

·研究简报·

生物相容性 BAB 型两亲嵌段共聚物的合成及其自组装*

杨子刚 袁建军 程时远**

(湖北大学化学与材料科学学院 武汉 430062)

关键词 嵌段共聚物, 聚乙二醇, 聚(*N*^ε-苄氧羰基赖氨酸), 自组装, 螺旋

两亲嵌段共聚物在选择性溶剂中的自组装行为已成为当前研究的一个热门课题. 在一定的条件下, 它会形成球形、棒状、管状、囊泡、洋葱等不同形态的聚集体^[1-5], 这些聚集体不仅能够作为模板构造纳米材料^[6], 而且由于这些形态本身具有纳米空腔结构, 其包覆量要比实心的球形胶束大许多, 在药物释放、物质包覆等方面有良好的应用前景^[7]. 然而, 要将两亲嵌段共聚物应用于生物体, 除了要保证能够形成特定形态的聚集体外, 还要求组成两亲嵌段共聚物的嵌段有良好的生物相容性和生物降解性. 目前, 生物相容的两亲嵌段共聚物的研究也比较多^[8-10], 但是这方面的研究都集中在球形聚集体, 其包覆量有限. 因此利用生物相容的嵌段共聚物来制备多种形态的聚集体无论在理论上还是在实践中都是一个很有意义的课题, 目前在这方面还未见报道.

聚乙二醇具有无毒, 无免疫原性, 亲水性和良好的生物相容性, 而且分子量低的聚乙二醇可由肾排出, 故在生物医用材料方面很受青睐; 赖氨酸是人体的一种必需氨基酸, 与人体具有良好的相容性, 而且能参与代谢循环, 产物能够通过新陈代谢及时排出体外, 对人体不会产生毒副作用.

本文正是鉴于上述考虑, 利用聚乙二醇作为亲水段、*N*^ε-苄氧羰基赖氨酸作为疏水段合成了两亲嵌段共聚物聚(*N*^ε-苄氧羰基赖氨酸)-聚乙二醇-聚(*N*^ε-苄氧羰基赖氨酸)(*N*^ε表示ε位的氮), 同时对其在 DMF 的自组装进行了研究, 结果发现在一定的条件下, 会自组装形成一种新型的螺旋聚集体, 这在嵌段共聚物的自组装中还鲜见报道, 对于模拟蛋白质的折叠和组装具有重要启发.

1 主要原料

α 、 ω -二氨基聚乙二醇, Fluka 公司 ($M_n = 1500$), *N*^ε-苄氧羰基赖氨酸和三光气均为 Acros 公司产品, 直接使用; 四氢呋喃、正己烷, 分析纯, 使用之前用金属钠回流后蒸出; *N,N*-二甲基甲酰胺, 分析纯, 五氧化二磷回流后蒸出再使用; 其它试剂均为分析纯, 未作处理, 直接使用.

2 仪器及测试

2.1 ¹H-NMR 测定 用 Varian Mercury VX-300 核磁共振光谱仪, 溶剂为 DMSO-*d*₆, 内标为 TMS.

2.2 FT-IR 用 Perkin-Elmer spectrum one 型红外光谱分析仪测定, KBr 压片.

2.3 DSC 测试 采用 Perkin-Elmer X 型测试仪完成, 测定气氛为静态空气, 升温速率为 20 K/min, 温度范围为 -80℃ 至 100℃.

2.4 聚合物的分子量及其分布测试 采用 GPC 和多角激光光散射联用测试, 单分散性线性聚苯乙烯标样作参比, DMF 为流动相, 流速为 0.8 mL/min.

2.5 透射电子显微镜 (TEM) 采用 H-7000FA (Hitach) 型透射电子显微镜, 加速电压为 80 kV. 制样时, 先在铜网上敷一层富尔膜, 再在膜上喷涂碳膜, 轻轻滴一滴样品溶液, 迅速吸干, 真空干燥后进行 TEM 测试, 作测试时根据观察需要可以灵活调整视野及物镜放大倍数, 以得到更为丰富的形态信息.

