

聚赖氨酸为主链的牙刷状分子刷的可控合成*

于 雷 刘 宇 符文鑫** 李志波**

(中国科学院化学研究所 高分子物理与化学实验室 北京 100190)

摘 要 设计合成了溴基功能化的赖氨酸单体(Br-lys)并通过关环反应制备了对应的溴代 L-赖氨酸 *N*-羧酸酐(Br-Lys-NCA)单体. 利用过渡金属引发剂 Ni(COD)depe 调控的 NCA 活性开环聚合和顺序添加单体的方法,得到了组成和结构明确的聚(ϵ -苄氧羰基 L-赖氨酸)-*b*-PBrLL(PZLL-PBrLL)两嵌段共聚物. 利用 PZLL-*b*-PBrLL 两嵌段共聚物为大分子引发剂,通过 ATRP 引发甲基丙烯酸寡聚乙二醇酯(EGMA),合成了以聚赖氨酸为骨架的牙刷状分子刷. 研究发现 PZLL-PBrLL 两嵌段在四氢呋喃中形成 α -螺旋结构,螺旋度随着 PBrLL 链段的生长而降低,而 PZLL-*b*-(PBrLL-*g*-PEGMA)形成部分 α -螺旋构象,螺旋度随侧链 PEGMA 增长而减小.

关键词 聚氨基酸,开环聚合,牙刷状分子刷,原子转移自由基聚合, α -螺旋

聚合物分子刷是一类特殊类型的接枝共聚物^[1,2],其结构与人体中的蛋白聚糖(proteoglycans)十分相似^[3]. 蛋白聚糖是一种以蛋白质为骨架,糖类分子作为侧链高密度接枝的生物大分子,而蛋白聚糖在人体内发挥着软骨组织承压以及润滑等重要作用. 因此研究聚合物分子刷具有重要的科学意义. 合成聚合物分子刷一般有三种方法:“grafting through”,“grafting onto”以及“grafting from”^[4]. 过去关于聚合物分子刷的工作大部分集中在以不能够降解的碳碳键为主链,因此发展新方法来合成新型可降解的聚合物分子刷具有重要的价值. 聚氨基酸多肽材料与传统的高分子材料相比,具有良好的生物相容性及生物可降解性,因而成为当前高分子材料研究的热门的领域之一^[5-8]. 而且聚氨基酸多肽材料在溶液或者固体状态具有丰富的可调节的二级结构,如 α 螺旋构象、 β 折叠构象等. 最近关于发展新方法合成功能化聚氨基酸分子刷成为一个研究热点,主要有利用点击反应的 grafting onto 方法和设计新单体的 grafting-from 方法. Hammond 课题组利用点击化学将聚乙二醇(PEG)接枝在炔基取代的聚谷氨酸(PPLG)骨架的侧链上形成亲水性的聚氨基酸分子刷^[9]. Zhang 等报道了利用点击反应合成具有核壳结构的螺旋聚合物分子刷^[10]. 林嘉平课题组报道了聚谷氨酸酯侧链接枝的

PEG 在水溶液中的自组装行为^[11]. 陈学思课题组报道了以 γ 位氯代聚谷氨酸多肽(PCELG)作为大分子引发剂,通过 ATRP 反应来制备温度响应性柱状分子刷^[12]. 我们课题组最近报道了溴代聚赖氨酸(PBrLL)作为大分子引发剂,通过 ATRP 反应制备分别以 PS 以及 PEGMA 作为侧链的分子刷的工作^[13],并利用 thiol-yne 光化学加成合成了杂臂的聚氨基酸分子刷^[14],以及结合开环聚合和点击反应合成 DNA 接枝的聚氨基酸分子刷^[15]. 程建军课题组报道了侧链为聚氨基酸分子刷的合成^[16],并研究其分子刷的构型对侧链聚氨基酸构象的影响^[17]. 此外,Deming 课题组报道了通过一锅两步法合成主链和侧链都是聚氨基酸的分子刷^[18].

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

N ϵ -CBZ-L-Lysine-OH 及 *N* α -CBZ-L-Lysine-OH,上海吉尔生化公司,直接使用. 二氯甲烷、四氢呋喃(THF)和正己烷经过高纯氮鼓泡除氧以后再经过活性氧化铝柱干燥后使用;*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)经过 Aldrich 公司的自由胺甲醛处理和 4 Å 分子筛及活性氧化铝柱干燥后使用;乙酸乙酯经 CaH₂干燥、蒸馏后使用;二氯甲烷经脱气装置与 CaH₂处理,真空蒸馏后使用,以上试剂均

* 庆祝王佛松院士 80 华诞专稿;2012-12-24 收稿,2013-01-16 修稿;国家自然科学基金(基金号 20974112)、国家自然科学基金国家杰出青年科学基金(基金号 51225306)资助项目.

