

[研究快报]

共聚物-锌与多肽的相互作用

赵建新¹, 乔义涛¹, 冯菁¹, 罗昭峰², 袁直¹

(1. 南开大学高分子化学研究所, 功能高分子材料教育部重点实验室, 天津 300071;
2. 中国科技大学生命科学学院, 合肥 230027)

关键词 多肽; 共聚物; 分子间相互作用

中图分类号 O632.19

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2008)03-0658-03

合成受体与多肽的相互作用是当前研究的热点之一^[1-5]. 由于大部分受体是有机小分子, 而此类分子中多数水溶性较差, 因此很多体系要依赖于非极性溶剂和多肽端基的封闭^[6], 大大限制了受体-多肽相互作用的研究. 我们尝试用亲水单体共聚的方法将非水溶性有机分子引入水溶性高分子体系, 在水体系中研究疏水性受体与多肽的相互作用.

相对于其它弱相互作用, 金属配位作用驱动分子识别过程中伴随着较大的焓变, 单一的配位键可能使毫摩尔浓度级别的主体和客体在水中形成稳定的相互作用. 作为一种高效的相互作用模式, 配位相互作用已引起了人们浓厚的兴趣^[7].

本文合成了一种含有吡啶衍生物功能侧基的共聚物, 考察了共聚物-锌与目标多肽 DFLAE(尿毒症多肽毒素片段^[8])的配位作用和疏水作用. 实验结果表明, 共聚物-锌与目标多肽可发生较强的相互作用, 为进一步的作用机理研究和高效能肽吸附剂的设计奠定了基础.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器 苯乙酸(化学纯), 上海精化科技研究所; 2,6-二氨基吡啶(纯度98%), Acros公司; 五肽 Asp-Phe-Leu-Ala-Glu(DFLAE), 吉尔生化(上海)有限公司合成(纯度98%); 苯乙酰氯由苯乙酸和二氯亚砷反应合成后经减压蒸馏制得; 聚丙烯酰胺由丙烯酰胺自由基聚合得到, 其它化学试剂均为分析纯.

MicoCal VP-ITC 等温滴定微量热仪(30 °C); Bruker AVANCE300-300MHz 核磁共振谱仪(室温, CDCl₃, TMS 内标); Thermo Finnigan LCQ-Advantage 质谱仪(ESI 源).

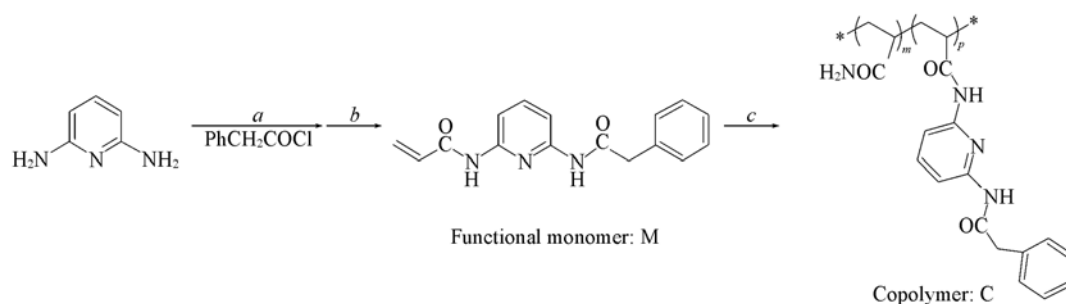
1.2 共聚物 C 的合成 在三口瓶中加入 2.73 g(25 mmol) 2,6-二氨基吡啶、150 mL 四氢呋喃和 3.85 mL(26.25 mmol) 三乙胺, 在 -10 °C 下滴加 3.05 mL(26.25 mmol) 苯乙酰氯的 100 mL 四氢呋喃溶液, 4~5 h 内滴完. 搅拌过夜, 加入 3.49 mL 三乙胺(23.75 mmol), 并滴加 1.93 mL(23.75 mmol) 丙烯酰氯的 50 mL 四氢呋喃溶液, 搅拌过夜. 过滤除去沉淀, 脱色, 浓缩溶液, 柱层析[V(二氯甲烷)/V(丙酮) = 10:1], 层析产品经真空干燥后, 按摩尔比 1:9 投料进行自由基聚合[单体质量浓度 0.1 g/mL, AIBN 质量分数: 3%, 溶剂: V(THF)/V(H₂O) = 1:1], 反应 24 h. 用丙酮沉淀, 洗涤除去聚合物中残余单体, 于室温真空干燥. 合成路线如 Scheme 1 所示.

