

中图分类号：O641.3

单位代码：10425

学 号：S19140001



中國石油大學

# 硕士学位论文

China University of Petroleum Master Degree Thesis

含偶氮苯短肽衍生物的自组装形貌调控及光响应特性的分子模拟研究

Self-Assembly and Photo-responsive Behavior of Designed  
Azobenzene Derivatives of Short Peptides: Molecular Simulation  
Studies

学科专业：材料科学与工程

研究方向：材料设计与多尺度模拟

作者姓名：王一宁

指导教师：张军 教授

二〇二二年五月

**Self-Assembly and Photo-responsive Behavior of Designed  
Azobenzene Derivatives of Short Peptides: Molecular  
Simulation Studies**

A Thesis Submitted for the Degree of Master

**Candidate: Wang Yining**

**Supervisor: Prof. Zhang Jun**

School of Materials Science and Engineering  
China University of Petroleum (EastChina)

## 关于学位论文的独创性声明

本人郑重声明：所呈交的论文是本人在指导教师指导下独立进行研究工作所取得的成果，论文中有关资料和数据是实事求是的。尽我所知，除文中已经加以标注和致谢外，本论文不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含本人或他人为获得中国石油大学（华东）或其它教育机构的学位或学历证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对研究所做的任何贡献均已在论文中作出了明确的说明。

若有不实之处，本人愿意承担相关法律责任。

学位论文作者签名：\_\_\_\_\_ 日期： 年 月 日

## 学位论文使用授权书

本人完全同意中国石油大学（华东）有权使用本学位论文（包括但不限于其印刷版和电子版），使用方式包括但不限于：保留学位论文，按规定向国家有关部门（机构）送交、赠送和交换学位论文，允许学位论文被查阅、借阅和复印，将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，采用影印、缩印或其他复制手段保存学位论文，授权但不限于清华大学“中国学术期刊(光盘版)电子杂志社”和北京万方数据股份有限公司用于出版和编入 CNKI《中国知识资源总库》、《中国学位论文全文数据库》等系列数据库。（保密的学位论文在解密后适用本授权书）

学位论文作者签名：\_\_\_\_\_ 日期： 年 月 日

指导教师签名：\_\_\_\_\_ 日期： 年 月 日

## 摘 要

在氢键、静电相互作用等非共价力的驱动下，短肽分子可发生自组装现象，形成管、囊泡、纤维等具有不同应用价值的有序纳米结构。对短肽分子修饰环境响应基团，可赋予短肽自组装结构环境响应特性，是制备环境响应型智能材料的重要手段。然而，如何有效地设计短肽衍生物结构，获得具有特定形貌和环境响应特性的自组装纳米结构，是该领域的一大难题。

在论文中，采用粗粒度分子动力学模拟的方法，我们开展了短肽衍生物的分子设计，对短肽衍生物的自组装形貌调控和环境响应特性进行了探究。通过向二肽 FA 分子中引入偶氮苯基团，设计了两种短肽衍生物；基于此，分别构建了光响应自组装囊泡体系和光响应自组装凝胶体系，并对其自组装及环境响应机理展开了研究。

对于囊泡体系，在 F(azo)A 分子组装成囊泡后，通过改变偶氮苯的夹角来考察其经光诱导的结构变化，发现囊泡会向杆状囊泡转变且过程可逆，同时囊泡的渗透率会有所增加。我们向组装体系加入了苯丙氨酸二肽（FF）从增强分子的聚集倾向和片层的弯曲能力两方面来加速囊泡的形成并调节囊泡尺寸，同时保持囊泡的响应特性。

对于凝胶体系，我们设计的 bisazoFA 分子组装得到交联网络，经光响应后转变为无交联的线型结构，此种变化也导致了凝胶粘度的降低。我们同样加入 FF 以期待能获得不同的组装结构，发现 FF 的存在，使组装体在紫外-可见光的作用下发生片层至网络的可逆变化，并实现了凝胶粘度在响应前后的反向控制。在此体系中，FF 在组装体中始终保持双分子层组装结构，而 bisazoFA 分子在响应前后的组装结构有较大差异，这也是加入 FF 后组装体结构有所改变的原因。

在本文中，我们明确了不同类型的分子中偶氮苯光异构化对组装体的影响，这有助于我们合理设计分子结构以获得具有目标结构及功能的组装体；通过明确 FF 在组装过程中的作用将其用作调节剂，展示除响应之外的形貌调控措施；此研究将多种形貌调控手段结合，明确调控机理，加深对自组装的理解，为短肽自组装材料的设计提供参考。

**关键词：**短肽，自组装，偶氮苯，分子动力学模拟，粗粒度

# **Molecular Simulation Study on the Self-Assembled Morphologies Regulation and Photo Response of Azobenzene Derivatives of Short Peptides**

Wang Yining (Material Science and Engineering)

Directed by Prof. Zhang Jun

## **Abstract**

Driven by non-covalent forces such as hydrogen bond electrostatic interaction, short peptide molecules can self-assemble and form ordered nanostructures with different application values such as tubes, vesicles, fibers. By modifying the environmental response groups of short peptide molecules, the self-assembled structure of short peptide can be endowed with environmental response characteristics, which is an important way to prepare environmentally responsive smart materials. However, how to effectively design the structure of short peptide derivatives to obtain self-assembled nanostructures with specific morphologies and environmental response characteristics is still a major challenge in the field.

In this work, we developed the molecular design of short peptide derivatives using coarse-grained molecular dynamics simulation, and investigated the self-assembly morphology regulation and environmental response characteristics of short peptide derivatives. We designed two short peptide derivatives by coupling azobenzene group into dipeptide FA. Based on this, photo-responsive self-assembly vesicle system and photo-responsive self-assembly hydrogel system were constructed respectively, and then we explored their self-assembly and environmental response mechanism.

For the vesicle system, after F(azo)A molecules were assembled into vesicles, we investigated the photoinduced structural changes of vesicle by changing the included angle of azobenzene. We found that the vesicles could be transformed into rod-shaped vesicles reversibly. Meanwhile, the permeability of the vesicles increased. We added dipeptide FF to the assembly system so as to accelerate the formation vesicles and adjust the size of vesicles through enhancing the aggregation tendency of molecules and the bending ability of lamellar. We maintained the response characteristics of vesicles as well.

For the gel system, bisazoFA molecules designed by us could be assembled into the crosslinking network, and transformed into the uncrosslinked linear structure after photo-response. This change also resulted in a decrease in gel viscosity. We also added FF in anticipation of obtaining different assembly structures. It was found that FF made the assembly undergo reversible lamellar to network changes under the action of UV-visible light, and realized the reverse control of gel viscosity before and after the response. In the assembly, FF always maintained the bilayer structure, while the assembly structure of bisazoFA molecules had a great difference, which was also the reason for the change of the assembly structure after the addition of FF.

Here, we clarify the effect of azobenzene photoisomerization on the assembly of different types of molecules, which helps us to design the molecular structure reasonably to obtain the assembly with the target structure and function. Dipeptide FF can be used as a regulator to present another morphology control measure in addition to response by clarifying the role of FF in the assembly process. These studies combine two morphologic regulation methods to clear regulation mechanism, deepen the understanding of self-assembly and provide reference for the design of short peptide self-assembly materials.

**Key words:** Short Peptide, Self-assembly, Azobenzene, Molecular Dynamics Simulation, Coarse-Grained

# 目 录

第一章 引言.....	1
1.1 短肽自组装简介.....	1
1.1.1 自组装机制.....	2
1.1.2 自组装体系的环境响应特性.....	4
1.1.3 短肽分子的设计策略.....	6
1.2 响应型短肽自组装的应用.....	7
1.2.1 药物运输载体.....	7
1.2.2 组织工程和细胞培养.....	8
1.2.3 其他应用.....	9
1.3 分子动力学模拟在短肽自组装研究中的应用.....	10
1.3.1 预测或筛选组装结构.....	10
1.3.2 明确组装过程及解释组装机理.....	11
1.4 主要研究内容.....	12
第二章 研究方法.....	14
2.1 Martini 粗粒度分子动力学模拟.....	14
2.2 研究方案.....	15
2.2.1 研究对象及粗粒化模型.....	15
2.2.2 模拟参数设置.....	16
2.2.3 研究思路.....	16
第三章 光响应囊泡体系的构建及形貌调控.....	17
3.1 模拟细节.....	17
3.2 光响应短肽分子及囊泡体系的构建.....	18
3.2.1 光响应短肽分子的设计及筛选.....	18
3.2.2 光响应囊泡的自组装.....	20
3.3 光响应囊泡的形貌调控.....	20
3.3.1 囊泡的形貌调控策略.....	20
3.3.2 囊泡形成过程的优化及尺寸调控.....	21
3.4 囊泡光响应特性分析.....	26

3.4.1	囊泡可逆结构变化.....	26
3.4.2	囊泡渗透性变化分析.....	31
3.5	本章小结.....	33
第四章	光响应凝胶体系的构建及形貌调控.....	35
4.1	模拟细节.....	35
4.2	光响应短肽分子及凝胶体系的构建.....	36
4.2.1	光响应短肽分子的设计.....	36
4.2.2	凝胶体系的自组装.....	36
4.3	光响应凝胶体系的形貌调控.....	37
4.4	组装体光响应特性分析.....	40
4.4.1	组装体形貌变化.....	40
4.4.2	凝胶网络粘度变化.....	47
4.5	本章小结.....	48
结论	.....	50
参考文献	.....	51
致谢	.....	61

# 第一章 引言

两亲分子自组装已成为制备结构有序、功能新颖的纳米材料的一种有效手段。聚合物、生物分子、金属复合分子均可作为自组装的组装单元。其中，生物分子（包括 DNA、蛋白质、多肽、病毒、酶等）通过自组装得到的生物纳米材料具有生物相容性及可降解性、结构可控性，在材料科学、生物医学工程、组织工程、生物传感器和纳米技术等领域得到了广泛的应用。

短肽是由 2-10 个氨基酸脱水缩合连接而成的化合物。对淀粉样蛋白组装的研究，促进了短肽作为组装结构单元的发展，短肽自组装已成为材料领域重要研究方向之一。由于自组装依靠非共价力驱动，分子间相互作用易被外界环境如 pH、温度、光等影响，使得组装体结构、功能发生变化，因此短肽常用于制备智能响应材料。

理解肽的自组装，重点在于肽分子的结构。短肽分子的氨基酸顺序及手性不同，会导致不同的组装结构。是否带有修饰基团，也会影响分子间相互作用，最后组装形成多种结构。因此合理设计短肽分子结构，包括选择合适氨基酸序列、修饰相关响应基团，使其可自发组装得到有序纳米结构并具有多功能性，是材料领域的研究热点。

## 1.1 短肽自组装简介

自组装是指各种组装单元在氢键、疏水相互作用等非共价力的驱动下自发组装成结构有序、功能多样的组装体的过程。短肽作为优秀的组装单元，表现出良好生物相容性，具有序列特异的二级结构、化学多样性、生物分子识别和易于合成等特点，可广泛应用于生物纳米技术上。短肽组装体在纳米和微结构方面表现出丰富的多样性，包括水凝胶、纤维、管、棒、膜、板、囊泡等。不同的组装结构，有着不同的功能，适用不同的应用领域，如囊泡可用于药物传递，水凝胶可用于组织工程、3D 生物打印等<sup>[1-4]</sup>。

为使肽组装体具有更智能、可控的功能，如实现药物的定点释放，通常需要对组装体形貌进行调控。调控手段众多，多数基于改变分子间的非共价作用，例如通过改变环境因素直接或间接改变分子间作用力，从而达到调控组装体形貌的目的。因此，为了合理设计分子结构并实现对组装体的有效调控，我们需要了解自组装的驱动力及其影响因素。

