

两亲性二嵌段共聚物 MPEG₄₄-*b*-Phe 的合成 及其在水溶液中的自组装*

李丽颖¹ 孙平川¹ 要 旻¹ 周慧静¹ 陈铁红^{1**} 李宝会² 金庆华² 丁大同²

(¹ 吸附与分离功能高分子材料国家重点实验室 南开大学化学学院 ² 南开大学物理系 天津 300071)

摘 要 利用光气法,以三光气和苯丙氨酸为原料,合成了苯丙氨酸酸酐(*b*-Phe-NCA).用端氨基聚乙二醇单甲醚(MPEG-NH₂)作大分子引发剂,引发 *b*-Phe-NCA 开环聚合,合成了不同分子量的聚乙二醇单甲醚-聚(*L*-苯丙氨酸)(MPEG₄₄-*b*-Phe)AB 型二嵌段共聚多肽.利用 IR、¹H-NMR、GPC 对共聚物结构进行了表征.利用 TEM 研究了二嵌段共聚多肽 MPEG₄₄-*b*-Phe₃₀ 及 MPEG₄₄-*b*-Phe₇ 在水溶液中的自组装形态,结果表明合成出的两亲性二嵌段共聚物在水溶液中自组装形成胶束,随着嵌段共聚物中亲水嵌段含量的增高,共聚物溶水性增强,其在水溶液中的自组装形态更加均一.

关键词 聚乙二醇单甲醚, 苯丙氨酸, 嵌段共聚物, 自组装

两亲性二嵌段共聚物在选择性溶剂中能自组装形成分子聚集体,聚集体不同形态的形成依赖于嵌段的相对长度.当其亲溶剂段长度远大于疏溶剂段时,主要形成球形胶束^[1],胶束的内核由疏溶剂的嵌段组成,外壳由亲溶剂的嵌段组成^[2,3,4].与表面活性剂形成的不稳定胶束不同,由于嵌段共聚物疏溶剂内核的高粘性,胶束聚集体与溶液中游离单体之间的交换非常缓慢,因此胶束结构更加稳定^[5,6],自组装的形态更加复杂,在新材料的合成和药物的传输释控方面的应用前景更加广阔^[7].

聚氨基酸是氨基酸的环内酸酐(NCA)开环聚合的产物,是一类具有低毒、生物相容性好、容易被机体吸收、代谢等优点的生物降解高分子,在药物控释^[8,9]、组织工程^[10,11]等方面具有广泛的应用.聚乙二醇单甲醚(MPEG)是一种用途广泛的聚醚高分子化合物,本身是水溶性的.将聚乙二醇单甲醚一端挂上氨基,就成为可以引发 NCA 单体开环聚合的大分子引发剂端氨基聚乙二醇单甲醚[CH₃O—(CH₂CH₂O)_{*n*}—CH₂CH₂NH₂, MPEG-NH₂],所合成的聚氨基酸-聚乙二醇单甲醚二嵌段共聚多肽由于 MPEG 嵌段的亲水性而具有两亲性.两亲嵌段共聚多肽由于多肽分子本身能形成 α-螺旋和 β-折叠二级结构,在选择性溶剂中可以形成

比一般的两亲嵌段共聚物分子更复杂的自组装形态,因此在生物领域和新结构、形貌材料合成领域具有重要应用前景^[12].本文以 MPEG-NH₂ 为大分子引发剂,引发苯丙氨酸的环内酸酐(*b*-Phe-NCA)开环聚合制备了两亲性二嵌段共聚物 MPEG₄₄-*b*-Phe,并对其在水溶液中的自组装形态进行了研究.

1 实验部分

1.1 主要原料

聚乙二醇单甲醚(*M_n* = 2000, Fluka 公司, 80℃ 真空干燥 4 h); *L*-苯丙氨酸(生化试剂,北京新经科生物技术公司);对甲苯磺酰氯(化学纯,上海松江粘胶剂厂,氯仿/正己烷重结晶纯化);水合肼(85%,北京顺义卫新化工厂);三光气(威海燕威橡塑公司);二氯甲烷(分析纯,天津市化学试剂三厂,无水氯化钙干燥 24 h 后常压蒸馏);无水乙醚(分析纯,天津市化学试剂一厂);四氢呋喃(分析纯,天津泰精细化学品有限公司,金属钠和二苯甲酮回流除水);石油醚(分析纯,天津市化学试剂六厂,金属钠和二苯甲酮回流除水);1,4-二氧六环(分析纯,中国医药集团上海化学试剂公司).

