

· 研究论文 ·

聚肽三嵌段共聚物棒状胶束的超分子环化行为研究

任许乐 蔡春华* 林嘉平*

(华东理工大学材料科学与工程学院 上海 200237)

摘 要 以双端氨基聚乙二醇(NH_2 -PEG- NH_2)作为大分子引发剂,以 γ -苄基-L-谷氨酸酯五元环酸酐(BLG-NCA)为单体,通过开环聚合法合成了聚(γ -苄基-L-谷氨酸酯)-嵌段-聚乙二醇-嵌段-聚(γ -苄基-L-谷氨酸酯)(PBLG-*b*-PEG-*b*-PBLG)三嵌段共聚物.运用核磁共振氢谱(^1H -NMR)和凝胶渗透色谱(GPC)表征了聚合物的结构、分子量及其分布.采用四氢呋喃/*N,N*-二甲基甲酰胺(THF/DMF)有机共溶剂溶解、滴加选择性溶剂(水)并透析的方法,制备了聚肽纳米棒水溶液;然后向纳米棒水溶液中加入THF诱导纳米棒发生弯曲成环.通过扫描电子显微镜(SEM)、透射电子显微镜(TEM)、动态激光光散射(DLS)表征了组装体的形貌与结构,研究了聚合物分子量、成环时间、温度、THF加入量对组装体形貌的影响.研究发现,PBLG链段聚合度显著影响棒状胶束的直径及长度,在THF的诱导下,具有较大长径比的棒状胶束可以发生超分子环化,而较短的纳米棒仅能发生弯曲,更短的纳米棒则保持形貌不变.温度升高有利于THF诱导的超分子环化现象的发生.采用圆二色光谱(CD)表征了PBLG主链结构及侧链的排列信息,发现THF的加入不影响主链的 α -螺旋构象,但是侧链发生收缩,侧链苯环排列变得更为紧密.这种侧链收缩产生内应力导致纳米棒塌缩,从而驱动纳米棒弯曲成环.该研究模仿了生物体系中形成复杂结构的多级自组装策略,通过棒状胶束的逐步自组装制备了聚肽纳米环,丰富了纳米环的制备方法,拓展了超分子环化反应的研究范围,将为聚合物纳米环的可控制备及其功能应用提供指导.

关键词 聚肽共聚物, 多级自组装, 棒状胶束, 超分子环化, 苯环排列

引用: 任许乐, 蔡春华, 林嘉平. 聚肽三嵌段共聚物棒状胶束的超分子环化行为研究. 高分子学报, 2024, 55(12), 1668–1679

Citation: Ren, X. L.; Cai, C. H.; Lin, J. P. Supramolecular cyclization behavior of rodlike micelles assembled from polypeptide triblock copolymers. *Acta Polymerica Sinica*, 2024, 55(12), 1668–1679

嵌段共聚物自组装可以形成各种形貌的胶束,如球状胶束、囊泡等^[1–8].环状胶束由于其独特的几何特征和潜在的生物应用受到广泛关注^[9–15].在基因治疗领域,环状胶束不仅可以提高体外转录,还可以提高体内基因传导效率^[11,13,14].在癌症治疗领域,相比与相同尺寸的纳米球,环状胶束具有较低的单核巨噬细胞积累和较高的肿瘤积累等优势^[10,12,15–17].

目前对于环状胶束的制备,包括直接自组装

和逐步自组装等不同的方法.其中逐步自组装法有助于实现环状胶束尺寸均匀可控.逐步自组装制备环状胶束主要有2种形成机制,一种是聚合物首先形成球状胶束、盘状胶束、囊泡等初级胶束,然后穿孔形成环状胶束^[5,18–26].例如Presa-Soto等将聚(双(三氟乙氧基)膦腈)-嵌段-聚苯乙烯(PTFEP-*b*-PS)溶解于四氢呋喃(THF)中,得到了球状胶束;通过蒸发浓缩提高聚合物浓度,促使PTEFP链段结晶度提高,从而导致球状胶束穿孔

特约论文; 2024-06-07 收稿, 2024-08-07 录用, 2024-10-12 网络出版; 国家自然科学基金(基金号 52394271, 52073095)资助.

* 通信联系人, E-mail: caichunhua@ecust.edu.cn; jlin@ecust.edu.cn

doi: 10.11777/j.issn1000-3304.2024.24158; CSTR: 32057.14.GFZXB.2024.7276

形成环状胶束^[5]. Cui等发现聚(丙烯酸)-嵌段-聚(丙烯酸甲酯)-嵌段-聚苯乙烯/2,2'-(亚乙基二氧基)二乙胺共混体系(PAA-*b*-PMA-*b*-PS/EDDA)在THF/H₂O中自组装形成中心薄、边缘厚的盘状胶束;提高体系水量,聚合物链段向胶束边缘聚集,最终导致了纳米盘-纳米环的结构转化^[27].

另外一种逐步自组装法成环的机制是棒状胶束弯曲成环. 聚合物首先形成棒状胶束,然后通过调控外部环境,使得纳米棒弯曲并融合形成纳米环^[27-33]. 该过程涉及纳米棒的弯曲能、棒状胶束与溶剂的界面能、棒状胶束端部额外的端部能等多种作用. Xu等利用聚丙烯酸酯-接枝-聚(6-(4-丁基-4'-氧偶氮苯)己基丙烯酸酯)/聚环氧乙烷共混体系(PA-*g*-Pazo/PEO)侧链偶氮苯的光响应性实现了纳米棒向纳米环的转化. PA-*g*-Pazo/PEO体系首先自组装形成纳米棒,在紫外光的照射下侧链偶氮苯基团发生反式-顺式转变,从而改变了纳米棒与溶剂之间的界面能. 因此,纳米棒逐渐弯曲形成环状胶束^[28]. Yang等发现了聚(γ -苄基-*L*-谷氨酸酯)-接枝-聚乙二醇(PBLG-*g*-PEG)在溶液中首先形成棒状胶束,然后在THF的诱导下棒状胶束逐渐弯曲最终形成环状胶束^[29]. 这一过程与分子的环化类似,被称为超分子环化. 通过实验和理论相结合的方法,作者明确了THF的加入使得侧链收缩,纳米棒界面能增加,从而驱动纳米棒弯曲成环.

在上述纳米棒超分子环化的研究中,人们主要关注的是由接枝共聚物和均聚物形成的纳米棒^[34-37]. 嵌段共聚物也可以形成纳米棒^[38],但是对于嵌段共聚物纳米棒弯曲形成环状胶束的研究尚未见报道. 嵌段共聚物自组装形成的纳米棒中链段垂直于长轴排列,而非接枝共聚物以及均聚物中链段平行于长轴排列. 对于嵌段共聚物棒状胶束的超分子环化行为研究,有助于发展纳米环制备与结构调控新方法.

本文报道了聚(γ -苄基-*L*-谷氨酸酯)-嵌段-聚乙二醇-嵌段-聚(γ -苄基-*L*-谷氨酸酯)(PBLG-*b*-PEG-*b*-PBLG)三嵌段共聚物自组装形成的棒状胶束的超分子环化行为. 在纳米棒中PBLG链段径向排列,与纳米棒的轴方向垂直. 该棒状胶束在THF诱导作用下发生超分子环化形成纳米环. 研究表明,该超分子环化行为发生的驱动力源自溶剂诱导的侧链收缩.

1 实验部分

1.1 主要实验原料

四氢呋喃(THF)、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)、二氧六环、均为分析纯,购自上海泰坦科技有限公司;THF和DMF直接使用,二氧六环经金属钠回流除水后使用. 乙酸乙酯为分析纯,购自上海麦克林生化科技股份有限公司,直接使用. 石油醚为分析纯,购自上海玻尔化学试剂有限公司,直接使用. γ -苄基-*L*-谷氨酸酯五元环酐化合物(BLG-NCA)单体,实验室自制^[39-41]. 双端氨基聚乙二醇(NH₂-PEG-NH₂)购自广州市碳水生物科技有限公司,直接使用. 超纯水(18.2 M Ω ·cm)由超纯水制备系统(Direct-Q 8 UV Remote)制备得到. 透析带(截留分子量14000),购自上海振建生物科技有限公司.