** 通讯联系人,E-mail: fuwenxin@iccas.ac.cn; zbli@iccas.ac.cn

doi:10.3724/SP.J.1105.2013.12424

购于国药集团化学试剂北京有限公司. CuBr (纯度 $\geq 98\%$), Aldrich 公司, 经过冰醋酸酸化处理, 再依次用乙醇、乙醚洗涤 3 次后使用. EGMA ($M_n = 300, 98\%$), Aldrich 公司, 经碱性氧化铝柱处理后使用. Ni(COD)₂ (Strem)、溴代异丁酰溴 (Aldrich)、depe 配体和 *N, N, N', N', N''*-pentamethyl-diethylenetriamine (PMDETA) (Acros) 购买后均直接使用. 去离子水 (18.2 mΩ), 经 Millipore Milli-Q 纯水仪纯化后使用.

核磁共振氢谱和碳谱采用 Bruker AV400 FT-NMR spectrometer. 质谱 ESI-MS 使用 Bruker Daltonics Inc. APEX II FT-ICR 质谱仪; MALDI-TOF-MS 使用 Bruker BIFLEX III 质谱仪. 红外采用 Nicolet Avatar 330 FTIR spectrometer. 凝胶渗透色谱 (GPC) 采用 Wyatt Optilab 数字信号处理器和 Wyatt DAWN EOS 光散射检测器联用系统, 流动相为含 0.02 mol/L LiBr 的 DMF, 流速 1.0 mL/min. 常温和变温圆二色光谱 (CD) 采用英国应用光物理公司的 Chirscan-Plus 型圆二色光谱仪.

1.2 牙刷状聚合物 PZLL-*b*-PLL-*g*-PEGMA 的合成

1.2.1 *Nε*-CBZ-L-Lysine-*N*-carboxyanhydride (Lys-NCA) (M1) 的合成

往 500 mL Schlenk 烧瓶中加入 *Nε*-CBZ-L-Lysine-OH 单体 (10 g, 35.7 mmol) 和三光气 (1.15 eq, 4.05 g), 抽真空、通氮气循环 3 次, 在氮气氛围下加入 120 mL 无水四氢呋喃, 然后在 50 °C 下反应 4 h 后, 直接减压浓缩将溶剂抽干得到乳白色固体, 然后转移至手套箱中, 用 20 mL 无水 THF/120 mL 无水正己烷重结晶 3 次, 得到白色固体, 产率约为 40%. FTIR (THF): 3350, 2905, 2850, 1852, 1793, 1640, 1502, 1250, 1105 和 934 cm⁻¹.

1.2.2 Poly (*Nε*-CBZ-L-Lysine) (PZLL) (P1) 的合成

手套箱中, 向一 20 mL 的样品瓶中加入新制 Lys-NCA (100 mg, 0.33 mmol), 2 mL DMF, 得到浅黄色透明溶液. 然后用移液枪向体系中迅速加入 45 μL 新配制 Ni(COD) depe (20 mg/mL 的 THF 溶液, 根据文献上的方法配置^[19]), 溶液立刻变成澄清的亮黄色. 室温反应, 红外监测, 直至红外光谱中 NCA 的特征峰 (1852, 1793 和 922 cm⁻¹) 完全消失后. 取部分溶液用于 FTIR 和 GPC/LLS 表征, 大部分溶液备用, 用于嵌段共聚

肽合成. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, TMS, 20 °C, δ): 7.08 (CONHCH₂, 1H, s), 4.99 (OCONHCH, 1H, s), 3.86 (NHCHCOOH, 1H, s), 3.25 ~ 3.50 (NH₂CH₂CH₂, 2H, d), 1.94 (CH(CH₃)₂, 6H, s), 1.43 ~ 2.08 (CHCH₂CH₂CH₂CH₂, 6H, m). FTIR (THF): 3350, 2905, 2850, 1640, 1502 和 1105 cm⁻¹.

