两亲聚肽/螺烯的电荷复合自组装行为研究

王婧琳^a 沈程硕^b 唐颂超^{*,a} 姚 远^{*,a}^(a) 华东理工大学材料科学与工程学院 高分子材料与工程教研室 上海 200237)^(b) 上海交通大学化学化工学院 上海 200240)

摘要 研究了包含聚肽嵌段的两亲共聚物聚乙二醇-*b*-聚(*L*-谷氨酸)(PEG-*b*-PGlu)与 4-甲基-4-氮杂[4]螺烯鎓离子(Me[4]H)的电荷复合自组装行为, 讨论了聚肽链段长度、谷氨酸单元与螺烯物质的量比、pH 值等因素对组装体形貌的影响。研究发现, 当刚-柔型嵌段聚合物与刚性、大尺寸并具有诱导作用的小分子共同组装时, 遵循与柔性大分子电荷复合组装完全不同的规律。PEG-*b*-PGlu/Me[4]H 的电荷复合组装体形貌由 π - π 堆叠作用、两亲嵌段聚肽的亲疏水比、PGlu 链段的刚硬程度共同决定, 这些作用在组装过程中相互制约, 当 π - π 堆叠作用占主导地位时, 得到以指针状和条带状等平面结构为主的组装形貌。

关键词 电荷复合自组装; 两亲嵌段共聚物; 螺烯

Study of Charge-Conjugated Self-Assembly Behavior of Amphiphilic Block Copolypeptides/Helicene

Wang, Jinglin^a Shen, Chengshuo^a Tang, Songchao^{*,a} Yao, Yuan^{*,a}^(a) Teaching and Research Department of Polymer Materials and Engineering, School of Materials Science and Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237)^(b) School of Chemistry and Chemical Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240)

Abstract Amphiphilic block copolypeptides of polyethylene glycol-*b*-poly(*L*-glutamic acid) (PEG-*b*-PGlu) were synthesized to self-assemble with 4-methyl-4-aza[4]helicene onium ion (Me[4]H) in water through charge-conjugation. The morphology of the assemblies was studied by varying PGlu block length, the molar ratio of Glu unit/Me[4]H and pH value. It was found that when rigid-flexible block copolymers were assembled together with small molecules which had rigid, large size and inductive effect, they would follow a completely different law from the charge-conjugated assembly of flexible macromolecules. The self-assemblies were controlled by the π - π stacking of helicene, together with the volume fraction of the hydrophobic parts and the rigidity of PGlu segments. These effects restricted each other in the assembly process. When π - π stacking was dominant, assembly morphologies with pointer-like and strip-like planar structures were obtained.

Keywords charge-conjugated self-assembly; amphiphilic block copolymer; helicene

电荷复合自组装是广受关注的一类自组装形式^[1-3]。近年来, 诸多学者开展了电荷复合自组装的研究, 使得电荷复合自组装得以被应用于光伏^[4,5]、表面处理^[6-8]、光电器件^[9-11]、膜技术^[12-15]、传感器^[16-18]、药物递送^[19-20]、基因治疗^[21]等领域。在被用于电荷复合自组装的高分子中, 聚肽由于可在不同条件下表现出不同的构象和组装行为, 给予了电荷复合自组装更多的可能性而受到广泛关注^[22-30]。利用聚肽与小分子和聚电解质分子电荷复合自组装, 可以得到球状胶束、

棒状胶束、囊泡、螺旋飘带等多种组装形貌。当聚肽嵌段展现出手性二级结构时, 通常显示为刚硬的螺旋结构, 所以与聚肽电荷复合的物质一般为自由度非常高的小分子或柔软链段的大分子, 这些化合物不会对组装体的形貌产生引导作用。然而, 在聚合物的电荷复合自组装中, 如果发生相互作用的正负电荷部分均为刚硬的构象, 它们将遵循何种组装规律, 目前还没有被深入探讨。这也是自组装领域令人感兴趣的课题之一。

* Corresponding authors. E-mail: schtang@ecust.edu.cn; yaoyuan@ecust.edu.cn

Received April 15, 2019; revised May 7, 2019; published online May 21, 2019.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 51573088).

