

·研究简报·

聚肽嵌段共聚物中肽链构象对其自组装行为的影响*

朱国全 陈 涛 林嘉平** 董秀斌

(华东理工大学材料科学与工程学院 超细材料制备与应用教育部重点实验室 上海 200237)

关键词 聚肽共聚物, 自组装, 临界胶束浓度, 分子链构象

两亲性聚肽嵌段共聚物具有良好的生物相容性、生物安全性和可生物降解性, 其在选择性溶剂中自组装形成的胶束在药物控释载体方面有着良好的应用前景^[1~4]. Cho 等研究了聚(L-谷氨酸- γ -苯甲酯)(PBLG)-聚氧化乙烯(PEO)嵌段共聚物(PBLG-*b*-PEO)在水中的自组装性能, 发现 PBLG-*b*-PEO 在水中可形成球状的核壳结构胶束, 并对胶束的载药性能做了探讨^[1~3]. 最近作者报道了聚肽接枝共聚物(PBLG-*g*-PEO)的胶束化研究工作, 结果显示, PBLG-*g*-PEO 在水中可通过自组装形成纺锤状的胶束^[4]. 聚肽共聚物中的肽链会按螺旋状卷曲, 在分子内以氢键固定形成刚性棒状螺旋链结构. 当温度、溶剂等条件改变时, 形成的氢键又会被打开, 从而使刚性螺旋链段转变成无规线团, 并影响到分子链的刚性^[5~8], 这种变化会对其两亲性嵌段共聚物的自组装过程产生影响. 目前有关聚肽分子链构象的研究主要是溶液中聚肽分子链构象转变及聚肽相行为^[6~7], 而有关聚肽分子链构象转变对聚肽嵌段共聚物自组装行为的影响很少涉及.

本文通过透射电子显微镜(TEM)、粘度法、核磁共振(¹H-NMR)、红外光谱(IR)等测试手段研究了分子链构象转变对 PBLG-*b*-PEO 在乙醇中的自组装行为的影响. 实验结果表明, 溶液酸度的变化会改变聚肽分子链构象, 并进一步影响到形成胶束的临界浓度以及胶束的形貌. 研究结果可为制备 pH 敏感性药物释放体系提供参考.

1 材料和仪器

O-(2-氨基乙基)-*O'*-甲基聚乙二醇(数均分子量为 5000)购于 Sigma 公司, 其它试剂均为分析

纯. PBLG-*b*-PEO 嵌段共聚物按文献[9, 10]中报道的方法合成. 首先, 合成 γ -苯甲基-L-谷氨酸酯-N-羧酸酐, 然后以 *O*-(2-氨基乙基)-*O'*-甲基聚乙二醇为大分子引发剂, γ -苯甲基-L-谷氨酸酯-N-羧酸酐在 1,4-环己烷中聚合生成 PBLG-*b*-PEO 嵌段共聚物. 根据聚肽嵌段共聚物¹H-NMR 谱图中 PBLG 特征峰和 PEO 特征峰峰面积之比^[11], 计算得到所合成的 PBLG-*b*-PEO 嵌段共聚物分子量为 1.05×10^5 , 其中 PEO 链段摩尔百分含量为 19.9%.

2 胶束的制备及表征

先将 PBLG-*b*-PEO 溶解在氯仿(CHCl₃)/三氟醋酸(TFA)(不同体积比)混合溶剂中制成原液, 然后在搅拌下将适量的乙醇滴加入适量原液中(乙醇与原液体积比为 19:1), 得到共聚物胶束溶液. 将胶束溶液(浓度 0.1 g/L)滴加到碳膜铜网上, 在室温下干燥并用磷钨酸染色, 用透射电镜(Jem-GSX-500)观察胶束的形貌, 电流加速电压为 120 kV. 用 Ubbelohde 粘度计 25℃下测定两亲嵌段共聚物胶束稀溶液的粘度, 确定临界胶束浓度(CMC). 用核磁共振分析仪(Avance 550)和红外光谱仪(Nicolet SSXC, KBr 液膜法)研究两亲性聚肽嵌段共聚物分子链构象.

3 讨论

图 1 所示为 PBLG-*b*-PEO/CHCl₃/TFA 原液中不同有机酸含量对形成胶束形态的影响. 从图中可以看出, 随着原液 TFA 含量的增大, PBLG-*b*-PEO 共聚物胶束的形貌分别为(a)网状聚集态结构, 形态伸展, 相互间紧密缠绕;(b)蠕虫状结构, 相互间形成松散的缠绕;(c)带有近似球状结点的树枝状;(d)近似球状, 球直径约 100 nm;(e)分散

* 2006-01-09 收稿, 2006-03-20 修稿; 国家自然科学基金(基金号 50273011, 20574018)、上海市曙光计划(项目号 02SG025)、教育部博士点基金(基金号 20050251008)及上海市科学技术委员会纳米专项基金(基金号 0352nm109)资助项目;

** 通讯联系人, E-mail: jplinlab@online.sh.cn

的球形,球的直径约 100 nm.从图 1 可看到 PBLG-*b*-PEO 的聚集形态呈现出一个逐渐变化的过程.

