



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103897196 B

(45)授权公告日 2016.12.28

(21)申请号 201210578582.2

COBQ 73/02(2006.01)

(22)申请日 2012.12.27

G01N 33/53(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 103897196 A

(43)申请公布日 2014.07.02

(73)专利权人 张昊

地址 518034 广东省深圳市福田区宏威路  
青莲公寓B栋14层D室

专利权人 陈寅

(72)发明人 陈寅 吴洪开

(74)专利代理机构 深圳中一专利商标事务所

44237

代理人 张全文

(51)Int.Cl.

COBQ 81/00(2006.01)

(56)对比文件

CN 102604083 A,2012.07.25,

Rupert Konradi et al..Poly-2-methyl-  
2-oxazoline: a peptide-like polymer for  
protein-repellent surfaces.《Langmuir》  
.2008,第24卷(第03期),第614页.

Thomas von Erlach et al..Formation  
and characterization of DNA-polymer-  
condensates based on poly(2-methyl-2-  
oxazoline) grafted poly(L-lysine) for  
non-viral delivery of therapeutic DNA.  
《Biomaterials》.2011,第32卷第5292页.

审查员 肖鑫

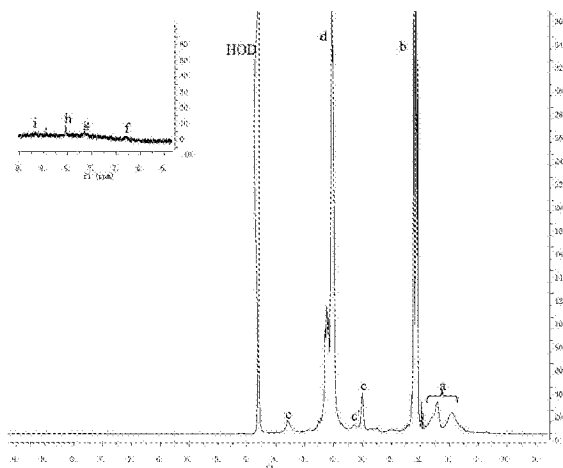
权利要求书3页 说明书13页 附图1页

(54)发明名称

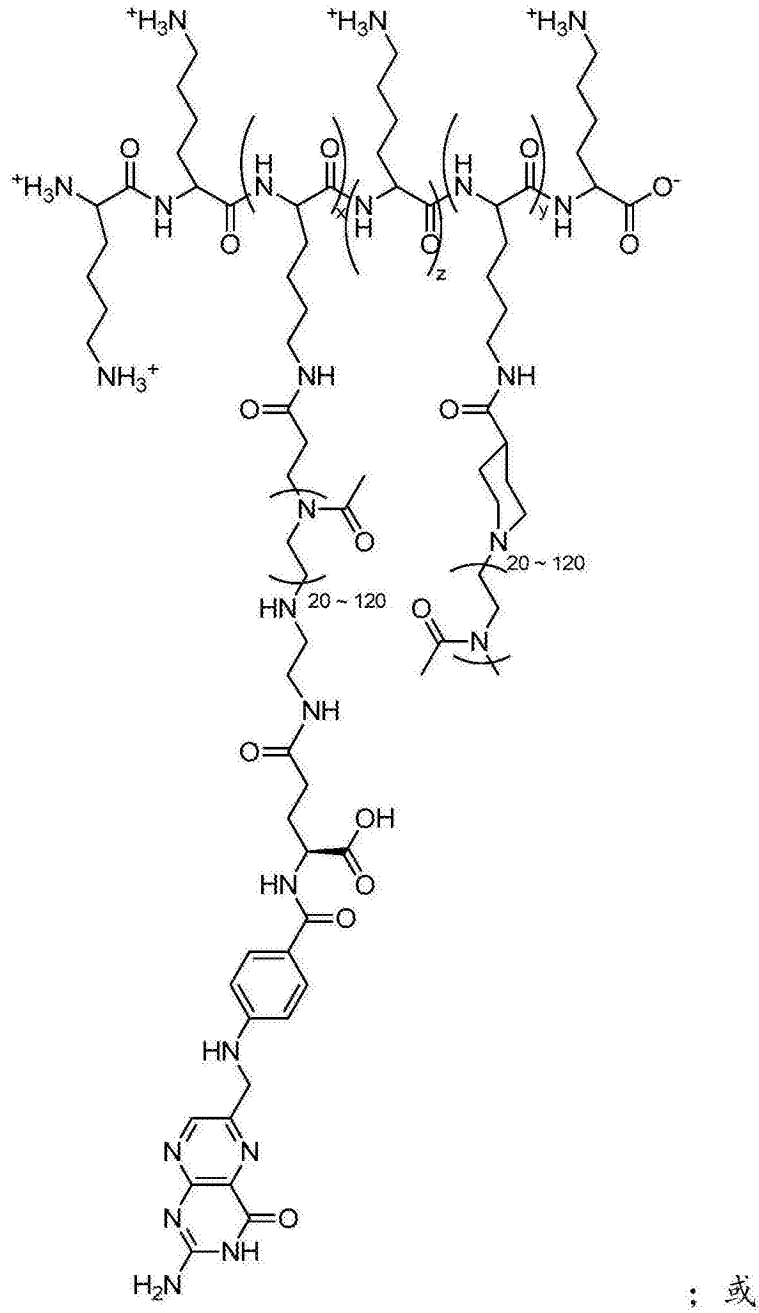
聚合物及其制备方法

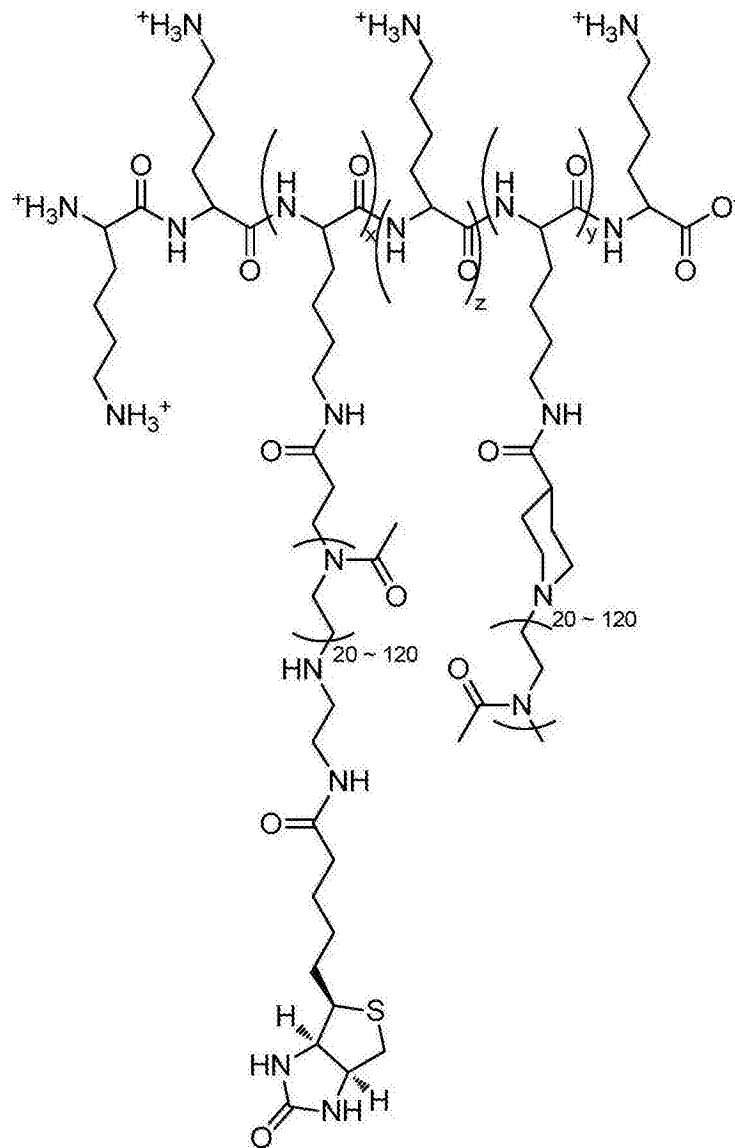
(57)摘要

本发明适用于高分子材料领域,提供了一种  
聚合物及其制备方法。本发明聚合物制备方法,  
包括制备第一中间产物、制备第二中间产物、制  
备带羧基的聚合物及制备聚合物等步骤。本发明  
聚合物具有聚(2-甲基-2-噁唑啉)及其他基团,  
具有很高的生物惰性,既能够特异性结合某些蛋  
白质,同时能够阻挡其余的大分子物质非特异性  
结合在其表面,能够用于准确、灵敏、定量和高效  
的免疫学检测;本发明聚合制备方法,通过聚合  
反应得到具有聚(2-甲基-2-噁唑啉)及其他基团  
的聚合物,实现该聚合物具有很高的生物惰性,  
既能够特异性结合某些蛋白质,同时能够阻挡其  
余的大分子物质非特异性结合在其表面,能够用  
于准确、灵敏、定量和高效的免疫学检测。



1. 一种聚合物, 具有如下结构式:





所述x、y、z均选自1-500的自然数，且x+y+z为50-500的自然数。

2. 如权利要求1所述的聚合物制备方法，包括如下步骤：

将2-甲基-2-噁唑啉和引发剂加入至有机溶剂中，在温度为60-80℃条件下反应6-48小时，将温度调整至室温，加入终止剂，搅拌反应2-24小时，将反应后溶液中溶剂除掉、加水搅拌，将加水搅拌后的反应产物在pH值为9-14条件下水解2-36小时，将水解后溶液pH值调整至6-8，透析干燥得到第一中间产物，所述引发剂选自3-溴丙酸乙酯或3-溴丙酸甲酯，所述终止剂选自两个末端均带有氨基的聚合物；

将所述第一中间产物溶于水中得到第一溶液，将叶酸或生物素溶于二甲基亚砜或二甲基甲酰胺中并加入N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基-碳二亚胺盐酸盐，搅拌得到第二溶液，将所述第二溶液加入至第一溶液中，在室温下反应2-48小时，将反应后溶液透析干燥得到第二中间产物；