国家自然科学基金(No. 51573088)资助项目。

我们引入本身对组装具有引导作用、又可与聚肽发生电荷相互作用, 并且具备较高自由度的刚硬大尺寸小分子 4-甲基-4-氮杂[4]螺烯鎓离子(Me[4]H)与两亲嵌段聚肽聚乙二醇-*b*-聚(*L*-谷氨酸) (PEG-*b*-PGlu)进行电荷复合自组装. 螺烯是一类具有独特的固有手性和光学特性的芳香分子^[31], Me[4]H 分子具有刚硬的近平面构象, 可以通过 π - π 堆叠对自组装产生诱导作用, 也能在组装过程中随大分子链运动. PEG-*b*-PGlu 则通过端氨基聚乙二醇(mPEG-NH₂)引发 *L*-谷氨酸-苄基-*N*-羧基内酰胺(BLG-NCA)开环聚合, 然后脱去保护基团得到(Scheme 1)^[32-34]. 在水溶液中, 低 pH 值和羧基阴离子被中和时, 聚(*L*-谷氨酸)(PGlu)链段为刚性的 α -螺旋构象, PEG-*b*-PGlu 是刚-柔构象的两亲性聚合物; 高 pH 值时, 由于羧基电离度增加, 电荷排斥作用导致 α -螺旋解体, 两嵌段均表现为柔性的无规线团构象. 通过调节 PGlu 嵌段长度、Me[4]H 加入量以及 pH 值, 使 PGlu 与 Me[4]H 之间相互作用力、电荷复合部分的疏水性、亲疏水部分体积分数以及 PGlu 嵌段的构象等因素发生变化, 研究在 π - π 堆叠诱导下的刚-柔到柔-柔构象可调的两亲嵌段聚合物的组装行为, 总结其规律. 本研究不但填补了电荷复合自组装领域的研究空白, 而且为两亲聚肽嵌段聚合物载体通过电荷复合作用搭载刚硬构象的功能分子进行药物递送、制备功能化组装体等应用提供了很有价值的参考.

图式 1 PEG-*b*-Pglu 的合成路线
Scheme 1 Synthetic route of PEG-*b*-Pglu

1 结果与讨论

1.1 PEG-*b*-PGlu 和 Me[4]H 的表征

本实验中采用的 mPEG-NH₂ 相对分子量均为 2.00×10^3 , 嵌段数为 45, 合成的聚乙二醇-*b*-聚(*L*-谷氨酸苄酯)(PEG-*b*-PBLG)参数如表 1 中所示, n 表示聚(*L*-谷氨酸苄酯)(PBLG)的嵌段重复单元数. 基于凝胶渗透色谱(GPC)结果以及每个结构单元的相对分子质量, 计算出各嵌段共聚物中 PBLG 的实际嵌段数如表 1. 将按照投料比计算得到的嵌段数结果与 GPC 结果得到的嵌段数进行对照, 数值相近, 同时, 分子量分布(PDI)均低于 1.20, 说明反应按照预期进行^[32-34]. 由于脱保护后难以准确测得嵌段聚合物分子量, 因此实际 PGlu 嵌段数以对应 PEG-*b*-PBLG 计算出的嵌段数为准. PEG-*b*-PBLG 脱保护后得到的 PEG-*b*-PGlu 的核磁共振氢谱(¹H NMR) (D₂O, 400 MHz)结果为 δ : 4.00~4.30 (α -次甲基), 3.30~3.75(聚乙二醇(PEG)亚甲基), 2.00~2.40(与羧基相连的亚甲基), 1.70~2.00(与 α -碳相连的亚甲基), 7.30 左右没有芳环的质子峰出现, 表明聚合物脱保护完全.

1.2 PGlu 嵌段长度对组装体形貌的影响

将疏水嵌段长度不同的PEG-*b*-PGlu分别与Me[4]H在水中 进行电荷复合自组装, 其中 PEG-*b*-PGlu 与 Me[4]H 之间的羧基与鎓离子之比为 1 : 0.5, 溶液的 pH 值为 6.0, 探究疏水链段长度对组装体形貌的影响, 透射电子显微镜(TEM)照片如图 1 所示.

由图 1A 可见, PEG₄₅-*b*-PGlu₁₀ 与 Me[4]H 组装成了长约 20 μm , 宽约 1 μm 的长指针状组装体. 随着 PGlu 嵌段数逐渐增加, 加入的 Me[4]H 也同比例增加, 组装体中疏水部分的体积分数逐渐增大, 此时组装体系的形貌变化规律并不遵循传统的大分子自组装规律, 而是得到尺寸逐渐减小的片状结构. 由图 1B 可见, PEG₄₅-*b*-PGlu₂₄ 与 Me[4]H 组装成了长度在 15 μm 左右, 最宽约 1.0 μm 的长指针状组装体. 当 PGlu 的嵌段数达到 36 时, 组装体变化为较为均匀的长约 6.0 μm , 宽约为 0.3 μm 的条带状组装体(图 1C), 当疏水嵌段数达到 50 时, 组装体长度缩小到约 2.5 μm , 宽度变化不大(图 1D). PEG₄₅-*b*-PGlu₇₁ 与 Me[4]H 进行电荷复合形成的短条状组装体长度不超过 0.5 μm , 宽约为 0.1 μm (图 1E).

