

# AB 型聚乙二醇单甲醚-聚(L-丙氨酸)嵌段共聚物 自组装过程的核磁共振研究\*

伍国琳\*\* 王 铮 林 海 张 洁 孙平川 张国林 王亦农 马建标

(南开大学高分子化学研究所 功能高分子材料重点实验室 天津 300071)

**摘 要** 利用核磁共振方法研究了 AB 型双嵌段共聚物(MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub>)在选择性溶剂中的自组装行为及胶束化过程. 嵌段共聚物在三氟乙酸中聚氨基酸和聚乙二醇链段均处于自由运动状态, 聚丙氨酸链段为无规线团结构. 在向该溶液中逐渐加入氘代水的过程中, 聚丙氨酸链段又重新聚集形成规整的二级结构. 结合<sup>1</sup>H-NMR 和 COSY 谱分析, 结果显示这一自组装过程伴随着聚(L-丙氨酸)链段由无规线团向 α-螺旋结构的构象转变, 同时嵌段共聚物逐渐形成核-壳型胶束结构. 利用透射电镜观察了所形成胶束的形态, 嵌段共聚物主要形成粒径 150 nm 到 220 nm 的球形胶束.

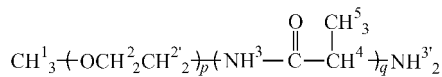
**关键词** 嵌段共聚物, 聚氨基酸, 胶束, 二级结构

两亲性生物降解高分子可以在选择性溶剂中自组装形成纳米结构, 在固态下形成微相分离结构, 在生物医学领域具有广泛的应用前景. 聚氨基酸是一类生物降解高分子, 它具有生物相容性好、可生物降解、容易被机体吸收代谢等优点, 在医学领域如药物控释、创伤敷料、细胞培养等方面具有广泛的应用前景<sup>[1-5]</sup>. 但是, 多数聚氨基酸是疏水的, 不仅其降解速率难以控制, 而且使某些应用受到限制. 采用共聚方法通过调节共聚物中单体的种类和比例, 可以改善聚氨基酸的性能. 聚氨基酸-聚醚嵌段共聚物因含有亲水性聚醚链段而使共聚物具有一定的亲水性, 更适于在生化药物释放和组织工程等领域应用<sup>[6]</sup>. AB 型聚氨基酸-聚醚嵌段共聚物具有两亲性, 同时, 由于聚氨基酸链段结构的特殊性, 还可以形成 α-螺旋和 β-折叠等特殊的二级结构, 其聚集态高级结构将具有某些特殊性. 目前这方面的理论和实验研究报道甚少. 本文以构成人体蛋白质的 L-丙氨酸为原料合成了聚乙二醇单甲醚-聚(L-丙氨酸)双嵌段共聚物(MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub>), 结合<sup>1</sup>H-NMR 和 COSY 谱研究了嵌段共聚物的两亲性, 选择性溶剂中的胶束化过程和聚集过程中聚氨基酸链段二级结构的转变.

## 1 实验部分

### 1.1 样品

研究中所用的聚乙二醇单甲醚-聚丙氨酸两嵌段共聚物(MPEG-*b*-PA), 其结构式见示意图 1, 是采用自行合成的引发剂(MPEG-NH<sub>2</sub>)<sup>[6]</sup>引发丙氨酸 N-羧酸酐(NCA)开环聚合而成. 该 NCA 是采用文献 7 的方法合成的, 所得针状晶体, mp 90 ~ 91°C (文献值 mp 91 ~ 92°C<sup>[8]</sup>). 本文使用的样品 M<sub>n</sub> = 4270 (NMR), M<sub>w</sub>/M<sub>n</sub> = 1.30 (GPC). 聚乙二醇链段的平均聚合度为 45, 聚丙氨酸链段的平均聚合度为 32.