将2-甲基-2-噁唑啉和引发剂加入至有机溶剂中，在温度为60-80℃条件下反应6-48小时，将温度调整至室温，加入终止剂，搅拌反应2-24小时，将反应后溶剂除掉、加水搅拌，将加水搅拌后的反应产物在pH值为9-14条件下水解2-36小时，将水解后溶液pH值调整至6-8，透析干燥得到带羧基的聚合物，所述引发剂选自三氟甲磺酸甲酯或碘甲烷，所述终止剂选

自一个末端带有伯胺基团或仲胺基团,另一个末端带有酯基的聚合物;

将聚(L-赖氨酸)的溴酸盐加入至缓冲液中,加入所述带羧基的聚合物及所述第二中间产物,加入N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基-碳二亚胺盐酸盐与N-羟基琥珀酰亚胺磺酸钠盐,在室温条件下反应1-32小时,将反应后溶液透析干燥,得到聚合物。

3.如权利要求2所述聚合物制备方法,其特征在于,制备所述第一中间产物步骤中,所述引发剂和所述2-甲基-2-噁唑啉的摩尔比为0.8-4:100。

4.如权利要求2所述聚合物制备方法,其特征在于,制备所述第一中间产物步骤中,所述终止剂和所述2-甲基-2-噁唑啉的摩尔比为4-100:100。

5.如权利要求2所述聚合物制备方法,其特征在于,所述第一中间产物和所述叶酸或生物素的摩尔比为1:2-5。

6.如权利要求2所述聚合物制备方法,其特征在于,所述聚(L-赖氨酸)的溴酸盐和所述带羧基的聚合物的摩尔比为1:0.002-0.5。

7.如权利要求2所述聚合物制备方法,其特征在于,所述聚(L-赖氨酸)的溴酸盐和所述第二中间产物的摩尔比为1:0.002-0.5。

8.如权利要求2所述聚合物制备方法,其特征在于,制备所述带羧基的聚合物步骤中,所述一个末端带有伯胺基团或仲胺基团,另一个末端带有酯基的聚合物选自4-哌啶羧酸乙酯,4-哌啶羧酸甲酯,甘氨酸乙酯,甘氨酸甲酯,3-氨基丙酸乙酯或3-氨基丙酸甲酯。

9.如权利要求2所述聚合物制备方法,其特征在于,制备所述带羧基的聚合物步骤中,所述引发剂和所述2-甲基-2-噁唑啉的摩尔比为0.8-4:100;所述终止剂和所述2-甲基-2-噁唑啉的摩尔比为4-100:100。

## 聚合物及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于新材料领域,尤其涉及一种聚合物及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 近年来,血液循环肿瘤细胞的检测成为生物医学领域关注的一个热点。众所周知,癌症的发生发展过程一般要经历以下几个过程。首先是原发良性肿瘤的产生,其次是肿瘤组织的血管生成,然后是原发恶性肿瘤的形成,再次是恶性肿瘤细胞通过基底膜侵入血管成为血液循环肿瘤细胞,最后恶性肿瘤细胞通过血管壁侵入其余的正常组织形成继发性恶性肿瘤。继发性恶性肿瘤一旦形成,手术切除就失去了意义,癌症的治疗变得非常困难。通常情况下,血液中的循环肿瘤细胞会在血液中停留较长的时间,才会侵入其余的正常组织形成继发性恶性肿瘤。因此,血液循环肿瘤细胞的检测逐渐成为癌症诊断和确定治疗方案的一个重要指标。此外,通过对癌症病人中血液循环肿瘤细胞浓度的监测,还可以对抗癌药物的疗效进行评估。由于循环肿瘤细胞在血液中的浓度非常小(每10万到10亿个血液细胞种有一个),因此循环肿瘤细胞的筛分成为一个具有挑战性的课题。目前的主要方案是利用循环肿瘤细胞与正常血液细胞的体积大小区别以及循环肿瘤细胞与某些抗体如抗上皮细胞粘附分子、抗角蛋白抗体等的特异性结合作用来进行筛分。对第二种方案而言,需要解决的问题是制备能够特异性结合某些生物大分子,同时能阻挡其余生物大分子非特异性结合的物质。近年来,免疫学检测芯片成为生物医学领域关注的一个热点。准确、灵敏、定量、高效的免疫学检测一直是人们所追求的目标。同样,为了达到以上的要求,免疫学芯片需要具备能够特异性结合某些蛋白分子,同时能阻挡其余生物大分子非特异性结合的表面。