由于 PGlu 链段在 pH 值为 6.0 时并未完全电离, 按照其完全电离的比例 1/2 加入反离子 Me[4]H 后, PGlu 链段与 Me[4]H 发生电荷中和, 同时 Me[4]H 的正电荷也被中和, 因此出现的 π - π 堆叠作用使 Me[4]H 排列为片层状的有序结构^[35-37], 作为疏水的内核. PGlu 受到相反电荷的吸引, 也按照 Me[4]H 堆叠的方向排列, 作为疏水的外层. 由于嵌段聚合物 PEG₄₅-*b*-PGlu₁₀ 亲水链所占

表 1 PEG₄₅-*b*-PBLG_{*n*} 的参数
Table 1 Parameters of PEG₄₅-*b*-PBLG_{*n*}

Copolymer	$M_{n(\text{exp})}^a (\times 10^4)$	$M_{n(\text{obt})}^b (\times 10^4)$	$\text{DP}_{\text{exp,PBLG}}^c$	$\text{DP}_{\text{obt,PBLG}}^d$	PDI
PEG ₄₅ - <i>b</i> -PBLG ₁₀	0.38	0.40	10	10	1.13
PEG ₄₅ - <i>b</i> -PBLG ₂₄	0.58	0.66	20	24	1.18
PEG ₄₅ - <i>b</i> -PBLG ₃₆	0.83	0.89	30	36	1.19
PEG ₄₅ - <i>b</i> -PBLG ₅₀	1.10	1.17	50	50	1.06
PEG ₄₅ - <i>b</i> -PBLG ₇₁	1.44	1.57	70	71	1.08

^a $M_{n(\text{exp})}$ 表示根据投料比计算出的平均分子量; ^b $M_{n(\text{obt})}$ 表示 GPC 测出的相对分子量; ^c $\text{DP}_{\text{exp,PBLG}}$ 表示根据投料比计算出的 PBLG 嵌段数; ^d $\text{DP}_{\text{obt,PBLG}}$ 表示根据 GPC 结果计算出的 PBLG 嵌段数.

图 1 不同疏水嵌段长度的 PEG-*b*-PGLu 与 Me[4]H 在水中电荷复合自组装的 TEM 照片(pH=6.0, 羧基与鎓离子之比为 1:0.5)

Figure 1 TEM images of the self-assembly of PEG-*b*-PGLu with various hydrophobic block lengths charge-conjugated Me[4]H in water (pH=6.0, carboxyl group and onium ion ratio is 1:0.5)

(A) PEG₄₅-*b*-PGLu₁₀; (B) PEG₄₅-*b*-PGLu₂₄; (C) PEG₄₅-*b*-PGLu₃₆; (D) PEG₄₅-*b*-PGLu₅₀; (E) PEG₄₅-*b*-PGLu₇₁; (F) Me[4]H as a comparison

体积分数相对较多, 可以“支持”相对较大的组装体, 因此在此条件下, PEG₄₅-*b*-PGLu₁₀ 所得指针形组装体具有最大的尺度。当疏水链段体积分数逐渐增加时, 一方面由于 π - π 堆叠作用依然存在, 所得组装体的形貌并非按照柔性两亲大分子自组装的变化规律变化; 另一方面, 组装体尺寸也逐渐变小, 以维持组装体在溶液中的稳定, 形貌也出现了长指针状到条带状的变化。由 ζ -电位

测量结果可知, 组装体外部均带有少量的负电荷(表 2), 进一步证明了所有电荷复合组装体疏水部分的片层结构都是 Me[4]H 在内部, PGLu 在外部的夹心状结构(图 2)。此外, 如图 1F 所示, 纯 Me[4]H 鎓离子在水中仅能组装为很小的胶束粒子, 这是由于鎓离子所带正电荷的排斥作用使之无法 π - π 堆叠, 只能依靠疏水力作用形成小胶束; 而在 pH=6.0 时, PEG-*b*-PGLu 的 PGLu 嵌段亲水性已经变得较强, 也无法得到稳定的组装体。因此, 长指针状和条带状组装体是 PEG-*b*-PGLu 与 Me[4]H 电荷复合自组装形成的。

表 2 不同疏水嵌段长度的 PEG-*b*-PGLu 与 Me[4]H 在水中电荷复合自组装的 ζ -电位值(pH=6.0, 羧基与鎓离子之比为 1:0.5)

Table 2 ζ -Potential values of self-assembly of PEG-*b*-PGLu with various hydrophobic block lengths charge-conjugated Me[4]H in water (pH=6.0, carboxyl group and onium ion ratio is 1:0.5)

n^a	ζ -Potential/mV
10	-5.74
24	-7.19
36	-2.45
50	-1.56
71	-1.03

^a n 表示 PGLu 的嵌段数.