1.2.3 *Nε*-bromoisobutyryl-*Nα*-CBZ-L-Lysine-OH (Br-Lys) (M2) 的合成

往 250 mL 圆底烧瓶中加入 *Nα*-CBZ-L-Lysine (6.02 g, 21.50 mmol), NaHCO₃ (3.35 g, 33.50 mmol), 100 mL 四氢呋喃和 6 mL 水, 室温下充分搅拌 20 min 至澄清, 之后将体系冷却至 0 °C, 向体系中滴加 5.5 mL 溴代异丁酰溴 (3.0 g, 13.07 mmol), 30 min 内滴完, 继续反应 3 h 至整个溶液变澄清. 然后旋蒸浓缩至起始体积的四分之一, 用 1 mol/L 盐酸将其调节至 pH ca. 2, 然后用 100 mL 二氯甲烷快速萃取 3 次, 合并有机相再分别用 50 mL 的去离子水、100 mL 饱和食盐水各洗 1 次, 无水 MgSO₄ 干燥后减压除去溶剂得到油状浅黄色粗产物, 经快速柱层析分离 (*V*(乙酸乙酯): *V*(二氯甲烷) = 1:1), 得到无色黏稠状产物 3.03 g, 产率约 46.5%. ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, TMS, 20 °C, δ): 7.26 ~ 7.36 (C₆H₅, 5H, m), 6.82 (CONHCH₂, 1H, s), 5.55 ~ 5.57 (OCONHCH, 1H, d), 5.10 (C₆H₅CCH₂, 2H, s), 4.36 (NHCHCOOH, 1H, s), 3.21 ~ 3.29 (NH₂CH₂CH₂, 2H, m), 1.92 (CH(CH₃)₂, 6H, t), 1.40 ~ 2.05 (CHCH₂CH₂CH₂CH₂, 6H, m). ¹³C-NMR (400 MHz, CDCl₃, 20 °C, δ): 175.6 (COOH), 172.6 (HNCOCH), 161.8 (OCONH), 136.1 (ArC-1), 128.0 ~ 128.7 (ArC-2, ArC-3, ArC-4), 67.1 (ArCH₂O), 62.9 (NHCHCOOH), 53.5 (CH(CH₃)₂Br), 39.8 (CH₂CH₂NHCO), 32.5 (CH(CH₃)₂), 31.9 (CHCH₂CH₂), 28.8 (NHCH₂CH₂CH₂), 22.2 (CHCH₂CH₂CH₂). ESI-MS: C₁₈H₂₅BrN₂O₅ [M + H⁺] *m/z* 理论值: 428.09; 实测值为 429.1. C₁₈H₂₅BrN₂O₅ 元素分析, 理论值: C 50.36, H 5.87, N 6.53, Br 18.61. 实测值: C 50.39, H 5.85, N 6.48, Br 18.56.

1.2.4 *Nε*-Bromoisobutyryl-L-Lysine *N*-carboxyanhydride (Br-Lys-NCA) (M3) 的合成

在 250 mL Shlenk 瓶中加入 Br-Lys 单体 (3.25 g, 7.59 mmol), 抽真空通氮气循环 3 次, 在

氮气氛围下依次加入 120 mL 无水二氯甲烷,二氯甲醚(0.86 mL, 9.87 mmol, 1.3 equiv), 35℃下反应 36 h 后,冷却至室温.减压抽干溶剂,快速柱层析分离(V (无水乙酸乙酯): V (二氯甲烷) = 1:8)^[15],得到黄色黏稠状固体 1.53 g,产率约 50%,氮气氛围下保存.¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃, TMS, 20℃, δ): 6.87(CONHCH₂, 1H, s), 6.61(OCNHCH, 1H, s), 4.34(NHCHCOOH, 1H, s), 3.39~3.22(NH₂CH₂CH₂, 2H, m), 1.95~2.03(CH(CH₃)₂, 6H, t), 1.43~2.07(CHCH₂-CH₂CH₂CH₂, 6H, m). FTIR(THF): 3350, 2905, 2850, 1852, 1793, 1640, 1502, 1105 和 934 cm⁻¹.

1.2.5 PZLL-*b*-PBrLL(**P2**)两嵌段共聚肽的合成与表征

手套箱中,将 Br-Lys-NCA(100 mg, 0.31 mmol)溶于 2 mL 无水 DMF 中得到浅黄色透明溶液,加入到已经聚合完成的 PZLL 反应体系中,室温下继续反应,直至红外光谱中 NCA 的特征峰(1852, 1793 和 922 cm⁻¹)完全消失后,加入约 20 mL 乙醚沉淀溶液,离心后烘干得到白色固体,产率约为 85%.¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃, TMS, 20℃, δ): 7.08(CONHCH₂, 1H, s), 4.99(OCNHCH, 1H, s), 3.86(NHCHCOOH, 1H, s), 3.25~3.50(NH₂CH₂CH₂, 2H, d), 1.94(CH(CH₃)₂, 6H, s), 1.43~2.08(CHCH₂CH₂CH₂-CH₂, 6H, m). FTIR(THF): 3350, 2905, 2850, 1720, 1650, 1510 和 1105 cm⁻¹.

1.2.6 PZLL-*b*-(PLL-*g*-PEGMA)(**P3**)牙刷状分子刷的合成与表征

牙刷状分子刷 PZLL-*b*-(PLL-*g*-PEGMA)经由嵌段共聚物 PZLL-*b*-PBrLL 作为 ATRP 反应的大分子引发剂,选用 EGMA 为单体(M_n = 300), PMDETA 作为配体.反应示例如下:在 20 mL 聚合管中依次加入 PZLL₇₀-*b*-PBrLL₄₀ 15.0 mg(0.0204 mol), EGMA 1.224 g(2.57 mmol), PMDETA 10.80 mg(13 μ L, 0.062 mmol)以及 2.0 mL 无水 DMF,混合均匀.反应体系经由 3 次冷冻—抽气—解冻的循环而后在氮气保护下加入 2.88 mg(0.0203 mmol) CuBr 以及 0.45 mg CuBr₂(0.002 mmol),液氮冷冻抽真空 30 min 后封管解冻.之后 60℃反应 2 h,停止反应,加入过量乙醚沉淀,经碱性氧化铝色谱柱分离除去铜催化剂,减压旋蒸抽干溶剂得到浅绿色固体.