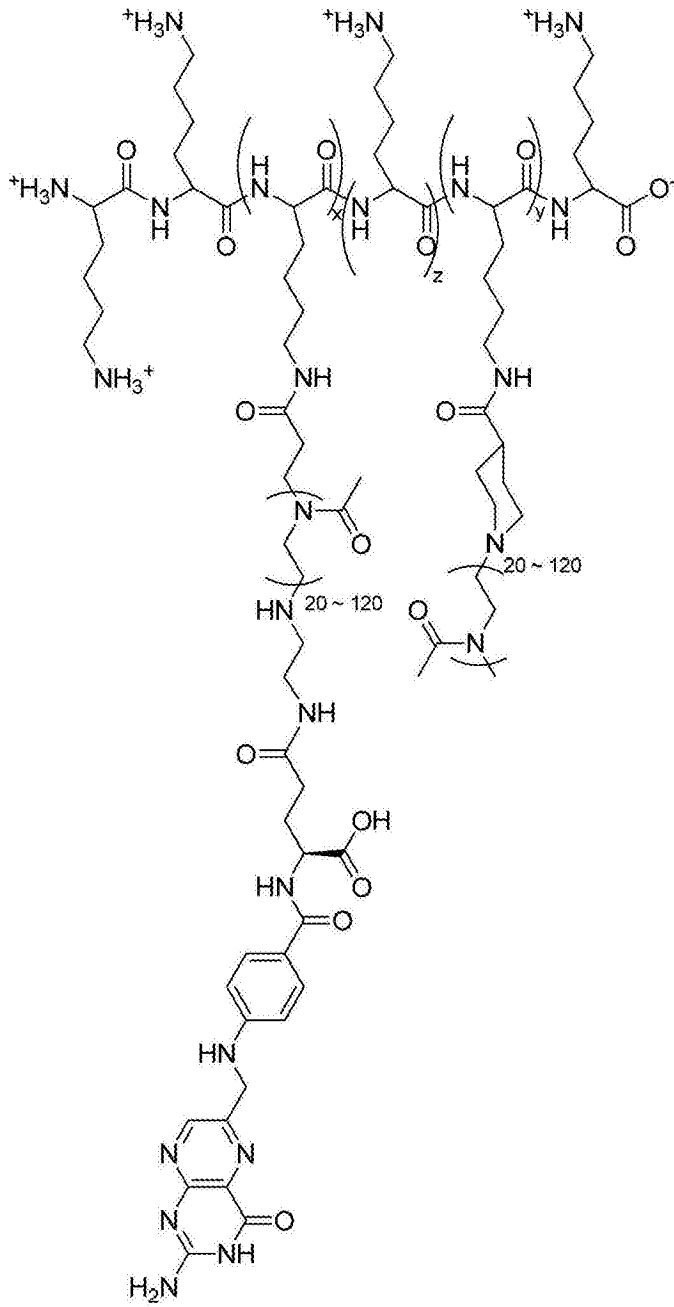
[0003] 目前,这方面的材料并不多见。

### 发明内容

[0004] 有鉴于此,本发明的目的在于提供一种能够能够特异性结合某些生物大分子,同时能阻挡其余生物大分子非特异性结合的高分子材料。

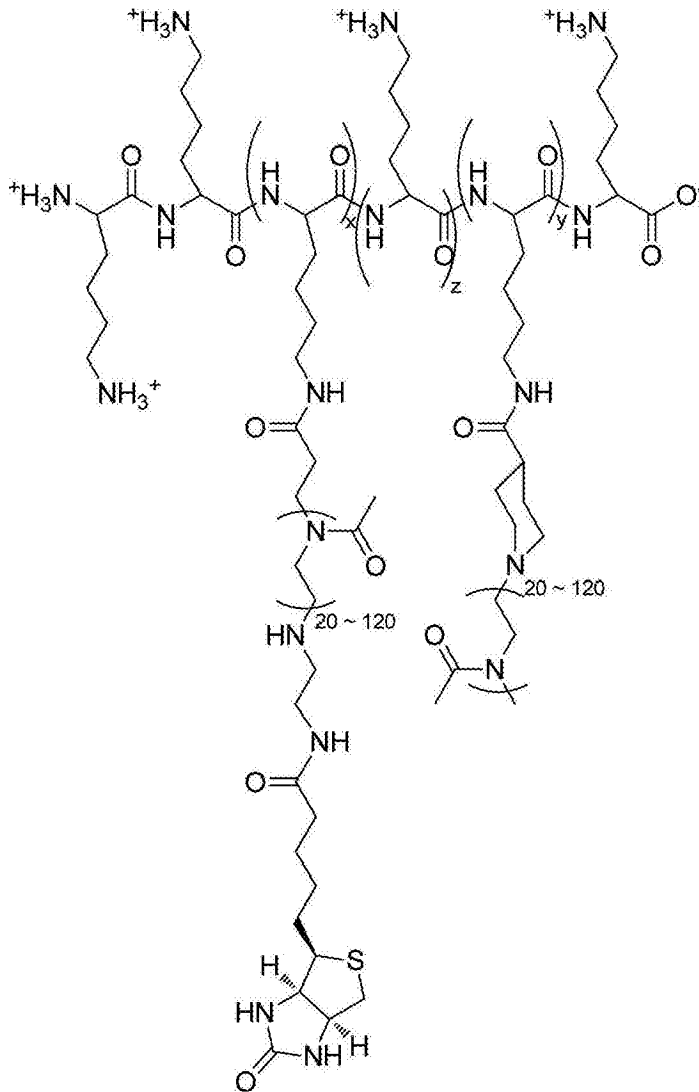
[0005] 本发明是这样实现的,

[0006] 一种聚合物,具有如下结构式:



[0007]

; 或



[0008]

[0009] 该 $x$ 、 $y$ 、 $z$ 均选自1-500的自然数,且 $x+y+z$ 为50-500的自然数。

[0010] 以及,上述聚合物制备方法,包括如下步骤:

[0011] 将2-甲基-2-噁唑啉和引发剂加入至有机溶剂中,在温度为60-80°C条件下反应6-48小时,将温度调整至室温,加入终止剂,搅拌反应2-24小时,将反应后溶液中溶剂除掉、加水搅拌,将加水搅拌后的反应产物在pH值为9-14条件下水解2-36小时,将水解后溶液pH值调整至6-8,透析干燥得到第一中间产物,该引发剂选自3-溴丙酸乙酯或3-溴丙酸甲酯,该终止剂选自两末端均带有氨基的聚合物如乙二胺,丁二胺,己二胺;

[0012] 将该第一中间产物溶于水得到第一溶液,将叶酸或生物素溶于二甲基亚砜或二甲基甲酰胺中并加入N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基-碳二亚胺盐酸盐搅拌得到第二溶液,将该第二溶液加入至第一溶液中,在室温下反应2-48小时,将反应后溶液透析得到第二中间产物;

