通过对比乙二氨基取代前后 2 种中间体的 FTIR 光谱 (图 1) 进一步确证中间体产物 6-en-β-CD. 其中插图为本环的特征吸收峰. FTIR,  $\bar{\nu}/\text{cm}^{-1}$ : 839 ( $\delta_{\text{C-H}}$ , 苯环), 815 ( $\delta_{\text{C-H}}$ , 苯环), 1599 ( $\nu_{\text{C=C}}$ , 苯环);

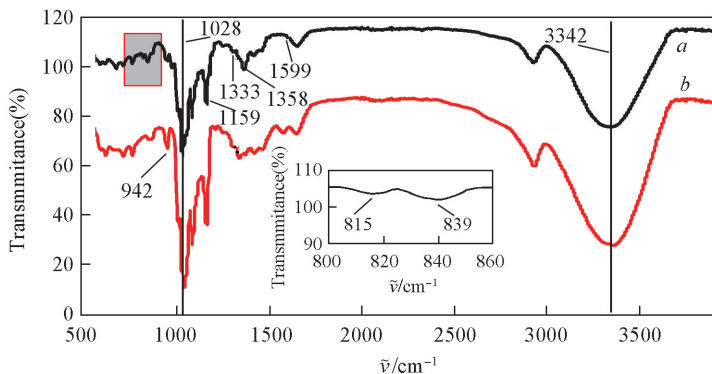


Fig.1 FTIR spectra of 6-OTs-β-CD (a) and 6-en-β-CD (b)

Inset: characteristic peaks of benzenoid ring in 6-OTs-β-CD.

而 1358( $\nu_{as}$ , S=O), 1159( $\nu_s$ , S=O) 及 1028( $\nu_{C-O}$ , —OTs 的特征吸收峰); 1333(N—H 面内弯曲峰); 942(N—H 强面外弯曲峰); 3342 为母体  $\beta$ -CD 的—OH 伸缩振动峰. 表明—OTs 已经被乙二胺基取代生成 6-en- $\beta$ -CD.

## 2.2 星状聚合物的结构和组成

目标聚合物 MALDI-TOF-MS 检测结果(图 2)表明, 其重均分子量( $M_w$ )约为 4626, 多分散系数(PDI)为 1.10, 平均聚合度约为 27.1. 目标聚合物的  $^1\text{H}$  NMR 图(图 3)表明, 其所有非活泼氢原子都得到了指认. 用 XPS 对组成成分做进一步表征. 作为一种由谷氨酸和赖氨酸聚合而成的含有可降解多肽支臂的聚合物, 其 XPS 中 N 元素分谱中应当含有多肽类聚合物的特征元素峰. 从图 4 可以看出, 在电子结合能为 400 eV 处, 出现了多肽的特征元素峰  $N_{1s}$ , 表明该聚合物含有多肽的特征元素 N.

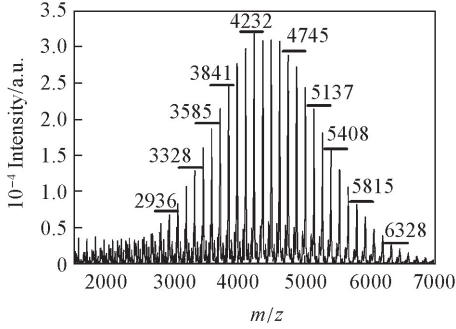


Fig.2 MALDI-TOF-MS spectrum of the target polymer

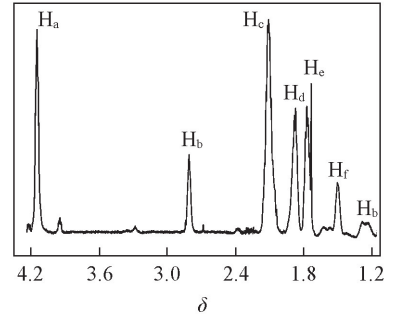


Fig.3  $^1\text{H}$  NMR spectrum of the target polymer

图 5 为星状聚合物的红外光谱图. FTIR,  $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ : 1650 和 1555[多肽二级酰胺的酰胺 I 带( $\nu_{C=O}$ )和酰胺 II 带( $\delta_{N-H}$ )]; 1415[母核  $\beta$ -CD 中羟基的面内弯曲振动( $\delta_{O-H}$ )]; 1116[亚甲基伸缩振动吸收峰( $\nu_{CH_2}$ )]; 3420[强而宽吸收峰, 多肽支臂中自由氨基的伸缩振动峰( $\nu_{N-H}$ )及羟基伸缩振动吸收峰( $\nu_{O-H}$ )].