2 结果与讨论

2.1 PZLL-*b*-PBrLL 两嵌段共聚肽的合成与表征

关于氨基酸侧链引入氯代的研究已有相关报道^[20].通过叠氮化取代可以将氯原子取代成叠氮官能团用于点击反应.为了提高反应活性,我们报道了在 α 位氨基 CBZ 保护的赖氨酸通过溴代异丁酰溴在 ε 位氨基处引入溴基官能团,得到的单体通过二氯甲醚关环可以获得可聚合的 Br-Lys NCA 单体^[13],用于合成两嵌段共聚肽.

如图 1 所示意,在成功合成 Lys-NCA 和 Br-Lys-NCA 后,我们采用过渡金属引发剂通过顺序加料方法来首先制备嵌段共聚肽.已知基于 Ni(COD)depe 引发的 NCA 开环聚合是一个活性聚合,其分子量与单体转化率成正比,在一个单体聚合完成以后能够继续引发第二种单体的开环聚合.为了合成两嵌段共聚肽大分子引发剂,我们以 Ni(COD)depe 为引发剂,首先通过开环聚合合成 PZLL 均聚物(**P1**).反应一般进行 1 h 后,FTIR 检测证明 NCA 的 3 个特征峰(1852, 1793 和 922 cm⁻¹)全部消失,说明 **M1** 已经聚合完成,同时聚氨基酸酰胺键的特征峰出现,说明聚合的成功.图 2 比较 **M1** 和 **M3** 的特征红外谱图来说明结构的转变.开环聚合完成以后,取少量 PZLL 均聚物进行 GPC/LLS 表征.然后加入 **M3** 单体溶液继续进行开环聚合,一般反应过夜后,FTIR 证明 **M3** 单体已经聚合完成得到 **P2**.如图 2 所示红外谱图,聚合之后 **M3** 的 3 个 NCA 特征峰消失,说明 **M3** 的成功聚合.然后取少量样品进行 GPC/LLS 表征,其它样品经沉淀纯化后得到 PZLL-*b*-PBrLL 两嵌段共聚肽.

通过调节单体与引发剂的比例,我们可以实现对 PZLL 均聚物分子量的控制.在这个工作中,我们合成了聚合度(DP)为 45, 70 和 95 的 3 个样品,对应的 PDI 分别为 1.15, 1.08 和 1.20,分离后的产率大于 88%.由于 Ni(COD)depe 调控的 NCA 开环聚合是一种可控活性聚合,因此加入第 2 种 NCA 单体以后能够继续进行链的增长,从而得到两嵌段共聚肽.如图 3 所示,GPC/LLS 结果说明共聚物的流出体积明显左移,说明聚合物分子量的增加,而且反应后得到聚合物的分子量分布依然很窄,也证明第二步引发也属于活性可控聚合. PZLL-*b*-PBrLL 两嵌段共聚肽的合成可以进