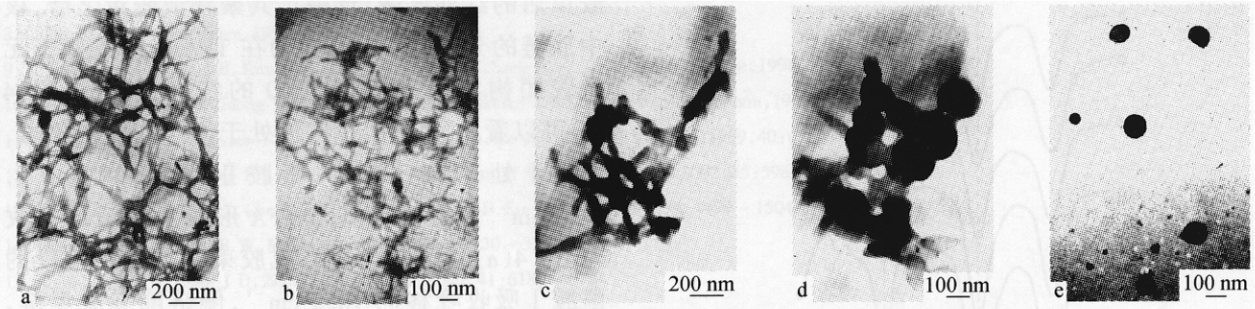


Fig.1 TEM photos for PBLG-*b*-PEO copolymer micelles formed in (CHCl₃ + TFA)/ethanol mixtures
The TFA volume fractions of CHCl₃/TFA mixed solvents in initial solutions are (a) 0; (b) 0.1; (c) 0.2; (d) 0.3 and (e) 0.4.

粘度法是测定两亲性共聚物中形成胶束的临界浓度的一种有效方法^[12,13].图 2(A)所示为共聚物浓度与粘度之间的关系,曲线(a)~(e)代表了不同的原液体系.溶液的粘度随着浓度的增大均呈现出“升高-下降-升高”的趋势(随浓度增加出现的第一个转折点对应的浓度为临界胶束浓度

CMC),符合形成多分子胶束的典型特征^[13],表明 PBLG-*b*-PEO 在乙醇中超过一定浓度时会聚集形成胶束.根据曲线的转折点求得 CMC,将其对原液中 TFA 含量作图(图 2B),由图 2(B)可知,随着原液中 TFA 含量的增加,共聚物的临界胶束浓度上升,表明共聚物形成胶束的能力下降.

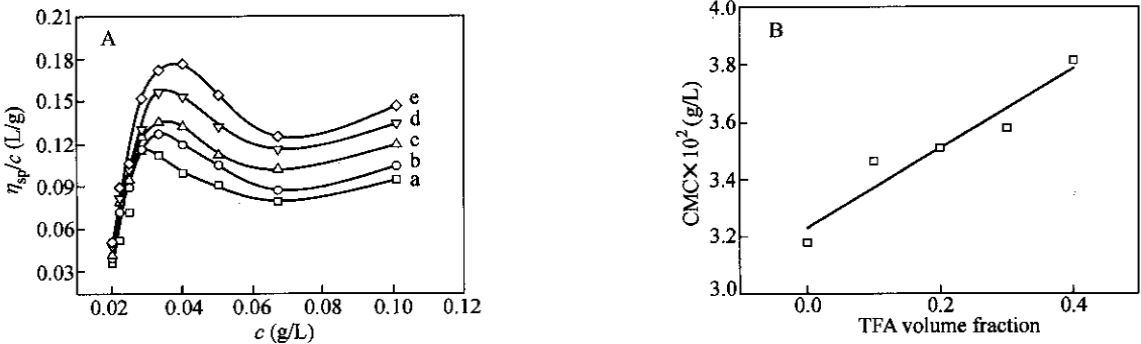


Fig. 2 η_{sp}/c versus PBLG-*b*-PEO concentration in (CHCl₃ + TFA)/ethanol mixtures (A) and plot of CMC against TFA volume fraction of CHCl₃/TFA mixed solvents in initial solutions (B)
The TFA volume fractions of CHCl₃/TFA mixed solvents in initial solutions are (a) 0; (b) 0.1; (c) 0.2; (d) 0.3; (e) 0.4.