1.3 Glu/Me[4]H 物质的量比对组装体形貌的影响

选择 PEG₄₅-*b*-PGLu₁₀ 与 Me[4]H 在水中进行电荷复

图 2 PEG-*b*-PGLu 与 Me[4]H 电荷复合自组装为长指针状的组装体示意图

Figure 2 Charge-complexed self-assembly of PEG-*b*-PGLu and Me[4]H into long pointer-like morphology

0.5、1 : 0.7、1 : 1.0, 调节溶液的 pH 值至 6.0, 以 TEM 合自组装. 改变 Me[4]H 的加入比例, 即 PEG-*b*-PGlu 与 Me[4]H 的羧基与镧离子之比分别为 1 : 0.1、1 : 0.2、1 : 0.5、1 : 0.7、1 : 1.0, 观察 Glu/Me[4]H 物质的量比变化对组装体的形貌的影响, 结果如图 3 所示.

图 3 PEG₄₅-*b*-PGlu₁₀ 与 Me[4]H 的不同物质的量比下在水中电荷复合自组装的 TEM 照片(pH=6.0)

Figure 3 TEM images of the self-assembly of PEG₄₅-*b*-PGlu₁₀ charge-conjugated Me[4]H with different molar ratios in water (pH=6.0)

(A) 1 : 0.1; (B) 1 : 0.2; (C) 1 : 0.5; (D) 1 : 0.7; (E) 1 : 1.0

当 PEG₄₅-*b*-PGlu₁₀ 与 Me[4]H 之间羧基与镧离子之比为 1 : 0.1 时, 得到长度为 2~4 μm, 最宽处为 0.2 μm 左右的指针状组装体(图 3A), 此时, PGlu 链段能够保持部分 α -螺旋构象(图 4). 在自组装过程中, 尽管螺烯的 π - π 堆叠作用和 PGlu 链段 α -螺旋构象的定位作用构成了竞争关系, 但前者仍起主导作用. 可用于堆叠成疏水内层的 Me[4]H 分子则较少, 因此得到短指针状组装体. 随着 Me[4]H 加入量的增加, Me[4]H 分子间 π - π 堆叠的

图 4 PEG₄₅-*b*-PGlu₁₀ 与 Me[4]H 的不同物质的量比下在水中电荷复合自组装的圆二色谱图(pH=6.0)

Figure 4 CD spectra of self-assembly of PEG₄₅-*b*-PGlu₁₀ charge-conjugated Me[4]H with different molar ratios in water (pH=6.0)

主导作用逐渐加强, 也使得 PGlu 链段的 α -螺旋逐渐被破坏(图 4). 因此, 当羧基与镧离子之比为 1 : 0.2 时, 得到长度达到 15 μm 左右, 最宽处为 0.6~0.7 μm 的长指针状组装体(图 3B); 而当羧基与镧离子之比为 1 : 0.5 时, 组装体的尺寸可以增大到 20 μm 以上(图 3C).

但是, 当羧基与镧离子之比达到 1 : 0.7 时, TEM 只能观察到很短的条带状组装体, 其长度不到 1 μm, 宽度约为 0.5 μm(图 3D). 当羧基与镧离子之比达到 1 : 1.0 时, 又生成了新的条带状组装体, 该组装体的宽度与电荷比 1 : 0.7 时得到的组装体宽度几乎一致, 均为 0.5 μm 左右, 但长度可达数十微米(图 3E). 这是因为在羧基与镧离子之比达到 1 : 1.0 时, 可用于构成疏水内层的螺烯更多, 它们在 π - π 堆叠作用下有序排列, 并与对应的 PGlu₁₀ 链段共同组装, 形成层状的条带组装结构. 这种条带状组装体中间部分几乎全部由疏水的螺烯 π - π 堆叠构成, 因此其宽度和厚度非常均匀. 而电荷比 1 : 0.7 时得到的组装产物则处于指针状组装体向条带状组装体转化的过渡区. 此外, 当羧基与镧离子之比为 1 : 0.5 以上时, 已很难观察到 α -螺旋构象的圆二色谱(CD)信号(图 4), 这说明 Me[4]H 的加入对螺旋的破坏作用很大, 也进一步证明了大尺寸的指针状组装体和条带状组装体的形成主要是依赖 π - π 堆叠和更高的 Me[4]H 体积分数.

表 3 显示, 随着 Me[4]H 的加入, 组装体表面的负电荷逐步减少, 但即使当羧基与镧离子之比为 1 : 1.0, 理论上正电荷数已经过量时(羧基在 pH=6.0 时不能完全电离), 组装体的表面仍然覆盖着负电荷. 这表明, 无论是指针状组装体还是条带状组装体, 其外表面均覆盖着亲水的 PEG 大分子链. 在亲水的 PEG 大分子链的“拉拽”作用和疏水的 Me[4]H 本体的排斥下, PGlu 嵌段倾向于在内层的 Me[4]H 表面富集, 形成夹心状的疏水层结构, 因此 ζ -电位测试结果均为负值, 这一结果进一步揭示了两种组装体的内部结构的类似性.