1.2 PBLG-*b*-PEG-*b*-PBLG (BEB)三嵌段共聚物的合成

图1为PBLG-*b*-PEG-*b*-PBLG三嵌段共聚物的合成路线. 往装有一定量的NH₂-PEG-NH₂引发剂和干燥的BLG-NCA单体的反应瓶中加入少量1,4-二氧六环,单体和引发剂的总浓度约为0.02 g/mL. 引发剂和单体溶解搅拌混合均匀并密封反应瓶,将反应瓶中抽真空再充入高纯氮气. 室温下反应3天后,用纯水透析反应液,冷冻干燥后得到PBLG-*b*-PEG-*b*-PBLG白色固体粉末.

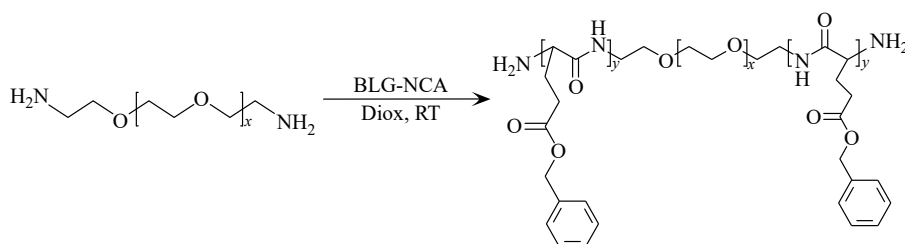


Fig. 1 Synthetic route of PBLG-*b*-PEG-*b*-PBLG triblock copolymer.

1.3 组装体的制备

通过PBLG-*b*-PEG-*b*-PBLG三嵌段共聚物逐步自组装得到环状胶束. 在第一步组装中, 使用体积比为3/7的THF/DMF混合溶剂溶解BEB三嵌段共聚物(质量浓度为0.2 g/L). 在磁力搅拌下使用微量注射泵向1 mL聚合物溶液中加入0.3 mL超纯水(滴加速度为30 $\mu\text{L}/\text{min}$), 然后透析得到初始棒状胶束水溶液. 第二步组装是往上述棒状胶束水溶液中加入一定量的THF, 在培养一定时间后, 透析得到纳米环水溶液. 具体组装过程如图2所示.

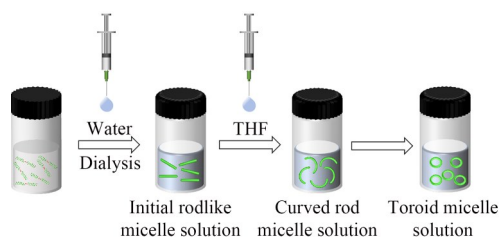


Fig. 2 Schematic representation of the two-step self-assembly of triblock copolymers into nanotoroids.

1.4 测试仪器与方法

采用核磁共振氢谱(^1H -NMR, 德国 Bruker, Ascend 600)表征聚合物的化学结构, 测试频率为600 MHz. 样品制备流程如下: 将聚合物置于洁净干燥的核磁管, 加入600 μL 氘代氯仿和100 μL 氘代三氟乙酸, 并密封核磁管, 聚合物浓度约为0.1 g/L. 采用凝胶渗透色谱(GPC, 英国 Varian, PL GPC-50 plus)测定聚合物的分子量及分布. 以DMF/LiBr为溶剂, 窄分布的PBLG均聚物为标样. 聚合物浓度约为0.2 g/L, 测试温度为50 $^{\circ}\text{C}$, 溶剂流速为0.8 mL/min.

1.5 聚集体形貌和结构表征

采用扫描电镜(SEM, 日本 Hitachi, S4800)、和透射电镜(TEM, 日本 JEOL, JEM-1400)观察聚集体形貌. 扫描电镜样品制备: 将约5 μL 胶束水溶液滴于洁净硅片表面, 并自然干燥. 观测前在样品表面喷金属铂以增强导电性. 透射电镜样品制备: 将约3 μL 胶束水溶液滴于铜网, 并自然干燥. 通过动态激光光散射(DLS, 德国 ALV-5022F, 氦氖激光光源, 波长632.8 nm)表征聚集体的流体力学半径(R_h).

2 结果讨论

2.1 聚合物的结构表征

图3(a)为BEB1三嵌段共聚物在 $\text{CDCl}_3/\text{TFA-d}$

中的 ^1H -NMR谱图. 其中 $\delta=5.05$ 为PBLG侧链苯亚甲基特征质子峰, $\delta=3.77$ 为PEG链段亚甲基特征质子峰. 由于所使用引发剂分子量已知, 因此可以通过PBLG苯亚甲基峰与PEG链段的亚甲基峰面积之比得到相应的PBLG分子量和聚合度. 图3(b)为BEB1三嵌段共聚物的GPC测试结果, 所得到的峰形较为对称, 分子量分布系数(D)为1.30, 说明该聚合反应可控性较好. 通过改变引发剂与单体之间的摩尔比以及使用不同分子量的引发剂, 制备得到了具有不同聚合度的PBLG和PEG的BEB三嵌段共聚物, 聚合物表征结果如表1所示.

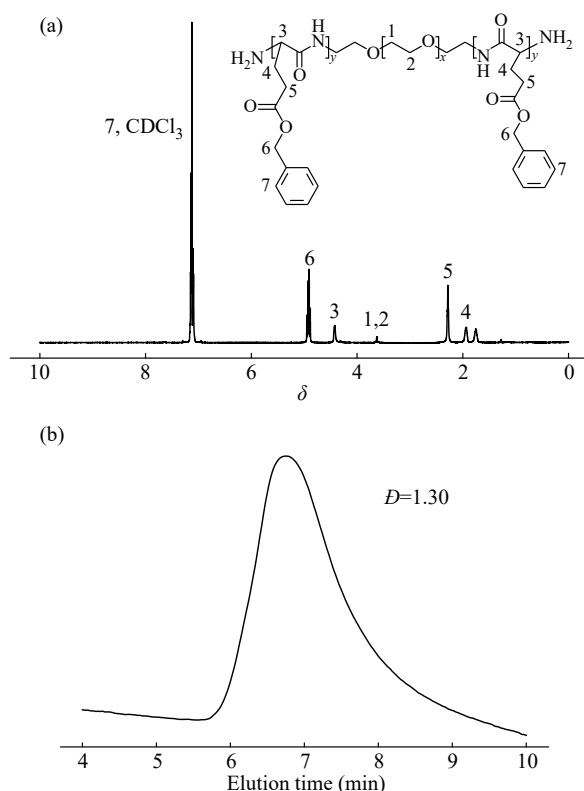


Fig. 3 (a) ^1H -NMR spectrum (solvent: $\text{CDCl}_3/\text{TFA-d}$) and (b) GPC curve of BEB1 (solvent: DMF/LiBr).

Table 1 Characterization data of BEB.

Sample	Copolymer ^a	M_n (kg/mol)	D ^b
BEB1	PBLG ₄₀₉ -PEG ₄₅ -PBLG ₄₀₉ ^c	181.1	1.30
BEB2	PBLG ₅₆₂ -PEG ₄₅ -PBLG ₅₆₂	248.6	1.37
BEB3	PBLG ₃₁₄ -PEG ₁₁₃ -PBLG ₃₁₄	142.9	1.34
BEB4	PBLG ₄₁₈ -PEG ₂₂₇ -PBLG ₄₁₈	193.1	1.25

^a Calculated from ^1H -NMR spectrum; ^b Determined by GPC in DMF with calibrated PBLG standards; ^c Subscript indicates the degree of polymerization of the polymers.