Scheme 1 Structural formula of MPEG-PA diblock copolymer

*p* and *q* are the main polymerization degrees of the blocks, *p* = 45, *q* = 32; The numbers on hydrogen atoms are assigned in order to ascription of <sup>1</sup>H-NMR signals

### 1.2 溶液的配制

室温(24°C)条件下, 分别将 0.686 mg、2.085 mg 的 MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> 溶于 0.5 mL 氘代水和 0.5 mL 氘代三氟乙酸中, 获得浓度分别为 3.21 × 10<sup>-4</sup>

\* 2008-11-25 收稿, 2009-01-12 修稿, 天津市自然科学基金(基金号 09JCYBJC03400)资助项目和国家重点基础研究发展计划(973 计划前期研究专项, 项目号 2009CB626612)资助 \*\* 通讯联系人, E-mail: guolinwu@hotmail.com

mmol/mL 和  $9.76 \times 10^{-4}$  mmol/mL 的溶液。

室温(24°C)条件下,向上述 MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> 的氘代三氟乙酸溶液中逐渐加入计量的氘代水,研究不同溶剂比例下的聚合物结构形态。

### 1.3 仪器分析

1.3.1 NMR 测定 所有核磁共振实验均是室温条件下在 VARIAN UNITY-plus 400MHz 核磁共振谱仪上完成,以氘代水或氘代三氟乙酸为溶剂,TMS 为内标。

1.3.2 透射电子显微镜(TEM) 在震动条件下,向浓度为 4.17 mg/mL ( $9.76 \times 10^{-4}$  mmol/mL) 的嵌段共聚物 MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> 的三氟乙酸溶液 1.5 mL 中,缓慢滴加蒸馏水 0.3 mL,溶液静至 24 h,胶束结构稳定后,在蒸馏水中,用半透膜透析除去三氟乙酸,将溶液稀释制成浓度约为 0.3 mg/mL 的溶液,在室温下滴在铜网上,然后快速干燥并用磷钨酸中性染色,用透射电子显微镜直接观察其聚集态结构,透射电镜实验在飞利浦 TEM-400ST 型透射电子显微镜下进行。

## 2 结果与讨论

### 2.1 MPEG-*b*-PA 的溶解和溶剂选择性

图 1 是 MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> 在氘代三氟乙酸溶液以及在氘代水溶液中的<sup>1</sup>H-NMR 谱图。从(a)谱可以看到 4 个明显的共振信号,峰 1(化学位移  $\delta = 3.46$ )是 MPEG 链段上端甲基质子的共振信号,峰 2(化学位移  $\delta = 3.82$ )是 MPEG 链段上亚甲基质子的共振信号,峰 4(化学位移  $\delta = 4.58$ )是聚(L-丙氨酸)链段上  $\alpha$  位次甲基质子的共振信号,峰 5

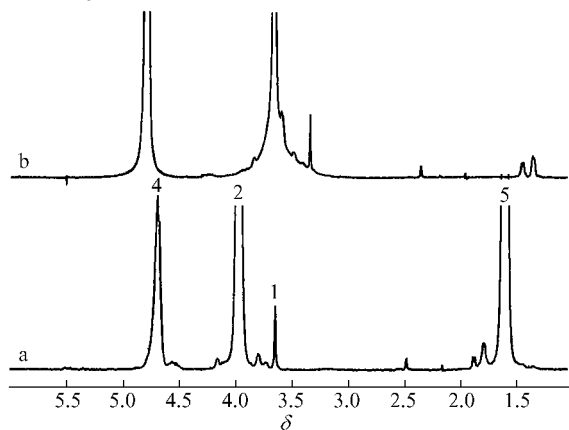


Fig. 1 <sup>1</sup>H-NMR spectra of MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> diblock copolymer in trifluoroacetic acid-d (a) and deuterium oxide (b) respectively. Signals were numbered according to Scheme 1.

(化学位移  $\delta = 1.43$ )是聚(L-丙氨酸)链段上  $\beta$  位甲基质子的共振信号。MPEG 链段的—CH<sub>2</sub>—峰与聚氨基酸链段的—CH<sub>3</sub> 峰相距较远,彼此能分辨开,可以通过它们的积分面积计算共聚物中各组分的含量和数均分子量  $M_n$ 。结果得到的此嵌段共聚物的数均分子量为 4270,其中聚乙二醇链段的分子量为 1983,聚 L-丙氨酸链段的平均分子量为 2287。与聚合反应中大分子引发剂和聚合单体的投入量基本一致。通过 GPC 得到此嵌段共聚物的分子量分布系数为 1.3。对比(b)谱与(a)谱,与氘代三氟乙酸相比,在氘代水中,MPEG 链段上的质子共振信号的强度没有明显的变化,而 PA 链段上无论  $\alpha$  位次甲基质子信号还是  $\beta$  位甲基质子共振信号已经基本消失。由此可见,这两种溶剂对于 MPEG 链段均有着很好的溶解性,链段处于自由运动状态。而对于 PA 链段,氘代三氟乙酸是良溶剂,氘代水是不良溶剂。在氘代水中,PA 的链段是聚集态结构,无法自由运动,因此观察不到其磁共振信号。由此可以判断,MPEG-*b*-PA 是一种两亲性聚合物。氘代水是其选择性溶剂,可溶解 MPEG 链段,不可溶解 PA 链段。氘代三氟乙酸是一种良溶剂,对两种链段均可溶解。