表 3 PEG₄₅-*b*-PGlu₁₀ 与 Me[4]H 的不同物质的量比下在水中电荷复合自组装的 ζ -电位值(pH=6.0)

Table 3 ζ -Potential values of self-assembly of PEG₄₅-*b*-PGlu₁₀ charge-conjugated Me[4]H with different molar ratios in water (pH=6.0)

Glu : Me[4]H	ζ -Potential/mV
1 : 0.1	-12.31
1 : 0.2	-9.85
1 : 0.5	-5.74
1 : 0.7	-4.94
1 : 1.0	-1.72

此外, 我们还选择了 PGlu 链更长的 PEG₄₅-*b*-PGlu₂₄, 同样与 Me[4]H 在水中进行电荷复合自组装. 改变

Me[4]H的加入比例,即羧基与镧离子之比分别为1:0.1、1:0.2、1:0.5、1:0.7、1:1.0,溶液的pH=6.0时,进一步研究Glu/Me[4]H物质的量比对组装体形貌的影响。

由TEM观察结果可知,PEG₄₅-b-PGlu₂₄在Me[4]H含量逐渐增加时,其组装行为与PGlu链较短的PEG₄₅-b-PGlu₁₀有很大不同。当羧基与镧离子之比为1:0.1、1:0.2时,溶液中很难观察到规整的组装体(图5A),或只能观察到油滴状物质(图5B)。直到羧基与镧离子之比达到1:0.5时,体系内才出现长度5~20 μm,最宽处为0.3 μm左右的长指针状组装体(图5C)。当羧基与镧离子之比达到1:0.7时,组装体的宽度略有增加(图5D)。但当羧基与镧离子之比达到1:1.0时,仅能得到尺寸为40~50 nm的胶束(图5E)。

图5 PEG₄₅-b-PGlu₂₄与Me[4]H的不同物质的量比下在水中电荷复合自组装的TEM照片(pH=6.0)

Figure 5 TEM images of the self-assembly of PEG₄₅-b-PGlu₂₄ charge-conjugated Me[4]H with different molar ratios in water (pH=6.0)

(A) 1:0.1; (B) 1:0.2; (C) 1:0.5; (D) 1:0.7; (E) 1:1.0

图6 PEG₄₅-b-PGlu₂₄与Me[4]H的不同物质的量比下在水中电荷复合自组装的圆二色谱图(pH=6.0)

Figure 6 CD spectra of self-assembly of PEG₄₅-b-PGlu₂₄ charge-conjugated Me[4]H with different molar ratios in water (pH=6.0)

结合表4的ζ-电位值结果和图6的圆二色谱结果,可知在羧基与镧离子之比分别为1:0.1、1:0.2时,PGlu嵌段依然有部分α-螺旋构象,而此时加入的Me[4]H并未形成有效的π-π堆叠。这可能是因为PGlu₂₄的螺旋保持能力比PGlu₁₀更好,这使得螺旋导向能力更强,少量Me[4]H无法通过π-π堆叠作用形成平面结构;加之在pH=6.0时,PEG-b-PGlu也相对亲水,因此即使加入摩尔分数为0.2的Me[4]H,也只能得到油滴状组装体。当Me[4]H物质的量比继续增加到0.5时,π-π堆叠才开始起作用,此时所得结果与PEG₄₅-b-PGlu₁₀体系中Me[4]H物质的量比为0.2的结果类似。但是,由于亲水的PEG链段相对较短,因此在进一步增加Me[4]H量到1.0后,只能得到较小的不规则胶束,无法得到大的组装体。

表4 PEG₄₅-b-PGlu₂₄与Me[4]H的不同物质的量比下在水中电荷复合自组装的ζ-电位值(pH=6.0)

Table 4 ζ-Potential values of self-assembly of PEG₄₅-b-PGlu₂₄ charge-conjugated Me[4]H with different molar ratios in water (pH=6.0)

Glu : Me[4]H	ζ-Potential/mV
1 : 0.1	-19.10
1 : 0.2	-15.13
1 : 0.5	-7.19
1 : 0.7	-6.83
1 : 1.0	-4.42

1.4 溶液pH值对组装体形貌的影响

选择PEG₄₅-b-PGlu₂₄,使其与Me[4]H在水中电荷复合自组装,PEG₄₅-b-PGlu₂₄与Me[4]H的羧基与镧离子之比为1:0.5,改变溶液的pH值(分别为3.0、4.0、5.0、6.0、7.5、8.5),研究pH值变化对组装体形貌的影响。当pH值为3.0时,得到的是10~20 nm左右的小胶束(图7A),表面只带很少的负电荷(表5)。这是由于谷氨酸的等电点为3.2,在pH为3.0时,PGlu电离很少,无法与Me[4]H形成有效的电荷复合,因此观察到的小胶束是PEG₄₅-b-PGlu₂₄或Me[4]H自己组装而成的。当pH值达到4.0时,PGlu带有的负电荷增加,与少量螺烯形成电荷复合,但此时PGlu的构象仍是螺旋结构为主,而且负电荷量较少,电荷中和作用较弱,使得Me[4]H的π-π堆叠并不显著,因此形成长度1 μm左右的指针状组装体(图7B)。随着pH值增大,PGlu链段的电离程度增加,其刚性和疏水性减弱,有利于电荷复合和Me[4]H的π-π堆叠,因此指针状组装体的尺寸也随之增大(图7C~7D)。当pH值达到7.5时,PGlu链段更加柔软,亲水性也更好,层状组装结构可以弯曲,此时得到的是长度4~5 μm,直径0.6~0.7 μm左右的纳米管(图7E)。根据ζ-电位结果(表5),推测纳米管的内外壁表面为PEG链段亲水层,疏水内管壁的表层则是PGlu,管壁内层由