2.2 不同分子量三嵌段共聚物的逐步组装行为

首先研究PBLG链段以及PEG链段聚合度对第一步组装形成的棒状胶束形貌的影响. 如图4(a)和4(b)所示, 随着PBLG聚合度的增加, 棒状胶束的直径增加. 利用SEM图片, 对于100根棒状胶束的直径进行了统计, 结果列于表2. 统计结果表明, 根据PBLG的重复单元的理论长度计算

得到的PBLG链段长度与所形成的棒状胶束的直径较为吻合. 这与文献中提出的棒状胶束中PBLG链段沿着径向排列的结论一致^[38]. 图4(f)为BEB嵌段共聚物形成的棒状胶束的结构示意图, 疏水的PBLG链段沿胶束径向排列构成内核, 亲水的PEG链段构成外壳.

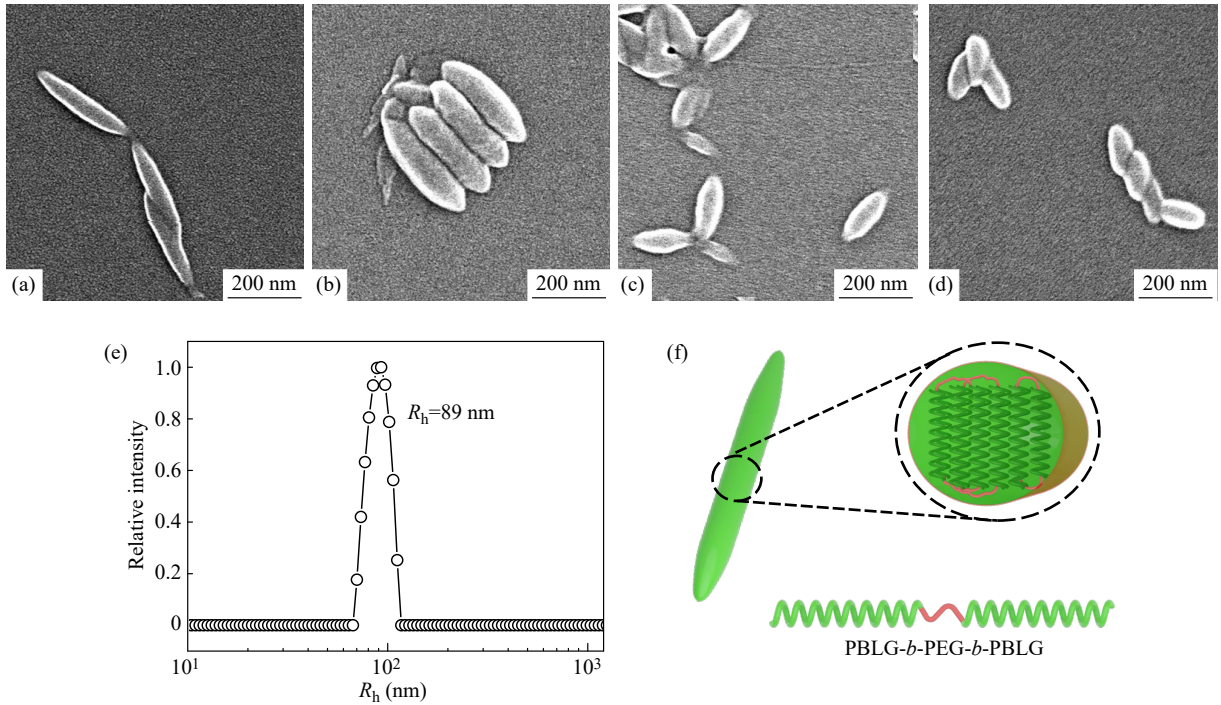


Fig. 4 Rodlike micelles self-assembled by various BEB triblock copolymers: (a) BEB1, (b) BEB2, (c) BEB3, (d) BEB4, (e) DLS of rodlike micelles formed by BEB1. (f) Schematic of segment arrangement in rodlike micelle.

Table 2 Geometric dimensions of rodlike micelles.

Sample	Micelle length ^a (nm)	Micelle diameter ^a (nm)	L/D of micelles	PBLG length ^b (nm)
BEB1	272±17	62±8	4.43	61
BEB2	319±20	86±10	3.76	84
BEB3	160±6	64±7	2.52	62
BEB4	115±10	51±7	2.27	48

^a Geometric dimensions of rodlike micelles obtained from statistical analysis of SEM images; ^b Calculated theoretically based on the length of the PBLG repeating unit.

随着PEG聚合度的增加, 棒状胶束的长度呈现减少的趋势, 如图4(a)、4(c)和4(d)所示. 这可能是由于随着PEG的分子量增加, 聚合物链段的亲水性增加, 倾向于分散于水溶液中, 所以棒状胶束的聚集数减小, 形成长度较短的棒状胶束. 同时所有聚合物形成的棒状胶束末端较细, 这可能是由于棒状胶束末端未被PEG链段完全覆盖所造成的^[38]. 图4(e)为BEB1自组装形成棒状胶

束的DLS结果, 所测量得到的流体力学半径分布图显示 $R_h=89\text{ nm}$, 且峰形较窄, 说明所形成的棒状胶束尺寸较为均匀.

其次, 研究分子量对于第二步组装体形貌的影响. 往1 mL各个棒状胶束的水溶液中分别加入600 μL THF, 并置于40 $^{\circ}\text{C}$ 下培养24 h后透析. 如图5(a)~5(d)所示, 发现BEB1形成了环状结构, BEB2中出现了少量弯曲棒状胶束, 而BEB3和

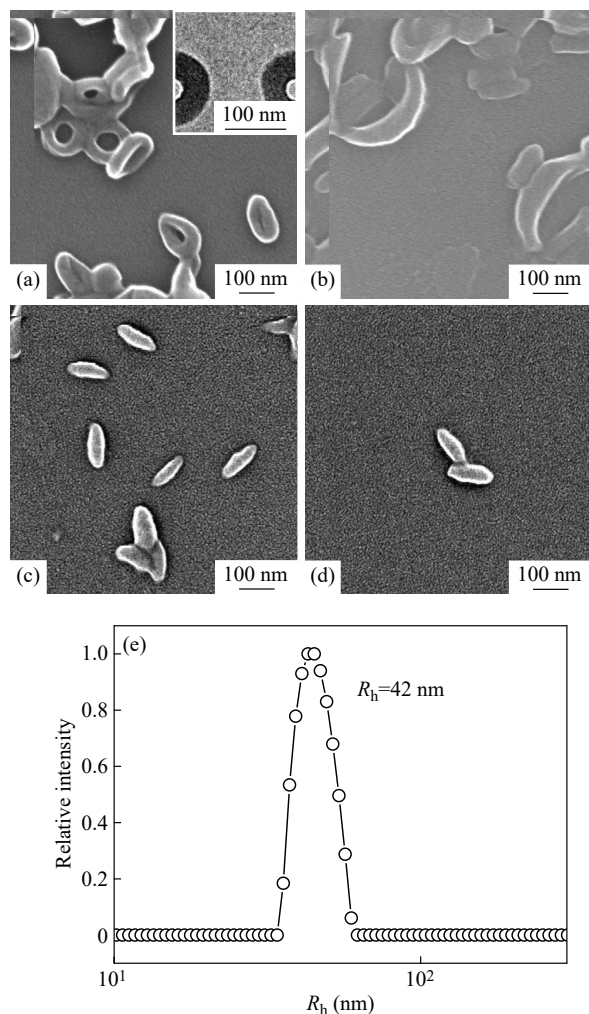


Fig. 5 Second-step self-assembly behavior rodlike micelles self-assembled by various BEB triblock copolymers: (a) BEB1, (b) BEB2, (c) BEB3, (d) BEB4. (e) DLS of toroid micelles formed by BEB1.

BEB4则保持着直棒胶束的形貌. DLS测试表明BEB1纳米环的 $R_h=42$ nm, 且峰形较窄, 说明形成的环状胶束尺寸较为均匀.