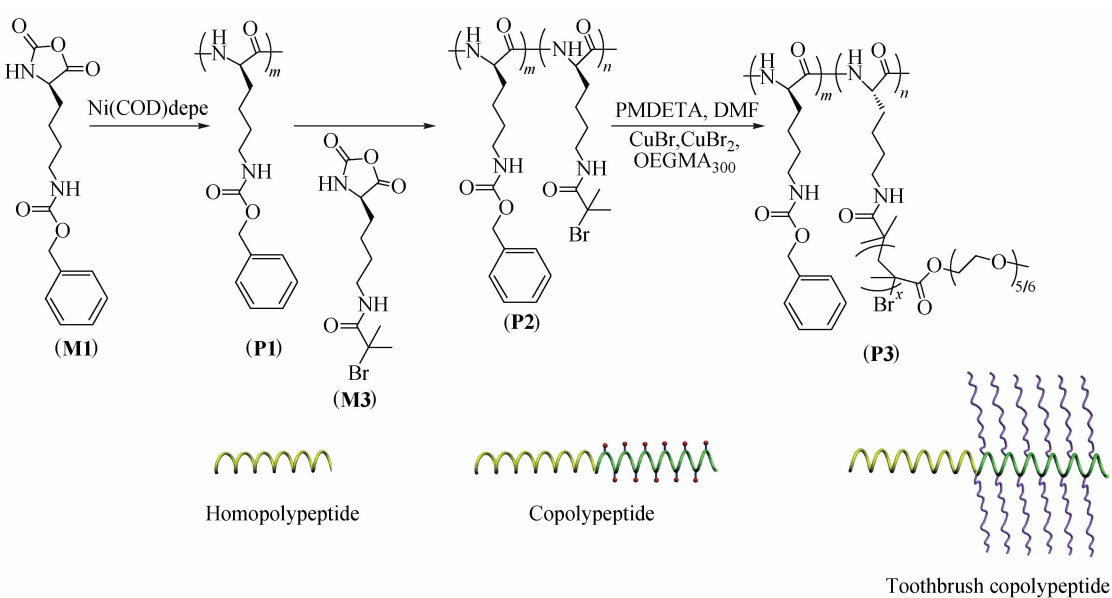


Fig. 1 Synthetic routes to PZLL-*b*-(PLL-*g*-POEGMA) toothbrush copolypeptides

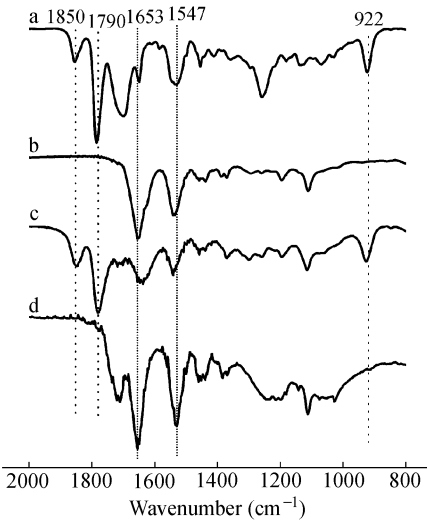


Fig. 2 FTIR spectra of monomer and polypeptides: (a) *N* ϵ -CBZ-Lys-NCA and (b) PZLL homopolyptide, (c) Br-Lys-NCA, (d) PZLL-*b*-PBrLL diblock copolypeptide

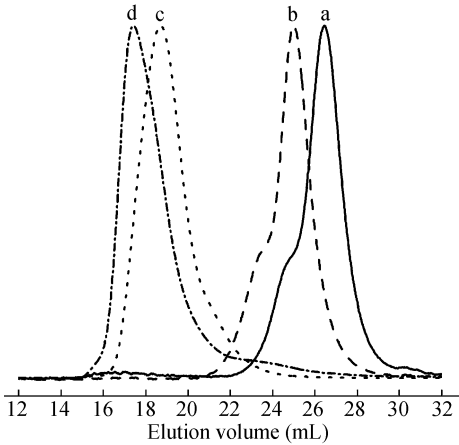


Fig. 3 GPC curves of linear and brush polymers: (a) PZLL₇₀, (b) PZLL₇₀-*b*-PBrLL₄₀, (c) PZLL₇₀-*b*-(PLL₄₀-*g*-PEGMA₁₉) and (d) PZLL₇₀-*b*-(PBrLL₄₀-*g*-PEGMA₄₂)

一步通过核磁氢谱来证明. 如图 4 所示,除了聚氨基酸主链的共振峰, $\delta = 1.6 \sim 1.9$ 对应的是 PZLL 均聚物中赖氨酸侧链的亚甲基质子峰. 而嵌段共聚物 PZLL-*b*-PBrLL 谱图中在 $\delta = 2.0$ 处出现了很强甲基质子峰,对应的是溴代异丁基的甲基的质子峰,这也说明嵌段共聚物的形成.

2.2 牙刷状分子刷 PZLL-*b*-(PLL-*g*-PEGMA) 的合成与表征

如图 1 所示,利用过渡金属引发和顺序加料能够得到结构组成明确和分子量分布较窄的

PZLL-*b*-PBrLL 两嵌段共聚肽,其中 PBrLL 链段带有溴官能团能够作为原子转移自由基聚合(ATRP)的活性引发位点. 我们选择 PZLL₉₅-*b*-PBrLL₃₆, PZLL₇₀-*b*-PBrLL₄₀, PZLL₇₀-*b*-PBrLL₈₈, PZLL₄₅-*b*-PBrLL₇₀这 4 个两嵌段共聚肽作为 ATRP 的大分子引发剂和水溶性的 EGMA 为单体来合成牙刷状的共聚肽分子刷.

我们利用核磁氢谱以及 GPC/LLS 对牙刷状聚合物 PZLL-*b*-(PLL-*g*-PEGMA)进行表征. 从图 3 可以看出,从大分子引发剂 PZLL₇₀-*b*-PBrLL₄₀到牙刷状聚合物 PZLL₇₀-*b*-(PLL₄₀-*g*-PEGMA₁₉)和 PZLL₇₀-*b*-(PLL₄₀-*g*-PEGMA₄₂),样品在 GPC 中流

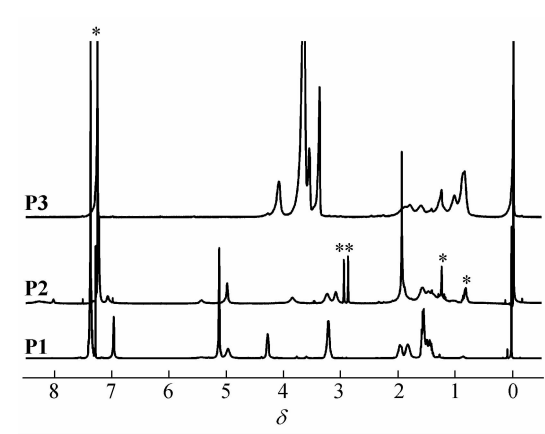


Fig. 4 ^1H -NMR spectra of PZLL (P1) homopolymer, PZLL-*b*-PBrLL (P2) diblock copolymer and PZLL-*b*-(PLL-*g*-PEGMA) (P3) toothbrush copolymer (* indicates solvent peaks.)