Me[4]H π - π 堆叠而成. 当 pH 值达到 8.5 时, PGlu 嵌段电离程度高(表 5), 几乎完全亲水, 因此, 与 Me[4]H 电荷复合后只能形成直径约为 0.3 μm 左右的油滴状形貌(图 7F).

图 7 PEG₄₅-b-PGlu₂₄ 与 Me[4]H 在 pH 值不同的水中电荷复合自组装的 TEM 照片(羧基与鎗离子之比为 1 : 0.5)

Figure 7 TEM images of the self-assembly of PEG₄₅-b-PGlu₂₄ charge-conjugated Me[4]H in water of different pH values (carboxyl group and onium ion ratio is 1 : 0.5) (A) pH=3.0; (B) pH=4.0; (C) pH=5.0; (D) pH=6.0; (E) pH=7.5; (F) pH=8.5

表 5 PEG₄₅-b-PGlu₂₄ 与 Me[4]H 在不同 pH 值的水中电荷复合自组装的 ζ -电位值(羧基与鎗离子之比为 1 : 0.5)

Table 5 ζ -Potential values of self-assembly of PEG₄₅-b-PGlu₂₄ charge-conjugated Me[4]H in water of different pH values (carboxyl group and onium ion ratio is 1 : 0.5)

pH	ζ -Potential/mV
3.0	-1.46
4.0	-4.34
5.0	-6.48
6.0	-7.19
7.5	-10.03
8.5	-15.93

2 结论

与传统的两亲嵌段共聚物组装体形貌随亲疏水链段体积分数的规律不同, PEG-*b*-PGlu 与 Me[4]H 电荷复合物的形貌受螺烯 π - π 堆叠作用、PGlu 电荷强度、PGlu 构象、疏水部分体积分数等因素的共同影响. 当 π - π 堆叠作用占主导地位时才能得到以指针状和条带状等平面结构为主的组装形貌. π - π 堆叠越显著, 得到的指针状和条带状组装体尺寸也越大, 直至最后形成大尺寸的飘带状组装体. 本研究填补了电荷复合自组装领域中, 刚硬构象的分子相互复合时形貌变化规律研究的空白, 也对两亲聚胺嵌段聚合物通过电荷复合作用搭载刚硬构象的功能分子进行药物递送、制备功能化组装体等应用有很好的参考价值.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

L-谷氨酸购自吉尔生化(上海)有限公司, 生化试剂; 苯甲醇, 四氢呋喃(THF), 碳酸氢钠, 三氟乙酸和氢溴酸冰醋酸溶液购自阿达玛斯试剂有限公司, 试剂纯度均为分析纯; 浓硫酸和浓盐酸购自国药集团化学试剂有限公司, 分析纯; 无水乙醇和无水乙醚购自上海泰坦科技股份有限公司, 试剂纯度均为分析纯; *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)购自 Sigma-Aldrich 上海贸易有限公司, 超干溶剂; 三光气购自上海多点化工有限公司, 化学纯; 正己烷购自百灵威科技有限公司, 超干溶剂; 金属钠购自上海凌峰化学试剂有限公司, 化学纯; 二苯甲酮购自上海麦克林生物科技有限公司, 分析纯; 端氨基聚乙二醇(mPEG-NH₂, 数均分子量 M_n 为 2.00×10^3), 购自厦门赛诺邦格生物科技有限公司. 实验中用到的四氢呋喃经除水处理, 置于手套箱备用. 其余试剂不做处理, 直接使用.

PL-GPC-50 plus 型凝胶渗透色谱仪(GPC, 美国瓦里安公司), 标样为 PBLG, 溶剂为 DMF (含 0.02 mol/L 溴化锂), 测试温度为 50 $^{\circ}\text{C}$, 聚合物质量浓度约为 2 mg/mL; Avance 400 型核磁共振氢谱仪(¹H NMR, 德国布鲁克公司), 以氘代氯仿(CDCl₃)为溶剂, 以四甲基硅烷(TMS)为内标物; JEM-1400 型透射电子显微镜(TEM, 日本电子株式会社); J-810 型圆二色谱仪(CD, 日本佳士科公司); Zetasizer NanoZS ZEN3600 型纳米粒度电位仪(ζ -Potential, 英国马尔文公司), 测试温度为 25 $^{\circ}\text{C}$, 平衡时间 2 min, 样品室为 DTS1070, 测试次数 3 次, 每次测量运行次数为 20.