此前,通过固体核磁共振研究了 MPEG-*b*-PA 在固态相分离结构中的分子构象。结果表明,嵌段共聚物中 PA 链段可形成  $\alpha$  螺旋与  $\beta$  折叠等特殊的二级结构<sup>[9-11]</sup>。在氘代水中,虽然氘代水(含 DHO、H<sub>2</sub>O)可以同时提供氢键的受体和供体,但由于极性的差异,氘代水(H<sub>2</sub>O、HDO)分子无法穿插到 PA 的侧链基团—— $\beta$  位甲基中,因而无法破坏  $\alpha$ -螺旋二级结构对形成氢键基团的保护,PA 链段在氘代水(H<sub>2</sub>O、HDO)中几乎完全保留了其在固态下的分子构象无法在体系中分散溶解,因而该链段的信号十分微弱。而在极性很强的氘代三氟乙酸(含 CF<sub>3</sub>COOH)中,由于主链上的酰胺基团同时具备氢键的供体和受体,氘代三氟乙酸(含 CF<sub>3</sub>COOH)上羧基也同时具备氢键的供体和受体,而且氘代三氟乙酸(含 CF<sub>3</sub>COOH)强酸性可以使其离解出来的 CF<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> 和 H<sup>+</sup> 强行进攻 PA 链段二级结构内部的酰胺基团形成氢键,破坏 PA 主链原有的二级结构,因此可轻易地使 PA 链段的规整二级结构解体从而呈现无规线团的链段构象,很好地分散于溶液中,所以其 NMR 信号较强。

## 2.2 MPEG-*b*-PA 的自组装和分子构象

从前面的讨论可知,水对 MPEG-*b*-PA 上的不同链段具有选择性,MPEG 链段是亲水的,而 PA 链段是憎水的.为了考察嵌段共聚物在选择性溶剂中自组装形成胶束的过程,设计了如下实验.首先将嵌段共聚物 MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> 2.085 mg 溶于 0.5 mL 氘代三氟乙酸中,其<sup>1</sup>H-NMR 如图 2(a)所示.再向溶液(a)中逐渐加入氘代水.在此过程中,聚氨基酸链段由于其疏水性而产生自聚集行为.实验表明在自组装形成胶束的过程中,聚氨基酸链段的运动性能明显下降,这一点可通过相应 NMR 信号的下降和展宽来印证.随着加入氘代水体积百分数的增加,聚氨基酸链段的质子峰有展宽的现象.这是因为在氘代三氟乙酸中嵌段共聚物分子的排列较为松散,聚氨基酸链段的运动和旋转较为自由,所以共振峰尖锐,当加入氘代水后,发生自组装,聚氨基酸链段发生聚集,聚氨基酸链段的运动和旋转都受到限制,所以共振峰会变宽.至最后谱峰已展宽至无法再用高分辨 NMR 检测.

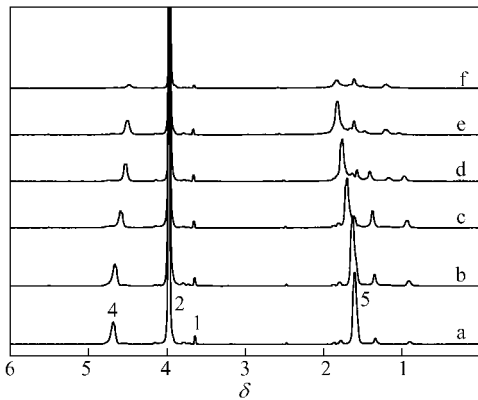


Fig. 2 Parts of the <sup>1</sup>H-NMR spectra of MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> in trifluoroacetic acid (4.17 mg/mL) 0.5 mL (a) and after the addition of 0.04 (b), 0.09 (c), 0.29 (d), 0.36 (e) and 0.46 mL (f) D<sub>2</sub>O in the trifluoroacetic acid solution. Signals were numbered according to Scheme 1.