1.2 仪器及测试

1.2.1 红外光谱 采用 KBr 压片法,在 Bruker vector22 型红外光谱仪上测定.

* 2004-09-13 收稿,2004-10-28 修稿;国家自然科学基金(基金号 20274020, 20373029, 20374031)资助项目;

** 通讯联系人, E-mail: chenth@hankai.edu.cn

1.2.2 核磁共振 使用 Varian UNITY-Plus 400 核磁共振谱仪,以 CF₃COOD 为溶剂,在室温下测定 ¹H-NMR 谱。

1.2.3 凝胶渗透色谱 在 Waters510/410 示差折光检测器上测定聚合物的 GPC 谱图,聚苯乙烯作为标准物,DMF 为流动相。

1.2.4 透射电子显微镜 将用透析方法(见后)

制备的一定浓度的聚合物溶液滴加到铜网上,用 TECNAI Philip T 20ST 型透射电子显微镜观察。

1.3 大分子引发剂的合成

按照文献[13]的合成方法,通过三步反应从聚乙二醇单甲醚合成端氨基聚乙二醇单甲醚,产率 42%。合成步骤如图 1。

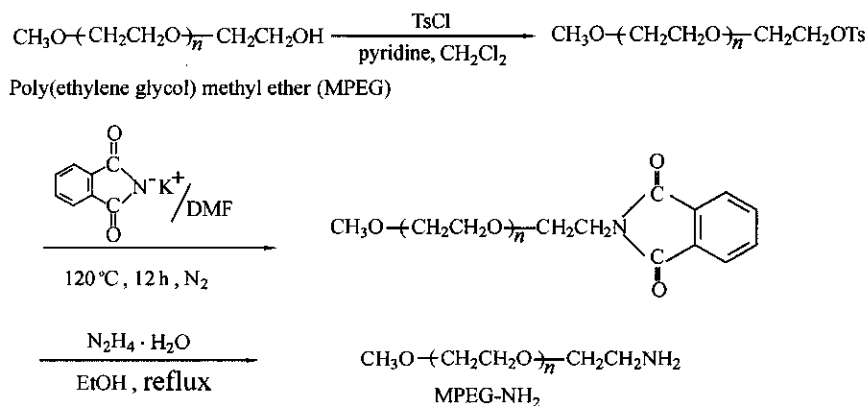


Fig. 1 Synthetic scheme for the preparation of amino-terminated MPEG (MPEG-NH₂)

1.4 L-苯丙氨酸-NCA 的合成

参考文献[14]的方法合成。在装有回流冷凝管、温度计、碱吸收装置的三口瓶中依次加入 10 g L-苯丙氨酸、100 mL 无水 THF,进行磁力搅拌,升温至(50 ± 1)℃。待温度稳定后加入 15 g 三光气,溶液变为澄清后,停止反应,充氮气 30 min。将反应液倒入过量的无水石油醚中,在 -20℃ 低温放置 12 h。过滤白色沉淀,用乙酸乙酯/石油醚重结晶,石油醚洗涤,真空干燥得到白色晶体,产率约为 60%。

1.5 嵌段共聚物的合成

分别按 1:7 和 1:50 的摩尔比称取一定质量的 MPEG-NH₂ 和 L-苯丙氨酸-NCA 单体于三口瓶中,以二氯甲烷为溶剂(NCA 单体的二氯甲烷溶液浓度为 5 wt%),并 N₂ 保护体系在 25℃ 下反应 72 h。反应结束后将反应溶液倒入无水乙醚中沉淀,抽滤,自然干燥得粗产物。粗产物用四氢呋喃为溶剂抽提,回流 12 h,再用无水乙醚洗涤,干燥得白色固体,产率分别为 40% (MPEG₄₄-*b*-Phe₇) 和 42.5% (MPEG₄₄-*b*-Phe₅₀)。

1.6 嵌段共聚物在溶液中的自组装

按照文献[15]的方法,将 0.10 g 双嵌段共聚多肽溶于 10 mL 1,4-二氧六环中,配成浓度为

1 wt% 的溶液。剧烈搅拌下缓慢滴加(约 10 ~ 15 s/滴)相当于原溶液 25 wt% 的 H₂O,继续搅拌 24 h,然后一次性加入 2.5 mL H₂O,使聚合物的自组装形态固定。将溶液加入透析袋(透析相对分子量 *M_v* 7000),浸入蒸馏水中,透析约 48 h。将透析后得到的浑浊溶液离心,取上层清液,滴加到铜网上观察。