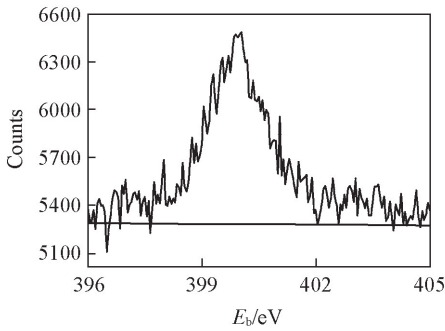


Fig.4 Detailed scans of element nitrogen( $N_{1s}$ ) of the target polymer

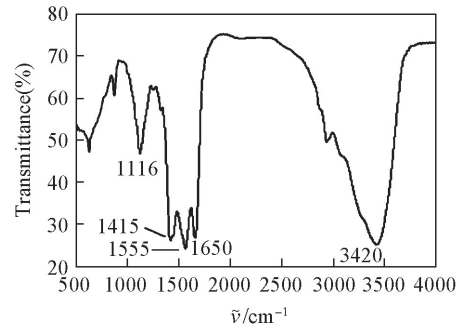


Fig.5 FTIR spectrum of the target polymer

## 2.3 星状聚合物的二级结构分析

由于目标聚合物易溶于水, 因此考察其在水溶液中的二级构象. 二级构象是指多肽链中主要通过氢键作用形成有规则的局部构象, 主要包括  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠和  $\beta$ -转角等. 目标聚合物在水溶液中的二级构象如图 6 所示. CD 谱(图 6)结果显示, 目标聚合物水溶液在 196.57 nm 处有一个很强的负吸收峰, 而在 220.62 nm 处有一个小而宽的正吸收峰. 这是典型的无规则卷曲构象 CD 图谱, 表明目标聚合物在水中的二级结构可能是无规则线团状态.

## 2.4 星状聚合物的体外毒性

以 HUVECs 细胞为考察对象, 采用 MTT 法考察星状聚合物的体外毒性, 结果如图 7 和图 8 所示.

MTT 测试结果(图 7)表明, 即使在聚合物浓度为 5 mg/mL 情况下, 细胞的存活率也可达 94% 左右; 随着聚合物浓度的变化, 细胞的存活率几乎没有改变; MTT 考察对应的代表性 HUVECs 图片(图 8)也证实, 理论上毒性最大的(5 mg/mL)和毒性最小的(0.01 mg/mL)受试细胞形态几乎没有显著

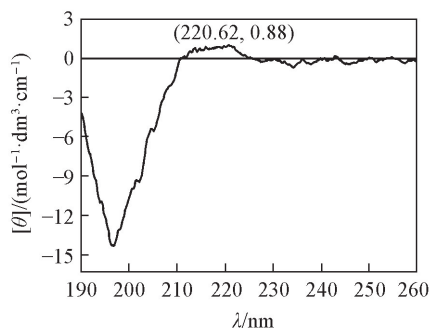


Fig.6 CD spectroscopy of the target polypeptide in water

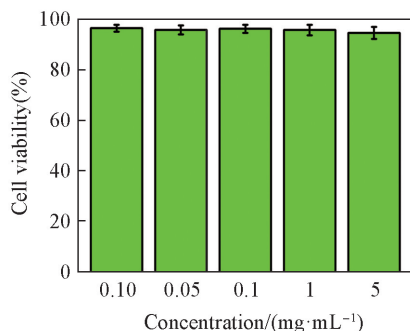


Fig.7 MTT assay results of the target polymer at different concentrations

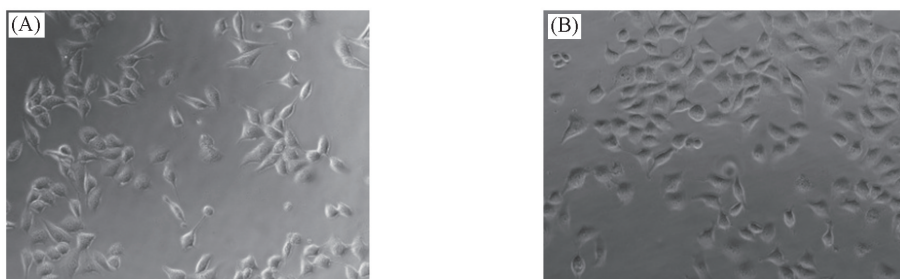


Fig.8 Representative HUVECs pictures of 0.01 mg/mL(A) and 5 mg/mL(B) for the target polymer in MTT assay

差别,且都处于自然舒展状态,表明该材料没有明显的体外细胞毒性.