出体积明显减小,说明聚合物分子量增加.此外,图3的GPC结果还说明PZLL₇₀-*b*-(PLL₄₀-*g*-PEGMA₄₂)的流出体积比PZLL₇₀-*b*-(PLL₄₀-*g*-PEGMA₁₉)小,说明分子刷PEGMA侧链的增长也引起样品流出体积的增加,以及GPC结果牙刷状聚合物的分子量分布很窄,从而证明ATRP聚合对侧链的可控性.此外,核磁氢谱也证明了

PEGMA侧链的成功聚合.如图4所示,从PZLL-*b*-PBrLL两嵌段到PZLL-*b*-(PLL-*g*-PEGMA)牙刷状分子刷,位于 $\delta = 1.6 \sim 1.9$ 处聚赖氨酸侧链的亚甲基质子峰的共振峰没有变化,但是 $\delta = 2.0$ 处归属于溴代异丁基的甲基质子峰会消失,说明ATRP的发生.同时PZLL-*b*-(PLL-*g*-PEGMA)牙刷状分子刷的样品在 $\delta = 3.6 \sim 4.0$ 之间会出现较强的共振峰,对应着PEGMA侧链上的乙二醇单元的亚甲基质子峰.需要指出的是,在PZLL-*b*-(PLL-*g*-PEGMA)的核磁共振氢谱中,由于侧链PEGMA的摩尔含量远远多于聚赖氨酸主链骨架的官能团,所以一般情况下主链骨架的信息在核磁氢谱中就显示得不是很清晰.但PZLL链段由于没有可以引发EGMA单体聚合的活性位点,因此聚赖氨酸侧链的亚甲基质子峰不会消失.通过改变EGMA单体与大分子引发剂的摩尔比,我们合成了一系列牙刷状分子刷聚合物,具体参数见表1.从表1的信息来看,所得牙刷状聚合物的分子量分布都很窄,这体现了ATRP活性聚合的特点,而且主链骨架嵌段共聚物的两组分比例呈现良好的梯度变化.

Table 1 Molecular parameters of toothbrush polypeptides-PZLL_m-*b*-(PLL_n-*g*-PEGMA_y)

Sample	PZLL _m - <i>b</i> -(PLL _n - <i>g</i> -PEGMA _y) ^a			$M_n \times 10^{-4}$ ^b	Conv ^c (%)	PDI
	<i>m</i>	<i>n</i>	<i>y</i>			
P3-1	95	36	22	26.7	30.2	1.20
P3-2	95	36	15	18.5	24.5	1.32
P3-3	70	40	19	25.6	21.5	1.27
P3-4	70	40	42	53.3	33.4	1.23
P3-5	70	88	26	73.8	31.1	1.29
P3-6	70	88	37	100.9	38.2	1.14
P3-7	45	70	22	49.2	32.8	1.23

^a *m*, *n*, and *y* represent degree of polymerization for each block; ^b Determined from GPC/LLS; ^c Estimated from GPC/LLS data and feeding ratio of [EGMA]:[PZLL-*b*-PBrLL]

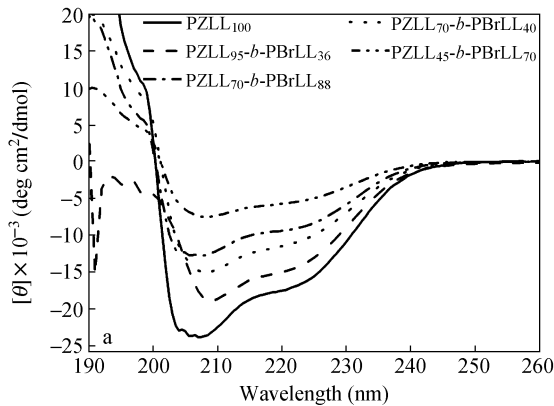
2.3 嵌段共聚物以及牙刷状聚合物的二级结构的研究

一般情况下,由于NCA开环聚合不会改变氨基酸单元的本征手性特征,因此得到的聚氨基酸具有一定二级结构.对于PZLL-*b*-PBrLL两嵌段和PZLL-*b*-(PLL-*g*-PEGMA)分子刷,其主链都是聚赖氨酸,但是侧链性质的改变会影响其二级结构,因此我们利用圆二色光谱(CD)来研究溴代聚赖氨酸和PEGMA侧链的影响.将PZLL均聚物以及PZLL-*b*-PBrLL嵌段共聚物配成THF溶液,室温下测圆二色光谱.如图5(a)所示,208 nm和222 nm