3.2 Me[4]H 的合成

4-氮杂[4]螺烯合成参见文献[38]. 将 229 mg 4-氮杂[4]螺烯(1 mmol)充分溶解于 5 mL 二氯甲烷溶液, 之后再缓慢滴加 1 mL 碘甲烷. 滴加完毕后, 混合物室温搅拌 16 h, 之后真空除去溶剂与未反应的碘甲烷. 所得残余物溶于 5 mL 二氯甲烷, 加入 50 mL 乙醚, 出现大量黄色沉淀. 所得沉淀过滤, 并用乙醚洗涤, 干燥后得产物 4-甲基-4-氮杂[4]螺烯鎗碘化物 Me[4]H 355 mg, 为黄色粉末, 产率 96%. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 10.12 (d, $J=10.1$ Hz, 1H), 9.54 (d, $J=10.1$ Hz, 1H), 8.91 (d, $J=10.1$ Hz, 1H), 8.83 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 8.64 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 8.37 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 8.34 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 8.31 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 8.25 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.91~7.93 (m, $J=7.9$ Hz, 2H), 4.79 (s, $J=4.8$ Hz, 3H).

3.3 PEG-*b*-PGlu 的合成

首先制备 γ -苄基-L-谷氨酸, 再以三光气法制备

BLG-NCA 单体^[39], 产物于手套箱中用无水四氢呋喃和无水正己烷进行多次重结晶, 直至得到纯净白色针状晶体, 密封保存于手套箱的冰箱中待用。然后在手套箱中准确称取所需 BLG-NCA 与 mPEG-NH₂ 于 20 mL 直型螺口瓶中, 用 3 mL 无水 DMF 溶解, 在手套箱中进行反应。得到的嵌段聚合物 PEG-*b*-PBLG 用冰无水乙醚沉淀, 再用冰醋酸和三氟乙酸进行脱保护后, 经过透析和冻干处理, 最终得到所需嵌段聚合物 PEG-*b*-PGlu。

3.4 组装体的制备

称取 PEG-*b*-PGlu 于 5 mL 直型螺口瓶中, 以超纯水为溶剂, 配制成 1 mg/mL 的溶液, 按照不同的物质的量比向溶液中加入 Me[4]H 水溶液, 用盐酸调节溶液的 pH 值, 在搅拌状态下得到稳定的组装体溶液。