综上所述,以 $\beta$ -CD为起始原料,通过6-OH的对甲苯磺酰基取代、乙二氨基取代后得到重要的中间体6-en- $\beta$ -CD;再以6-en- $\beta$ -CD作为开环引发剂,经过混合开环聚合Lys-NCA, Glu-NCA和脱Cbz基团保护等步骤得到目标聚合物6-聚(谷氨酸-赖氨酸)- $\beta$ -CD. 研究表明,目标聚合物的重均分子量为4626,多分散系数(PDI)为1.10,平均聚合度(DP)约为27.1;在水溶液中目标聚合物的二级结构是无规则线团结构;在聚合物浓度为5 mg/mL的情况下,细胞存活率可达到94%以上,没有呈现明显的体外细胞毒性. 这种以 $\beta$ -CD为核、以多肽为支臂的星状聚合物,具有良好的生物相容性和生物可降解性,而且安全无毒,有潜在的药用前景.

### 参 考 文 献

- [1] Song Q. D., Ding Y., Mi G. T., Jin S. Z., *Chinese Journal of Pharmaceuticals*, **1999**, 30(11), 494—496(宋全道, 丁易, 米广太, 金善子. 中国医药工业杂志, **1999**, 30(11), 494—496)
- [2] Zheng M. Y., Wang S., Huang F. Q., Tian W., Fan X. D., Kang Q., *Acta Polymerica Sinica*, **2010**, (7), 904—909(郑敏燕, 王珊, 黄方千, 田威, 范晓东, 康琼. 高分子学报, **2010**, (7), 904—909)
- [3] Hu H., Fan X. D., Huang Y., *Acta Polymerica Sinica*, **2004**, (6), 805—811(胡晖, 范晓东, 黄怡. 高分子学报, **2004**, (6), 805—811)
- [4] Huarte J., Espuelas S., Lai Y., He B., Tang J., Irache J. M., *Int. J. Pharm.*, **2016**, 506(1/2), 116—28
- [5] Chen Y. Z., Huang Y. K., Qin D. D., Liu W. C., Song C., Lou K. Y., Wang W., Gao F., *Plos One*, **2016**, 11(3), e0150877
- [6] Lv P., Zhou C., Zhao Y. L., Liao X. L., Yang B., *Carbohydr. Polym.*, **2017**, 168, 103—111
- [7] Zhang J., Ellsworth K., Ma P. X., *J. Controll. Release*, **2010**, 145(2), 116—123
- [8] Xu F. J., Zhang Z. X., Ping Y., Li J., Kang E. T., Neoh K. J., *Biomacromolecules*, **2009**, 10(2), 285—293
- [9] Kang Y., Ma Y., Zhang S., Ding L. S., Li B. J., *ACS Macro Lett.*, **2015**, 4(5), 543—547
- [10] Xu J. N., Zhang Y. M., Li X. Y., Zheng Y., *J. Mol. Struct.*, **2017**, 1141, 328—334
- [11] Chen S. F., Cao Z. Q., Jiang S. Y., *Biomaterials*, **2009**, 30, 5892—5896
- [12] Mu C. G., Fan X. D., Tian W., Bai Y., Nan J. K., Ma T. M., Yang G., *Chem. J. Chinese Universities*, **2011**, 32(8), 1896—1903(穆承广, 范晓东, 田威, 白阳, 南江琨, 马托梅, 杨光. 高等学校化学学报, **2011**, 32(8), 1896—1903)
- [13] Huang Y., *Synthesis and In Vitro Evaluation of Functional Poly(L-glutamic acid-co-L-lysine)*, Xiangtan University, Xiangtan, **2013**(黄

月. 谷氨酸赖氨酸无规共聚物的合成表征及其作为抗癌药物载体的应用, 湘潭: 湘潭大学, 2013)