1.3 等温滴定微量热实验 将 1 mmol/L DFLAE 溶液滴加(7 μL × 39 次)到超纯水(参比)和共聚物(C)、共聚物-锌离子(C-Zn²⁺)、聚丙烯酰胺(PAM)、聚丙烯酰胺-锌离子(PAM-Zn²⁺)以及锌离子(Zn²⁺)的超纯水中, 聚合物浓度均为 0.05 mmol/L(聚合物浓度按照功能单体计算), 锌离子浓度 0.083~0.75 mmol/L, 通过优化得到最佳浓度. 在最佳锌离子浓度下, 在 10, 20, 30 和 50 °C 进行变温实验.

收稿日期: 2007-10-08.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 50573034, 20634030)资助.

联系人简介: 袁直, 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事生物医用材料研究. E-mail: zhiy@nankai.edu.cn



Scheme 1 Synthesis routes of the copolymer C

a. Et₃N/THF, -10 °C; *b.* CH₂ClCOCl, Et₃N/THF, -10 °C; *c.* CH₂CONH₂, AIBN, THF/H₂O, 60 °C.

实验数据通过 Origin 软件 (Microcal Inc.) 以单点模式拟合, 热力学常数通过方程: $\Delta G = \Delta H - T\Delta S = -RT\ln K_b$ 计算, ΔG , ΔH 和 ΔS 分别为自由能、焓和熵的变化, T 为绝对温度, $R = 8.31 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$.

2 结果与讨论

2.1 单体和聚合物的合成与表征 单体分子离子峰 $[M + H]^+ m/z$: 282.11, 单体 ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ : 3.74 (s, 2H, CH₂), 5.76 (d, 1H, CH = CH₂), 6.21 (d, 1H, CH = CH₂), 6.44 (d, 1H, CH = CH₂), 7.33 ~ 7.92 (m, 8H, Py, Ph), 说明得到了目标单体. 聚合后 CH = CH₂ 的 3 个峰消失, 说明聚合成功, 通过 ¹H NMR 峰面积比得到功能单体摩尔分数为 2.7%.

2.2 最佳锌离子浓度的确定 固定五肽 DFLAE 浓度和聚合物浓度后, 改变锌离子浓度, 用 ITC 研究锌离子变化过程中的热力学参数变化.

由图 1 可见, 随着锌离子浓度的增加, 共聚物-锌和五肽间的作用常数先增大后减少, 在锌离子浓度为 0.165 mmol/L 处出现最大值, 说明在该体系中 0.165 mmol/L 是临界值. 当体系锌离子浓度低于临界值时, 增加锌离子浓度对配位有利; 相反, 当体系锌离子浓度高于临界值时, 增加锌离子浓度会干扰配位作用. 因此, 在该体系中最佳的锌离子浓度为 0.165 mmol/L.

2.3 相互作用的确定 在最佳锌离子浓度下, 对比不同的滴定结果. 由图 2 可见, DFLAE 滴定水和共聚物、水和聚丙烯酰胺以及聚丙烯酰胺-锌的曲线均重合, 这说明共聚物和聚丙烯酰胺与五肽均无相互作用; 而 DFLAE 与聚丙烯酰胺-锌的作用和其与锌离子的作用曲线没有差别, 说明聚丙烯酰胺未参与作用. DFLAE 滴定共聚物-锌与锌离子的曲线有较大差别, 表明聚合物与锌离子共同参与了相互作用, 该作用为配位相互作用.