### 1.1.1 自组装驱动力

由于氨基酸侧链的多样性和氨基酸残基之间的酰胺连接方式,氢键、疏水相互作用、静电相互作用和 $\pi$ - $\pi$ 堆积等非共价力在组装过程中提供组装驱动力,并稳定形成的纳米结构。

#### (1) 氢键

肽分子与溶剂分子间形成的氢键,是构建肽结构的重要驱动力,特别是在肽的二级结构的稳定、折叠和随后的相互作用方面。在分子自组装过程中,氢键可以促进分子在一个方向上以长程有序的方式生长,形成一维纳米结构(图 1-1 (a))<sup>[5,6]</sup>。例如二苯丙氨酸(FF)在纯水中形成纳米管,向溶液中逐渐加入 1, 1,3,3,6,6-六氟异丙醇(HFP),HFP 与 FF 形成分子间氢键,导致肽分子溶剂化,随加入的 HFP 的含量增加,逐渐出现微棒、空心微管及纳米纤维结构<sup>[7]</sup>。

#### (2) 疏水相互作用

疏水性是表面活性剂和类表面活性剂的肽组装体系中公认的驱动力。短肽作为两亲分子,有明确的亲水及疏水区域。在水溶液中,疏水区域之间的疏水相互作用促使它们聚集并与水隔离,从而最大限度地减少疏水相互作用。近年来,已经有很多关于功能生物纳米材料的疏水相互作用诱导的肽自组装的研究报道。例如,由于疏水侧链间的相互作用,使 bola 结构的分子侧链通过面对面填充模式的 $\beta$ -折叠横向堆积,最终组装得到纳米管,并通过改变侧链几何形状和疏水核心残基的碳分子数,可以很容易地在较大范围内调整纳米管的直径<sup>[8]</sup>。另外,通过疏水相互作用,肽两亲体 NapFFKYp 在溶液中可组装形成纳米纤维,随老化进一步形成高度有序的纳米纤维,而在底物上,通过疏水及静电相互作用,肽两亲体同时形成纳米纤维和纳米薄片结构(图 1-1 (b))<sup>[9]</sup>。

#### (3) $\pi$ - $\pi$ 堆积

$\pi$ - $\pi$ 堆积常见于 $\pi$ 共轭肽系统,如 FF 二肽及其衍生物。事实上, $\pi$ - $\pi$ 堆积可以看作是一种较强的疏水相互作用。不同于一般的疏水相互作用, $\pi$ - $\pi$ 堆积具有一定的方向性,可以诱导肽的定向生长。Xu 等人<sup>[10]</sup>通过芳香基团与五肽连接,由于分子间的 $\pi$ - $\pi$ 堆积,肽分子组装成纳米纤维进而形成水凝胶。此外, $\pi$ - $\pi$ 堆积方式也可以受溶剂极性调节。Li 及其团队<sup>[11]</sup>通过调节 FF 在甲苯/乙醇混合溶液中肽侧链的 $\pi$ - $\pi$ 堆积以及主链间的氢键作用诱导有机凝胶向花状微晶体转变(图 1-1 (c))：在凝胶相中,分子采取反平行 $\beta$ -折叠以及 J 型的芳香基团聚集;在微晶体中分子则采取平行 $\beta$ -折叠以及 H 型的芳香基团聚集。

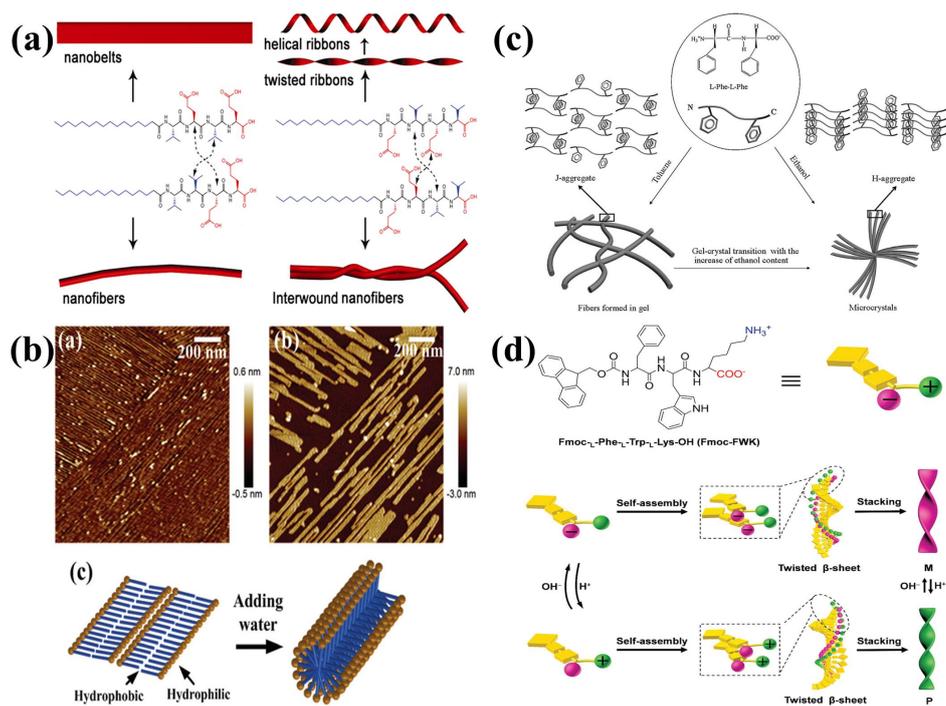


图 1-1 肽分子自组装过程中的非共价作用。(a) 同分异构的肽两亲体组装形成不同的一维纳米结构<sup>[5]</sup>；(b) NapFFKYp 在云母片上加水前后的构象变化<sup>[9]</sup>；(c) 在不同溶剂中采取不同的芳香基团聚集方式<sup>[11]</sup>；(d) 端基电荷控制纤维旋向<sup>[15]</sup>

**Fig.1-1 Noncovalent interactions in peptide molecular self-assembly. (a) Isomeric peptide amphiphiles assemble to form different one-dimensional nanostructures<sup>[5]</sup>; (b) Conformational changes of NapFFKYp before and after adding water to mica<sup>[9]</sup>; (c) Different aromatic group aggregation methods are adopted in different solvents<sup>[11]</sup>; (d) The end charge controls the spin of the fiber<sup>[15]</sup>**

#### (4) 静电相互作用

静电相互作用在多肽等自组装成更高层次的纳米结构中发挥重要作用，通常为带电肽提供结构特异性。静电作用对于含有酸性或碱性氨基酸多肽的自组装影响比较大，即通过调节 pH 和离子强度来有效地调节这类肽的自组装行为。一般来说，淀粉样原纤维的螺旋或扭曲形态是由手性相互作用和与扭曲相关的弹性能量之间的竞争引起的，研究发现肽分子末端与淀粉样纤维的扭转方向有关<sup>[12,13]</sup>，末端电荷之间的静电斥力降低了β-折叠的间距，导致扭曲的带或缠绕的纤维<sup>[14]</sup>。Qi 等人<sup>[15]</sup>通过调节带有氨基保护基的短肽 Fmoc-FWK 的末端电荷，可成功制出左旋、右旋及扁平的纳米带。静电相互作用强烈地影响了β-折叠的扭转方向和扭转程度，负电羧基间的静电排斥诱导β-折叠的左旋扭曲，进而形成左旋纳米带，同理，正电氨基间的静电排斥导致右旋纳米带（图 1-1 (d)）。

在自组装过程中，各种非共价力协同作用，其中，疏水相互作用虽不像氢键、π-π

堆积具有较强的方向性限制, 但通过调整分子结构, 使其内部亲疏水比例达到合适状态, 可有效调整分子的组装倾向, 更有利于获得目标结构。

### 1.1.2 自组装体系的环境响应特性

短肽自组装材料是分子通过各种非共价力作用结合而成, 故其理化性质易受到环境变化(如 pH、温度、极性等)影响, 表现为环境响应特性。由于短肽具有苯环、氨基、羧基等官能团, 所以我们可以改变外界环境, 精确控制短肽分子在组装过程中的相互作用, 实现组装体结构的可控及可逆变化。

#### (1) pH

带电氨基酸侧链的电离程度与溶液 pH 值密切相关, 而且不同氨基酸在给定 pH 值下的电离程度不同。通过改变溶液的 pH 值, 可调节肽分子的带电状态, 进而调节分子间的静电相互作用。短肽 A<sub>6</sub>K 在无任何端基保护基的条件下, 分子在不同 pH 下呈现出不同的电荷分布, 导致不同的结构状态: pH 值为 2 时, 观察到边界清晰但形状不规则的块; pH 值位于 3-5 时, 块状结构的边界逐渐模糊; 当 pH 值在 5-6 时, 开始出现带状结; 在 pH 为 7 时, 大量块状结构在融合后延伸形成纳米带; 随 pH 继续增加, 溶液逐渐呈碱性, 纳米带逐渐消失, 不规则块状结构再次出现<sup>[16]</sup>。

#### (2) 温度

温度作为较易控制的刺激源, 可以通过改变肽分子间非共价力的强弱来调控肽自组装的形貌结构<sup>[17]</sup>。Qi 团队<sup>[18]</sup>发现 FF 在异丙醇溶剂中的组装及分解受温度影响, 在低温下能组装成纳米结构, 高温下分解, 且该过程可逆。温度对氨基-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>的解离影响较大, 而对-COOH 的影响较小, 随温度从 25℃ 升至 90℃, -NH<sub>3</sub><sup>+</sup>明显向-NH<sub>2</sub> 偏移, 影响了 FF 分子间及 FF 与溶剂间的氢键及电荷作用, 增大短肽溶解度。随着温度的降低, 解离平衡向-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>侧移动, 在这种情况下, 静电斥力被消除, 氢键的强度增加, 在不同的溶剂中, 实现微管、纳米线及有机凝胶之间的结构转变。

#### (3) 溶剂

有机溶剂的加入会导致溶液极性增强, 分子间非共价力受到影响, 从而改变组装体结构。例如以乙醇为共溶剂, 苯丙氨酸二肽 (FF) 在甲苯溶剂中的自组装结构可以很容易地被诱导发生有机凝胶到花状微晶体的转变<sup>[11]</sup>。在甲苯中, FF 凝胶的形成依赖芳香残基间的 $\pi$ - $\pi$ 堆积及肽主链间的氢键作用。乙醇较甲苯具有更强的极性, 在甲苯溶液中加入乙醇以增加溶剂极性并增强溶剂及凝胶之间的作用, 使组装体逐渐从凝胶结构转变

为微晶结构。

(4) 光

光响应类型包括光致异构、光致裂解（图 1-2（a））。此性质并非氨基酸固有特性，故而需要在短肽分子中引入光响应基团使其具有光响应特性。常见光响应分子有二苯乙烯、偶氮苯、螺吡喃、二芳基乙烯等<sup>[19,20]</sup>。其中偶氮苯及其衍生物具有可逆的光异构性、高转化率的优异性能，并易于合成修饰，成为最常见的光敏分子之一<sup>[21-23]</sup>。偶氮苯在紫外及可见光的照射下，发生顺反结构变化，从而导致组装体结构改变。例如，当偶氮苯基团位于 FF 的 N 端苯基的对位位置时，偶氮苯的光异构化可以改变二肽的聚集倾向，通过分子组装得到的纳米纤维在紫外线下可转化为囊泡（图 1-2（b））<sup>[24]</sup>。Zhang 等人<sup>[25]</sup>设计了通过偶氮苯连接的对称双 $\alpha$ -螺旋肽，实现了在不同 pH 溶液中的结构转变，在紫外条件下，肽分子从 Z 型结构转变成 U 型结构，Z 型结构代表了一种线性的、柔性的分子，有利于通过氢键、疏水和静电等各种非共价相互作用形成有序分子堆叠。而 U 型结构具有明显的疏水和亲水结构域，导致肽分子向致密结构如球体和囊泡的方向自组装，以降低表面能，实现了组装体在碱性环境中纳米球和囊泡之间发生可逆的形态转变，以及在酸性环境中的纳米颗粒和纳米球之间的转变（图 1-2（c））。