图 3 是此嵌段共聚物中各信号峰峰宽随体系中氘代水的增加而发生的变化曲线.众所周知,核磁共振谱峰的宽度在一定程度上可以表征基团的运动能力.谱线的半峰宽  $\Delta v_{1/2}$  与自旋-自旋弛豫时间  $T_2$  存在如下关系:

$$\Delta v_{1/2} = \frac{1}{\pi T_2}$$

而同时  $T_2$  又与分子运动相关时间成反比,所以峰宽越窄反映的链段运动越快.图 3 中可以看出

在逐渐加入氘代水的过程中聚乙二醇链段上亚甲基和端甲基的信号峰一直保持较窄的峰宽(约 6 Hz)峰宽基本上没有变化.说明在此过程中聚乙二醇链段一直处于自由运动状态.而聚 L-丙氨酸链段的信号峰峰宽则变化较大,在氘代水的加入过程中发生明显的展宽现象.从图上可以看出,聚 L-丙氨酸链段上  $\alpha$ -次甲基和  $\beta$  位甲基的共振峰的展宽的拐点均在某一点发生,即加入 0.085 mL 氘代水时.在此拐点处,嵌段共聚物的聚集结构发生了明显变化,聚 L-丙氨酸链段的运动性能显著下降,而聚乙二醇链段仍可自由运动.因为聚 L-丙氨酸不溶于氘代水,所以在氘代水加入的过程中,聚 L-丙氨酸链段聚集成核,而氘代水是聚乙二醇链段的良溶剂,所以在体系中,聚乙二醇链段始终是处于溶解状态的,在加入氘代水后,聚乙二醇链段仍然是伸展在聚 L-丙氨酸链段聚集生成的核外部与溶剂充分接触的.

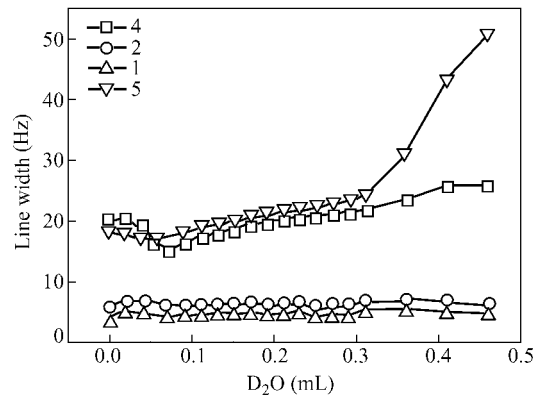


Fig. 3 Line width dependence of different peaks in MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> diblock copolymer on different amounts of deuterium oxide add in trifluoroacetic acid solutions, numbered according to Scheme 1

从图 2 中同时发现,随着氘代水的加入,聚乙二醇链段信号峰的化学位移对溶剂环境的变化没有明显的反应.而聚 L-丙氨酸链段上  $\alpha$ -次甲基和  $\beta$  位甲基的共振峰的化学位移值随溶剂环境的变化发生显著的变化.化学位移对于化学微环境的转变是非常敏感的.图 4 示出了此嵌段共聚物中聚 L-丙氨酸链段上  $\alpha$ -次甲基和  $\beta$  位甲基的共振峰的化学位移值随加入的氘代水的增加而发生的变化曲线.与峰宽的变化相同,聚氨基酸链段上的两个信号峰的化学位移变化的拐点也同样出现在加入 0.085 mL 氘代水时.这一拐点表明在溶液中几乎所有的嵌段共聚物已经形成了有序的胶束结

构.再继续滴加氘代水,嵌段共聚物的聚集态结构也不会有更大的改变.以上结果表明 NMR 的质子信号对于聚氨基酸这类嵌段共聚物的聚集态结构变化非常敏感,可以有效地揭示自组装行为的发生过程和分子动力学行为.