初始棒状胶束的长径比对其成环行为具有显著影响. 环状胶束中间的孔洞是其结构的关键特性, 所以超分子环化发生的必要几何条件是棒状胶束的长径比要大于 π ^[35]. 在本研究中, BEB3和BEB4所形成的棒状胶束的长径比分别为2.52和2.27, 均小于 π , 所以无法弯曲形成环状胶束. BEB1棒状胶束的长径比为4.43, 大于 π , 形成了规整的环状胶束. 对于BEB2棒状胶束, 虽然其长径比大于 π , 但是长径比较小、刚性较大, 因此仅发生了弯曲而难以形成环状胶束.

通过比较纳米棒和纳米环的尺寸特征, 确认了BEB1环状胶束是由棒状胶束弯曲所形成的.

图6(a)和6(b)为棒状胶束的长度、直径以及环的周长和直径的示意图. 利用SEM图像对于至少100个棒状胶束和环状胶束的尺寸进行了统计并对比. 如图6(c)~6(f)所示, 棒的长度为 (272 ± 17) nm, 直径为 (62 ± 8) nm; 环的周长为 (269 ± 18) nm, 直径为 (61 ± 13) nm. 棒的长度与环的周长较为吻合, 棒的直径也与环的直径相匹配. 可以证明第二步组装得到的环状胶束是由第一步组装的棒状胶束弯曲形成.

2.3 THF含量和温度对于超分子环化的影响

为了更好地捕捉棒状胶束弯曲成环的过程, 本文工作研究了THF加入量对棒状胶束弯曲行为的影响. 在第二步自组装过程中分别加入不同量的THF(30 vol%~60 vol%), 然后在40 °C下培养24 h (24 h足以让体系达到稳定状态, 相关研究见2.4节超分子环化动力学), 得到的胶束形貌如图7所示. 研究发现, 当THF含量达到40 vol%时, 棒状胶束才开始出现弯曲的现象(图7(a)). 随着THF含量的不断增加, 棒的弯曲程度逐渐增大(图7(a)~7(c)). 当THF含量达到55 vol%时, 如图7(d)所示, 棒状胶束弯曲头尾相连, 形成环状胶束.

温度也是影响自组装形貌的重要影响因素. 因此, 本研究探究了温度对于第二步自组装形貌的影响, 在棒状胶束水溶液中加入50 vol%THF进行诱导, 然后将胶束水溶液分别置于不同温度下(10~60 °C)培养24 h. 结果如图8所示. 棒状胶束在10 °C下仍然维持着直棒形貌(图8(a)). 当温度升高到20 °C时, 棒状胶束开始出现了弯曲的趋势; 且随着培养温度的继续升高, 弯曲程度逐渐增加, 如图8(b)~8(d)所示. 温度升高到50 °C时, 出现了环状胶束; 在60 °C时, 环状胶束发生一定的塌缩, 内孔变小. 这可能是因为在较高的实验温度下, 胶束刚性难以维持环状形貌, 因而发生了塌缩.

为了便于定量分析成环现象, 本文中引入了弯曲角概念. 如图9右上角插图所示, 弯曲角定义为弯曲棒的中点到胶束两端所构成的直线的夹角. 通过SEM图像统计了不同条件下的200个胶束, 得到了相应样品的平均弯曲角. 如图9显示, 随着温度的升高, 胶束的弯曲角度增加. 当培养温度为10 °C时, 弯曲角约为10°; 升高温度到20 °C时, 弯曲角增加到36°; 当温度升高到50 °C

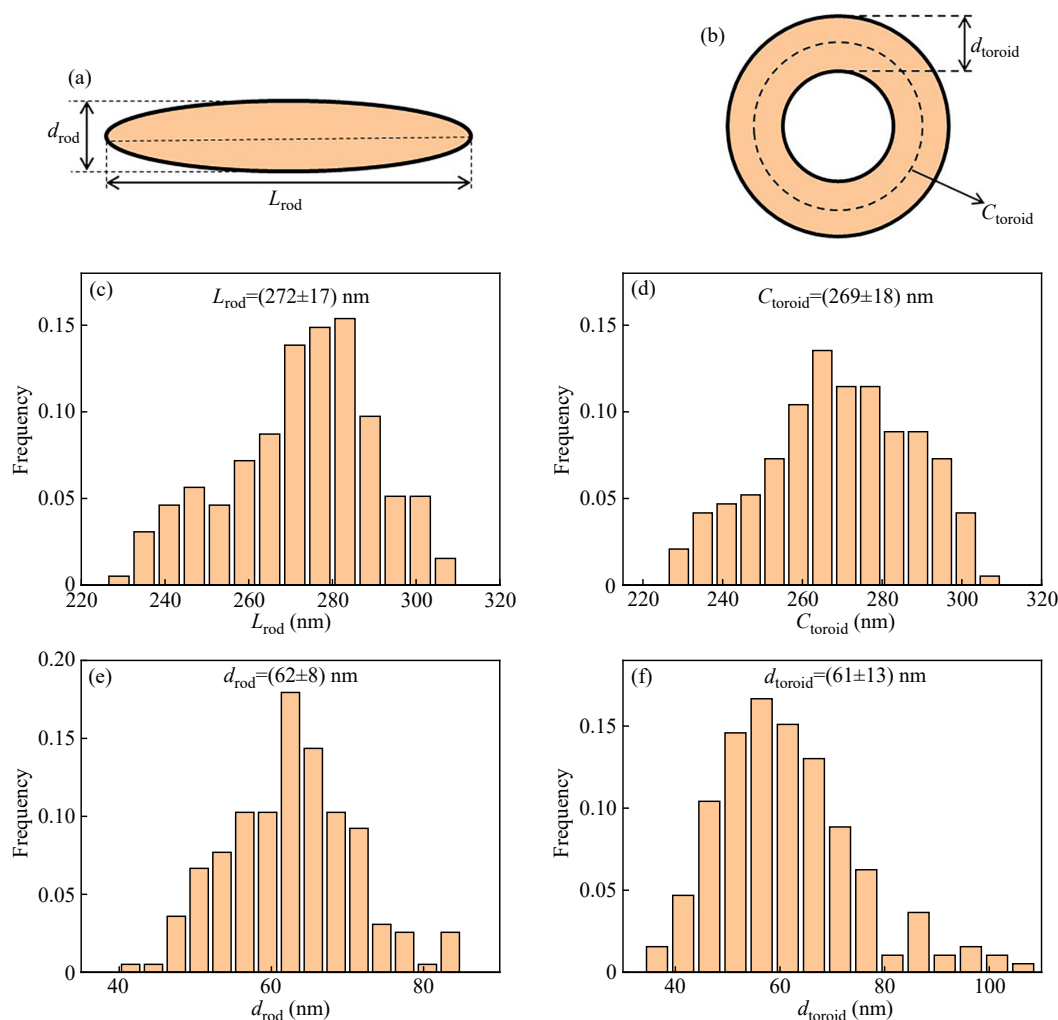


Fig. 6 Comparison of geometric parameters between BEB1 rodlike micelles and toroid micelles. (a, b) Schematic diagrams of the geometric parameters of rodlike and toroid micelles, respectively. (c, e) Length and diameter of rodlike micelles. (d, f) Perimeter and diameter of toroid micelles.

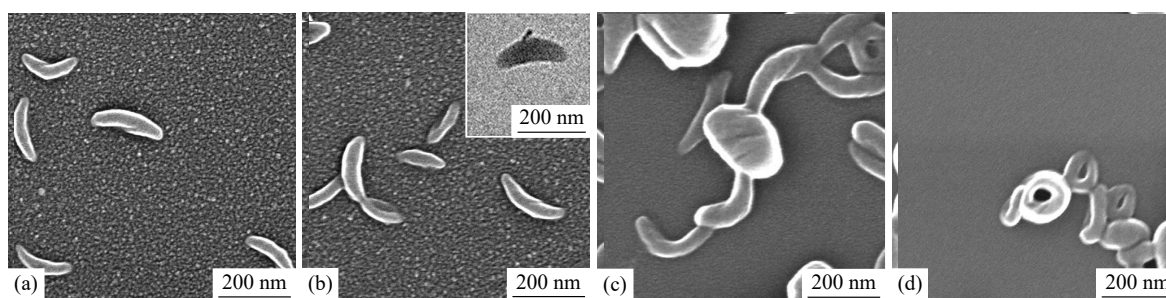


Fig. 7 Influence of THF content on the morphology of the second-step self-assembly of BEB1 rodlike micelles: (a) 40 vol% THF, (b) 45 vol% THF, (c) 50 vol% THF, (d) 55 vol% THF. Experiment temperature is 40 °C.