3 聚合物的合成

3.1 单体 *N*^ε-苄氧羰基赖氨酸酸酐 (Lys(z)-NCA) 按文献[11]合成 在 100 mL 的反应瓶中加入 3.0 g Lys(z) 和 40 mL THF, 搅拌 10 min 使之成悬浮液, 将溶有 1.58 g 三光气的 20 mL THF 加入上述悬浮

* 2004-01-05 收稿, 2004-05-24 修稿; ** 通讯联系人

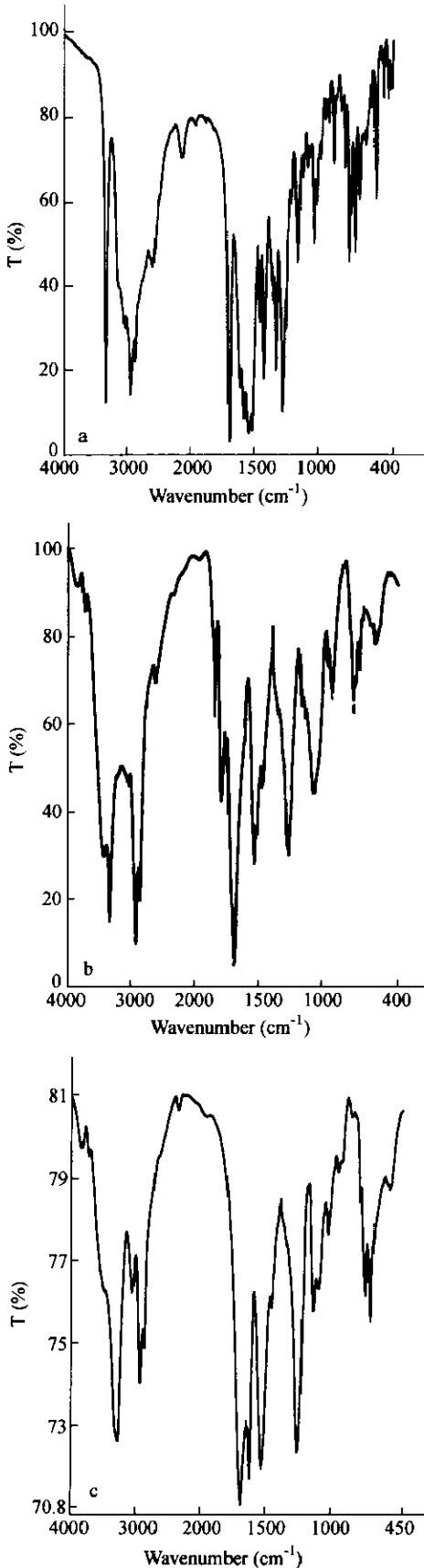


Fig. 2 IR spectra of Lys(z) (a), Lys(z)-NCA (b) and block copolymer (c)

3.49 为聚乙二醇上氢的 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$), 由两者的峰面积比可以按下式计算聚合物的分子量, 得到聚合物的化学组成 (如表 1):

$$\frac{A_{83.49}}{A_{87.30}} = \frac{34 \times 4}{\frac{M_n(\text{PCLL})}{262}} \times 5$$

$$M_n(\text{LEL}) = M_n(\text{PCLL}) + \text{PEG}$$

其中 A 为峰面积, 34 为 PEG 的聚合度, 262 是 PCLL 重复单元的分子量, 4 是聚乙二醇重复单元中氢原子的个数。

Table 1 Molecular weight and thermal properties of various polymers

Sample	Composition	M_w	M_w/M_n	T_g
PEG				-45 °C
1	PLL(Z) ₁₂ -PEG ₃₄ -PLL(Z) ₁₂	4861	1.28	-23 °C 46 °C
2	PLL(Z) ₁₆ -PEG ₃₄ -PLL(Z) ₁₆	10463	1.16	-22 °C 48 °C
3	PLL(Z) ₂₅ -PEG ₃₄ -PLL(Z) ₂₅	15548	1.16	-20 °C 49 °C
PCLL				50 °C