运用¹H-NMR 研究了原液中 TFA 含量对 PBLG 链段构象的影响,结果如图 3 所示.图 3(a)为原液中 TFA 含量为 0 时的¹H-NMR 谱图, $\delta = 8.25$ 处宽峰为 NH 质子峰,是 PBLG 链段呈现 α -螺旋构象的典型峰形^[14].加入 TFA 后,在 TFA 分子的作用下,PBLG 链段的分子内氢键解体,PBLG 链段由刚性的 α -螺旋构象向无规线团构象转变,NH 峰位置移向高场(图 3b),PBLG 链段的刚性降低、柔性增加^[14].随着体系中 TFA 浓度的增加,NH 与 TFA 的分子间氢键作用有所增强,由于氢键的去屏蔽作用,NH 的峰位置又略向低场方向移动(图 3c~e).

图 4 为 PBLG-*b*-PEO 及其胶束的红外谱图,

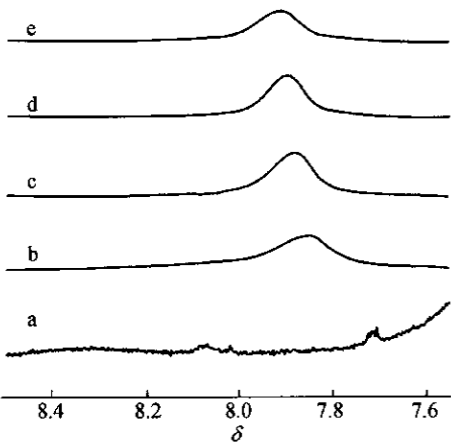


Fig. 3 ¹H-NMR spectra for PBLG-*b*-PEO copolymer in CDCl₃/TFA mixed solvents with different TFA volume fraction
a) 0; b) 0.1; c) 0.2; d) 0.3; e) 0.4

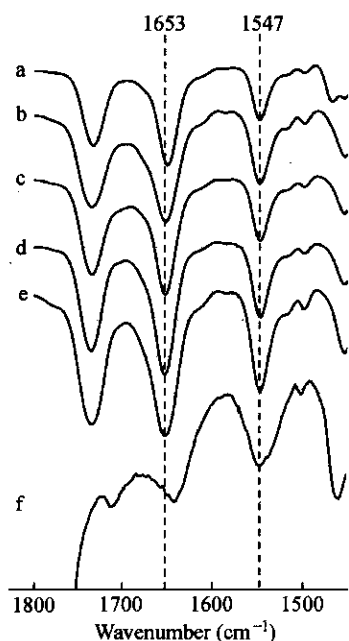


Fig. 4 IR spectra of PBLG-*b*-PEO copolymer and its polymeric micelles

(a) ~ (e): PBLG-*b*-PEO copolymer micelles formed in (CHCl₃ + TFA)/ethanol mixtures with different TFA volume fraction

a) 0; b) 0.1; c) 0.2; d) 0.3; e) 0.4; f) PBLG-*b*-PEO copolymer in CHCl₃/TFA mixture; The volume fraction of TFA is 0.4.

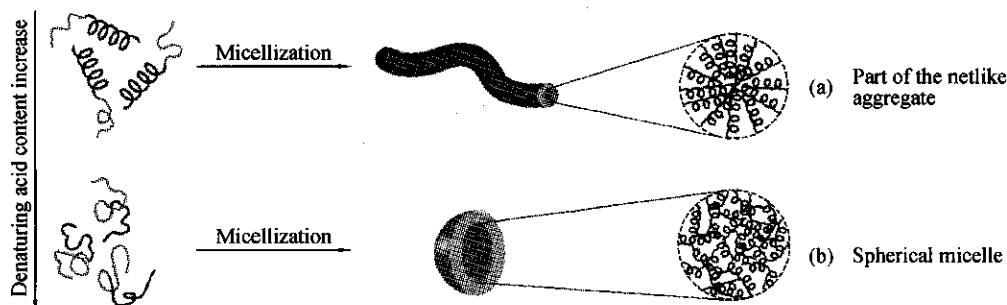


Fig. 5 Schematic representation for the formation of micelles of PBLG-*b*-PEO copolymer with variation acid fraction

和团聚,在加入乙醇形成胶束的过程中,乙醇的存在会使 TFA 的浓度降低,从而使得 PBLG 无规线团转变为 α -螺旋构象.但 TFA 的存在会造成 α -螺旋构象的缺陷,刚性下降,酸含量越大,柔性越

其中(a)~(e)为不同酸含量下 PBLG-*b*-PEO 形成胶束后的红外谱图,反映了共聚物成胶束之后,核中肽链的分子链构象;(f)为在 TFA 作用下处于无规线团构象的 PBLG-*b*-PEO 的红外谱图.从图 4 (f)可以看出,当 PBLG 链段处于无规线团构象时,酰胺 I 处于 1641 cm⁻¹,酰胺 II 处于 1547 cm⁻¹,1709 cm⁻¹为侧链酯基与 TFA 形成氢键后的吸收峰.图 4(a)~(e)显示,形成胶束后,PBLG 链段的酰胺 I 吸收峰移向 1653 cm⁻¹,侧链酯基脱氢键,1709 cm⁻¹吸收峰消失,在 1732 cm⁻¹出现侧链酯基吸收峰,酰胺 II 峰位置没有出现明显位移,都为 α -螺旋构象的特征峰^[7],红外的结果显示胶束中的聚肽链具有 α -螺旋构象,表明在胶束形成过程中,PBLG 链段发生了由无规线团构象向 α -螺旋构象的转变.