及以上时, 形成了环状胶束, 弯曲角增加到了 180°.

为了探究温度对于棒状胶束形貌的影响是否具有可逆性, 开展了如下实验: 把在 40 °C 下培养 24 h 的弯棒样品置于 20 °C 继续培养 24 h, 发现其弯曲角由原先的 71° 降低到 38° (图 9 插图),

这与 20 °C 直接培养 24 h 得到样品的弯曲角吻合. 但是对于已经成形的环状胶束, 其温度的影响便变为不可逆的. 例如: 将 50 °C 下培养得到的环状胶束置于 20 °C 下培养 24 h 后, 仍得到环状胶束. 这一结果表明, 温度对于纳米棒的弯曲行为是可逆的, 当形成纳米环之后则不具有温度回复性质.

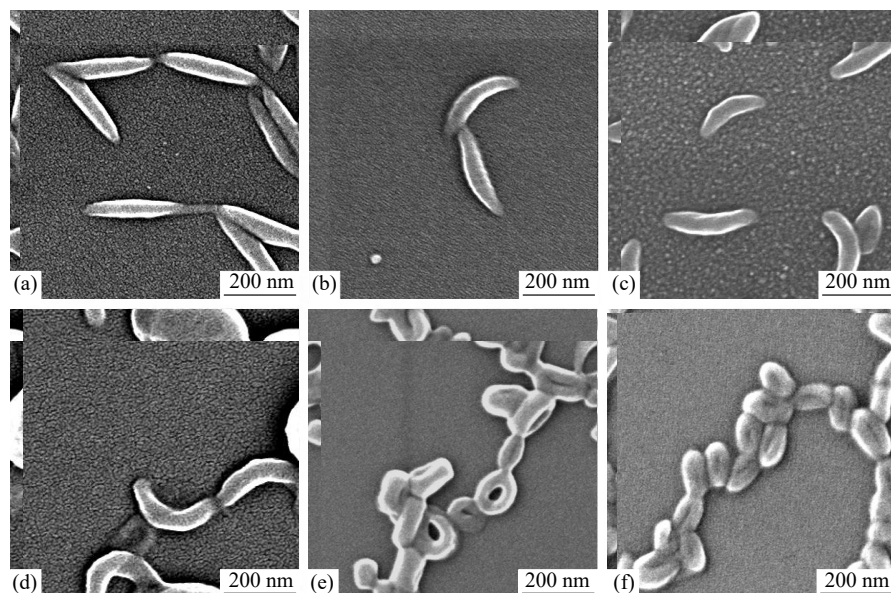


Fig. 8 Influence of incubation temperatures on the morphology of the second-step self-assembly of BEB1 rodlike micelles: (a) 10 °C, (b) 20 °C, (c) 30 °C, (d) 40 °C, (e) 50 °C, (f) 60 °C.

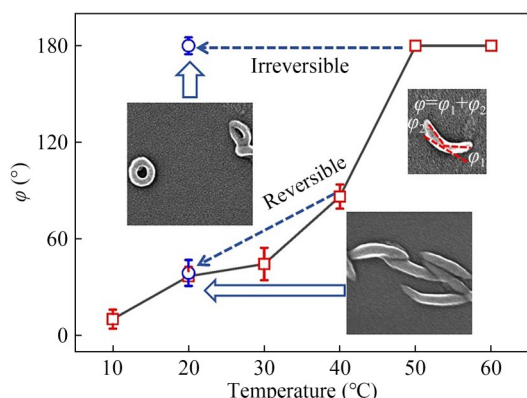


Fig. 9 Relationship between bending angle and temperature.

基于上述实验结果, 绘制了依赖于 THF 含量和温度的第二步组装体的形貌相图, 如图 10 所示. 结果显示, 组装体形貌可以形成 4 个区域, 分别为棒状胶束、弯棒胶束、环状胶束和塌缩的环状胶束. 当培养温度小于等于 30 °C 时, 随着 THF 含量的增加, 胶束仅发生了棒状胶束到弯棒胶束的转变; 并且随着培养温度的提高, 转变点向着低 THF 含量的方向移动. 例如: 在培养温度为 20 °C 时, 需要加入 40 vol% THF, 才能实现棒状胶束到弯棒胶束的转变; 而在培养温度为 30 °C 时, 仅需要加入 35 vol% THF 便可以实现相应的形貌转变. 在培养温度为 40 °C 时, 随着 THF 含量的增加, 棒状胶束逐渐弯曲最终形成了环状胶束. 当培养温度升高到 50 °C 及以上时, 环状胶束发生塌缩. 这一现象是因为随着温度的提高,

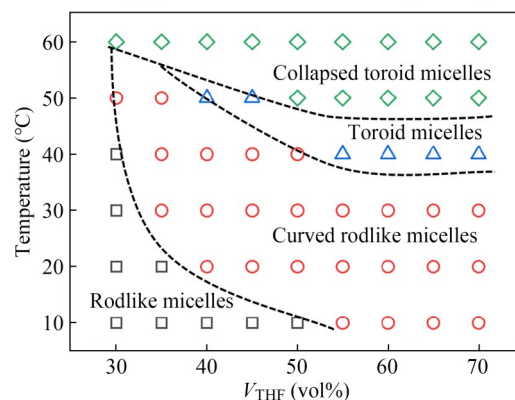


Fig. 10 Morphological of micelles obtained from the second-step self-assembly at different incubation temperatures and THF contents.

胶束刚性不足以维持环状胶束形貌, 所以环状胶束发生了塌缩.

2.4 超分子环化的动力学行为研究

这种棒状胶束弯曲形成环状胶束的过程类似于环化反应, 可称之为超分子环化^[29]. 反应时间是化学反应过程中一个重要的影响因素. 因此本研究通过观察不同成环时间下的胶束形貌来研究该超分子环化的动力学过程. 在 BEB1 第一步组装得到的初始棒状胶束水溶液中加入 60 vol% THF, 分别在 40 °C 培养了 1~36 h 后透析观察. 通过 SEM 图像统计了 200 个胶束的形貌, 得到了弯曲角数值. 如图 11 所示, 结果发现, 棒状胶束的弯曲角随着培养时间延长逐渐增加. 培养 1 h 后, 棒