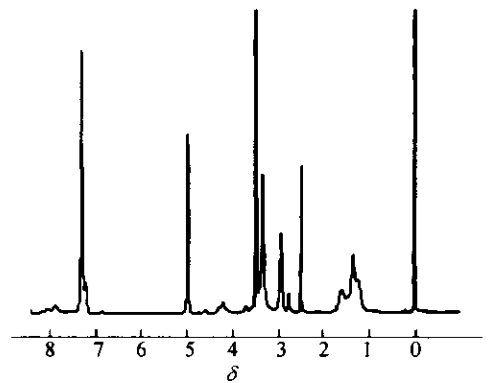


Fig. 3 ¹H-NMR spectrum of triblock copolymer

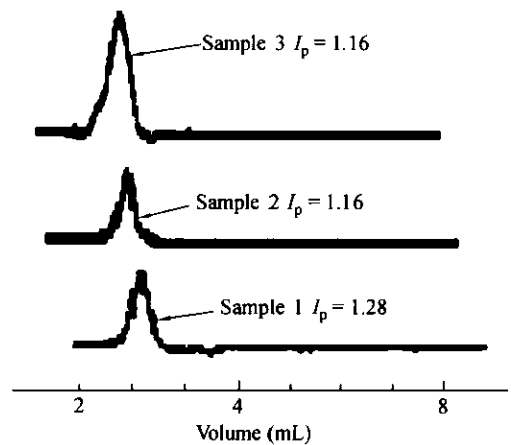


Fig. 4 GPC curves of triblock copolymers

图 4 是嵌段共聚物的 GPC 流出曲线, 对应的嵌段共聚物编号见表 1, 可以看出分子量的分布

较窄,而且肩峰出现,说明只有一种组分,结合红外光谱和核磁共振谱可以证明,合成了单一组分的共聚物.但是,由 GPC 测得的分子量与通过¹H-NMR 算得的分子量差别较大,这是因为 GPC 测量是以聚苯乙烯为标准样品,只有聚合物和聚苯乙烯在溶剂中的状态完全一致,GPC 的测量结果才能与实际相符,否则,只能作为参考.本实验的情况也可能是因为两者在 DMF 中的存在状况不一样.由¹H-NMR 得到的分子量是通过峰面积比计算来的,不会受到这些因素的影响.因此,聚合物的分子量应该以¹H-NMR 测定结果为准.

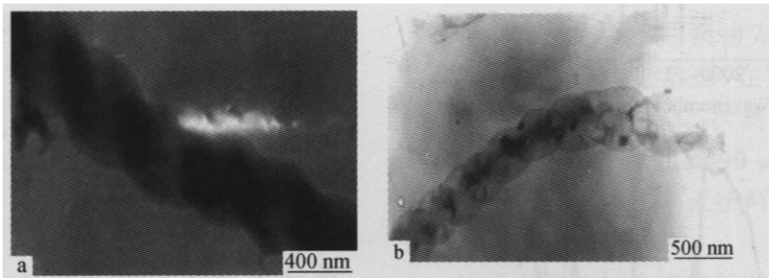


Fig. 5 TEM photographs of self-assembled aggregates of sample 1 the aggregates were made from 0.19 wt%, the annealing time is 12 h (a); 0.25 wt% block copolymers solutions in DMF, the annealing time 36 h(b)

6 嵌段共聚物的自组装新形态

本文对上述各种嵌段共聚物在水介质中的自组装行为进行了研究,结果发现在一定的条件下嵌段共聚物均能会形成一种新型的螺旋聚集体.而且对于 1 号样品,在下面两种条件下会形成重现性比较好的螺旋结构的,除了螺旋结构外没有其它结构的聚集体.图 5(a)是 1 号样品在浓度为 0.19 wt%,退火时间为 12 h 会自组装形成螺旋聚集体的电镜照片,聚集体的粗度大约为 300 nm,而且粗细比较均匀;而图 5(b)是 1 号样品在浓度为 0.25 wt%,退火时间延长到 36 个小时的聚集体,也是螺旋结构,粗度为 350 nm 左右.嵌段共聚物在溶液中的自组装聚集体主要由以下三个方面决定的,即组成核的链段的伸展,组成壳的链段之间的排斥作用和核壳界面的界面张力^[1].在这三作用的影响下,聚集体会呈现球、棒、囊泡、洋葱等许多不同形态.本体系之所以会形成螺旋聚集体,可

表 1 给出了 PEG、PCLL 均聚物和嵌段共聚物的玻璃化转变温度,可以看出,共聚物显示出两个玻璃化温度,其中较高的一个与 *N*-苄氧羰基赖氨酸均聚物的玻璃化温度很接近,而较低的一个与聚乙二醇的玻璃化温度要高 20 多度的差别.这表明在嵌段共聚物中两组分间存在微相分离,PCLL 是硬段,聚集成微区并形成物理网络结构,限制了无定形软段 PEG 的构象,导致其玻璃化温度升高,表 1 结果也显示,随着 PLL(Z)单元的增加, T_g 升高.

能与以下因素有关,其一就是按照影响体系自组装的上述因素,体系能够自组装形成棒状结构,这一点从图中可以明显的看出.其二就是与嵌段共聚物的组成有关,嵌段共聚物中含有聚苄氧羰基赖氨酸,我们知道,由氨基酸组成的蛋白质在不同的条件下会有不同的呈现出不同的二级结构,如 α -螺旋、 β -折叠和 β -转角等不同的二级结构,在本实验条件下,聚苄氧羰基赖氨酸是形成 α -螺旋结构的一种优良结构^[13],聚乙二醇的构象也为螺旋形^[14],因此两者充当棒状聚集体的模板,从而形成了如图所示的螺旋聚集体.另外,按照嵌段共聚物胶束化的平均场理论^[15],其形态的大小与组成核的链段(疏水性)与组成壳的链段的大小等因素有关.