[0013] 将2-甲基-2-噁唑啉和引发剂加入至有机溶剂中,在温度为60-80°C条件下反应6-48小时,将温度调整至室温,加入终止剂,搅拌反应2-24小时,将反应后溶剂除掉、加水搅拌,将加水搅拌后的反应产物在pH值为9-14条件下水解2-36小时,将水解后溶液pH值调整至6-8,透析干燥得到带酯基的聚合物,该引发剂选自三氟甲磺酸甲酯或碘甲烷,该终止剂选自一个末端带有伯胺或仲胺,另一个末端带有酯基的聚合物选自4-哌啶羧酸乙酯,4-哌

啶羧酸甲酯,甘氨酸乙酯,甘氨酸甲酯,3-氨基丙酸乙酯,3-氨基丙酸甲酯等;

[0014] 将聚(L-赖氨酸)的溴酸盐加入至缓冲液中,加入该带羧基的聚合物及该第二中间产物,加入N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基-碳二亚胺盐酸盐与N-羟基琥珀酰亚胺磺酸钠盐,在室温条件下反应1-32小时,将反应后溶液透析干燥,得到聚合物。

[0015] 本发明聚合物,具有聚(2-甲基-2-噁唑啉)及其他基团,具有很高的生物惰性,既能够特异性结合某些蛋白质,同时能够阻挡其余的大分子物质非特异性结合在其表面,能够用于准确、灵敏、定量和高效的免疫学检测;本发明聚合制备方法,通过聚合反应得到具有聚(2-甲基-2-噁唑啉)及其他基团的聚合物,实现该聚合物具有很高的生物惰性,既能够特异性结合某些蛋白质,同时能够阻挡其余的大分子物质非特异性结合在其表面,能够用于准确、灵敏、定量和高效的免疫学检测。

### 附图说明

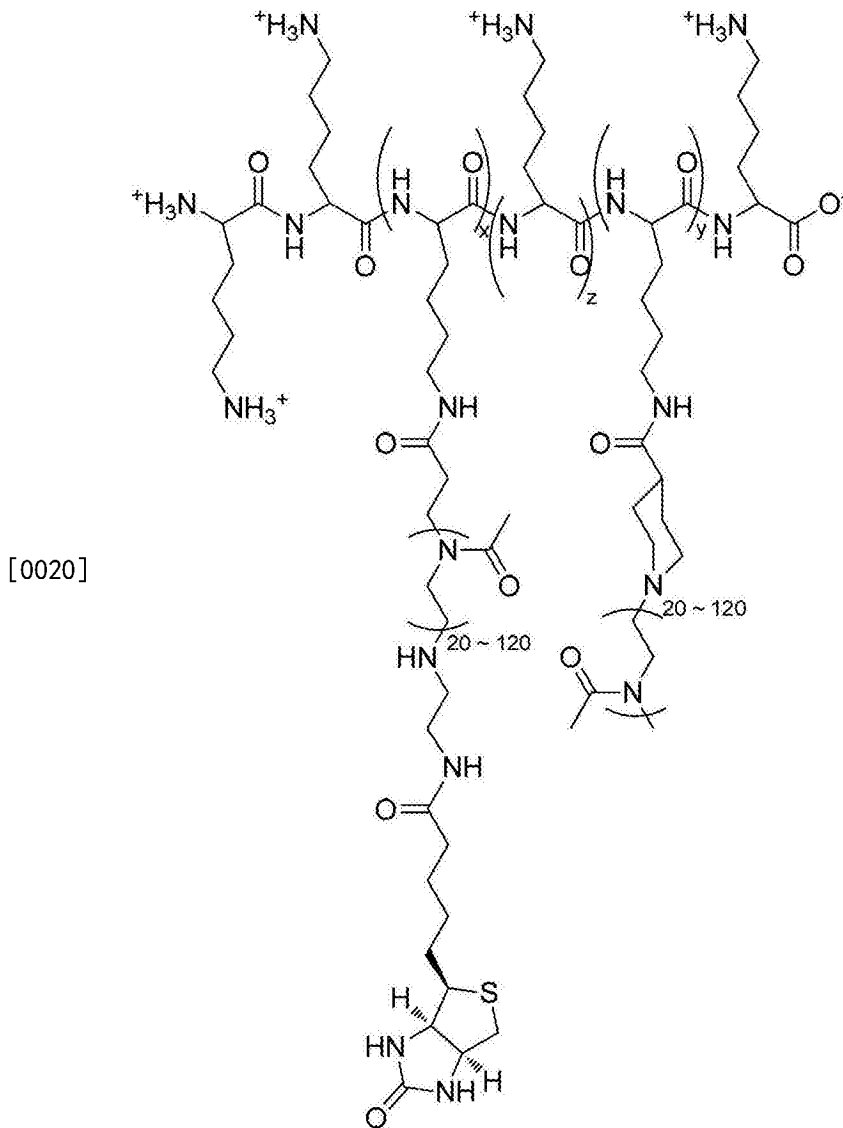
[0016] 图1是本发明实施例一制备的聚合物<sup>1</sup>H-核磁图谱。

### 具体实施方式

[0017] 为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白,以下结合附图及实施例,对本发明进行进一步详细说明。应当理解,此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。

[0018] 本发明实施例提供一种聚合物,该聚合物具有如下的结构式:





[0021] 该 $x$ 、 $y$ 、 $z$ 均选自1-500的自然数,且 $x+y+z$ 为50-500的自然数。该聚合物可以看做是 $x$ 、 $y$ 、 $z$ 所代表的三种重复单元的共聚物,为无规共聚物,而非嵌段共聚物。

[0022] 本发明聚合物,具有聚(2-甲基-2-噁唑啉)及其他基团,具有很高的生物惰性,既能够特异性结合某些蛋白质,同时能够阻挡其余的大分子物质非特异性结合在其表面,能够用于准确、灵敏、定量和高效的免疫学检测。

[0023] 本发明实施例进一步提供上述聚合物制备方法,包括如下步骤:

[0024] 步骤S01,制备第一中间产物:

[0025] 将2-甲基-2-噁唑啉和引发剂加入至有机溶剂中,在温度为60-80℃条件下反应6-48小时,将温度调整至室温,加入终止剂,搅拌反应2-24小时,将反应后溶液中的溶剂除掉、加水搅拌,将加水搅拌后的反应产物在pH值为9-14条件下水解2-36小时,将水解后溶液pH值调整至6-8,透析干燥得到第一中间产物,该引发剂选自3-溴丙酸乙酯或3-溴丙酸甲酯,该终止剂选自两个末端均带有氨基的聚合物,该两个末端均带有氨基的聚合物如乙二胺,丁二胺或己二胺等;

[0026] 步骤S02,制备第二中间产物:

[0027] 将该第一中间产物溶于水中得到第一溶液,将叶酸或生物素溶于二甲基亚砜或二

甲基甲酰胺中并加入N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基-碳二亚胺盐酸盐搅拌得到第二溶液,将该第二溶液加入至第一溶液中,在室温下反应2-48小时,将反应后溶液透析得到第二中间产物;