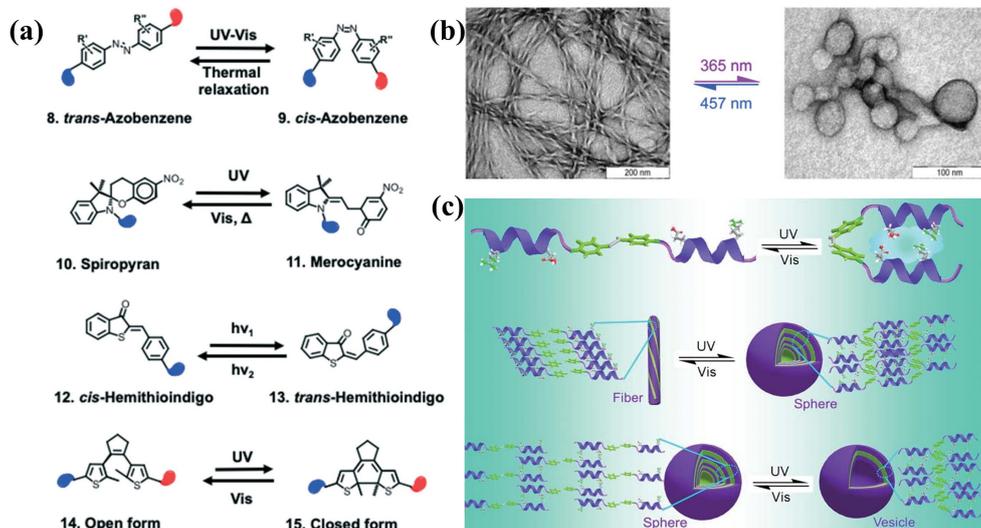


图 1-2 (a) 常见光响应基团<sup>[19]</sup>；(b) 二肽偶氮苯衍生分子在可见光—紫外光下从纤维转变为囊泡<sup>[22]</sup>；(c) 通过偶氮苯连接的对称双 $\alpha$ -螺旋肽在不同条件下的结构转变<sup>[23]</sup>

Fig.1-2 (a) Common photo-responsive groups<sup>[19]</sup>; (b) Dipeptide azobenzene derived molecules transform from fibers to vesicles under visible-UV light<sup>[22]</sup>; (c) Structural transformation of symmetric gemini  $\alpha$ -helical peptides linked by azobenzene under different conditions<sup>[23]</sup>

在众多环境响应因素中，光作为非侵入性刺激源，由于具有波长及强度可调、时间及空间的高度可控而优于其他响应条件，光控自组装为得到智能及适应性材料提供了重

要的机遇，而光响应材料也已在传感器、驱动装置、生物医学等领域有所成果，因此我们以合理的设计光响应组装体系并获得光响应材料作为研究重点。

### 1.1.3 短肽分子的设计策略

获得光响应组装体的前提是有能够组装成有序结构的光响应分子，故如何合理地设计分子结构仍是我们需要考虑的问题。常用的设计策略包括调整氨基酸序列，或构建非标准氨基酸以赋予分子所需的特殊性质。

#### (1) 氨基酸序列调整

氨基酸作为短肽的组成单元，其种类繁多，性质多样，包括极性、非极性、电荷等，在短肽分子中调整氨基酸顺序或替换某个氨基酸都会影响分子间非共价作用，导致形成不同结构的组装体。例如，Ac-I<sub>3</sub>K-NH<sub>2</sub> 由于异亮氨酸的高疏水性和强烈的 $\beta$ -折叠的氢键倾向，组装成纳米纤维。若将分子中的异亮氨酸换为亮氨酸，Ac-L<sub>3</sub>K-NH<sub>2</sub> 则组装成球形纳米结构<sup>[26]</sup>。Han 及其团队<sup>[27]</sup>采用 PACE 模型探究了 8 个由异亮氨酸 (I) 和苯丙氨酸 (F) 组成的三肽的自组装结构及序列之间的关系。虽然 8 种三肽均组装形成了相似的纤维形态，但组装体内部还是有明显差异，这与三肽的构象有关。研究表明，三肽倾向形成 2 种主要构象，氨基酸序列不同导致形成两种构象的倾向不同，这两种构象之间不同类型的非共价相互作用导致了不同的堆积方式，从而导致了不同的纤维形态。

#### (2) 非标准氨基酸

除对短肽序列的氨基酸顺序及种类进行变化，对短肽分子中的氨基酸侧链或 N/C 端进行修饰，有可能大限度地扩大分子功能，从而开发出不同材料，尤其是环境响应型材料<sup>[28]</sup>。在 N/C 端引入取代基是修饰氨基酸广泛使用的方法，常见的 N 端保护基有 Fmoc、Boc；C 端保护基有 OMe、OtBu。端基可提供不同的非共价力来影响组装过程，如 Fmoc 基团在组装中提供 $\pi$ - $\pi$ 堆积，使分子容易组装形成水凝胶，Fmoc-FF 便在 Fmoc 基团的反平行 $\beta$ -折叠倾向和 $\pi$ - $\pi$ 堆积的作用下组装形成圆柱形纳米结构，表现为水凝胶<sup>[29]</sup>。

对氨基酸侧链进行修饰的非标准氨基酸在近年来也得到了大量关注。含有疏水侧链的二肽是微孔有机材料的一个特殊来源，含有非天然 L-2-氨基丁酸 (Abu) 或 L-2-氨基戊酸 (Nva) 的 Val-Ala 新二肽组装结晶成多孔结构，形成具有不同的直径和螺旋度的平行手性通道，并允许通过系统地改变侧链来微调通道横截面<sup>[30]</sup>。

光响应分子的设计通常是将光响应基团偶联到短肽分子的端基或疏水侧链上，如偶氮苯就可用作端基保护基，连接在短肽的 N 端或 C 端，提供光响应特性<sup>[31]</sup>，现有研究

也发现偶氮苯残基的所在位置可以作为一种多功能的调节剂来降低凝胶的临界凝胶浓度，并提高凝胶的热稳定性和机械强度<sup>[32]</sup>。偶氮苯残基位于氨基酸侧链与无保护氨基末端是兼容的，且在短肽分子中的位置具有较大的灵活性，在设计光响应短肽分子中有很大的借鉴性。

因此，为获得能组装成目标结构的光响应分子，我们需要结合短肽分子的性质以及光响应基团的性质来综合考虑比较，从而获得具有最佳结构及功能的纳米材料。例如，在四肽 C 端连接偶氮苯，使分子带有一个正电荷，相较于偶氮苯在四肽中的其他位置，具有最强的抗菌功效<sup>[33]</sup>。

## 1.2 响应型短肽自组装的应用

短肽在生物材料领域中的潜力促进了对其自组装的研究，短肽自组装材料对环境的敏感性也使其用于制备响应型智能材料，在生物医学、纳米驱动等领域具有广阔的发展前景<sup>[34,35]</sup>。不同的组装结构具有不同的应用价值，因此我们需要了解各应用领域所包含的结构类型，从而选定我们的目标结构。

### 1.2.1 药物运输载体

纳米材料作为药物传递载体具有载药效率高、药物损失率低、稳定性高、避免机体清除等优点，肽自组装纳米材料在药物输送上有较好前景<sup>[36,37]</sup>。例如 Stupp 团队<sup>[38]</sup>通过肽两亲体组装形成的囊泡，其聚合物核心与疏水性药物阿霉素结合，调节其外壳性质，与相应受体结合，实现药物的靶向给药。多肽自组装纳米材料具有可生物降解和生物相容性，更容易用小分子或多肽配体等特定材料进行修饰，故基于肽的自组装在特异性靶向和敏感反应上具有生物学优势。药物的释放时间、比例或其他许多策略应根据疾病状态的要求加以控制，而肽自组装纳米结构及功能在环境因素触发时会有所变化，具有控制药物或其他材料释放的能力。因此，具有刺激响应特性和良好控制释放功能的多肽自组装纳米结构可用于提高药物传递效率<sup>[39]</sup>。

囊泡作为常用载体结构，响应型肽基纳米囊泡更适用于药物的靶向可控释放<sup>[40,41]</sup>。囊泡等纳米颗粒在向肿瘤组织输送药物方面具有控制药物释放和提高生物活性的作用，肿瘤微环境响应纳米颗粒更有利于靶向细胞，提高治疗效果<sup>[42]</sup>。例如华中农业大学 Han 课题组<sup>[43]</sup>设计合成的嵌段离子肽 PEAK-DMA 在肿瘤偏酸性微环境可实现球形纳米颗粒向线型纳米颗粒的结构转换，产生的线型纳米颗粒促进了嵌合肽的细胞内化，进一步延

长了光动力疗法 (PDT) 在肿瘤中的滞留时间, 提高了 PDT 的疗效, 且副作用很小。Nie 等人<sup>[44]</sup>通过七肽衍生物 Fmoc-HP 及磷钨酸 PTA 共组装形成的空心球结构, 在酸性条件下保留药物负载, 在碱性条件下实现药物释放, 可用于肠道疾病的靶向治疗 (图 1-3 (a))。

自组装肽水凝胶已成为药物传递、组织工程和生物传感的潜在平台。环境响应型水凝胶使凝胶在特定条件下通过凝胶-溶胶的可逆转变, 实现刚度的可逆及可控变化从而实现分子可控释放<sup>[45,46]</sup>。Nillson 及其团队<sup>[47]</sup>通过将 AMPP 并入 (RADA)<sub>4</sub> 肽中, 得到分子 Ac-(RADA)<sub>2</sub>-AMPP-(RADA)<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, 自组装形成水凝胶, 通过分子结构中偶氮苯的光异构化, 诱导水凝胶刚性的可逆转变, 可用于设计光触发药物释放体系。Feng 及其团队<sup>[48]</sup>通过苯丙氨酸衍生物 LPF2 以及偶氮苯衍生物 PPI 共组装得到的多响应水凝胶体系在紫外光的照射下实现了凝胶至溶胶的可逆相变, 通过非接触方式将包埋在水凝胶中的细胞释放到水溶液中, 为控制各种治疗性生物制剂的输送和生物分离提供设计思路 (图 1-3 (b))。

### 1.2.2 组织工程和细胞培养

组织工程是一门应用生物学、化学工程、材料学、机械工程、医学等理论的交叉学科, 目的是通过结合已鉴定的细胞, 构建人造组织, 修复或替代发生故障的组织和器官<sup>[49]</sup>。水凝胶是一种主要由水组成的三维交联高分子网络, 是一种理想的组织工程应用生物材料。水凝胶的结构和组成与细胞外基质 (ECM) 高度相似, 使其中的细胞可以存活并增殖。天然大分子及合成聚合物均可用于水凝胶的制备, 而自组装肽具有聚合物及天然大分子的优势 (易调制、一致性、良好的生物相容性和生物活性) 得到生物医学的广泛关注。通过调整氨基酸序列, 肽分子可以在特定的条件 (如 pH、离子强度或温度) 下自发组装, 形成具有纳米纤维、纳米管、纳米囊泡和纳米球等多种形态结构的多孔水凝胶支架, 用来包封细胞和生物活性分子, 如生长因子和治疗药物。非共价相互作用使组装得到的肽基水凝胶在不同环境条件下具有组装可逆性和结构灵活性, 利用响应单元实现肽支架的功能化, 例如, 光异构单元或氧化还原基团, 提供了一种将功能触发器纳入水凝胶的方法, 用于制备具有自愈合、可控释放或形状记忆功能的智能支架<sup>[50,51]</sup>。