这种新型的螺旋结构对于了解蛋白质的折叠和组装具有启发性,关于螺旋结构聚集体的更深入的研究将在以后的文章中报道.

REFERENCES

- 1 Cameron N S, Corbierre M K, Eisenberg A. *Can J Chem*, 1999, 77, 1311 ~ 1326
- 2 Yuan Jianjun(袁建军), Li Yinshun(李英顺), Cheng Shiyuan(程时远), Jiang Lei(江雷), Feng Linxian(封麟先), Fan Zhiqiang(范志强). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2004, (1): 1 ~ 7
- 3 Yuan J J, Ma R, Gao Q, Wang Y F, Cheng S Y, Feng L X, Fan Z Q, Jiang L. *J Appl, Polym Sci*, 2003, 89: 1017 ~ 1025
- 4 Du Manquan(杜满泉), Shi Linqi(史林启), An Yingli(安英丽), He Binglin(何炳林). *Chem J Chin Uni(高等学校化学学报)*, 2001, 22(12): 2120 ~ 2122
- 5 Wei Liuhe(魏柳荷), Zhang Weicheng(张炜程), Chen Yu(陈宇), Zhu Mingqiang(朱明强), Du Fusheng(杜福胜), Li Zichen(李子臣), Li Fumian(李福绵). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2002, (4): 548 ~ 551
- 6 Zhao D Y, Feng J L, Huo Q S, Melosh N, Fredrickson G H, Chmelka B F, Stucky G D. *Science*, 1998, 279: 548 ~ 52
- 7 Kabanov A V, Batrakova E V, Alakhov V Y. *J Controlled Release*, 2002, 82: 189 ~ 212
- 8 Thunemann A F, Beymann J, Kukulka H. *Macromolecules*, 2000, 33: 5906 ~ 5911
- 9 Harada A, Cammas S, Katsoka K. *Macromolecules*, 1996, 29: 6183 ~ 6188
- 10 Xiong Xiangyuan(熊向源), Li Zichen(李子臣), Li Fumian(李福绵). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2001, (6): 787 ~ 792
- 11 Daly W H, Poche D. *Tetrahedron Lett*, 1988, 29: 5859 ~ 5862
- 12 Cho C S, Jo B W, Komoto T. *Macromol Chem Phys*, 1994, 195: 2195 ~ 2205
- 13 Imanishi Y, Fujita K, Miura Y, Kimura S. *Supramolecular Science*, 1996, 3: 13 ~ 18
- 14 He M J(何曼君), Chen W X(陈维孝), Dong X X(董西侠). *Polymer Physics(高分子物理)*. Shanghai(上海): Fudan University Press(复旦大学出版社), 1990. 57 ~ 58
- 15 Noolandi J, Hong K M. *Macromolecules*, 1983, 16, 1443 ~ 1448

SYNTHESIS AND SELF-ASSEMBLING OF BIOCOMPATIBLE BAB AMPHIPHILIC TRIBLOCK COPOLYMERS POLY(N^{ϵ} -CBZ-LYSINE)-PEG-POLY(N^{ϵ} -CBZ-LYSINE)

YANG Zigang, YUAN Jianjun, CHENG Shiyuan

(School of Chemistry and Materials Science, Hubei University, Wuhan 430062)

Abstract Lys(z)-NCA was synthesized in the presence of triphosgene, amphiphilic triblock copolymers poly(N^{ϵ} -CBZ-Lysine)-PEG-poly(N^{ϵ} -CBZ-Lysine) were synthesized in DMF using amino-end ended PEG as initiator with the mechanism of anion ring opening polymerization. The structures of block copolymers were characterized by IR, $^1\text{H-NMR}$, GPC and DSC. The results showed triblock copolymers with expected structure and low polydispersity in molecular weight could be synthesized by this method. At the same time, the self-assembling behaviors of block copolymer were investigated by TEM. A novel helical aggregates were found to be formed in DMF. Because of biocompatibility of two components of block copolymers, these block copolymers have potential applications in the field of biomaterials.

Key words Block copolymers, Poly(ethylene glycol), Poly(N^{ϵ} -CBZ-Lysine), Self-assembling, Helix