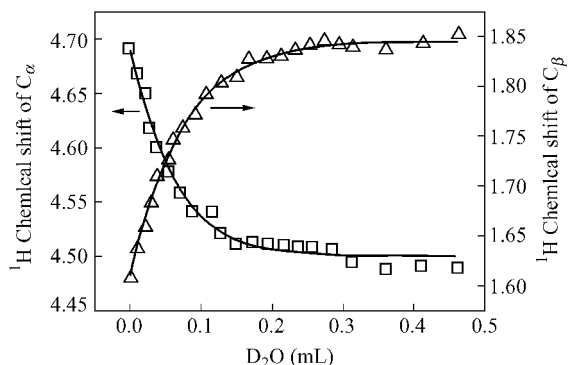


Fig. 4 Chemical shifts dependence of  $C_{\alpha}$  (□) and  $C_{\beta}$  (△) in MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> on different amounts of deuterium oxide added in trifluoroacetic acid solution

图 5 是在图 4 平台区制样获取的透射电镜照片,可以看到,嵌段共聚物此时确实形成了胶束,其外形为规整的球形,粒径 150 nm 到 220 nm.

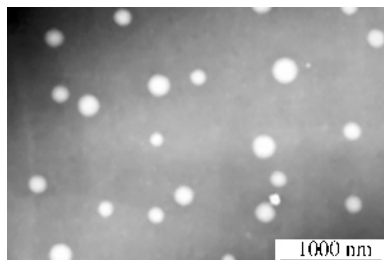


Fig. 5 TEM micrograph of MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> diblock copolymer

### 2.3 自组装过程中 PA 链段二级结构的变化

蛋白质和氨基酸的核磁信号的化学位移与其主链及侧链的结构有着密切的关系<sup>[12~14]</sup>.分析图 4 中聚 L-丙氨酸链段质子共振信号的化学位移在氘代三氟乙酸/氘代水分散体系的自组装过程中的变化发现,聚 L-丙氨酸链段上  $\alpha$ -次甲基的信号在胶束形成过程中是逐渐向高场(低  $\delta$  值方向)移动的,而  $\beta$  位甲基质子的共振吸收峰则是逐渐向低场(高  $\delta$  值方向)移动的.这是一个典型的聚氨基酸形成  $\alpha$ -螺旋二级结构的证据. Roberts 等在对蛋白质和聚氨基酸的研究中发现,所有属于  $\alpha$ -螺旋的氨基酸的  $\alpha$ -次甲基的信号均移向高场,而所有属于  $\beta$ -折叠的氨基酸的  $\alpha$ -次甲基的信号均移向低场<sup>[15]</sup>.据此可以得出结论, MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub>

胶束化的过程中,聚丙氨酸链段趋于形成  $\alpha$ -螺旋结构.在我们之前的研究中也发现,固态条件下此嵌段共聚物中聚丙氨酸链段更易形成  $\alpha$ -螺旋结构,而不是  $\beta$ -折叠<sup>[9]</sup>.在胶束化过程中,整个 PA 链段逐渐由近乎完全伸展(在纯氘代三氟乙酸溶液中几乎完全呈现无规的二级结构形态)向较为规整的二级结构演化,链段长度出现压缩,进而在一定的氘代水/氘代三氟乙酸体积百分比时形成  $\alpha$ -螺旋的二级结构.这个过程类似于一根原先无规弯曲的铁丝,在一定外力引导下开始形成弹簧的结构形态,并慢慢由螺距较大的弹簧变为螺距较小的弹簧.对于 PA 链段,这种外力来源有两种,一是氘代水的介入减弱了氘代三氟乙酸离解  $\alpha$ -螺旋二级结构的能力.由于氘代水(含 HDO、H<sub>2</sub>O)和氘代三氟乙酸(含 CF<sub>3</sub>COOH)之间可以形成氢键,从而与 PA 链段上氨基和羰基形成竞争.虽然没有文献报道氘代水(含 HDO、H<sub>2</sub>O)与氘代三氟乙酸(含 CF<sub>3</sub>COOH)间的成氢键能力强于 PA 链段上氨基和羰基与氘代三氟乙酸(含 CF<sub>3</sub>COOH)间的成氢键能力,但从 MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> 在氘代三氟乙酸/氘代水分散体系的跟踪实验中所得到的 <sup>1</sup>H-NMR 谱上(图 2),氘代水的加入并没有在化学位移  $\delta = 4.8$  或是其它化学位移处出现水峰,同时 CF<sub>3</sub>COOH 的质子共振吸收峰由  $\delta = 11.5$  处逐渐向高场(低  $\delta$ )方向移动,这说明在这个体系中,氘代三氟乙酸(含 CF<sub>3</sub>COOH)和氘代水(含 HDO、H<sub>2</sub>O)间因为氢键的作用发生了互混,二者的质子共振吸收信号合二为一,出现在同一位置,并且该吸收信号随着氘代水/氘代三氟乙酸体积百分比的增加由纯 CF<sub>3</sub>COOH 的化学位移处( $\delta = 11.5$ )向纯 H<sub>2</sub>O 的化学位移处( $\delta = 4.8$ )移动.那么,氘代水对氘代三氟乙酸的成氢键基团的占据自然有利于 PA 链段在  $\alpha$ -螺旋生成和解旋这一可逆过程选择前者.二是空间效应, MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> 在自组装过程中,由于体系中氘代水含量逐渐增加,憎水的 PA 链段逐渐开始收缩成核,其原先完全伸展的链段倾向于形成较高链段压缩比的二级结构,而  $\alpha$ -螺旋是最有利于链段压缩的二级结构形式,自然也就成为体系趋向稳定时最易形成的链段形态.