肽基水凝胶作为三维支架, 已被用于细胞培养, 例如由南京大学 Zhang 等人<sup>[52]</sup>提出的光可降解水凝胶, 四唑基修饰的短肽 Tet(I)-GFF 和 Tet(II)-GFRGD 在紫外光照射下的快速光击反应干扰水凝胶的自组装, 诱导超分子水凝胶的光降解, 调节细胞微环境, 适

用于细胞培养及封装。Sun 等人<sup>[53]</sup>设计了带有 BPAA 基团的 pH 响应型三肽用于软骨组织细胞培养。Ac-(RADA)<sub>2</sub>-AMPP-(RADA)<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> 肽基水凝胶由偶氮苯带来的可逆光敏特性除可用于药物释放，还有利于制备体外细胞培养的增强材料，并对所需细胞具有选择性<sup>[47]</sup>。响应型肽基水凝胶还可用于血管、皮肤、心脏等组织器官的细胞修复<sup>[54-59]</sup>。Schneider 及其团队<sup>[60]</sup>报道了一种可促进血管融合的肽基水凝胶 APC1，该凝胶可注射至血管中有利于血管缝合，由于光笼谷氨酸的存在，经紫外光照射，凝胶发生相变转变成溶胶，缝合后易于清除（图 1-3（c））。

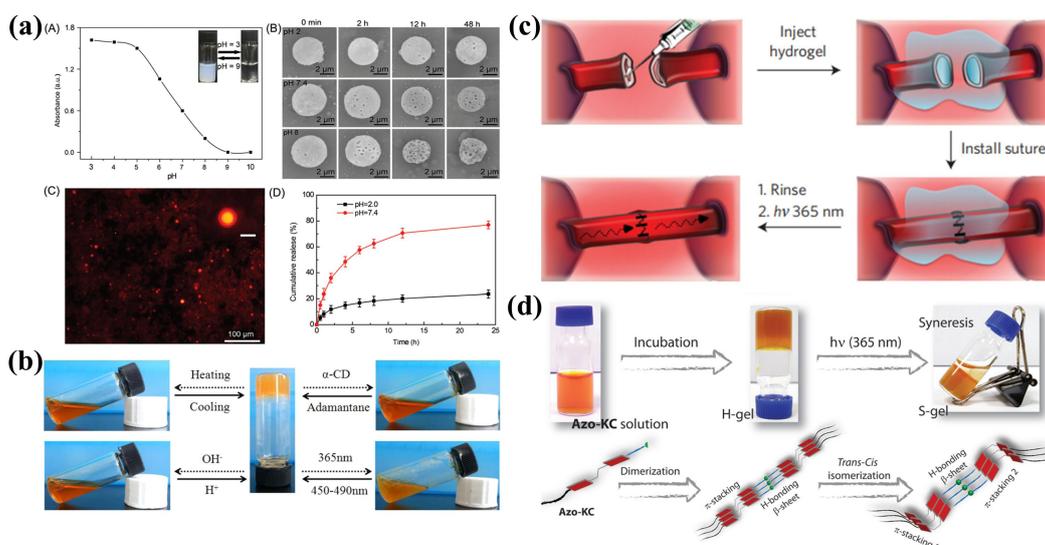


图 1-3 响应型短肽自组装的应用。(a) pH 响应型囊泡用于药物释放<sup>[41]</sup>；(b) 多重响应型水凝胶在不同条件下实现凝胶—溶胶转变<sup>[45]</sup>；(c) 可注射水凝胶用于手术缝合的支撑材料<sup>[57]</sup>；(d) 光诱导排水性凝胶用于吸附净水<sup>[66]</sup>

Fig.1-3 Application of responsive short peptide self-assembly. (a) Ph-responsive vesicles are used for drug release<sup>[41]</sup>; (b) Multiresponse hydrogels realize gel-sol transformation under different conditions<sup>[45]</sup>; (c) Injectable hydrogels are used as support material for surgical sutures<sup>[57]</sup>; (d) Photoinduced syneresis gel is used to water purification<sup>[66]</sup>

### 1.2.3 其他应用

除药物输送及组织工程，响应型肽自组装结构在医学、生物电子等领域有重要应用<sup>[61-66]</sup>。例如，利用光分子开关调节组装体生物活性以提供局部治疗的抗菌四肽，以偶氮苯作为光开关，肽所带有的净正电荷、疏水性以及偶氮苯所处位置等因素均有助于合成肽对金黄色葡萄球菌的抗菌活性，这些因素都可能促进肽破坏带负电荷的细菌脂膜<sup>[33]</sup>。为研究蛋白质的结构动态特性，北京大学 Guo 及其团队<sup>[67]</sup>开发一种内置偶氮苯的环状肽，将其共价连接到石墨烯电极上构建检测器件，通过可逆的光异构化调节电导明确顺反异构体的结构有序性，这种在肽内调节电导的能力为开发用于生物传感的纳米器件提供设

计思路。

肽基水凝胶除有较好的吸附性、不溶性，经环境响应后表现出的体积收缩和排水性可用于污水净化处理<sup>[68]</sup>。偶氮苯功能化的肽基水凝胶 Azo-KC 具有应力触变性及光诱导排水性，排水性与光诱导的偶氮苯顺反异构化有关，虽偶氮苯光异构过程可逆，然而排水过程不可逆，因此可以有效地用于去除水中的低分子量污染物（图 1-3d）<sup>[69]</sup>。

### 1.3 分子动力学模拟在短肽自组装研究中的应用

实验上针对自组装的研究已提出了多种表征手段，但组装过程中的微观动态及分子的排布情况无法得到直观地展示。分子模拟是研究自组装的有效工具，它们提供了实验无法提供的结构和动态细节，可以直观地展示出分子在组装过程中的运动轨迹。根据所模拟的时间及空间尺度不同，分子模拟可分为量子力学、统计力学、介观尺度。分子动力学（MD）模拟方法从属于统计力学层级，常见类型包括全原子分子动力学和粗粒度分子动力学<sup>[70,71]</sup>。全原子分子动力学（AAMD）更多地用于常规捕获构象动力学和局部运动；而对于类似蛋白质折叠、聚集和分子组装等发生在更大的时间及空间尺度的过程，超出了全原子模拟的范围，因此一些涉及较大体系和较长时间尺度动力学的过程通常选用粗粒度分子动力学（CGMD）模拟<sup>[72]</sup>。

粗粒度模型是在全原子结构的基础上进行一定程度的简化，自由度减少，从而允许较大规模体系的模拟。粗粒度模型已广泛用于短肽分子自组装的研究，具体包括预测或筛选组装结构、明确组装过程并解释组装机理。

#### 1.3.1 预测或筛选组装结构

肽自组装材料优势明显，合理设计可自组装的多肽成为材料设计的重点。短肽通常含有 10 个以内的氨基酸，20 种天然氨基酸自由组合序列较多，而相同氨基酸不同排列顺序都有可能产生不同的组装倾向及形貌。Tuttle 及其团队<sup>[73,74]</sup>通过粗粒度分子动力学模拟分别快速筛选了二肽及三肽的所有组合，并提出不同的评价措施以判断短肽中氨基酸种类及位置的组装倾向。在二肽中，苯丙氨酸（F）及色氨酸（W）的存在有利于组装；在三肽中，芳香族氨基酸（苯丙氨酸 F、酪氨酸 Y、色氨酸 W）位于中间或羧基端时有利于组装，带负电的氨基酸（谷氨酸 E、天冬氨酸 D）在羧基端更有利，而带正电的氨基酸（赖氨酸 K、精氨酸 R）以及氢键供体（丝氨酸 S、苏氨酸 T）位于氨基端时促进组装。期间提出的评价方案与实验结果具有良好的一致性，有利于多肽组装可行性

筛选方案的进一步开发。Gazit 及 Wei 团队<sup>[75]</sup>也通过 Martini 模型开发了一种有效方法来预测超短肽的液-液相分离的倾向,在该研究中通过聚类度和折叠度来确定肽的聚集能力,并定义了 ER 和 FE 参数来评价肽聚集物的流动性。

通过上述规则,可大致选取有组装倾向的短肽序列,而通过选择设计亲疏水性以及电荷的肽序列,以组装成具有目标形态和特征的纳米结构。Dutt 团队<sup>[76]</sup>利用苯丙氨酸二肽 (FF) 及其衍生物 FNF 共组装以研究分子极性对组装体结构的影响。通过控制短肽总浓度以及 FNF 的相对浓度来改变分子组成 (图 1-4 (a))。不同的分子组成分别促进了囊泡、纳米管和层状双分子层的形成,结构形态既取决于肽的总浓度,也取决于三肽的相对浓度,即肽的高总浓度使体系倾向形成层状双分子层, FNF 的存在导致自组装杂化纳米结构具有局部曲率,二者相互竞争,使组装体结构具有多样性。

在分子结构设计的初筛阶段,通过模拟手段观察组装结构,并根据其组装形貌进行分子结构整改,相较于实验,可以节约大量的时间及经济成本。

### 1.3.2 明确组装过程及解释组装机理

自组装依靠分子间非共价力作用,属于分子级别,对于组装过程中的一些现象及组装结构,仅由实验手段难以得到直观信息。而通过模拟得到的热力学及动力学信息,并结合可视化软件及后续的数据处理,可以更清晰地观察分子在组装过程中的动态变化,从分子层次上解释组装机理,从而指导实验并对结果进行补充。

在苯丙氨酸二肽 (FF) 及苯丙氨酸三肽 (FFF) 的共组装中发现了不同于各自组装结构中的环状纳米结构。复旦大学 Wei<sup>[77]</sup>通过对含有不同质量百分比 FFF 的 FF-FFF 混合物进行粗粒度分子动力学模拟,系统地研究了 FF 和 FFF 的共组装 (图 1-4 (b))。结果发现 FF 及 FFF 共组装形貌与组分浓度相关,当 FFF 质量百分比在 0-1 范围内变化,组装形貌出现从空心到实心结构的不连续转变,环状结构出现在 FFF 质量百分比 0.167-0.33 范围内,环形结构是介于空心向固体纳米结构转变的中间结构。环状纳米结构的形成取决于 FF 与水和 FFF 与水相互作用之间的竞争程度,由于 FFF 具有更大的疏水侧链,更有利于将其侧链埋入水中, FFF 在体系中的浓度增加,会减弱肽水相互作用;而空心-固体纳米结构转变主要由 FF-FFF 相互作用主导, FFF 的增加,有助于形成具有更小溶剂可及表面积 of 的组装体,从而使结构向固体纳米结构转变,肽水间的相互作用也提供了一定的转变驱动力。

Wei 团队<sup>[78]</sup>采用类似方法探究了 FF 及其他非 FF 二肽的共组装过程 (图 1-4 (c))。

结果表明，FF 与自组装倾向较低的非 FF 二肽（QF/FQ/AF/FA/GF/FG）共组装，形成规则囊泡；与自组装能力较低的荷电芳香二肽（DF, FD, EF, FE, DW, WD, EW, WE, RF, FR, KF, FK）共组装形成平面双分子层；与自组装倾向于固体聚集体的非 FF 二肽共组装，可形成单腔或多腔结构。通过对相互作用的分析，这些结构的形成归因于 $\pi$ - $\pi$ 堆积、疏水相互作用、静电相互作用的微妙平衡，这为通过 FF 相关的二肽共组装实现生物纳米材料的可控设计提供了可能方式。