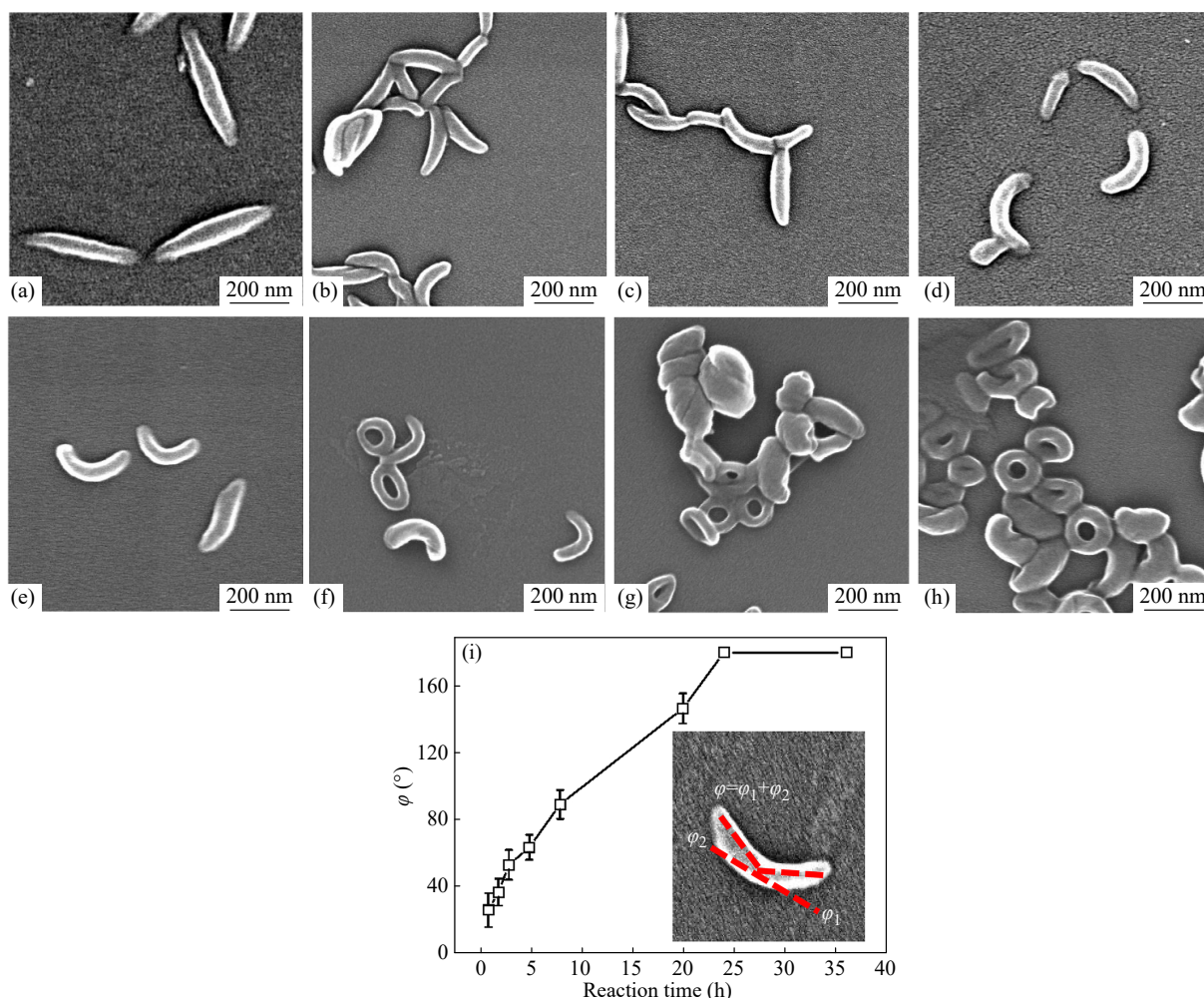


Fig. 11 Morphological of micelles obtained at different incubation time: (a) 1 h, (b) 2 h, (c) 3 h, (d) 5 h, (e) 8 h, (f) 20 h, (g) 24 h, (h) 36 h. (i) Variation trend of bending angles obtained from analysis of SEM images.

状胶束仍然维持着直棒形状; 培养 2 h 后, 纳米棒明显弯曲, 弯曲角为 36° ; 培养 8 h 后, 弯曲角为 89° . 培养 20 h, 弯曲角增加到 146° , 并且出现了环状胶束. 培养 24 h 后, 体系中均为环状胶束; 进一步延长培养时间, 环状胶束的形貌没有明显变化, 说明体系已经达到了稳定状态. 所以在本文中, 成环时间都选定为 24 h.

2.5 棒状胶束的超分子环化机理

虽然 THF 和 DMF 都是 PBLG 的良溶剂, 但是, 由于 DMF 与 PBLG 侧链上的苯环之间具有较强的极性-极性相互作用, 从而使得含有苯环的侧链采取舒展的右旋排列方式. 而在 THF 环境中, 由于 THF 与 PBLG 链段之间的相互作用较弱, 侧链呈现出收缩的左旋排列^[29]. PBLG 链段的 α -螺旋结构及侧链的舒展与收缩程度可以通过 CD 来进行表征. 图 12 展示了在 40°C 下, 不同

THF 含量和加入 60 vol% THF 后在不同温度条件下的诱导得到的组装体水溶液的 CD 光谱. 所有的样品在 220 nm 左右出现了明显的负峰, 说明所有的样品中 PBLG 主链均采用右旋的 α -螺旋构象. 而 230~260 nm 处的 CD 信号对应于侧链的排列信息: 正值对应于侧链处于收缩的左手排列, 正值的大小与其收缩程度相对应^[29]. 研究发现, 第一步组装得到的棒状胶束的侧链为收缩的左旋排列(初始棒状胶束以体积比为 3/7 的 THF/DMF 混合溶剂为起始溶剂制备得到).

而在第二步自组装中, 随着 THF 加入量的增加, 如图 12(a) 所示, 230~260 nm 处的 CD 信号均为正峰, 且峰值不断增加, 说明侧链收缩程度不断增加. 这与图 7 中所观察到的棒状胶束随着 THF 含量增加弯曲角不断增大的规律吻合. 类似地, 随着培养温度的升高, 如图 12(b) 所示,

230~260 nm 处的峰值也不断增加, 说明侧链收缩程度不断增加. 这与图8所展示的棒状胶束的弯曲程度随温度的变化规律相吻合. 随着 PBLG 链段侧链的不断收缩, 胶束内核随之塌缩. 但是由于棒状胶束具有一定的刚性, 只能发生弯曲. 并且棒状胶束两端由于未被亲水链段完全覆盖, 处于高能状态, 体系倾向于末端发生融合, 形成环状胶束以降低体系能量.

基于上述分析, 我们提出了 PBLG-*b*-PEG-*b*-

PBLG 三嵌段共聚物自组装形成纳米棒, 并进一步弯曲成环的过程与机理(示意图1). 首先, 以体积比 THF/DMF = 3/7 为起始溶剂、水为选择性溶剂, PBLG-*b*-PEG-*b*-PBLG 三嵌段共聚物自组装形成棒状胶束, 其中 PBLG 链段垂直于棒状胶束长轴排列. 通过向棒状胶束水溶液中加入 THF, 诱导 PBLG 侧链收缩, 驱动棒状胶束弯曲并形成环状胶束.

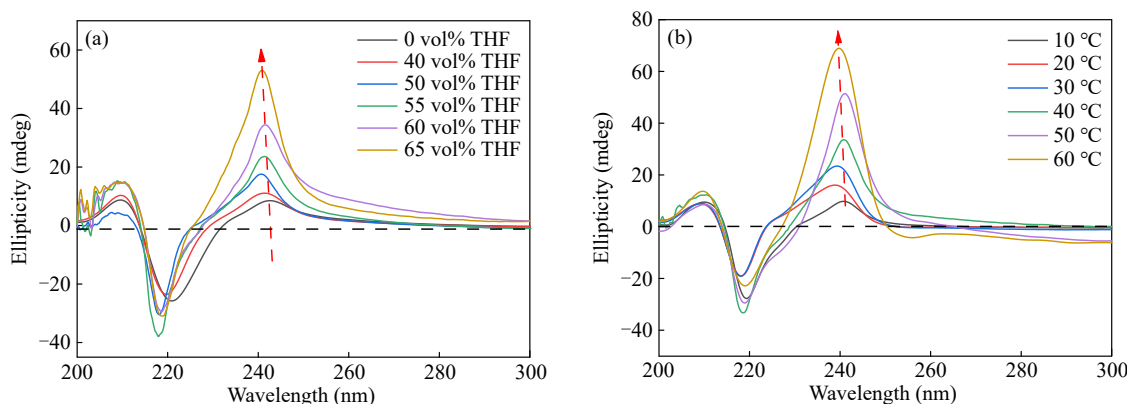
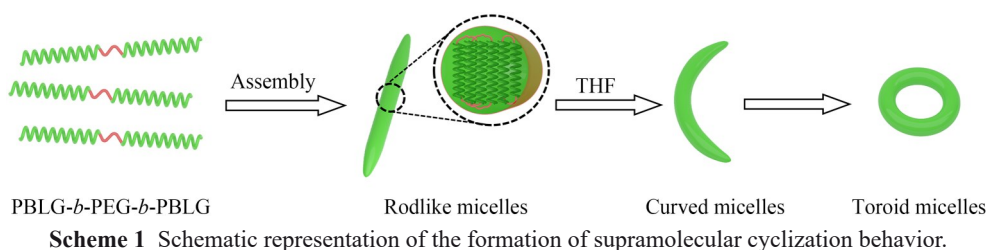


Fig. 12 Circular dichroism (CD) spectra of BEB1 under (a) different THF contents and (b) temperature conditions. (The online version is colorful.)