处分别有负的圆二色吸收带,这证明PZLL和PZLL-*b*-PBrLL两嵌段在THF中的二级结构的确是部分的 α -螺旋构象.而相应的190 nm处的正吸收带并没有观察到,归其原因可能是由于THF溶剂本身在190 nm处存在强的吸收谱带. PZLL₁₀₀均聚物的 α -螺旋度约70%,而对于嵌段共聚物来说,随着PZLL段相对含量的减少, α -螺旋度逐渐减小,但主要取决于PZLL的含量和链段长度.一般趋势是随其组分含量的降低和链段长度的降低而变小.例如,PZLL₉₅-*b*-PBrLL₃₆两嵌段的 α -螺旋度约为57%,而PZLL₇₀-*b*-PBrLL₄₀

两嵌段的 α 螺旋度则减低至 47%, 主要原因是由于 PZLL 链段长度的减小. 同样的, PZLL₇₀-b-PBrLL₈₈ 两嵌段的 α 螺旋度更小, 仅为 41%, 原因是由于 PBrLL 链段含量的增加. 主要原因是溴代异丁基酰胺的 PBrLL 比 PZLL 在有机溶剂中溶解性更好, 因此导致 PZLL₇₀-b-PBrLL₈₈ 比 PZLL₇₀-b-PBrLL₄₀ 两嵌段螺旋度的进一步降低. 同样的原因, PZLL₄₅-b-PBrLL₇₀ 两嵌段的螺旋度最小, 仅为 28%.

进一步在 PBrLL 链段上通过 ATRP 引入极性



的 PEGMA 侧链后, 得到的 PZLL-b-(PLL-g-PEGMA) 分子刷的二级结构进一步降低, 结果图 5 (b) 所示. 从图 5 (b) 可以看出, PZLL-b-(PLL-g-PEGMA) 分子刷在四氢呋喃溶液中的 CD 谱图在 208 nm 和 222 nm 处分别有负的圆二色吸收带, 说明其依然有部分螺旋构象, 但是其螺旋度与两嵌段前体比较明显降低. 而且, 侧链 PEGMA 的长度对螺旋度的影响较大, 主要原因侧链长度的增加引起空间位阻和溶解性的增加导致螺旋度逐渐减小.

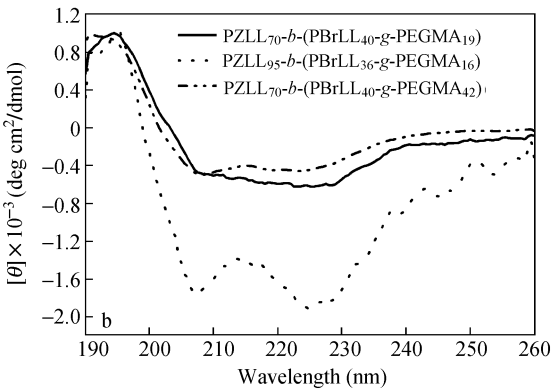


Fig. 5 CD spectra of (a) PZLL and PZLL-b-PBrLL and (b) PZLL-b-(PLL-g-PEGMA) in THF

3 结论

本文利用过渡金属引发剂 Ni(COD)depe 调控的 NCA 活性开环聚合和顺序加料的方法制备了结构和组成明确的 PZLL-b-PBrLL 两嵌段共聚肽, 并利用 PBrLL 段侧链的溴代官能团作为 ATRP 的大分子引发剂来制备牙刷型的共聚肽分子刷. 通过改变 Lys-NCA 和 Br-Lys-NCA 单体比例, 合成了 4 个不同的两嵌段共聚肽前体, 然后采用 EGMA 为单体, 利用 ATRP 反应选择性的在 PBrLL 链段单体通过 graft-from 的方法接枝了不同长度的 PEGMA 侧链, 成功合成出了一系列以

聚赖氨酸多肽为骨架的牙刷状分子刷. 利用核磁共振谱, 红外以及凝胶渗透色谱等技术手段表征了各步反应得到的中间产物. 利用圆二色光谱 (CD) 的特征谱带, 研究 PZLL-b-PBrLL 两嵌段共聚肽和 PZLL-b-(PBrLL-g-PEGMA) 分子刷在四氢呋喃中的二级结构, 及其与组成和侧链长度的依赖关系.

本文结合 NCA 开环聚合和可控 ATRP 技术, 可以合成具有复杂空间构型同时具有二级结构的可生物降解的大分子分子刷. 同时该方法具有较好的普适性, 能够很容易拓展来制备出具有温度响应性和 pH 响应性的牙刷形聚氨基酸分子刷.