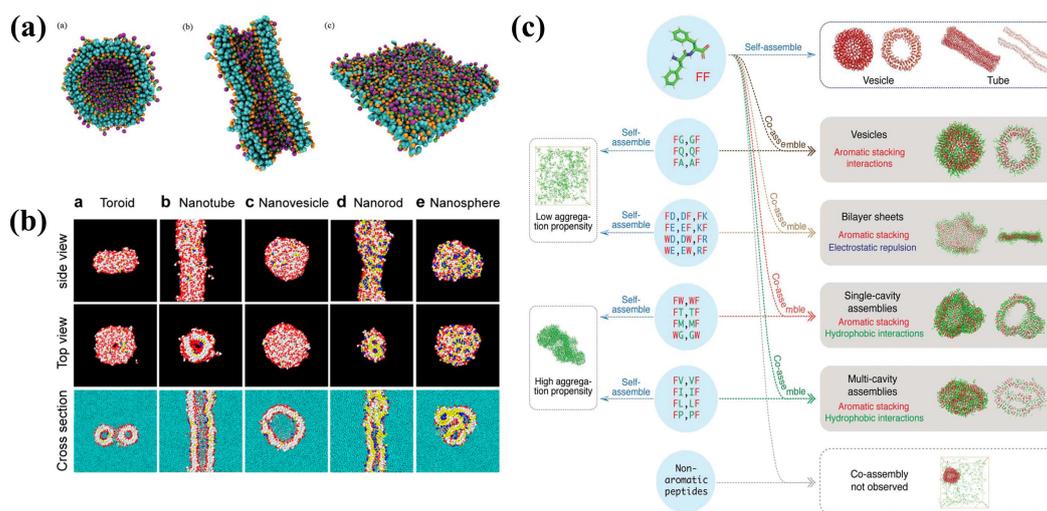


图 1-4 粗粒度分子动力学在短肽自组装中的应用。(a) FF 与 FNF 共组装形成不同的纳米结构<sup>[73]</sup>；(b) FF 和 FFF 的共组装导致不同类型的纳米结构<sup>[74]</sup>；(c) 能与 FF 共组装成有序纳米结构的非 FF 二肽及其共组装结构<sup>[75]</sup>

Fig.1-4 Application of coarse-grained molecular dynamics in self-assembly of short peptides. (a) Coassembly of FF and FNF to form different nanostructures<sup>[73]</sup>; (b) Coassembly of FF and FFF peptides leads to different types of nanostructures<sup>[74]</sup>; (c) Non-FF dipeptides coassembled with FF to form ordered nanostructures and their coassemblies<sup>[75]</sup>

除用单纯模拟的方式研究组装过程，通过实验与模拟相结合，既可以补充实验上缺少的信息，又可以验证模拟结果的准确性。Gazit 及 Wei<sup>[50,79]</sup>通过实验及模拟结合的方式研究了 FF 及其衍生分子、联吡啶衍生分子的共组装，通过分子动力学模拟从分子水平上揭示了共组装体的结构特征及形成机理，然而对于组装材料的响应特性，则以实验表征作为主要研究手段，未使用模拟方法展示出材料的 pH、温度、光等响应特性。

## 1.4 主要研究内容

综合以上概述，短肽自组装的研究现状可以总结如下：（1）短肽自组装的形貌决定其功能，现阶段不仅可以通过调整氨基酸序列来调控组装结构，还可以在短肽分子上修饰环境响应基团，通过改变环境因素实现组装体形貌的可逆调控，从而实现材料功能

的可逆控制；（2）在众多环境响应因素中，光响应优势突出，通常通过在分子中引入光响应基团来实现光响应功能；（3）粗粒度分子动力学作为研究自组装的有效手段，在预测组装结构和解释组装机理方面有广泛应用；（4）针对光响应型短肽自组装的研究，多数为实验表征，虽有部分模拟工作涉及，却少有直接研究由光响应导致的连续结构变化的机制，也因此缺少功能及结构上的规律性认识，导致光响应分子的设计具有偶然性。因此，采用粗粒度分子动力学模拟，研究短肽衍生分子的自组装及光响应机制，总结光响应导致结构变化的规律，为合理设计具有光响应特性的短肽分子提供理论指导，对定向调控组装体形貌及功能有重要意义。

在论文中，我们根据前期的分子设计策略以偶氮苯作为响应基团，构建了两种不同的光响应短肽衍生分子，采用粗粒度分子动力学模拟的方法研究其自组装及光响应过程。主要包括分析各分子自组装形貌特点，通过加入其他分子并控制其浓度来调控组装形貌，通过改变模型中偶氮苯的夹角来研究组装体的光响应特性。本文旨在通过对比组装体在光响应前后的结构变化，分析其光响应机理，总结光响应导致的结构变化规律，以达到根据目标结构及功能来合理设计光响应分子的结构的目的；其次，通过与相同或不同组装类型的分子共组装，可以实现在未进行响应时调控组装体形貌及功能，扩大形貌调控的范围，不仅局限于环境响应引起的功能调整。

## 第二章 研究方法

分子动力学模拟（Molecular Dynamics; MD），包括全原子分子动力学（All-atom Molecular Dynamics; AAMD）、粗粒度分子动力学（Coarse-grained Molecular Dynamics; CGMD），鉴于研究自组装不仅要研究考组装机理，还要考察组装形貌，时间尺度可能达微秒级，故选用粗粒度模拟作为研究方法。在众多粗粒化模拟方法中，基于 Martini 力场的粗粒化模型适用更为广泛，不需每次重新进行模型参数化。Martini 力场适用多种分子，包括蛋白质、肽、糖类、DNA、脂质、聚合物等，具体应用内容包括：囊泡融合、肽自组装、膜形成或重组等。

### 2.1 Martini 粗粒度分子动力学模拟

粗粒度分子动力学模拟原理与全原子分子动力学模拟一致，区别仅在于在粗粒度中将原子替换为映射的珠子，珠子的运动遵循牛顿力学定律，首先根据各珠子位置得到系统势能，再由此计算各珠子所受力及加速度，基本算法简要概括如下：

对于含有 N 个相互作用的珠子的体系，根据经典力学，任意珠子 i 所受力为与所处位置势能函数的梯度且方向相反，即

$$\vec{F} = -\nabla_i U = \left( \vec{i} \frac{\partial}{\partial x_i} + \vec{j} \frac{\partial}{\partial y_i} + \vec{k} \frac{\partial}{\partial z_i} \right) U \quad (2-1)$$

由此根据牛顿第二运动定律得到珠子 i 的加速度：

$$\vec{a}_i = \frac{\vec{F}_i}{m_i} \quad (2-2)$$

随后对时间积分以的到珠子 i 在时间 t 后的速度及位置，公式如下：

$$\frac{d^2}{dt^2} \vec{r}_i = \frac{d}{dt} \vec{v}_i = \vec{a}_i \quad (2-3)$$

$$\vec{v}_i = \vec{v}_i^0 + \vec{a}_i t \quad (2-4)$$

$$\vec{r}_i = \vec{r}_i^0 + \vec{v}_i t + \frac{1}{2} \vec{a}_i t^2 \quad (2-5)$$

根据上述计算步骤并不断重复，便可得到各时刻下系统内珠子的运动信息，包括位置坐标、速度及加速度，一般将珠子的位置信息称为轨迹。得到轨迹等信息后，通过后处理及可视化软件得到所需信息。

力场参数的合理设置对模拟结果的准确性有着重要影响。力场包含各种势函数，如非键结合势、库伦势、共价键伸缩势、键角弯曲势等。在粗粒化的力场中，省去了二面角扭曲势等形式，力场形式有所简化<sup>[80]</sup>。Martini 模型相较于全原子模型的简化基于四

比一的映射，即将相邻的几个原子或官能团看作一个珠子，平均四个重原子由一个单一的珠子表示，对于环状分子的映射分辨率要高一些（可达二比一）。为使模型简单化，Martini 力场定义了四类主要珠子：极性（P）、非极性（N）、无极性（N）、带电（Q），四类珠子又包括 18 种子类型珠子用于更精确地表示分子基本结构的化学键性质<sup>[81-84]</sup>。

Martini 力场在肽及蛋白质上的应用具有一定的普适性，这种普适性以牺牲了一定的模拟精度为代价，如粗粒化使得原子细节有部分丢失，无法重现某些特征，如蛋白质的二级结构，然而通过与实验或全原子模型比较，对相应的官能团的参数进行微调，使其包含氨基酸的极性、结构等特征，确保模拟结果的准确性，为广泛研究生物分子自组装及分子间相互作用提供了一种较为简单、快速及灵活性较强的方法。

## 2.2 研究方案

### 2.2.1 研究对象及粗粒化模型

在论文中，我们构建了两种偶氮苯短肽衍生分子 F(azo)A 及 bisazoFA，力场选用 Martini 2.2 版本，根据该力场对氨基酸的应用，确定相关珠子映射及相应力场参数<sup>[82,83,85,86]</sup>，构建的粗粒化模型如图 2-1 所示。

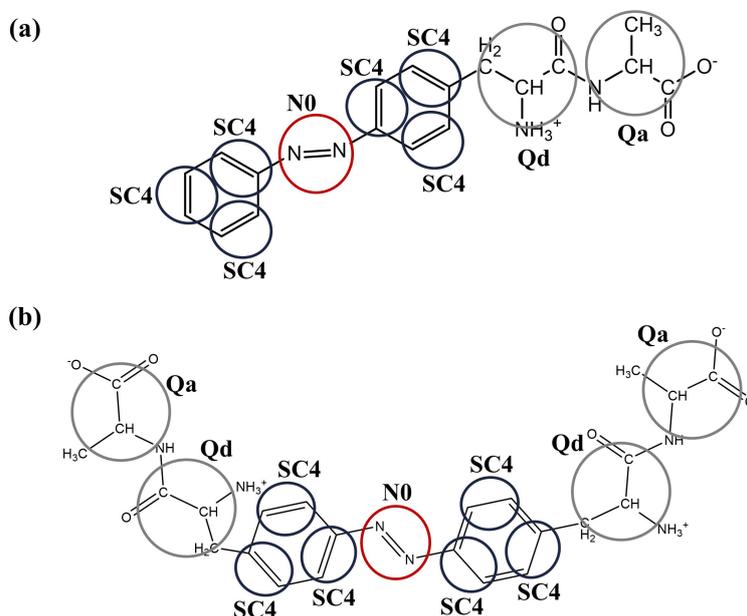


图 2-1 (a) F(azo)A 的粗粒化； (b) bisazoFA 的粗粒化  
Fig.2-1 The coarse-grained mapping of (a) F(azo)A, (b) bisazoFA

偶氮苯的光异构化通过改变珠子间夹角体现，即在可见光至紫外光的作用下，使 SC4-N0-SC4 夹角从  $180^\circ$  到  $60^\circ$  的转变。角度设置参考表 2-1。

表 2-1 模拟可见光和紫外光照射下的 SC4-N0-SC4 的角度变化  
Table2-1 Angle variation of SC4-N0-SC4 for simulating the irradiation of visible and UV light

Irradiation	Isomer	Angle(deg)
visible	trans	180
UV	cis	60

### 2.2.2 模拟参数设置

在本文中，粗粒度分子动力学模拟和随后的相关分析均通过 Gromacs2019.6<sup>[87]</sup>软件包实现。模拟选用等温等压（NPT）系综，温浴选择速度重缩放（v-rescale），压浴选择 Parrinello-rahman，相应的温度控制在 310 K，压力为一个大气压，模拟时间步长为 0.02 ps。邻域列表每 10 步更新一次，截断距离为 1.2 nm，使用 Verlet 缓冲区。静电作用和范德华力均采取双程截断（cut-off），截断半径为 1.2 nm，静电相互作用在 0.0~1.2 nm，范德华相互作用在 0.9~1.2 nm。所有模拟均选用边长为 30 nm 的立方体盒子，且在三个方向上应用周期性边界条件。在初始模型中，各分子与水随机混合。使用 VMD 软件<sup>[88]</sup>实现模拟结果的可视化。关于模拟及分析所用的参数细节将在后续内容中分别介绍。