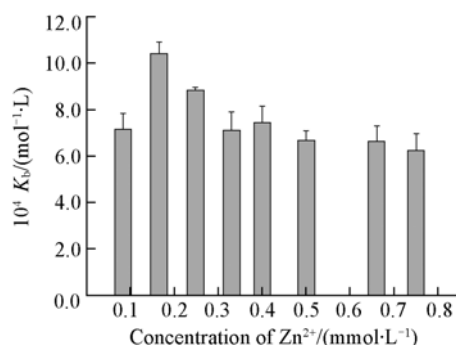


Fig. 1 Optimum concentration of Zn²⁺

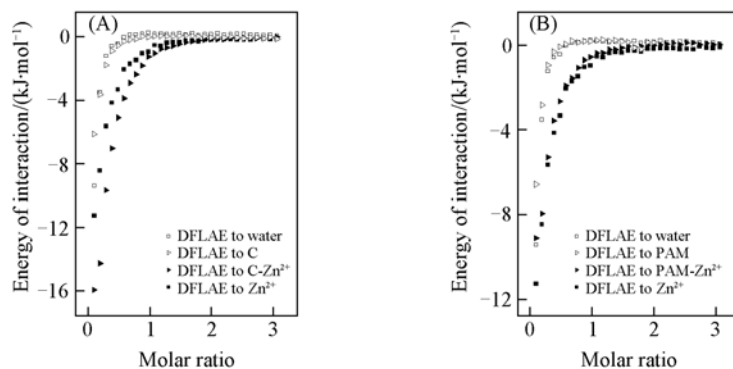


Fig. 2 Comparison of microcalorimetric titration of DFLAE to C, C-Zn²⁺ (A) and PAM, PAM-Zn²⁺ (B)

2.4 疏水作用的确定 由图3可见,相互作用的热力学参数具有温度依赖性,温度从10℃升到50℃的过程中, ΔH 贡献增加,同时 $-T\Delta S$ 贡献减少,由焓/熵驱动变为焓驱动,并且在此过程中伴随着较大的负热容($\Delta C_p = d\Delta H/dT$),这些都是疏水作用的明显标志.疏水作用使两个非极性表面接近并释放水分子,熵减小,产生正的 ΔS ($-T\Delta S$ 符号与其相反).同时在升温过程中,分子内震动不断增大,对疏水作用不利,抵消了由疏水作用产生的熵减小,从而导致从10℃到50℃过程中 $-T\Delta S$ 的贡献不断减少并最终转变为正值.

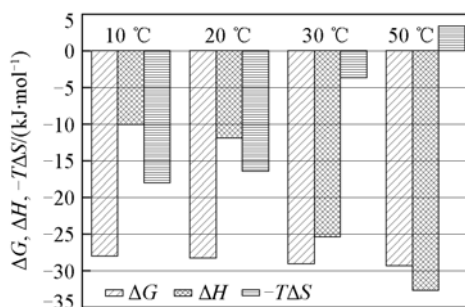


Fig. 3 Relative values of ΔG , ΔH and $-T\Delta S$ at different temperatures

参 考 文 献

- [1] LI Guo-Hua(李国华), LI Ji-Hong(李纪红), WANG Wei(王蔚), *et al.*. Biomacromolecules[J], 2006, **7**(6): 1811—1818
- [2] Ryan K., Gershell L. J., Still W. C.. Tetrahedron[J], 2000, **56**(21): 3309—3318
- [3] Alamgir M. H., Schneider H. J.. J. Am. Chem. Soc. [J], 1998, **120**(43): 11208—11209
- [4] Wehner M., Schrader T.. Angew. Chem. Int. Ed. [J], 2002, **41**(10): 1751—1754
- [5] LI Qiong(李琼), DU Yan-Li(杜艳丽), YANG Ke-Ke(杨科珂), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2007, **28**(6): 1059—1063
- [6] Schneider H. J., Eblinger F., Sirish M.. Adv. Supramol. Chem. [J], 2000, **6**(1): 185—216
- [7] Shigehisa A., Takanori T., Tatsuya N.. J. Am. Chem. Soc. [J], 2006, **128**(49): 15765—15774
- [8] Batia K., Miriam C., Edward U., *et al.*. J. Chromatogr. B[J], 2003, **796**(1): 141—153

Interaction of Copolymer-Zn with Polypeptide

ZHAO Jian-Xin¹, QIAO Yi-Tao¹, FENG Jing¹, LUO Zhao-Feng², YUAN Zhi^{1*}

- (1. Key Laboratory of Functional Polymer Materials, Ministry of Education, Institute of Polymer Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China;
2. School of Life Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China)

Abstract A new copolymer(C) was designed and synthesized. Isothermal Titration Calorimetry(ITC) experiments showed the strong binding of C-Zn and the predetermined peptide sequences(DFLAE, appear in many peptides sequence which cumulate in serum of uremic patients). The further ITC experiments demonstrate that the binding is the result of the cooperative effect of coordination and hydrophobic interaction, which may provide further understanding on the mechanism of polymer-metal-peptide interaction and a structural basis for designing the adsorbents for the target peptide.

Keywords Polypeptide; Copolymer; Intermolecular interaction

(Ed.: H, J, Z)