REFERENCES

1 Zhang M, Müller A H E. J Polym Sci, Part A: Polym Chem, 2005, 43 (16): 3461 ~ 3481
2 Lu Rufeng (卢汝烽), Hu Jiwen (胡继文), Zhang Ganwei (张干伟), Xiao Dingshu (肖定书). Acta Polymerica Sinica (高分子学报), 2012, (3): 239 ~ 249
3 Lee S, Spencer N D. Science, 2008, 319 (5863): 575 ~ 576
4 Sheiko S S, Sumerlin B S, Matyjaszewski K. Prog Polym Sci, 2008, 33 (7): 759 ~ 785
5 Hadjichristidis N, Iatrou H, Pitsikalis M, Sakellariou G. Chem Rev, 2009, 109 (11): 5528 ~ 5578
6 Deming T J. Adv Polym Sci, 2006, 202: 1 ~ 18

- 7 Chen Jingxiao(陈荆晓), Wang Huiyuan(王慧媛), Xu Xiaoding(徐小丁), Chen Weihai(陈巍海), Zhang Xianzheng(张先正). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2011, (8): 799 ~ 811
- 8 Zhang S S, Chen C Y, Li Z B. *Chinese J Polym Sci*, 2013, 31(2): 201 ~ 210
- 9 Engler A C, Lee H I, Hammond P T. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48(49): 9334 ~ 9338
- 10 Tang H Y, Li Y C, Lahasky S H, Sheiko S S, Zhang D H. *Macromolecules*, 2011, 44(6): 1491 ~ 1499
- 11 Cai C, Lin J, Chen T, Tian X. *Langmuir*, 2009, 26(4): 2791 ~ 2797
- 12 Ding J, Xiao C, Tang Z, Zhuang X, Chen X. *Macromol Biosci*, 2011, 11(2): 192 ~ 198
- 13 Liu Y, Chen P, Li Z. *Macromol Rapid Commun*, 2012, 33(4): 287 ~ 295
- 14 Luo C, Chen C, Li Z. *Pure Appl Chem*, 2012, 84(12): 2569 ~ 2578
- 15 Chen P, Li C, Liu D, Li Z. *Macromolecules*, 2012, 45(24): 9579 ~ 9584
- 16 Wang J, Lu H, Kamat R, Pingali S V, Urban V S, Cheng J, Lin Y J. *Am Chem Soc*, 2011, 133(33): 12906 ~ 12909
- 17 Wang J, Lu H, Ren Y, Zhang Y, Morton M, Cheng J, Lin Y. *Macromolecules*, 2011, 44(22): 8699 ~ 8708
- 18 Rhodes A J, Deming T J. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(47): 19463 ~ 19467
- 19 Deming T J. *Nature*, 1997, 390(6658): 386 ~ 389
- 20 Tang H, Zhang D. *Biomacromolecules*, 2010, 11(6): 1585 ~ 1592

SYNTHESIS OF TOOTHBRUSH COPOLYPEPTIDES BASED ON POLYLYSINE BACKBONE

Lei Yu, Yu Liu, Wen-xin Fu, Zhi-bo Li

(Laboratory of Polymer Physics and Chemistry, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190)

Abstract A new type of toothbrush like polypeptide with poly-L-lysine (PLL) as backbone was synthesized *via* a combination of ring opening polymerization (ROP) and atom transfer radical polymerization (ATRP). A *N*- ϵ -bromoisobutyryl functionalized *N* α -CBZ-L-lysine was prepared and subsequently converted into α -amino acid *N*-carboxyanhydride (Br-Lys-NCA). Then, a series of well-defined PZLL-PBrLL diblock copolypeptides were prepared *via* Ni(COD) depe mediated living ROP and sequential monomer addition strategy. These diblock copolypeptides containing a block of bromo-functionalized poly-L-lysine were then used as macroinitiator for subsequent ATRP of EGMA monomers to make toothbrush copolypeptides. The structure and composition of block and toothbrush copolypeptides were characterized using GPC/LLS, ^1H -NMR and FTIR. The successful reaction and chain extensions were firstly supported from FTIR characterization for NCA characteristic absorbance. The GPC results demonstrated the apparent increase of samples' molecular weight as the linear copolypeptide was converted into copolypeptide brushes. ^1H -NMR spectra verified the formation of homopolypeptide and copolypeptides. The secondary structures of both block and toothbrush copolypeptides were investigated using circular dichroism (CD). It was found that the α -helical content of PZLL-*b*-PBrLL diblock copolypeptide decreased with the reduction of mass fraction and chain length of PZLL. For toothbrush copolypeptides, the helicity was substantially lower than corresponding diblock precursors, and decreased with growing side chain length of PEGMA. Herein, we demonstrated a facile method to synthesize the biodegradable copolypeptide toothbrush with tunable spatial configurations and secondary structures by combining NCA ring opening polymerization and controlled ATRP technology. Moreover, such strategy can be easily expanded to make temperature and pH responsive copolypeptide toothbrushes.

Keywords Polypeptide, Ring opening polymerization, Toothbrush, α -Helical, ATRP