- [14] Yang Q. H., Wang L. G., Lin W. F., Ma G. L., Yuan J., Chen S. F., *J. Mater. Chem. B*, **2014**, 2, 577—584
- [15] Yang Q. H., Wang Q. S., Wang L. G., Chen T. Y., *Acta Polymerica Sinica*, **2016**, 47(4), 503—510(杨庆华, 王强盛, 王龙刚, 陈天云, 高分子学报, **2016**, 47(4), 503—510)
- [16] Stöhr T., Blaudszun A. R., Steinfeld U., Wenz G., *Polym. Chem.*, **2011**, 2, 2239—2248
- [17] Conte C., Fotticchia I., Tirino P., Moret F., Pagano B., Gref R., Ungaro F., Reddi E., Giancola C., Quaglia F., *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2016**, 141, 148—157
- [18] Uyar T., Balan A., Toppare L., Besenbacher F., *Polymer*, **2009**, 50(2), 475—480
- [19] Amajjahe S., Munteanu M., Ritter H., *Macromol. Rapid Comm.*, **2009**, 30(11), 904—908
- [20] Kettel M. J., Heine E., Schaefer K., Moeller M., *Macromol. Biosci.*, **2017**, 17(2), 1600230
- [21] Wibowo S. H., Adrian S., Wong E. H. H., Blencowe A., Qiao G. G., *Chem. Commun.*, **2014**, 50, 4971—4988
- [22] Dai Y., Xu M., Wei J., Zhang H., Chen Y., *Appl. Surf. Sci.*, **2012**, 258(7), 2850—2855
- [23] Song A. R., Rane A. A., Christman K. L., *Acta Biomater.*, **2012**, 8(1), 41—50

## Preparation and Characterization of Star-shaped $\beta$ -Cyclodextrin Based Polymer<sup>†</sup>

YANG Qinghua<sup>1\*</sup>, WANG Longgang<sup>2</sup>, LIU Jie<sup>1</sup>, LU Yong<sup>3</sup>, CHEN Tianyun<sup>3</sup>

(1. Department of Pharmacy, School of Biological and Medical Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China;

2. Department of Chemical Technology, School of Environmental and Chemical Engineering, Yanshan University, Qinghuangdao 066004, China;

3. Department of Chemical Technology, School of Chemistry and Chemical Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

**Abstract**  $\beta$ -Cyclodextrin with terminal amino moiety(6-en- $\beta$ -CD) was prepared by  $\beta$ -cyclodextrin( $\beta$ -CD) as starting material through sulfonation and ethylenediamine substitution. Then, the target polymer [6-poly(glumatic acid-lysine)- $\beta$ -CD] was obtained by ring opening polymerization(ROP) of glumatic acid and lysine N-carboxyl anhydride(NCA) and deprotection of benzoxycarbonyl(Cbz), with  $\beta$ -CD and polypeptides as its core and branched arms, respectively. The characters of the star-shaped polymer and its corresponding intermediates were determined by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry(MALDI-TOF-MS), nuclear magnetic resonance(NMR) and Fourier transform infrared spectroscopy(FTIR), respectively. Moreover, the secondary structure and the cytotoxicity *in vitro* were also detected by circular dichroism(CD) and methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide(MTT) assay, respectively. The results showed that successful synthesis of the target polymer and its intermediates was achieved, and the molecular weight( $M_w$ ) of the target polymer, polydispersity index(PDI) and average degree of polymerization(DP) were 4626, 1.10 and 27.1, respectively. Furthermore, the secondary structure of the target polymer in water was random coil. The cell viability of human umbilical vein endothelial cells(HUVECs) could reach over 94% when the polymer concentration was up to 5 mg/mL, exhibiting no cell toxicity *in vitro*. In conclusion, our studies demonstrated that the polymer had potential applications in pharmacy industry.

**Keywords**  $\beta$ -Cyclodextrin; Ring opening polymerization; N-Carboxyl anhydride; Star-shaped polymer; Biocompatibility

(Ed.: W, Z)

<sup>†</sup> Supported by the China Postdoctoral Science Foundation Funded Project(No.2015M571918), the Fundamental Research Funds for the Central Universities, China(No. JZ2014HGBZ0330) and the Innovation Training Projects for Undergraduate Students of Hefei University of Technology, China(No.2017CXCY490).