[0028] 步骤S03,制备带羧基的聚合物:

[0029] 将2-甲基-2-噁唑啉和引发剂加入至有机溶剂中,在温度为60-80℃条件下反应6-48小时,将温度调整至室温,加入终止剂,搅拌反应2-24小时,将反应后溶剂除掉、加水搅拌,将加水搅拌后的反应产物在pH值为9-14条件下水解2-36小时,将水解后溶液pH值调整至6-8,透析干燥得到带羧基的聚合物,该引发剂选自三氟甲磺酸甲酯或碘甲烷,该终止剂选自一个末端带有伯胺或仲胺,另一个末端带有酯基的聚合物,例如选自4-哌啶羧酸乙酯,4-哌啶羧酸甲酯,甘氨酸乙酯,甘氨酸甲酯,3-氨基丙酸乙酯,3-氨基丙酸甲酯等。

[0030] S04,制备聚合物:

[0031] 将聚(L-赖氨酸)的溴酸盐加入至缓冲液中,加入该带羧基的聚合物及该第二中间产物,加入N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基-碳二亚胺盐酸盐与N-羟基琥珀酰亚胺磺酸钠盐,在室温条件下反应1-32小时,将反应后溶液透析干燥,得到聚合物。

[0032] 步骤S01中,该引发剂和2-甲基-2-噁唑啉的摩尔比为0.8-4:100,该终止剂和2-甲基-2-噁唑啉的摩尔比为4-100:100。该有机溶剂选自乙腈或二甲基甲酰胺。

[0033] 步骤S01具体如下:

[0034] 将2-甲基-2-噁唑啉和引发剂反应完成后,将体系温度调整至室温,例如20-30℃,向反应体系中加入终止剂,然后搅拌2-24小时。将反应后溶剂在负压条件下蒸发,使反应后溶液中的有机溶剂除去,得到油状粘稠液体,向该油状粘稠液体中加入水,搅拌,得到混合溶液,将该混合溶液在pH值为9-14条件下水解2-36小时,将水解后溶液pH值调整至6-8,将调整pH至6-8的溶液置入透析袋中,在去离子水中透析处理,时间3天以上,得到第一中间产物。

[0035] 步骤S02中,该第一中间产物和所述叶酸或生物素的摩尔比为1:2-5。步骤S02具体如下:

[0036] 将该第一中间产物溶于水中,搅拌得到第一溶液;

[0037] 然后将叶酸或生物素溶于二甲基亚砷或二甲基甲酰胺中并加入N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基-碳二亚胺盐酸盐搅拌得到第二溶液;

[0038] 将该第二溶液加入至第一溶液中,在室温下搅拌,反应2-48小时,将反应后溶液转入透析袋中,在去离子水中透析3天以上,将含有聚合物的溶液冷冻干燥,得到第二中间产物;

[0039] 步骤S03中,该引发剂和所述2-甲基-2-噁唑啉的摩尔比为0.8-4:100;该终止剂和2-甲基-2-噁唑啉的摩尔比为4-100:100。该有机溶剂和步骤S01中相同,在此不重复阐述。

[0040] 步骤S03具体如下:

[0041] 将2-甲基-2-噁唑啉和引发剂反应完成后,将体系温度调整至室温,例如20-30℃,向反应体系中加入终止剂,然后搅拌2-24小时。将反应后溶剂在负压条件下蒸发,使反应后溶液中的有机溶剂除去,得到油状粘稠液体,向该油状粘稠液体中加入水,搅拌,得到混合溶液,将该混合溶液在pH值为9-14条件下水解2-36小时,将水解后溶液pH值调整至6-8,将pH调整至6-8的溶液置入透析袋中,在去离子水中透析处理,得到含羧基的聚合物;

[0042] 步骤S04中,该聚(L-赖氨酸)的溴酸盐和所述带羧基的聚合物的摩尔比为1:0.002-0.5;该聚(L-赖氨酸)的溴酸盐和所述第二中间产物的摩尔比为1:0.002-0.5;该聚(L-赖氨酸)的溴酸盐和N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基-碳二亚胺盐酸盐的摩尔比为1:0.02-10,该聚(L-赖氨酸)的溴酸盐和与N-羟基琥珀酰亚胺磺酸钠盐的摩尔比为1:0.004-0.5。该缓冲液优选为0.01mol/L,pH=7.4的磷酸盐缓冲液。

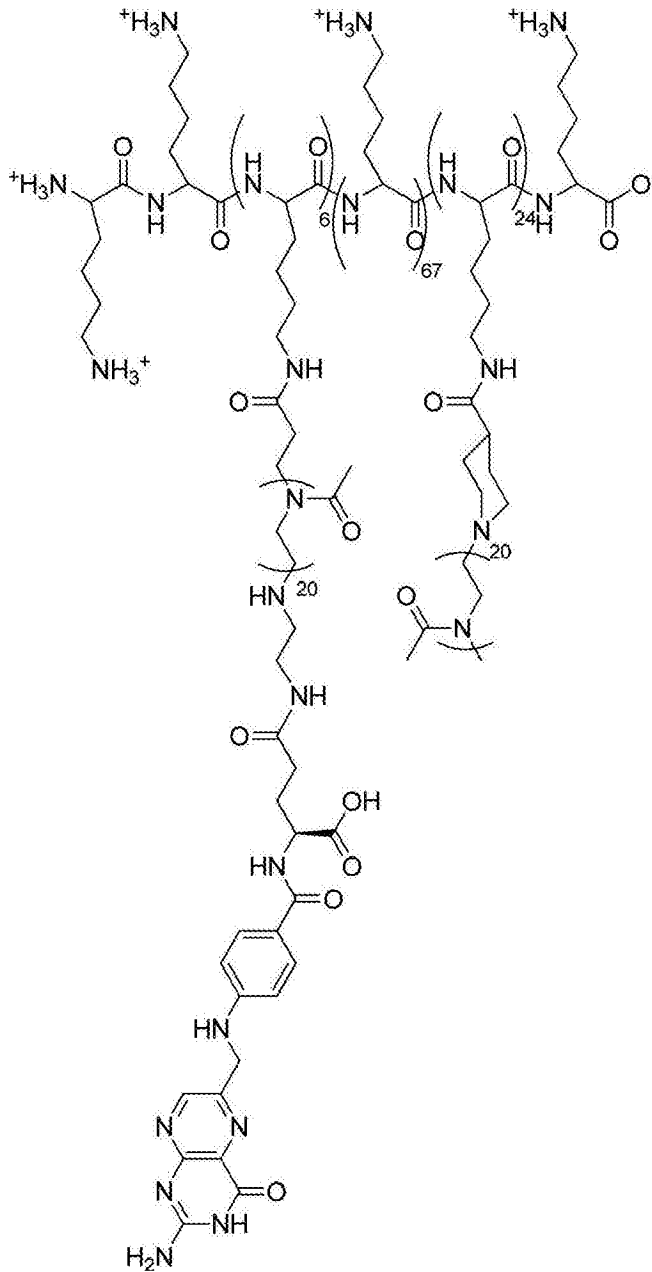
[0043] 步骤S04中,反应完成后,将反应后溶液转移到透析袋中,分别在磷酸盐缓冲液和去离子水中透析3天以上,将含有聚合物的液体冷冻干燥,得到聚合物,该磷酸盐缓冲液和前述相同,在此不重复阐述。