2 结果与讨论

2.1 NCA 单体的开环聚合反应

以 MPEG-NH₂ 为引发剂,在二氯甲烷溶液中,通过对 NCA 羰基的亲 and 取代使其开环,经过脱羧反应,再利用氨基酸的 α-氨基继续引发聚合。通过控制 MPEG/NCA 单体的摩尔比,来控制聚氨基酸的聚合度。聚合反应的历程^[16]见图 2。

2.2 嵌段共聚物 MPEG₄₄-*b*-Phe 的结构表征

2.2.1 红外光谱 图 3 为 AB 型二嵌段共聚多肽 MPEG₄₄-*b*-Phe₅₀ 和 MPEG₄₄-*b*-Phe₇ 的红外光谱图,其中 3280 cm⁻¹ 为酰胺中氨基的伸缩振动吸收峰;1650 cm⁻¹ 为酰胺中羰基伸缩振动吸收峰;1525 cm⁻¹ 为反式平面构型酰胺中氨基的弯曲振动与 C—N 键伸缩振动复合作用的特征吸收峰。谱图表明反应生成了肽键。

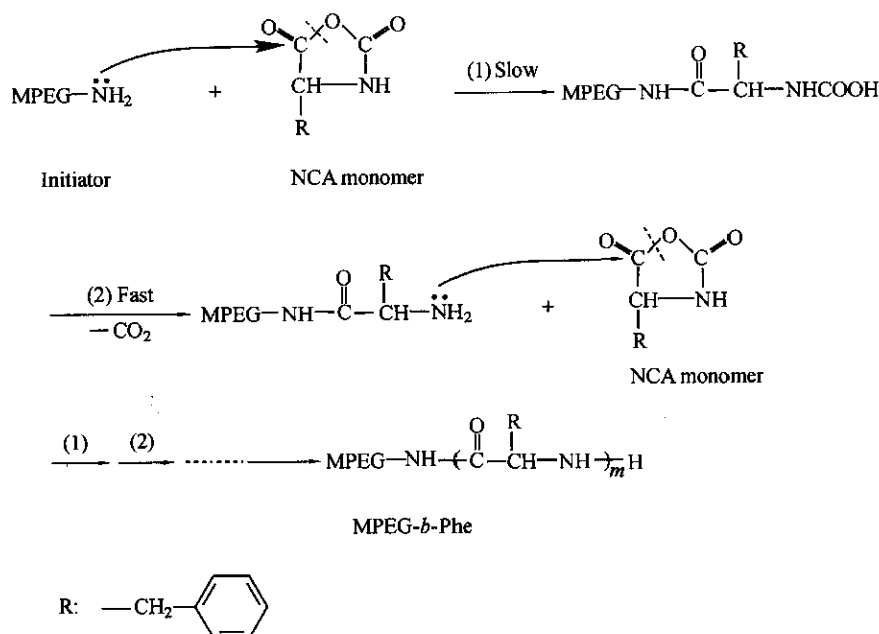
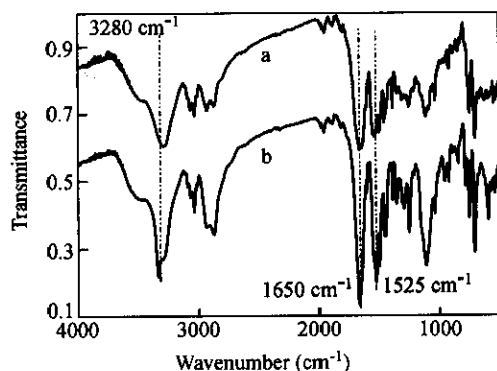
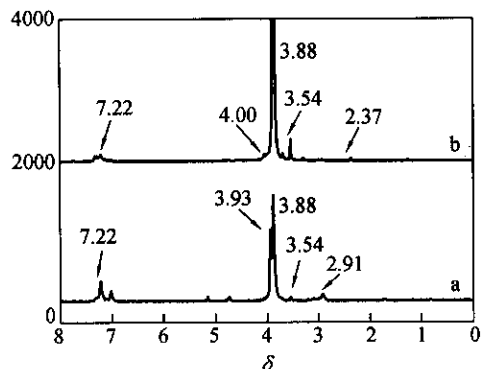


Fig. 2 Mechanism on reaction of polymerization

Fig. 3 IR spectra of MPEG₄₄-b-Phe₅₀ (a) and MPEG₄₄-b-Phe₇ (b)