3 结论

利用 PBLG-*b*-PEG-*b*-PBLG (BEB) 三嵌段共聚物自组装得到了链段径向排列的棒状胶束. 在溶剂诱导作用下, 纳米棒发生超分子环化. 该过程受到 PBLG 链段聚合度、成环时间、温度和

THF 加入量的影响. 本文中明确了超分子环化行为机理, 即 THF 的加入使得 PBLG 侧链的苯环发生收缩, 胶束内核随之发生塌缩, 驱使刚性棒状胶束弯曲成环. 本研究丰富了纳米环的制备方法, 拓展了胶束超分子反应的研究范围.

REFERENCES

- Ganda, S.; Stenzel, M. H. Concepts fabrication methods and applications of living crystallization-driven self-assembly of block copolymers. *Prog. Polym. Sci.*, **2020**, 101, 101195.
- Gröschel, A. H.; Müller, A. H. Self-assembly concepts for multicompartiment nanostructures. *Nanoscale*, **2015**, 7(28), 11841–11876.
- Haataja, J. S.; Houbenov, N.; Aseyev, V.; Fragouli, P.; Iatrou, H.; Sougrat, R.; Hadjichristidis, N.; Ikkala, O. Polymersomes with asymmetric membranes and self-assembled superstructures using pentablock quinquopolymers resolved by electron

- tomography. *Chem. Commun.*, **2018**, 54(9), 1085–1088.
- 4 Löbbling, T. I.; Borisov, O.; Haataja, J. S.; Ikkala, O.; Gröschel, A. H.; Müller, A. H. E. Rational design of ABC triblock terpolymer solution nanostructures with controlled patch morphology. *Nat. Commun.*, **2016**, 7, 12097.
 - 5 Presa-Soto, D.; Carriedo, G. A.; de la Campa, R.; Presa Soto, A. Formation and reversible morphological transition of bicontinuous nanospheres and toroidal micelles by the self-assembly of a crystalline-*b*-coil diblock copolymer. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2016**, 55(34), 10102–10107.
 - 6 解鹏杰, 王倩佩, 刘美娇. 表面交替吸附的圆柱受限下两嵌段共聚物自组装的理论研究. *高分子学报*, **2024**, 55(9), 1251–1261.
 - 7 牟桂芳, 杨翠琴, 闫强. 气体调控的高分子自组装. *高分子学报*, **2024**, 55(7), 781–801.
 - 8 史柏扬, 王国伟. 聚合诱导自组装(PISA)技术的应用研究进展. *高分子学报*, **2022**, 53(1), 15–29.
 - 9 Boylan, N. J.; Suk, J. S.; Lai, S. K.; Jelinek, R.; Boyle, M. P.; Cooper, M. J.; Hanes, J. Highly compacted DNA nanoparticles with low MW PEG coatings: *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo* evaluation. *J. Control. Release*, **2012**, 157(1), 72–79.
 - 10 Cai, J. D.; Mineart, K. P.; Li, X. Y.; Spontak, R. J.; Manners, I.; Qiu, H. B. Hierarchical self-assembly of toroidal micelles into multidimensional nanoporous superstructures. *ACS Macro Lett.*, **2018**, 7(8), 1040–1045.
 - 11 Li, Y. M.; Osada, K.; Chen, Q. X.; Tockary, T. A.; Dirisala, A.; Takeda, K. M.; Uchida, S.; Nagata, K.; Itaka, K.; Kataoka, K. Toroidal packaging of pDNA into block ionomer micelles exerting promoted *in vivo* gene expression. *Biomacromolecules*, **2015**, 16(9), 2664–2671.
 - 12 Liu, Y. J.; Wang, Z. T.; Liu, Y.; Zhu, G. Z.; Jacobson, O.; Fu, X.; Bai, R. L.; Lin, X. Y.; Lu, N.; Yang, X. Y.; Fan, W. P.; Song, J. B.; Wang, Z.; Yu, G. C.; Zhang, F. W.; Kalish, H.; Niu, G.; Nie, Z. H.; Chen, X. Y. Suppressing nanoparticle-mononuclear phagocyte system interactions of two-dimensional gold nanorings for improved tumor accumulation and photothermal ablation of tumors. *ACS Nano*, **2017**, 11(10), 10539–10548.
 - 13 Osada, K. Versatile DNA folding structures organized by cationic block copolymers. *Polym. J.*, **2019**, 51, 381–387.
 - 14 Osada, K. Structural polymorphism of single pDNA condensates elicited by cationic block polyelectrolytes. *Polymers*, **2020**, 12(7), 1603.
 - 15 Wu, F. S.; Jin, X.; Guan, Z.; Lin, J. P.; Cai, C. H.; Wang, L. Q.; Li, Y. S.; Lin, S. L.; Xu, P. F.; Gao, L. Membrane nanopores induced by nanotoroids *via* an insertion and pore-forming pathway. *Nano Lett.*, **2021**, 21(20), 8545–8553.
 - 16 Hu, Y.; Yang, Y. M.; Wang, H. J.; Du, H. Synergistic integration of layer-by-layer assembly of photosensitizer and gold nanorings for enhanced photodynamic therapy in the near infrared. *ACS Nano*, **2015**, 9(9), 8744–8754.
 - 17 Song, J. B.; Wang, F.; Yang, X. Y.; Ning, B.; Harp, M. G.; Culp, S. H.; Hu, S.; Huang, P.; Nie, L. M.; Chen, J. Y.; Chen, X. Y. Gold nanoparticle coated carbon nanotube ring with enhanced Raman scattering and photothermal conversion property for theranostic applications. *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, 138(22), 7005–7015.
 - 18 Hayward, R. C.; Pochan, D. J. Tailored assemblies of block copolymers in solution: It is all about the process. *Macromolecules*, **2010**, 43(8), 3577–3584.
 - 19 Huang, H. Y.; Chung, B.; Jung, J.; Park, H. W.; Chang, T. Toroidal micelles of uniform size from diblock copolymers. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, 48(25), 4594–4597.
 - 20 Yu, H. Z.; Jiang, W. Effect of shear flow on the formation of ring-shaped ABA amphiphilic triblock copolymer micelles. *Macromolecules*, **2009**, 42(9), 3399–3404.
 - 21 Qiu, H. B.; Oliver, A. M.; Gwyther, J.; Cai, J. D.; Harniman, R. L.; Hayward, D. W.; Manners, I. Uniform toroidal micelles *via* the solution self-assembly of block copolymer-homopolymer blends using a “frustrated crystallization” approach. *Macromolecules*, **2019**, 52(1), 113–120.
 - 22 Qiu, H. B.; Oliver, A. M.; Gwyther, J.; Cai, J. D.; Harniman, R. L.; Hayward, D. W.; Manners, I. Uniform toroidal micelles *via* the solution self-assembly of block copolymer-homopolymer blends using a “frustrated crystallization” approach. *Macromolecules*, **2019**, 52(1), 113–120.
 - 23 He, P. T.; Li, X. J.; Deng, M. G.; Chen, T.; Liang, H. J. Complex micelles from the self-assembly of coil-rod-coil amphiphilic triblock copolymers in selective solvents. *Soft Matter*, **2010**, 6(7), 1539–1546.
 - 24 He, X. H.; Schmid, F. Spontaneous formation of complex micelles from a homogeneous solution. *Phys. Rev. Lett.*, **2008**, 100(13), 137802.
 - 25 Jiang, Y.; Zhu, J. T.; Jiang, W.; Liang, H. J. Cornucopian cylindrical aggregate morphologies from self-assembly of amphiphilic triblock copolymer in selective media. *J. Phys. Chem. B*, **2005**, 109(46), 21549–21555.
 - 26 王寅超, 郑家豪, 张伟安, 蔡春华, 林嘉平. 含卟啉聚肽的合成及其自组装行为研究. *高分子学报*, **2024**, 55(2), 172–181.