[0044] 本发明聚合制备方法,通过聚合反应得到具有聚(2-甲基-2-噁唑啉)及其他基团的聚合物,实现该聚合物具有很高的生物惰性,既能够特异性结合某些蛋白质,同时能够阻挡其余的大分子物质非特异性结合在其表面,能够用于准确、灵敏、定量和高效的免疫学检测。

[0045] 以下结合具体实施例对上述聚合物制备方法进行详细阐述。

[0046] 实施例一

[0047] 本发明实施例聚合物的化学结构式如下:

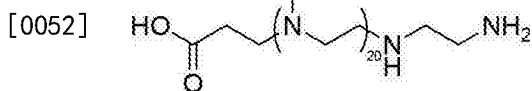


[0048]

[0049] 本发明实施例聚合物制备方法,包括如下步骤:

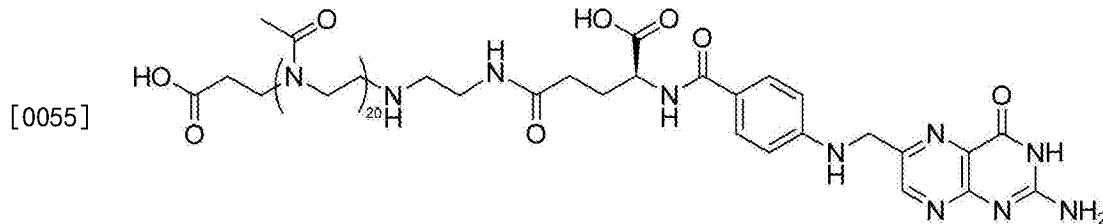
[0050] 1、两个末端分别带羧基与氨基的聚(2-甲基-2-噁唑啉)的合成:

[0051] 将2-甲基-2-噁唑啉(8.5mL, 100mmol)溶于乙腈(30mL),再将3-溴丙酸乙酯(0.520mL, 4mmol)加入到反应体系中,之后将混合物加热到70℃,反应8小时。随后停止加热,待混合物冷却至室温,加入乙二胺(6.65mL, 100mmol)搅拌12小时。在负压下用加热将部分溶剂除掉,得到油状粘稠液体。加入去离子水至50mL之后,在pH=14的条件下水解24小时,将溶液pH调至中性,再将含有聚合物的溶液转移到透析袋中,在去离子水中透析24小时。最后,将含有聚合物的溶液冷冻干燥或减压加热干燥,得到分子量约为2K的聚(2-甲基-2-噁唑啉)白色固体,结构式如下:

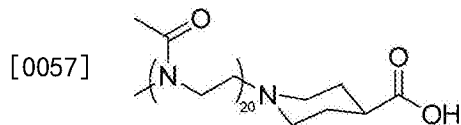


[0053] 2、叶酸修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)的合成:

[0054] 将上述得到的两个末端分别带羧基与氨基的聚(2-甲基-2-噁唑啉)白色固体(2K, 0.20g, 0.1mmol)溶解于去离子水(6.0mL)中以制备聚合物的水溶液。再将叶酸(132mg, 0.3mmol)溶解于二甲基亚砜(4.0mL)中,之后加入N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基-碳二亚胺盐酸盐(577mg, 3.0mmol),搅拌至完全溶解。然后将含叶酸的溶液全部加入聚合物溶液中,在室温下反应48小时。反应结束后,将含有聚合物的溶液转移到透析袋中,在去离子水中透析7天。最后,将含有聚合物的溶液冷冻干燥,得到分子量约为2.5K的叶酸修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)黄色固体,结构式如下:



[0056] 3、将2-甲基-2-噁唑啉(8.5mL, 100mmol)溶于乙腈(30mL),再将三氟甲磺酸甲酯(0.44mL, 4mmol)加入到反应体系中,之后将混合物加热到70°C,反应8小时。随后停止加热,待混合物冷却至室温,加入4-哌啶羧酸乙酯(1.224mL, 8mmol)搅拌12小时。在负压下用加热将部分溶剂除掉,得到油状粘稠液体。加入去离子水至50mL之后,在pH=14的条件下水解24小时,将溶液pH调至中性,再将含有聚合物的溶液转移到透析袋中,在去离子水中透析24小时。最后,将含有聚合物的溶液冷冻干燥或减压加热干燥,得到分子量为2K的聚(2-甲基-2-噁唑啉)白色固体,结构式如下:



[0058] 4、聚(L-赖氨酸)-接枝-聚(2-甲基-2-噁唑啉)并叶酸修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)的合成:

[0059] 将聚(L-赖氨酸)的溴酸盐(分子量21K, 21mg, 1μmol)溶解于3mL磷酸缓冲盐(0.01mol/L, pH=7.4)溶液中,加入分子量为2K,步骤3制备的末端带羧基的单官能团聚(2-甲基-2-噁唑啉)(48mg, 24μmol)与上述得到的叶酸修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)(2.5K, 15mg, 6μmol)。再加入N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基-碳二亚胺盐酸盐(57.6mg, 300μmol)与N-羟基琥珀酰亚胺磺酸钠盐(6.51mg, 30μmol),于室温下反应16小时。反应结束后,将含有聚合物的溶液转移到透析袋中,分别在磷酸缓冲盐(0.01mol/L, pH=7.4)溶液和去离子水中透析7天。最后,将含有聚合物的溶液冷冻干燥,得到分子量为80K聚(L-赖氨酸)-接枝-聚(2-甲基-2-噁唑啉)并叶酸修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)黄色固体(接枝密度0.3,其中叶酸修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)占20%)。