2.2.2 核磁共振 图 4 是共聚物 MPEG₄₄-b-Phe₅₀ 和 MPEG₄₄-b-Phe₇ 的 ¹H-NMR 谱图。在 MPEG₄₄-b-Phe₇ 的谱图上, δ3.88 处吸收峰归属于共聚物中 MPEG 链段亚甲基质子(-CH₂)的化学位移; δ3.54 处吸收峰为 CH₃O-中甲基(-CH₃)质子的化学位移; δ2.37 处的吸收峰为聚苯丙氨酸链段亚甲基(-CH₂)质子的化学位移, δ4.00 处为聚苯丙氨酸链段次甲基(-CH-)质子的化学位移, δ7.22 附近的吸收峰是苯环上质子的化学位移。在 MPEG₄₄-b-Phe₅₀ 的谱图上, δ3.88 处吸收峰为 MPEG 链段亚甲基质子(-CH₂)的化学位移; δ3.54 处吸收峰为 CH₃O-中甲基(-CH₃)质子的化学位移; δ2.91 为聚苯丙氨酸链段亚甲基(-CH₂)质子的化学位移, δ3.93 为聚苯丙氨酸链

段次甲基(-CH-)质子的化学位移, δ7.22 附近的吸收峰是苯环上质子的化学位移。

Fig. 4 ¹H-NMR spectra of MPEG₄₄-b-Phe₅₀ (a) and MPEG₄₄-b-Phe₇ (b) (CF₃COOD)

2.2.3 凝胶渗透色谱 图 5 是聚合物 MPEG₄₄-b-Phe₇ 的 GPC 图。在曲线上只有一个单峰出现, 表明产物中没有其它物质, 所得到的产物是嵌段共聚物, 而不是均聚物与嵌段共聚物的混合物或者两种反应物的混合物。聚合物 MPEG₄₄-b-Phe₅₀ 的 GPC 结果与 MPEG₄₄-b-Phe₇ 的结果一致也是一单峰。GPC 测得 MPEG₄₄-b-Phe₇ 的分子量为 4070, 分子量分布为 1.20; MPEG₄₄-b-Phe₅₀ 的分子量为 10600, 分子量分布为 1.12。

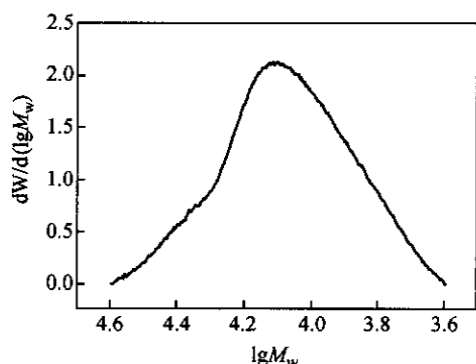


Fig. 5 GPC trace of MPEG₄₄-b-Phe₇ block copolymer

2.3 MPEG₄₄-b-Phe 双嵌段共聚物在水溶液中的自组装行为

图 6 为 MPEG₄₄-b-Phe₅₀ 和 MPEG₄₄-b-Phe₇ 自组装形成聚集体的透射电镜图. 共聚物 MPEG₄₄-b-Phe₅₀ 在水溶液中的自组装形态主要是胶束 (如图 6a), 直径在 100 ~ 150 nm 左右. 共聚物 MPEG₄₄-b-Phe₇ 在水溶液中的自组装形态为直径比较均一的胶束 (图 6b), 直径在 50 nm 左右. 由于共聚物 MPEG₄₄-b-Phe₇ 的亲水嵌段相对较长, 使其溶水性增强了, 所以在水溶液中的自组装形态也变得更简单均一了^[17].

综上所述, 本文以端氨基聚乙二醇单甲醚为引发剂, 引发苯丙氨酸的环内酸酐开环聚合, 所制

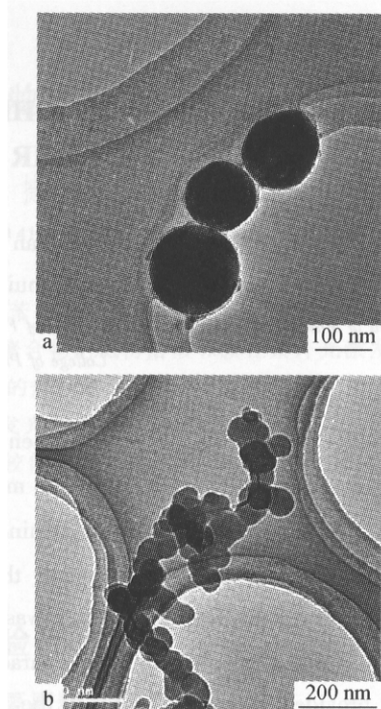


Fig. 6 TEM images of MPEG₄₄-b-Phe block copolymer in water
a) MPEG₄₄-b-Phe₅₀; b) MPEG₄₄-b-Phe₇

备的两亲性二嵌段共聚物 MPEG₄₄-b-Phe₅₀ 和 MPEG₄₄-b-Phe₇ 在水溶液中自组装形成胶束, 而且, 随着嵌段共聚物中亲水嵌段含量的增高, 共聚物在水溶液中的自组装形态更加均一.