### 2.2.3 研究思路

本文的主要目的是构建可自组装成有序结构的偶氮苯短肽衍生分子，研究其自组装及光响应机制，并根据组装过程及形貌特点提出相应的调控措施，从而为设计新型响应材料提供理论指导。文中提出了两种不同的分子，分别可组装形成光响应囊泡及凝胶，针对两体系，具体研究内容如下：

（1）光响应分子的设计。我们首先选择二肽 FF 连接偶氮苯基团，通过试模拟的结果不断调整分子结构，最终得到可组装成囊泡的光响应分子用于下步分析。

（2）光响应囊泡体系。基于上步模拟结果，研究并优化分子组装过程，对比优化前后的结构，总结优化特点；而后研究其光响应特性，对比分析响应后的组装体结构特点，说明光响应机理。

（3）光响应凝胶体系。对可自组装形成囊泡的光响应分子进行进一步的修饰，得到可组装成凝胶网络的分子。首先参照上述优化方法进行组装体形貌调控，对比分析调控机理；随后研究不同形貌的组装体的光响应特性，分析总结光响应分子及共组装分子在响应过程中的作用。

### 第三章 光响应囊泡体系的构建及形貌调控

囊泡通常由两亲分子组成，其形成过程为两亲性分子聚集组装形成双分子层，而后其自由边缘卷曲融合形成囊泡。响应型囊泡在药物定向运输方面有突出优势，通常在受到环境刺激后囊泡破裂，释放包封的药物分子。光敏囊泡可在无接触或非侵入性光源的作用下做出反应，实现囊泡溶胀或破裂。光响应囊泡破裂后可能一次性释放药物过多，无法起到长期作用，而有些囊泡在光作用下可能不会破裂或发生较为明显的结构变化，但其相关性质如渗透性会发生变化，更有利于药物的长期作用。例如 Zhang 团队<sup>[89]</sup>设计了具有光响应性的小分子囊泡，通过紫外光和可见光的交替照射，表现出良好的可控及瞬时释放性能。具有可控快速释放特性的囊泡在疾病的靶向治疗特别是肿瘤治疗具有重要作用，药物的靶向释放有利于用最小的剂量达到最好的效果，并有效减小副作用及对健康组织的损伤。

本章主要通过粗粒度分子动力学模拟得到含偶氮苯的光响应囊泡并分析其形成机制及光响应特性。这里我们意在分析分子光异构化导致结构变化及功能变化的原因，并根据囊泡结构提出共组装作为响应前的形貌调控方法。

#### 3.1 模拟细节

本章主要研究分子的 Martini 力场参数如图 3-1。所有组装体系浓度设置为 10wt%，F(azo)A 与 FF 按照质量分数比例添加为分别 1:0、8:1、6:1、4:1，对应 FF 在体系中的质量分数占比分别为 0/1、1/9、1/7、1/5。模拟水盒子边长为 30 nm，各体系自组装过程模拟时间为 10  $\mu$ s，光响应后的模拟时间为 4  $\mu$ s。溶剂可及表面积 (Solvent Accessible Surface Area; SASA) 分数定义为分子残基某一时刻的 SASA/初始随机分散状态的 SASA。分子残基距离在 0.65 nm 内视为二者有所接触。分子间距离小于 0.7 nm 视为在一个团簇内。苯环堆积方式的自由能景观图 (Free Energy Landscape; FEL) 计算根据公式  $-RT\ln[P(\text{angle}, \text{distance})]$  构建，其中  $P(\text{angle}, \text{distance})$  是苯环夹角和质心距离在一定值时的堆积方式发生的概率<sup>[79,90,91]</sup>。选取体系组装模拟最后 500 ns 的数据作为 FEL 的计算对象。

体系预组装模型的搭建：首先用 Packmol<sup>[92]</sup>堆出周期性的双分子层结构，经 500 ns 的 NPT 模拟，得到稳定片层，用于双分子层的性质分析；后将双分子层取出，置于另一 40 nm 水盒子中，使片层四周距盒子边界有一定距离，避免周期性连接，通过 NVT 模拟使双分子层自发卷曲形成闭合囊泡，用于后续分析。

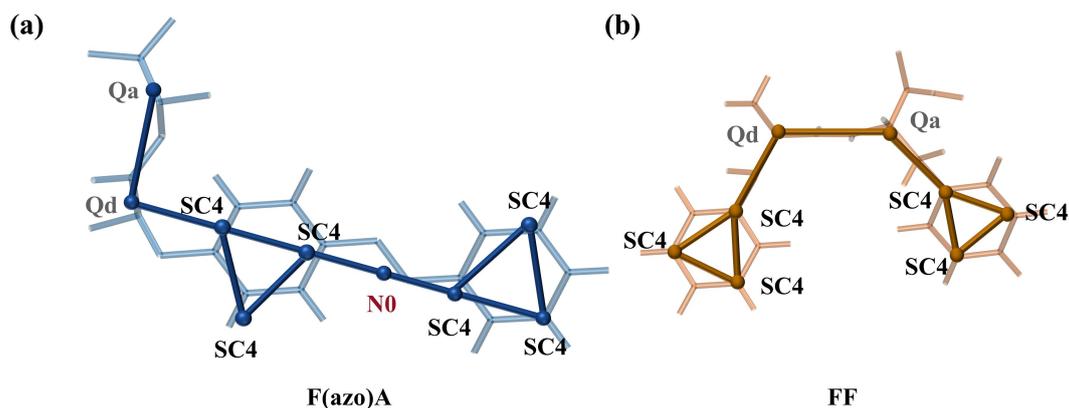


图 3-1 (a) F(azo)A 及 (b) FF 的全原子结构和粗粒度映射

Fig.3-1 All-atomic configuration and coarse-grained mapping of (a) F(azo)A and (b) FF

## 3.2 光响应短肽分子及囊泡体系的构建

### 3.2.1 光响应短肽分子的设计及筛选

短肽序列的合理设计是获得有序自组装结构的关键，氨基酸的序列、数量及亲疏水性都会影响组装，其侧链性质更是在组装过程中起着至关重要的作用。为构建可以自组装成有序结构的光响应短肽分子，选择合适的短肽分子是首要任务。我们设计分子的首要目标是在含有偶氮苯基团的情况下可自组装形成稳定囊泡，因此选择短肽分子时，首先考虑可组装并可形成囊泡的分子。苯丙氨酸二肽（FF）作为研究最为广泛的超短肽，在水中的自组装受浓度影响，低浓度下组装形成囊泡，高浓度下形成纳米管<sup>[93]</sup>，同时 FF 衍生分子也表现出良好的组装倾向及有序结构，如 H-(L)AzoPhe-Phe-OH 在混合溶剂中自组装形成纳米纤维<sup>[24]</sup>，故 FF 及其衍生物成为自组装的常用构建块。

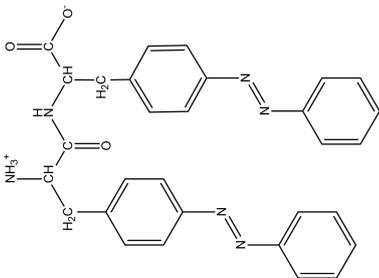
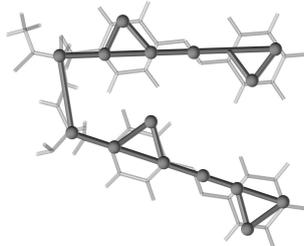
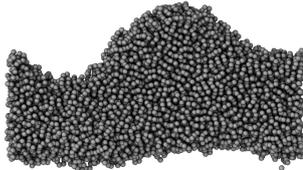
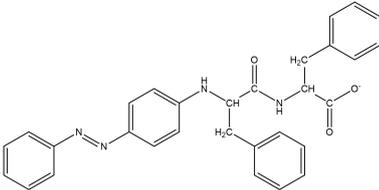
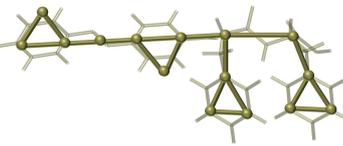
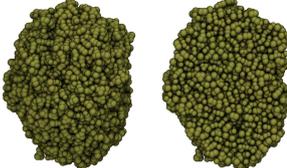
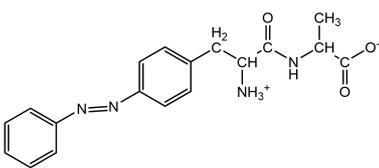
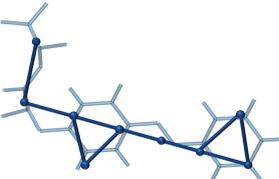
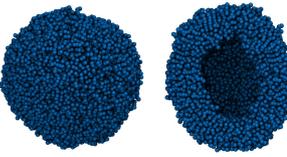
受 H-(L)AzoPhe-Phe-OH 分子及其组装体结构变化的启发，对 FF 分子用偶氮苯基团在不同位置或数量进行修饰。与 Dasgupta 研究不同，我们将体系设置在纯水中，通过粗粒度分子动力学模拟观察其组装结构，可顺利组装成囊泡的分子即为我们的目标分子。在此，我们构建了三种偶氮苯二肽衍生分子，其结构式及组装形貌列在表 3-1 中。

我们首先在 H-(L)AzoPhe-Phe-OH 的基础上，在 FF 羧基端的侧链又接入一偶氮苯构建分子 FazoFazo，根据组装结果，此分子很快组装形成了周期性的双分子层，类比 FF 的组装过程，双分子层会弯曲，然而此片层的弯曲程度很小，且由于周期性，片层几乎不再进行下一步变化。推测出现该结果的原因：一是该分子结构的亲疏水组分相对平衡甚至疏水组分较多，所以可以很快组装成周期性的双分子层；二是偶氮苯在可见光下以反式结构存在，分子侧链刚性较强，即使适当降低浓度可避免周期性，形成圆片层，但

因为侧链刚性，也无法像 FF 一样在形成圆盘状双分子层后迅速弯曲闭合。此分子不是良好选择，进行下一步的结构调整。

表 3-1 基于 FF 构建的偶氮苯衍生分子及其组装结构

Table3-1 Azobenzene derived molecule based on FF and its assembly structure

Name	Structural Fomular	Coarse-grained Model	Assembly Structure
FazoFazo			
azoFF			
F(azo)A			

鉴于偶氮苯位于侧链上使侧链刚性增加，不利于形成片层的弯曲，故将偶氮苯移至氨基端，作为氨基的封端基团，构成分子 azoFF。从分子的苯环含量上来说，azoFF 与 FazoFazo 相当，即疏水基团相当，而所在位置不同可能使组装结构不同。根据组装结构，azoFF 同样快速聚集，不同于双分子层，azoFF 组装形成实心的球体。这是由于分子中亲疏水部分没有明确的分界，从而组装成无规则的聚集体。故改变偶氮苯位置虽可以改善分子侧链的刚性，但却无法形成囊泡，此分子仍不是良好选择。

根据上述结果，为形成双分子层的囊泡，偶氮苯位于二肽分子的侧链一端可能更有利，基于 H-(L)AzoPhe-Phe-OH 以及 FazoFazo 的组装结果，我们选择减少分子中的苯环含量，在 FF 氨基端引入偶氮苯，同时将羧基端的 F 替换为丙氨酸 A，构建分子 F(azo)A。通过对 F(azo)A 的自组装模拟，该分子可以迅速形成双分子层，随模拟时间继续增加，双分子层发生明显的卷曲，直至形成完整囊泡。虽然偶氮苯位于侧链仍会影响形成片层的弯曲能力，但由于偶氮苯只在分子中一侧，刚性影响不像 FazoFazo 般显著，和 H-(L)AzoPhe-Phe-OH 相比，不需要极性溶剂增强氢键作用便可组装形成所需要的囊泡，