从 <sup>1</sup>H-NMR 谱上就可以看到,无论是 PA 链段的  $\alpha$  位次甲基还是  $\beta$  位甲基,其质子共振吸收信号都随着氘代水/氘代三氟乙酸体积百分比的增

加都出现了分化,并在第一个平台后基本达到稳定.通过对氘代三氟乙酸/氘代水分散体系的初始态(纯氘代三氟乙酸中)和氘代水/氘代三氟乙

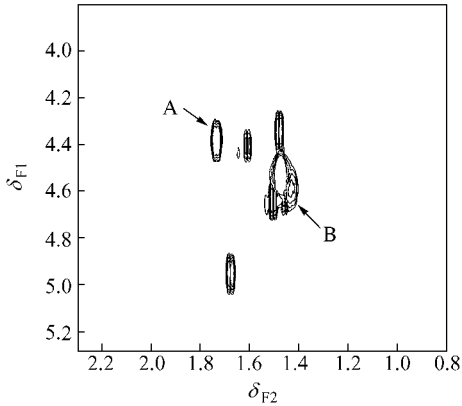


Fig. 6 COSY spectra of MPEG<sub>45</sub>-b-PA<sub>32</sub> in CF<sub>3</sub>COOD

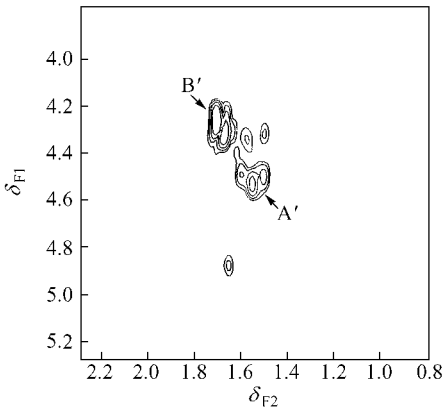


Fig. 7 COSY spectra of PA<sub>32</sub>-b-MPEG<sub>45</sub> in D<sub>2</sub>O/CF<sub>3</sub>COOD (V/V = 40:60)

酸体积百分比为 40% 时 MPEG<sub>45</sub>-b-PA<sub>32</sub> 的 COSY 谱进行对比,上述推断得到了验证.

图 6 和图 7 分别是氘代三氟乙酸-氘代水分散体系的初始态(纯氘代三氟乙酸中)和氘代水/氘代三氟乙酸体积百分比为 40% 时 MPEG<sub>45</sub>-b-PA<sub>32</sub> 的 COSY 谱上  $\alpha$  位次甲基质子和  $\beta$  位甲基质子相关的区域截取谱.

图 6 上, A 区域是伸展的 PA 主链上  $\alpha$  位次甲基和  $\beta$  位甲基质子相关峰集中的区域,通过与图 7 对比发现,随着自组装的完成,原先属于该区域的很大一部分质子转移到了 B 点并完全融合.而这种转移是  $\alpha$  位次甲基质子共振吸收峰向高场移动以及  $\beta$  位甲基质子同时向低场移动造成的,这也正是  $\alpha$ -螺旋形成的方向. B 区域是  $\alpha$ -螺旋在 COSY 上的指纹区域,而 MPEG<sub>45</sub>-b-PA<sub>32</sub> 在纯氘代三氟乙酸溶液中只具有少许  $\alpha$ -螺旋的二级结构.从图 7 中可以看到,原先 A 区域的链段相关点很大一部分位移到 B 区域,证明了  $\alpha$ -螺旋结构的形成.