综合研究的结果表明,在原液中未加 TFA 时,嵌段共聚物中的 PBLG 链段采取刚性螺旋构象.加入乙醇后,这些刚性很强的肽链可有序地径向发散排列,形成组装体的核心,外部包覆 PEO 链段,呈现出网状结构,如图 5(a)所示.当原液中加入 TFA 后,PBLG 链段的螺旋构象解体,转变为无规线团构象,分子链的柔性增加,链段易于折叠

大^[15],于是造成组装体形状的逐步变化.当 TFA 含量较高时,具有一定柔性的 PBLG 链段可充分折叠,以达到自由能最小化,形成了球形胶束,如图 5(b)所示.

REFERENCES

- Nah J W, Jeong Y I, Cho C S. J Polym Sci Part B: Polym Phys, 1998, 36: 415 ~ 423
- Nah J W, Jeong Y I, Cho C S, Kim S I. J Appl Polym Sci, 2000, 75: 1115 ~ 1126
- Jeong Y I, Nah J W, Lee H C, Kim S I, Cho C S. International Journal of Pharmaceutics, 1999, 188: 49 ~ 58
- Tang D M, Lin J P, Lin S L, Chen T, Tian X H. Macromol Rapid Commun, 2004, 25: 1241 ~ 1246
- Zhang Suning(章苏宁), Chen Tao(陈涛), Lin Jiaping(林嘉平). Polymer Bulletin(高分子通报), 2004, (3): 19 ~ 28

- 6 Lin J P, Abe A, Furuya H. *Macromolecules*, 1996, 29: 2584 ~ 2589
- 7 Liu N, Lin J P, Chen T, Chen J D, Zhou D F, Li L. *Polym J*, 2001, 33: 898 ~ 901
- 8 Dupre D B. *Biopolymers*, 1990, 30: 1051 ~ 1060
- 9 Jeong Y I, Chenon J B, Kim S H, Nah J W, Lee Y M, Sung Y K. *J Controlled Release*, 1998, 51: 169 ~ 178
- 10 Cho C S, Cheon J B, Jeong Y I, Kim I S, Kim S H, Akaike T. *Macromol Rapid Commun*, 1997, 18: 361 ~ 369
- 11 Cho C S, Nah J W, Jeong Y I, Cheon J B, Asayama S, Ise H, Akaike T. *Polymer*, 1999, 40: 6769 ~ 6775
- 12 Wang M, Jiang M, Ning F L, Chen D Y, Liu S Y, Duan H W. *Macromolecules*, 2002, 35: 5980 ~ 5989
- 13 Xu Z S, Feng L X, Ji J, Cheng S Y, Chen Y C, Yi C F. *Eur Polym J*, 1998, 34: 1499 ~ 1504
- 14 Ferretti J A, Ninham B W. *Macromolecules* 1970, 30: 30 ~ 33
- 15 Lin J P, Liu N, Chen J D, Zhou D F. *Polymer*, 2000, 41: 6189 ~ 6194

THE EFFECT OF POLYPEPTIDE CHAIN CONFORMATION ON THE SELF-ASSEMBLY BEHAVIOR OF ITS BLOCK COPOLYMER

ZHU Guoquan, CHEN Tao, LIN Jiaping, DONG Xiubin

(Key Laboratory for Ultrafine Materials of Ministry of Education, School of Materials Science and Engineering,
East China University of Science and Technology, Shanghai 200237)

Abstract Polymeric micelles were prepared by dropping ethanol into solutions containing poly(γ -benzyl L-glutamate)-poly(ethylene oxide) block copolymer (PBLG-*b*-PEO), chloroform (CHCl_3) and trifluoroacetic acid (TFA). Viscometry, transmission electron microscopy (TEM), nuclear magnetic resonance (^1H -NMR) spectroscopy and infra-red difference spectroscopy (IR) were used to investigate the influence of PBLG chain conformation on the self-assembly behavior of PBLG-*b*-PEO. The experimental results revealed that PBLG-*b*-PEO could associate into polymeric micelles in ethanol solutions. The introduction of TFA not only changes the conformation of PBLG segments, but also increases the critical micelle concentration, and further affects the morphologies of the formed micelles.

Key words Polypeptide copolymer, Self-assembly, Critical micelle concentration, Chain conformation