故选择 F(azo)A 作为下一步的研究对象，具体组装过程在下文中有详细描述。

### 3.2.2 光响应囊泡的自组装

根据前节所述，我们选择基于二肽 FA 的偶氮苯衍生分子 F(azo)A 作为研究对象。F(azo)A 分子在 10wt%浓度的体系中可自组装形成囊泡，模拟过程长达  $10\ \mu\text{s}$ 。在组装过程中，F(azo)A 分子自组装成囊泡经历了以下阶段：一是分散的分子迅速组装形成小团簇，小团簇进一步融合形成双分子层，双分子层再逐渐融合，此融合过程较为缓慢；二是双分子层卷曲，当模拟时间至  $6\ \mu\text{s}$  时，尺寸较大的双分子层出现弯曲，随模拟时间的增加，弯曲程度越高，直至完全闭合成囊泡，此过程经历近  $4\ \mu\text{s}$ 。体系中囊泡的形成所需时间较长，而体系却可能并未达到最终平衡，由于囊泡周边仍有双分子层的存在，随着模拟时间的延长，余下的小尺寸双分子层可能继续融合卷曲以形成完整囊泡。组装过程详见图 3-2。

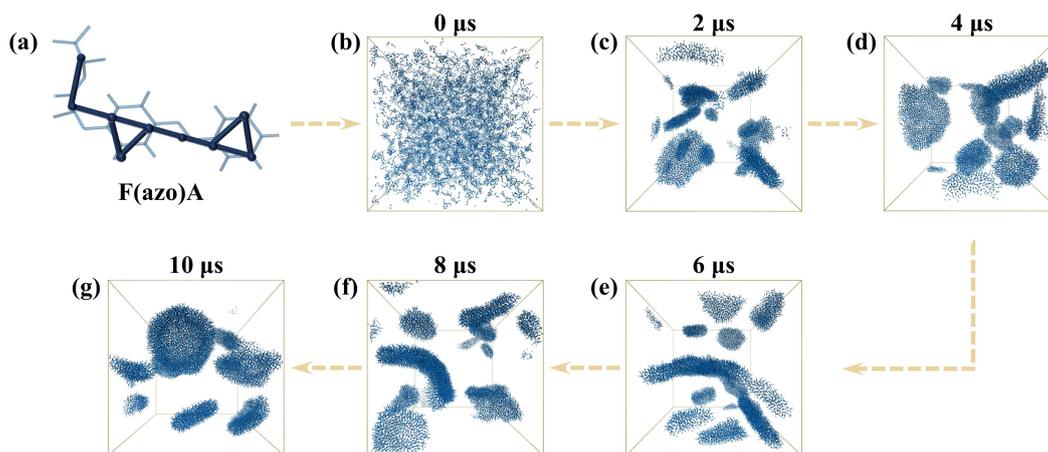


图 3-2 F(azo)A 分子的自组装过程

Fig.3-2 Self-assembly process of F(azo)A molecules

## 3.3 光响应囊泡的形貌调控

### 3.3.1 囊泡的形貌调控策略

通过对 F(azo)A 的自组装模拟，发现分子聚集组装形成囊泡过程较为缓慢，模拟时间在  $10\ \mu\text{s}$  时观察到闭合囊泡，同时体系中除囊泡结构，还有许多双分子层结构存在，可能需要更长时间的模拟来使其完全融合形成囊泡。实验中可能也需要其他手段的辅助。这与上文提出的 FazoFazo 分子的组装过程有类似之处，尤其是在形成较大的双分子层后需要一定的时间来实现其弯曲的过程，主要的原因在于分子本身的刚性导致双分子层的刚性较大，不易卷曲；融合过程也因为分子堆积较为紧密，从而与 FF 等高聚集倾向

的分子相比缓慢许多。因此，我们考虑优化囊泡的形成过程并调控囊泡尺寸。

调控的方向在于调整分子的堆积方式，增大其聚集倾向并降低双分子层的刚度。上文中提到片层的刚度主要来源于分子结构的刚性，通过示意图可以看出(图 3-3)，F(azo)A 在形成双分子层后，苯环紧密堆积，且在片层中相当于 4 个苯环并行排列，不仅使片层较厚，其刚度也较高。为破坏 F(azo)A 之间的紧密堆积，我们考虑向其中添加一些小分子，让小分子进入到片层中，增大 F(azo)A 的分子间距，有更多的疏水基团暴露从而加速融合，同时降低片层刚性以促进弯曲。

对于小分子的选取，我们优先考虑 FF。一是因为 FF 具有高度的自组装倾向，既能自组装形成囊泡，又能与没有自组装能力的非 FF 二肽共组装时可以形成囊泡、双分子层等有序结构<sup>[78]</sup>，与其他分子共组装如其衍生物 Boc-FF，可以在自组装过程中实现精确控制，调节由此产生的管状结构的长度分布<sup>[94]</sup>。另外，FF 分子中的苯环含量与 F(azo)A 分子相当，两分子均可形成双分子层的囊泡，因此，我们考虑在组装体系中加入 FF 以优化组装过程并调控囊泡尺寸。

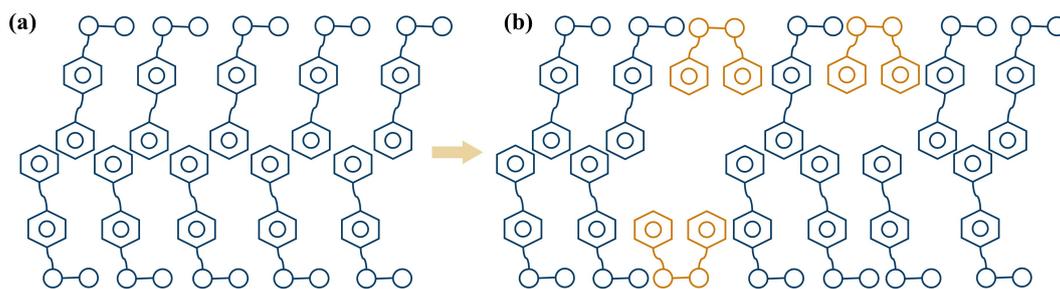


图 3-3 各分子在双分子层中的排布示意图。(a) F(azo)A 分子的排布；(b) F(azo)A 及 FF 的排布

Fig.3-3 The diagram of the arrangement of molecules in the bilayer. (a) for F(azo)A; (b) for F(azo)A and FF

### 3.3.2 囊泡形成过程的优化及尺寸调控

我们猜测 FF 对于体系具有调控作用，而调控作用是否具有浓度依赖性仍需进一步确定，因此我们通过添加不同质量分数比例的 F(azo)A 及 FF，比较获得囊泡的时间及囊泡大小(图 3-4 (a))。经过 10  $\mu$ s 的模拟，在所有组装体系中均出现囊泡结构，而囊泡的数量和大小在各组中却有所不同。在只有 F(azo)A 的自组装体系中，除了囊泡外，还有许多双分子层结构；随着 FF 浓度的增加，体系中双分子层逐渐减少，囊泡逐渐成为主要结构。为了更直观地描述囊泡的形成速度，我们统计分析了模拟过程中各体系中团簇数的变化(如图 3-5)。结合图 3-4 (a) 及图 3-5，我们已知 F(azo)A 形成囊泡的过

程较慢，故在图 3-5 中代表线条（红色）有多个平台期，经历了多个融合阶段；随着 FF 增加，各体系达到最终平台期所需时间逐渐缩短，体系中的最终团簇数也逐渐减少，如在 FF: F(azo)A 为 1: 4 组中，4  $\mu\text{s}$  后已呈持续稳定状态，且在体系中具有最少的团簇数，即在此时经小团簇聚集而成的双分子层已融合完成。因此，随 FF 浓度的增加，各体系团簇数达到最终平衡状态所需时间逐渐缩短，体现了 FF 可有效促进体系融合，并随着 FF 的浓度升高而得到大尺寸双分子层，进而获得直径较大的囊泡。

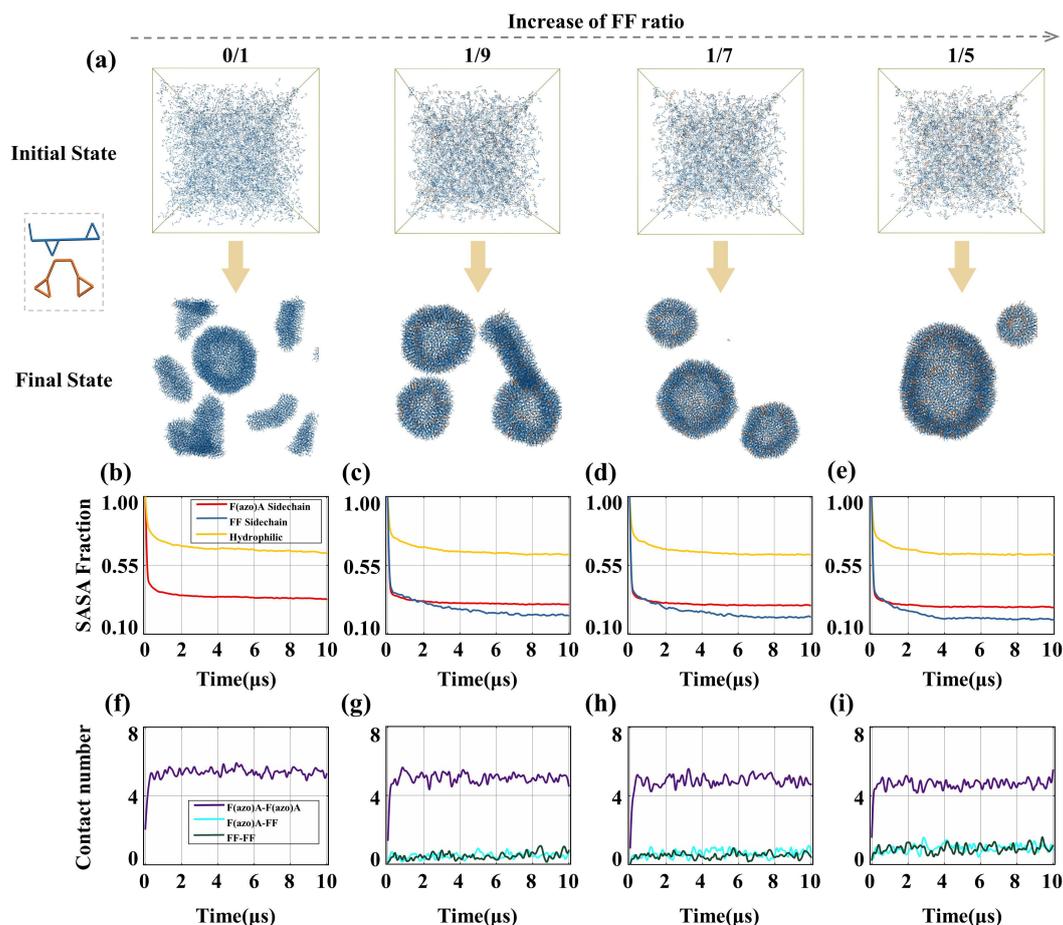


图 3-4 F(azo)A 的自组装和 FF 及 F(azo)A 在不同质量分数比例下的共组装。(a) 在不同 FF 质量分数比例下, 各体系初始随机分散状态及模拟 10  $\mu\text{s}$  后的平衡构型; (b-e) 各体系中亲水主链、F(azo)A 侧链、FF 侧链的 SASA 分数随时间变化曲线; (f-i) 各体系中 F(azo)A-F(azo)A、F(azo)A-FF 及 FF-FF 间的平均接触数随时间变化曲线