辅助材料(Supporting Information) PEG-*b*-PGlu 与 Me[4]H 的 GPC、¹H NMR 数据。这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] Gröhn, F. *Soft Matter* **2010**, 6, 4296.
- [2] Rybtchinski, B. *ACS Nano* **2011**, 5, 6791.
- [3] Faul, C. F. *Acc. Chem. Res.* **2014**, 47, 3428.
- [4] Kim, B. G.; Kim, M. S.; Kim, J. *ACS Nano* **2010**, 4, 2160.
- [5] Malinsky, J. E.; Jabbour, G. E.; Shaheen, S. E.; Anderson, J. D.; Richter, A. G.; Marks, T. J.; Armstrong, N. R.; Kippelen, B.; Dutta, P.; Peyghambarian, N. *Adv. Mater.* **1999**, 11, 227.
- [6] Palma, A.; Satta, M. *J. Chem. Theory Comput.* **2016**, 12, 4042.
- [7] Li, Y.; Zhang, X.; Cao, D. *J. Phys. Chem. B* **2013**, 117, 6733.
- [8] Zhao, Y.; Mei, L.; Lu, Q. *Langmuir* **2008**, 24, 3937.
- [9] Wicklein, A.; Ghosh, S.; Sommer, M.; Würthner, F.; Thelakkat, M. *ACS Nano* **2009**, 3, 1107.
- [10] Wang, C.; Guo, Y.; Wang, Z.; Zhang, X. *Langmuir* **2010**, 26, 14509.
- [11] Yao, Y.; Zhang, L.; Leydecker, T.; Samori, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 6984.
- [12] Liu, W.; Liu, J.; Liu, W.; Li, T. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, 61, 4133.
- [13] Omura, Y.; Kyung, K. H.; Shiratori, S.; Kim, S. H. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2014**, 53, 11727.
- [14] Fang, R.; Zhang, H.; Yang, L.; Wang, H.; Tian, Y.; Zhang, X.; Jiang, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138, 16372.
- [15] Pappa, A. M.; Inal, S.; Roy, K.; Zhang, Y. *ACS Appl. Mater. Inter.* **2017**, 9, 10427.
- [16] Dochter, A.; Garnier, T.; Pardieu, E.; Chau, N. T. T.; Maerten, C.; Senger, B.; Schaaf, P.; Jier, L.; Boulmedais, F. *Langmuir* **2015**, 31, 10208.
- [17] Bianchi, R. C.; Silva, E. R. D.; Antonia, L. H. D.; Ferreira, F. F.; Alves, A. W. *Langmuir* **2014**, 30, 11464.
- [18] Deng, T.; Wang, J.; Li, Y. Y.; Han, Z. H.; Peng, Y. N.; Zhang, J.; Gao, Z.; Gu, Y. Q.; Deng, D. W. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2018**, 10, 27657.
- [19] Huang, X. H.; Jeong, Y. I.; Moon, B. K.; Zhang, L. D.; Kang, D. H.; Kim, I. *Langmuir* **2013**, 29, 3223.
- [20] Bui, L.; Abbou, S.; Ibarboure, E.; Guidolin, N.; Staedel, C.; Toulme, J. J.; Schatz, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 20189.
- [21] Kumar, R. J.; Macdonald, J. M.; Singh, T. B.; Waddington, L. J.; Holmes, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 8564.
- [22] Zhang, Y.; Yin, Q.; Lu, H.; Xia, H.; Lin, Y.; Cheng, J. *ACS Macro Lett.* **2013**, 2, 809.
- [23] Shaikh, A. Y.; Das, S.; Pati, D.; Dhaware, V.; Sen, G. S.; Hotha, S. *Biomacromolecules* **2014**, 15, 3679.
- [24] Ramasamy, T.; Choi, J. Y.; Cho, H. J.; Umadevi, S. K.; Shin, B. S.; Choi, H. G.; Yong, C. S.; Kim, J. O. *Pharm. Res.* **2015**, 32, 1947.
- [25] He, W.; Yan, J.; Jiang, W.; Li, S.; Qu, Y.; Niu, F.; Yan, Y.; Sui, F.; Wang, S.; Zhou, Y.; Jin, L.; Li, Y.; Ji, M.; Ma, P. X.; Liu, W.; Hou, P. *Chem. Mater.* **2018**, 30, 7034.
- [26] Yan, J.; Korolev, N.; Eom, K. D.; Tam, J. P.; Nordenskiöld, L. *Biomacromolecules* **2012**, 13, 124.
- [27] Nishimura, T.; Yamada, A.; Umezaki, K.; Sawada, S. I.; Mukai, S. A.; Sasaki, Y.; Akiyoshi, K. *Biomacromolecules* **2017**, 18, 3913.
- [28] Ryu, K.; Lee, M.; Park, J.; Kim, T. *ACS Appl. Bio. Mater.* **2018**, 1, 1496.
- [29] Zhang, S.; Cai, C.-H.; Huang, Q.-J.; Lin, J.-P.; Xu, Z.-W. *Acta Polym. Sin.* **2018**, 109 (in Chinese). (张朔, 蔡春华, 黄琦婧, 林嘉平, 徐占文, 高分子学报, **2018**, 109.)
- [30] Hu, Y.; Lin, R.; Zhang, P.; Fern, J.; Cheetham, A. G.; Patel, K.; Schulman, R.; Kan, C.; Cui, H. *ACS Nano* **2015**, 10, 880.
- [31] Schuster, N. J.; Hernández, S. R.; Bukharina, D.; Kotov, N. A.; Berova, N.; Ng, F.; Steigerwald, M. L.; Nuckolls, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 6235.
- [32] Nishiyama, N.; Okazaki, S.; Cabral, H.; Miyamoto, M.; Kato, Y.; Suqiyama, Y.; Nishio, K.; Matsumura, Y.; Kataoka, K. *Cancer Res.* **2003**, 63, 8977.
- [33] Lv, S.; Li, M.; Tang, Z.; Song, W.; Sun, H.; Liu, H.; Chen, X. *Acta Biomater.* **2013**, 9, 9330.
- [34] Song, W.; Tang, Z.; Li, M.; Lv, M.; Sun, H.; Deng, M.; Liu, H.; Chen, X. *Acta Biomater.* **2014**, 10, 1392.
- [35] Verbiest, T.; Elshocht, S. V.; Kauranen, M.; Hellemans, L.; Snauwaert, J.; Nuckolls, C.; Katz, T. J.; Persoons, A. *Science* **1999**, 284, 913.
- [36] Fang, L.; Lin, W.-B.; Shen, Y.; Chen, C.-F. *Chin. J. Org. Chem.* **2018**, 38, 541 (in Chinese). (房蕾, 林伟彬, 沈贇, 陈传峰, 有机化学, **2018**, 38, 541.)
- [37] Kaseyama, T.; Furumi, S.; Zhang, X.; Takeuchi, M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, 123, 3768.
- [38] Hewlins, M. J. E.; Salter, R. *Synthesis* **2007**, 2164.
- [39] Yao, Y.; Li, W. W.; Wang, S. B.; Yan, D. Y.; Chen, X. S. *Macromol. Rapid Commun.* **2006**, 27, 2019.

(Lu, Y.)