REFERENCES

- 1 Shefelbine T, Vigid M, Matsen M. J Am Chem Soc, 1999, 121: 8457 ~ 8465
- 2 Goldacker T, Abetz V. Macromolecules, 1999, 32: 5165 ~ 5167
- 3 Desjardins A, van de Ven T G M, Eisenberg A. Macromolecules, 1992, 25: 2412 ~ 2421
- 4 Moffitt M, Khougaz K, Eisenberg A. Acc Chem Res, 1996, 29: 95 ~ 102
- 5 Yang Runmiao (杨润苗), Wang Yanmei (王延梅). Acta Polymerica Sinica (高分子学报), 2004, (3): 401 ~ 405
- 6 Shi Dongjian (施冬健), Liu Xiaoya (刘晓亚), Chen Mingqing (陈明清), Yang Cheng (杨成), Gu Zhengbiao (顾正彪), Xiang Fei (相飞). Acta Polymerica Sinica (高分子学报), 2004, (4): 600 ~ 604
- 7 Lee T A, Alan T C, Apkarian R P, Conticello V P. Adv Mater, 2000, 12: 1105 ~ 1110
- 8 Yu B G, Okano T. Journal of Controlled Release, 1998, 53: 131 ~ 136
- 9 Yu L, Kwon G S. Pharm Res, 2000, 17(5): 607 ~ 611
- 10 Lescure F, Gurny R, Dorker E. J Biomed Mater Res, 1989, (23): 1299 ~ 1313
- 11 Kim H J, Choi E Y. Biomaterials, 2000, 21: 131 ~ 141
- 12 Hildegard K, Helmut S, Markus A, Stephan F. J Am Chem Soc, 2002, 124: 1658 ~ 1663
- 13 Ciuffarin E, Isola M, Leoni P. J Org Chem, 1981, 46: 3064 ~ 3070
- 14 William H D, Poche D. Tetrahedron Letters, 1988, 29(46): 5859 ~ 5862
- 15 Yu K, Eisenberg A. Macromolecules, 1998, 31: 3509 ~ 3518
- 16 Yamashita Y, Iwaya Y, Ito K. Die Makromolekulare Chemie, 1975, 176: 1207 ~ 1210
- 17 Zhu J, Liao Y, Jiang W. Langmuir, 2004, 20(9): 3809 ~ 3812

SYNTHESIS OF AMPHIPHILIC DIBLOCK COPOLYMERS MPEG-*b*-Phe AND THEIR SELF-ASSEMBLY IN WATER

LI Liying¹, SUN Pingchuan¹, YAO Yang¹, ZHOU Huijing¹, CHEN Tiehong¹,

LI Baohui², JIN Qinghua², DING Datong²

(¹ Department of Materials Chemistry, Key Laboratory of Functional Polymer Materials for Adsorption and Separation of MOE, College of Chemistry,

² College of Physics, Nankai University, Tianjin 300071)

Abstract Poly(ethyl glycol)-*b*-poly(*L*-phenylalanine) AB diblock copolypeptides (MPEG₄₄-*b*-Phe₅₀ and MPEG₄₄-*b*-Phe₇) were synthesized from Phe-NCA monomer by using α -methoxy- ω -2-aminoethyl-poly(ethylene glycol) (MPEG-NH₂) as the initiator. *L*-phenylalanine *N*-carboxyanhydride(*b*-Phe-NCA) was prepared with the phosgene method(Fuchs-Farthing method), through the reaction of amino acids and triphosgene. The macromolecular initiator, amino-terminated (MPEG-NH₂) was prepared by converting the end group of hydroxyl to amino group. The structure of these copolymers were characterized by means of FTIR, ¹H-NMR and GPC. The results of these experiments provided direct evidence of the formation of the block copolymers. Self-assembled structures of the synthesized diblock copolymers in water were prepared by the dialysis method and the morphologies of the aggregates were investigated by TEM. The results proved that these amphiphilic diblock copolymers can self-assemble into micelles in water.

Key words Methoxy polyethylene glycol, Phenylalanine, Block copolymer, Self-assembly