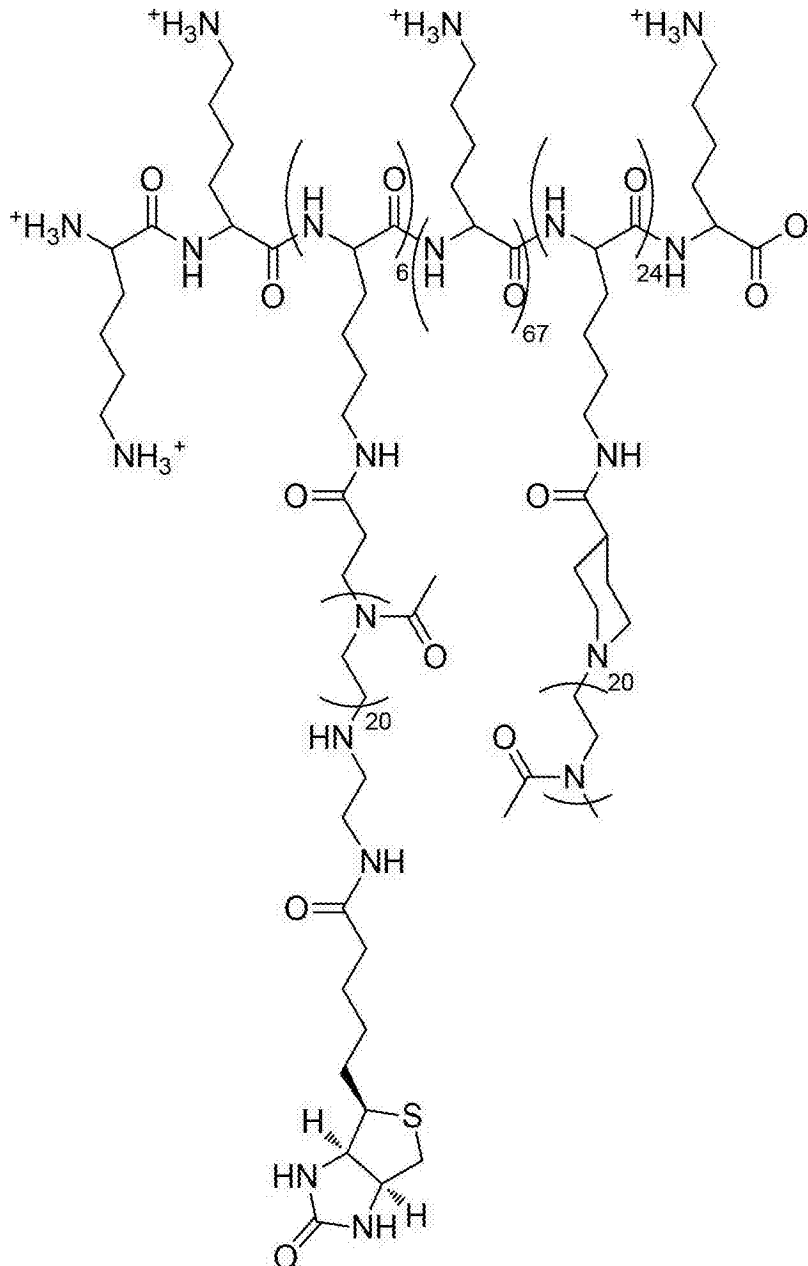
[0060] 请参阅图1,图1显示本发明实施例所制备的聚合物核磁谱图,从图1可以看出,上述制备方法所制备的聚合物是上述结构式所表征的聚合物。

[0061] 本发明实施例一所制备的得到的聚合物,可用于制备检测血液中循环肿瘤细胞的生物芯片。过渡金属氧化物如五氧化二钽、五氧化二铌、二氧化钛、氧化锡钨及二氧化硅等在生理条件下表面带有负电荷,聚(L-赖氨酸)带有正电荷。将聚(L-赖氨酸)-接枝-叶酸修

饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)的稀溶液滴在经过食人鱼溶液氧化处理过的二氧化硅芯片或者镀有以上各种过渡金属氧化物的二氧化硅芯片表面,聚(L-赖氨酸)-接枝-叶酸修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)在静电作用下会自发吸附到带负电的表面,形成单分子层。由于聚(2-甲基-2-噁唑啉)能阻挡生物分子的非特异性吸附,同时固定的叶酸分子能够与肿瘤细胞膜上过度表达的叶酸受体特异性结合,由该材料制备的芯片能够选择性地吸附血液中的循环肿瘤细胞。此外,结合免疫荧光染色方法、聚合酶链式反应、光波导光谱学等技术,可以对筛分出的循环肿瘤细胞进行分子生物学或物理化学性质进行分析。

[0062] 实施例二

[0063] 本发明实施例聚合物的化学结构式如下:



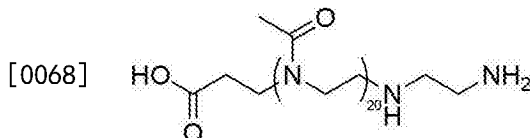
[0064]

[0065] 本发明实施例聚合物制备方法,包括如下步骤:

[0066] 1、两个末端分别带羧基与氨基的聚(2-甲基-2-噁唑啉)的合成:

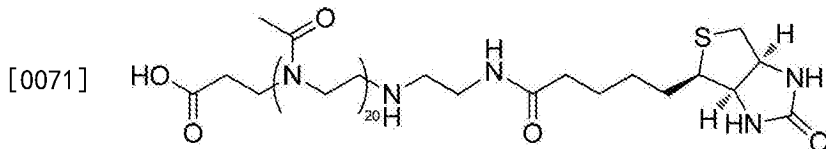
[0067] 将2-甲基-2-噁唑啉(8.5mL, 100mmol)溶于乙腈(30mL),再将3-溴丙酸乙酯

(0.520mL, 4mmol)加入到反应体系中,之后将混合物加热到70℃,反应8小时。随后停止加热,待混合物冷却至室温,加入乙二胺(6.65mL, 100mmol)搅拌12小时。在负压下用加热将部分溶剂除掉,得到油状粘稠液体。加入去离子水至50mL之后,在pH=14的条件下水解24小时,将溶液pH调至中性,再将含有聚合物的溶液转移到透析袋中,在去离子水中透析24小时。最后,将含有聚合物的溶液冷冻干燥或减压加热干燥,得到分子量约为2K的聚(2-甲基-2-噁唑啉)白色固体,结构式如下:

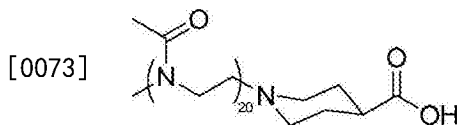


[0069] 2、生物素修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)的合成:

[0070] 将上述得到的两个末端分别带羧基与氨基的聚(2-甲基-2-噁唑啉)白色固体(2K, 0.20g, 0.1mmol)溶解于去离子水(6.0mL)中以制备聚合物的水溶液。再将生物素(73mg, 0.3mmol)溶解于二甲基亚砜(4.0mL)中,之后加入N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基-碳二亚胺盐酸盐(577mg, 3.0mmol),搅拌至完全溶解。然后将含生物素的溶液全部加入聚合物溶液中,在室温下反应48小时。反应结束后,将含有聚合物的溶液转移到透析袋中,在去离子水中透析7天。最后,将含有聚合物的溶液冷冻干燥,得到分子量约为2.2K的生物素修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)白色固体,结构式如下:



[0072] 3、将2-甲基-2-噁唑啉(8.5mL, 100mmol)溶于乙腈(30mL),再将三氟甲磺酸甲酯(0.44mL, 4mmol)加入到反应体系中,之后将混合物加热到70℃,反应8小时。随后停止加热,待混合物冷却至室温,加入4-哌啶羧酸乙酯(1.224mL, 8mmol)搅拌12小时。在负压下用加热将部分溶剂除掉,得到油状粘稠液体。加入去离子水至50mL之后,在pH=14的条件下水解24小时,将溶液pH调至中性,再将含有聚合物的溶液转移到透析袋中,在去离子水中透析24小时。最后,将含有聚合物的溶液冷冻干燥或减压加热干燥,得到分子量为2K的聚(2-甲基-2-噁唑啉)白色固体,结构式如下:



[0074] 4、聚(L-赖氨酸)-接枝-聚(2-甲基-2-噁唑啉)并生物素修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)的合成:

[0075] 将聚(L-赖氨酸)的溴酸盐(分子量21K, 21mg, 1μmol)溶解于3mL磷酸缓冲盐(0.01mol/L, pH=7.4)溶液中,加入分子量为2K,步骤3制备的末端带羧基的单官能团聚(2-甲基-2-噁唑啉)(48mg, 24μmol)与上述得到的生物素修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)(2.2K, 13.2mg, 6μmol)。再加入N-(3-二甲氨基丙基)-N'-乙基-碳二亚胺盐酸盐(57.6mg, 300μmol)与N-羟基琥珀酰亚胺磺酸钠盐(6.51mg, 30μmol),于室温下反应16小时。反应结束后,将含有聚合物的溶液转移到透析袋中,分别在磷酸缓冲盐(0.01mol/L, pH=7.4)溶液和去离子水中透析7天。最后,将含有聚合物的溶液冷冻干燥,得到分子量为80K聚(L-赖氨酸)-接枝-聚

(2-甲基-2-噁唑啉)并生物素修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)白色固体(接枝密度0.3,其中生物素修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)占20%)。

[0076] 本发明实施例二所制备的聚合物的核磁谱图和前述的类似,在此不重复阐述。该聚合物该材料可用于制备检测血液中抗原或抗体蛋白的生物芯片。过渡金属氧化物如五氧化二钽、五氧化二铌、二氧化钛、氧化锡钨及二氧化硅等在生理条件下表面带有负电荷,聚(L-赖氨酸)带有正电荷。将聚(L-赖氨酸)-接枝-生物素修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)的稀溶液滴在经过食人鱼溶液氧化处理过的二氧化硅芯片或者镀有以上各种过渡金属氧化物的二氧化硅芯片表面,聚(L-赖氨酸)-接枝-生物素修饰聚(2-甲基-2-噁唑啉)在静电作用下会自发吸附到带负电的表面,形成单分子层。由于固定的生物素分子能够与链酶亲和素选择性结合,同时聚(2-甲基-2-噁唑啉)能阻挡生物分子的非特异性吸附,链酶亲和素修饰的抗体或者抗原蛋白可以通过与固定的生物素的亲和作用而固定到由该材料制备的芯片表面,从而能够选择性地吸附血液中对应的抗原或者抗体蛋白。结合免疫荧光染色方法、光波导光谱学等技术,可以对血液中各种抗原或抗体蛋白进行准确、灵敏、定量、高效的分析。

[0077] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

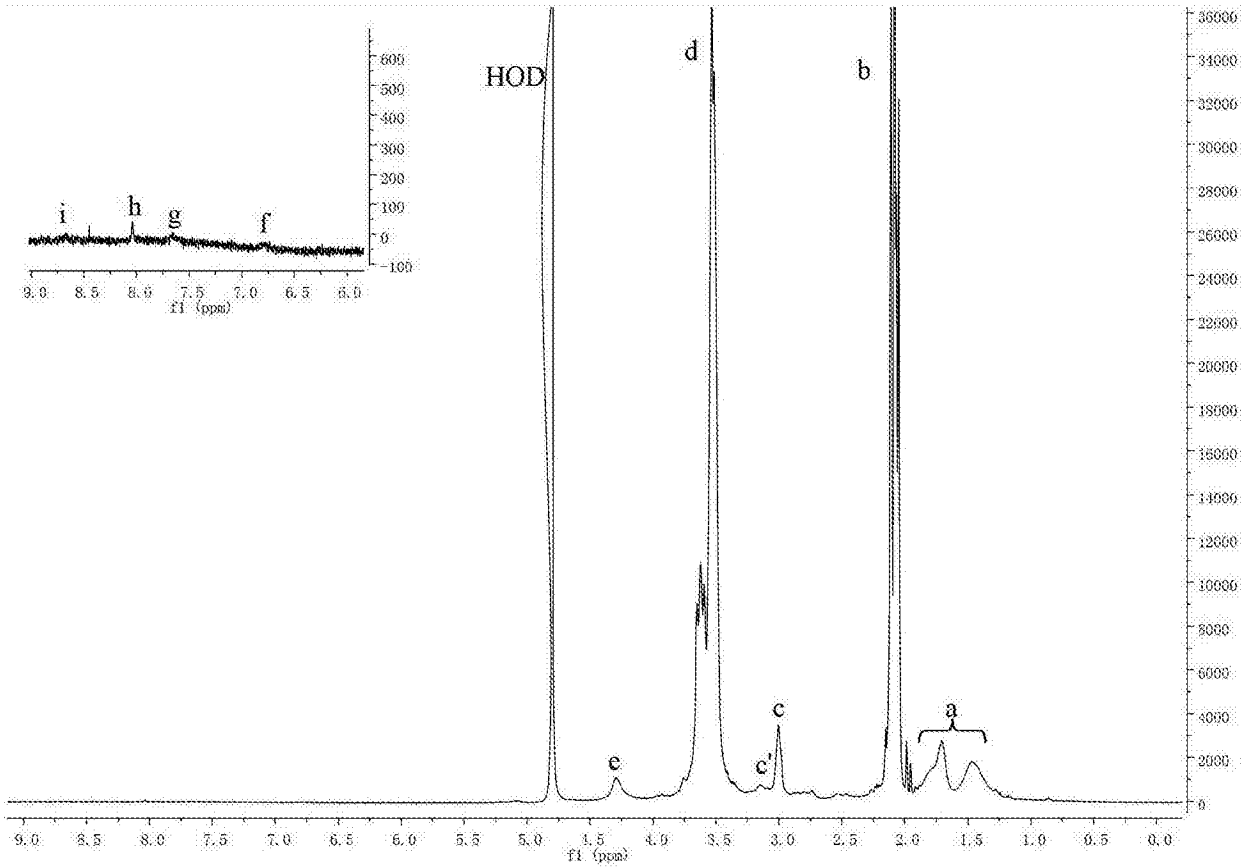


图1

专利名称(译)	聚合物及其制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN103897196B</a>	公开(公告)日	2016-12-28
申请号	CN201210578582.2	申请日	2012-12-27
[标]申请(专利权)人(译)	张昊 陈寅		
申请(专利权)人(译)	张昊 陈寅		
当前申请(专利权)人(译)	张昊 陈寅		
[标]发明人	陈寅 吴洪开		
发明人	陈寅 吴洪开		
IPC分类号	C08G81/00 C08G73/02 G01N33/53		
代理人(译)	张全文		
审查员(译)	肖鑫		
其他公开文献	CN103897196A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明适用于高分子材料领域，提供了一种聚合物及其制备方法。本发明聚合物制备方法，包括制备第一中间产物、制备第二中间产物、制备带羧基的聚合物及制备聚合物等步骤。本发明聚合物具有聚(2-甲基-2-噁唑啉)及其他基团，具有很高的生物惰性，既能够特异性结合某些蛋白质，同时能够阻挡其余的大分子物质非特异性结合在其表面，能够用于准确、灵敏、定量和高效的免疫学检测；本发明聚合制备方法，通过聚合反应得到具有聚(2-甲基-2-噁唑啉)及其他基团的聚合物，实现该聚合物具有很高的生物惰性，既能够特异性结合某些蛋白质，同时能够阻挡其余的大分子物质非特异性结合在其表面，能够用于准确、灵敏、定量和高效的免疫学检测。