### 3 结论

MPEG-b-PA 具有两亲性.在氘代三氟乙酸溶液中, MPEG-b-PA 嵌段共聚物分子原先在固态下 PA 链段所具有的规整二级结构几乎完全解体为无规线团的分子构象.向该溶液中逐渐加入氘代水, PA 链段又重新聚集逐渐形成规整的  $\alpha$ -螺旋的二级结构.而这个构象转化的过程同时伴随着嵌段共聚物自组装形成胶束.

### REFERENCES

- 1 Yu B G, Okano T. J Control Release, 1998, 53: 131 ~ 136
- 2 Yu L, Kwon G S. Pharm Res, 2000, 17(5): 607 ~ 611
- 3 Okano T, Sakurai Y. J Control Release, 2000, 64: 143 ~ 153
- 4 Lescure F, Gurny R. J Biomed Mater Res, 1989, 23: 1299 ~ 1313
- 5 Kim H J, Choi E Y. Biomaterials, 2000, 21: 131 ~ 141
- 6 Zhang G L, Ma J B, Li Y H, Wang Y N. J Biomater Sci, Polym Ed, 2003, 14(12): 1389 ~ 1400
- 7 William H D, Drew P. Tetrahedron Lett, 1988, 29(46): 5859 ~ 5862
- 8 Blout E R. J Am Chem Soc, 1956, 78: 941 ~ 946
- 9 Wu G L, Sun P C, Lin H, Ma J B. J Mol Struct, 2004, 689: 143 ~ 146
- 10 Wu Guolin(伍国琳), Sun Pingchuan(孙平川), Ma Jianbiao(马建标). Chem J Chinese Universities(高等学校化学学报), 2003, 24(8): 1515 ~ 1518
- 11 Wu Guolin(伍国琳), Sun Pingchuan(孙平川), Zhang Guolin(张国林), Ma Jianbiao(马建标). Chinese Journal of Magnetic Resonance(波谱学杂志), 2003, 20(1): 1 ~ 7
- 12 Saito H, Ando I. Ann R. NMR Spectrosc, 1989, 21: 210 ~ 290
- 13 Ando I, Yamanobe T, Asakawa T. NMR Spectrosc, 1990, 22: 349 ~ 400

14 Shoji A ,Ando S ,Kuroki S ,Ando I ,Webb G A ,Ann R. NMR Spectrosc ,1993 ,26 55 ~ 98

15 Roberts G C K ,Jardetzky O. Adv Protein Chem ,1970 ,24 447 ~ 545

## NMR STUDIES ON THE SELF-ASSEMBLE BEHAVIOR OF POLY( ETHYLENE GLYCOL ) METHYL ETHER-*b*-POLY( L-ALANINE ) DIBLOCK COPOLYMER

WU Guolin , WANG Zheng , LIN Hai , ZHANG Jie , SUN Pingchuan ,

ZHANG Guolin , WANG Yinong , MA Jianbiao

( Institute of Polymer Chemistry , Key Laboratory of Functional Polymer Materials( Ministry of Education ) , Nankai University , Tianjin 300071 )

**Abstract** Poly( ethylene glycol ) methyl ether-*block*-poly( L-alanine ) ( MPEG-*b*-PA ) was synthesized with the initiation of MPEG-NH<sub>2</sub>. While MPEG is the hydrophilic block and PA is the hydrophobic block. It is known that poly( L-amino acid )s like polypeptides have their special secondary structures such as  $\alpha$ -helix and  $\beta$ -sheet. <sup>1</sup>H-NMR and COSY-NMR were used to monitor the micellization process of a poly( ethylene glycol ) methyl ether-*block*-poly( L-alanine ) copolymer ( MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> ). MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> was dissolved in CF<sub>3</sub>COOD first ,while poly( L-alanine ) blocks were in random coil structure. When D<sub>2</sub>O was added in this CF<sub>3</sub>COOD solution ,MPEG<sub>45</sub>-*b*-PA<sub>32</sub> could self-assemble into micelles. In the micellization process ,mobility of PA blocks decreased while MPEG blocks kept very high mobility. Based on the chemical shifts and COSY data analysis ,it was concluded that poly( amino acid ) tended trend to form  $\alpha$ -helix structure from random coil while the copolymer assembled in water. At the same time , transmission electron microscopy ( TEM ) results revealed that the diblock copolymer formed spherical micelles with the size of 150 ~ 220 nm in an aqueous medium.

**Keywords** Block copolymer , Poly( amino acid ) , Micelles , Secondary structure