- 27 Cui, H. G.; Chen, Z. Y.; Wooley, K. L.; Pochan, D. J. Origins of toroidal micelle formation through charged triblock copolymer self-assembly. *Soft Matter*, **2009**, 5(6), 1269–1278.
- 28 Xu, B. B.; Qian, H. Y.; Lin, S. L. Self-assembly and photoinduced spindle-toroid morphology transition of macromolecular double-brushes with azobenzene pendants. *ACS Macro Lett.*, **2020**, 9(3), 404–409.
- 29 Yang, C. Y.; Gao, L.; Lin, J. P.; Wang, L. Q.; Cai, C. H.; Wei, Y. H.; Li, Z. B. Toroid formation through a supramolecular “cyclization reaction” of rodlike micelles. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, 56(20), 5546–5550.
- 30 Pochan, D. J.; Chen, Z. Y.; Cui, H. G.; Hales, K.; Qi, K.; Wooley, K. L. Toroidal triblock copolymer assemblies. *Science*, **2004**, 306(5693), 94–97.
- 31 Jeong, M. G.; van Hest, J. C. M.; Kim, K. T. Self-assembly of dendritic-linear block copolymers with fixed molecular weight and block ratio. *Chem. Commun.*, **2012**, 48(30), 3590–3592.
- 32 Li, X. J.; Deng, M. G.; Liu, Y.; Liang, H. J. Dissipative particle dynamics simulations of toroidal structure formations of amphiphilic triblock copolymers. *J. Phys. Chem. B*, **2008**, 112(47), 14762–14765.
- 33 Geng, Z.; Xiong, B. J.; Wang, L. Q.; Wang, K.; Ren, M.; Zhang, L. B.; Zhu, J. T.; Yang, Z. Z. Moebius strips of chiral block copolymers. *Nat. Commun.*, **2019**, 10, 4090.
- 34 Hu, R.; Gao, L.; Cai, C. H.; Lin, J. P.; Chen, Z. W.; Wang, L. Q. Intermicellar polymerization and intramicellar cyclization: A supramolecular ring-chain competition reaction. *Macromolecules*, **2021**, 54(11), 5196–5203.
- 35 Gao, L.; Hu, R.; Xu, P. F.; Lin, J. P.; Zhang, L. S.; Wang, L. Q. Supramolecular cyclization of semiflexible cylindrical micelles assembled from rod-coil graft copolymers. *Nanoscale*, **2020**, 12(1), 296–305.
- 36 Chen, L. L.; Jiang, T.; Lin, J. P.; Cai, C. H. Toroid formation through self-assembly of graft copolymer and homopolymer mixtures: Experimental studies and dissipative particle dynamics simulations. *Langmuir*, **2013**, 29(26), 8417–8426.
- 37 Fan, L. J.; Jiang, J. H.; Sun, Q. M.; Hong, K.; Cornel, E. J.; Zhu, Y. Q.; Du, J. Z. Fluorescent homopolypeptide toroids. *Polym. Chem.*, **2022**, 13(11), 1495–1501.
- 38 Lu, Y. Q.; Gao, L.; Lin, J. P.; Wang, L. Q.; Zhang, L. S.; Cai, C. H. Supramolecular step-growth polymerization kinetics of pre-assembled triblock copolymer micelles. *Polym. Chem.*, **2019**, 10(25), 3461–3468.
- 39 Cai, C. H.; Li, Y. L.; Lin, P. J.; Wang, L. Q.; Lin, S. L.; Wang, D. X. S.; Jiang, T. Simulation-assisted self-assembly of multicomponent polymers into hierarchical assemblies with varied morphologies. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52(30), 7732–7736.
- 40 Zhang, S.; Cai, C. H.; Guan, Z.; Lin, J. P.; Zhu, X. Y. Fabrication of virus-like particles with strip-pattern surface: a two-step self-assembly approach. *Chin. Chem. Lett.*, **2017**, 28(4), 839–844.
- 41 Cai, C. H.; Lin, J. P.; Zhu, X. Y.; Gong, S. T.; Wang, X. S.; Wang, L. Q. Superhelices with designed helical structures and temperature-stimulated chirality transitions. *Macromolecules*, **2016**, 49(1), 15–22.

Research Article

Supramolecular Cyclization Behavior of Rodlike Micelles Assembled from Polypeptide Triblock Copolymers

Xu-le Ren, Chun-hua Cai*, Jia-ping Lin*

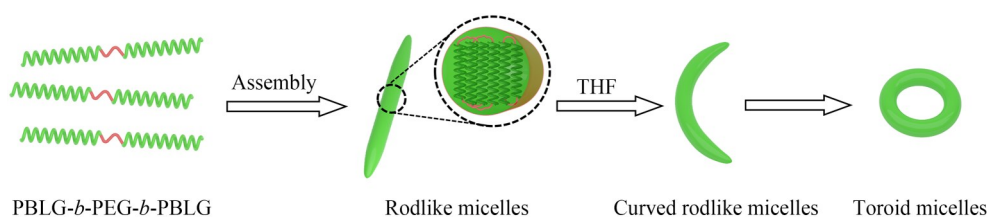
(School of Materials Science and Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237)

Abstract Poly(γ -benzyl-L-glutamate)-block-poly(ethylene glycol)-block-poly(γ -benzyl-L-glutamate) (PBLG-*b*-PEG-*b*-PBLG) triblock copolymers were synthesized using amine-PEG-amine (NH₂-PEG-NH₂) as macroinitiator via ring-opening polymerization of γ -benzyl-L-glutamate *N*-carboxyanhydride (BLG-NCA). The molecular weight and molecular weight distribution of the polymers were characterized by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H-NMR) and gel permeation chromatography (GPC). Rodlike micelles were assembled from the PBLG-*b*-PEG-*b*-PBLG triblock copolymers using a mixture of tetrahydrofuran and *N,N*-dimethylformamide (THF-DMF)

* Corresponding authors: Chun-hua Cai, E-mail: caichunhua@ecust.edu.cn

Jia-ping Lin, E-mail: jlin@ecust.edu.cn

as initial solvent. The PBLG segments are perpendicular to the long axis in the rodlike micelles. Under THF addition, the rodlike micelles bend to form curved rodlike micelles and then toroid micelles. The morphology and structure of the assemblies were characterized using scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), and dynamic light scattering (DLS). The degree of bending of the nanorods can be adjusted by variation of the polymer molecular weight, toroid forming time, temperature, and THF adding content. The degree of polymerization of PBLG segments affects the diameter of rodlike micelles. The aspect ratio of the rodlike micelles determines whether supramolecular cyclization occurs. The addition of THF and the increase of temperature promote the occurrence of supramolecular cyclization behavior. The effect of temperature on supramolecular cyclization behavior exhibits a certain degree of reversibility. CD spectra were employed to characterize arrangement of the phenyl rings in the PBLG segments, revealing that the contraction of the phenyl rings induced by THF is the driving force for the bending of the nanorods. The research mimicking the hierarchical self-assembly strategy in preparing complex structures by biosystems, reported a step-wise self-assembly of polypeptides into nanotoroids. The study enriches the preparation method for polymer nanotoroids, and will guide the controlled preparation of nanotoroids as well as their functional applications.



Keywords Polypeptide copolymers, Hierarchical self-assembly, Rodlike micelles, Supramolecular cyclization, Phenyl ring arrangement