**Fig.3-4 Self-assembly of F(azo)A and co-assembly of FF and F(azo)A at different FF ratios. (a) Snapshots of the initially randomly dispersed states and the equilibrium configurations at 10  $\mu\text{s}$  of four systems with increasing FF mass fraction ratios. (b-e) The SASA fraction of the mainchain of the hydrophilic, F(azo)A sidechain and FF sidechain for each simulation as a function of time. (f-i) The average contact number between F(azo)A-F(azo)A, F(azo)A-FF, FF-FF for each simulation as a function of time**

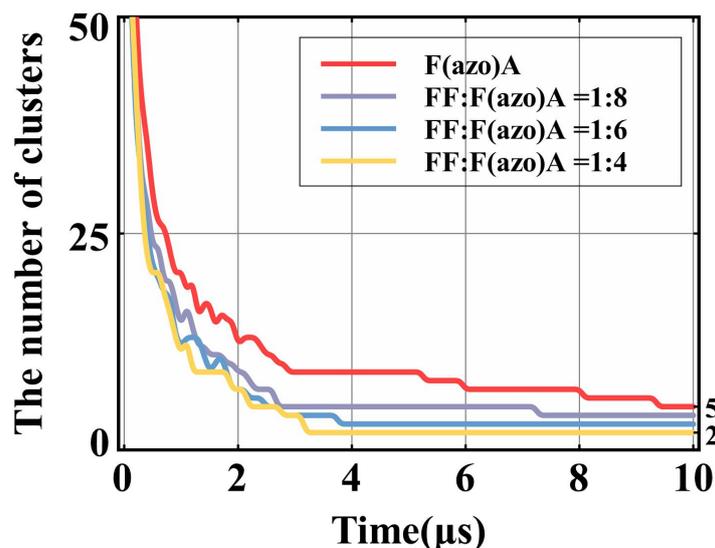


图 3-5 在不同质量分数比例下的 FF 体系中团簇数随时间的变化

Fig.3-5 Time evolution of the number of clusters at different FF mass fraction ratios

为研究 F(azo)A 及 FF 分子在组装过程中的不同作用，我们做了如下分析。我们将 F(azo)A 及 FF 分子分成疏水侧链及亲水主链两部分。为探究分子各部分在组装过程中的作用，我们分别计算了它们的溶剂可及表面积 (SASA) 分数 (图 3-4 (b-e))。在 F(azo)A 自组装体系中，无论是主链还是侧链，SASA 分数都迅速下降至平衡值，其中 F(azo)A 侧链的 SASA 分数平衡值接近 0.3，约为主链 ( $\approx 0.6$ ) 的 1/2，说明 F(azo)A 侧链倾向于埋在组装体内部，而主链暴露在溶剂中 (图 3-4 (b))。在其他 F(azo)A 与 FF 共组装体系中，F(azo)A 侧链的 SASA 分数也迅速减小并达到平衡。值得注意的是，与纯 F(azo)A 体系相比，FF 侧链的 SASA 分数下降幅度较大，平衡值在 0.2 左右，随着 FF 浓度的增加，FF 侧链的 SASA 分数的平衡值逐渐降低，F(azo)A 的平衡值也有小幅度减小 (图 3-4 (c-e))，即在所有共组装的体系中，尽管两种分子的浓度会有所增加或减小，但所有疏水基团的溶剂暴露程度随着 FF 浓度的增加而减少，这意味着发生了更彻底的融合，即游离的片层融合成一大尺寸片层并形成完整的囊泡。出现上述现象的原因主要与两分子的结构差异有关。在组装过程中，两分子亲水主链位于基本同一表面，而 FF 分子的侧链长度要小于 F(azo)A，约为 F(azo)A 分子的一半，所以 FF 侧链更靠近亲水端，位于双分子层边缘处的 FF 侧链也因此未能完全处于组装体内部，有部分暴露在溶剂中，从而促进双分子层之间的融合，这与我们的初期设想相一致。

另外，FF 的存在可能加剧片层中分子的运动能力以促进片层融合。为验证此假设，我们通过构建无法卷起的片层以模拟融合阶段片层的状态 (图 3-6 (a))。片层之间的

融合从最外层的分子开始，所以我们主要研究分子在边界处的状态。在此，我们通过计算两种分子在片层中的密度分布从而确定属于边界处分子的范围（图 3-6 (b-c)）。根据图中结果，我们将距质心大于 3.5 nm 的分子划定为边界分子。在确定分子的研究范围后，我们通过计算各分子与参考向量 ( $\vec{n}_0$ ) 的角度随时间的变化来表示分子的位置变化（图 3-6 (d)）。通过角度变化值的概率分布（图 3-6 (e-f)），可以发现，随 FF 在片层中含量的增加，两种分子的角度变化值均增大，这意味着分子在边界处的运动逐渐加剧，使片层的流动性增强，从而促进了双层膜的融合。

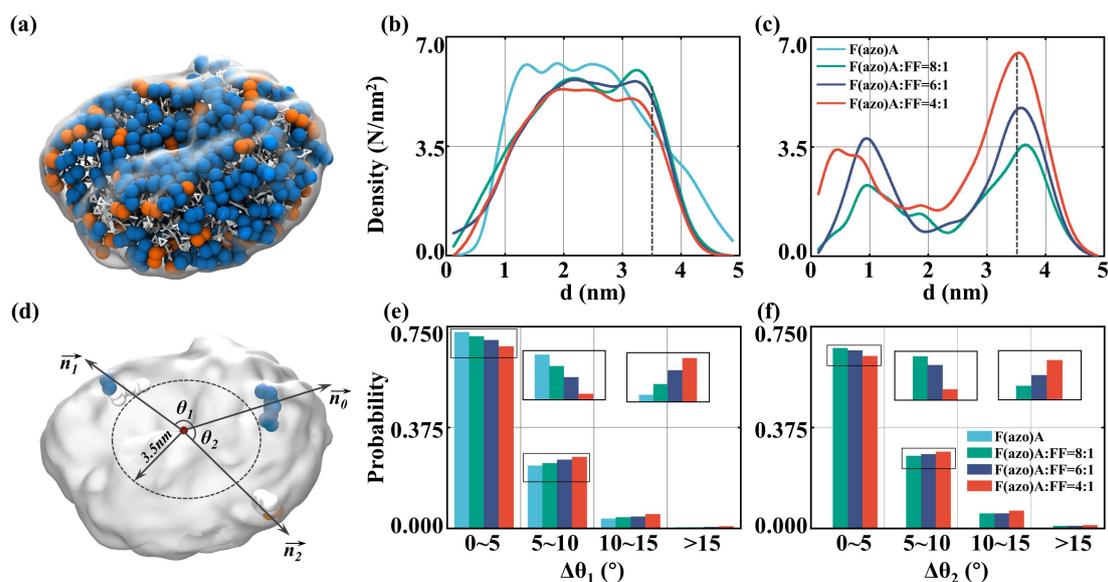


图 3-6 (a) 预组装片层结构示意图；(b-c) F(azo)A 分子 (b) 及 FF 分子 (c) 随其至片层质心距离增加的密度分布；(d) 计算局部分子角度示意图；(e-f) F(azo)A 分子 (e) 及 FF 分子 (f) 每隔 1 ns 的角度变化的概率分布

Fig.3-6 (a) Preassembled bilayer structure. Density distribution of F(azo)A(b) and FF(c) with bilayer centroid distance. (d) A schematic diagram for calculating local molecular angle. The probability distribution of angular variation of F(azo)A (e) and FF (f) at intervals of 1 nanosecond

为了进一步探究 F(azo)A 及 FF 分子在组装过程中的作用，我们计算了不同肽的疏水残基之间的接触数 (F(azo)A-F(azo)A, F(azo)A-FF, FF-FF) (图 3-4 (f-i))。在各体系中，F(azo)A 分子间的接触数最大 ( $\approx 5$ )，而 F(azo)A-FF 与 FF-FF 的接触数较小，仅接近于 1。这与体系中 F(azo)A 的浓度较高有关，尽管在 FF 浓度占比最高的体系，F(azo)A 仍是体系的主要成分，互相接触的概率最大。而 FF 之间的接触数表明 FF 均匀地分布在囊泡中，二者共组装属于随机共组装。残基接触数的结果表明，不论是自组装还是共组装体系，F(azo)A 与 F(azo)A 之间的疏水相互作用较强，主导组装过程，驱使了囊泡结构的形成。

囊泡的形成主要分为两个阶段：一是分散的小分子聚集形成双分子层，双分子层互相融合到一定尺寸，即临界弯曲尺寸；二则是达到临界弯曲尺寸的双分子层卷曲形成封闭的囊泡<sup>[95]</sup>。从组装结果上看，FF 的加入可明显缩短囊泡形成的时间，既促进双分子层融合至临界弯曲尺寸，同时又加快双分子层的弯曲形成闭合囊泡。我们已经了解 FF 促进融合的机制，下面针对双分子层的弯曲能力作出评价。

为说明 FF 对双分子层弯曲能力的影响，我们从双分子层的性质入手。我们首先构建了各体系的预组装周期性双分子层，通过 500 ns 的 NPT 模拟，各双分子层达到合适密度，并有不同程度的波动（图 3-7（a）），双分子层的波动情况与其弯曲能力有关。为更好地定量说明双分子层的弯曲能力，我们利用 SuAVE<sup>[96]</sup>程序中的模块计算了双分子层表面曲率角的平均分布（图 3-7（b-e））。在纯 F(azo)A 自组装体系，曲率角分布峰值位于 18°；在 FF/F(azo)A 共组装体系中，随 FF 浓度增加，平均曲率角峰值逐渐右移，并在 1/7 和 1/5 的 FF 质量分数比例体系中，在 85°存在另一峰值，尽管占比不高。双分子层的平均曲率角随 FF 浓度增加而增大，即其波动程度随着 FF 浓度的增加而加剧，这与形成囊泡的双分子层具有更好的弯曲能力相对应。另外根据 FF 在双分子层中的密度分布（图 3-7（f-i）），无论 FF 的浓度高低，FF 都均匀地分散在片层中，不存在 FF 过度聚集，即在 FF/F(azo)A 的共组装中没有相分离，说明 FF 对双分子层弯曲性质的影响是均匀的。这一结果与分子间接触数相统一。值得注意的是，在 FF 占比 1/5 的体系中，除了大直径囊泡，还存在一个最小直径的囊泡，说明 FF 的加入除了有效提高双分子层的弯曲能力外，还可以减小双分子层的临界弯曲尺寸。此外，形成的多个囊泡也未像 FF 组装囊泡发生后续的融合，而是维持每个囊泡的独立及完整性。

基于以上分析，FF 的加入对囊泡形成的全过程均有优质影响。在 F(azo)A 体系中加入 FF，首先可以促进分子及形成双分子层之间的融合，调节形成囊泡的尺寸；其次，提高双分子层的弯曲能力并减小双分子层的临界弯曲尺寸，加速双分子层的闭合形成囊泡。对于两阶段的双重促进作用，并不是分别进行的，而是在整个过程中同时促进，临界片层尺寸的减小使片层很快发生卷曲，卷曲的同时还伴随着小片层不断融入已卷曲的片层，增大片层尺寸，从而增大最终囊泡的尺寸。在 F(azo)A 体系中加入 FF，不仅可以提高囊泡形成的速率，还可以根据加入 FF 的浓度调控囊泡尺寸，在最短时间内得到最佳结构。

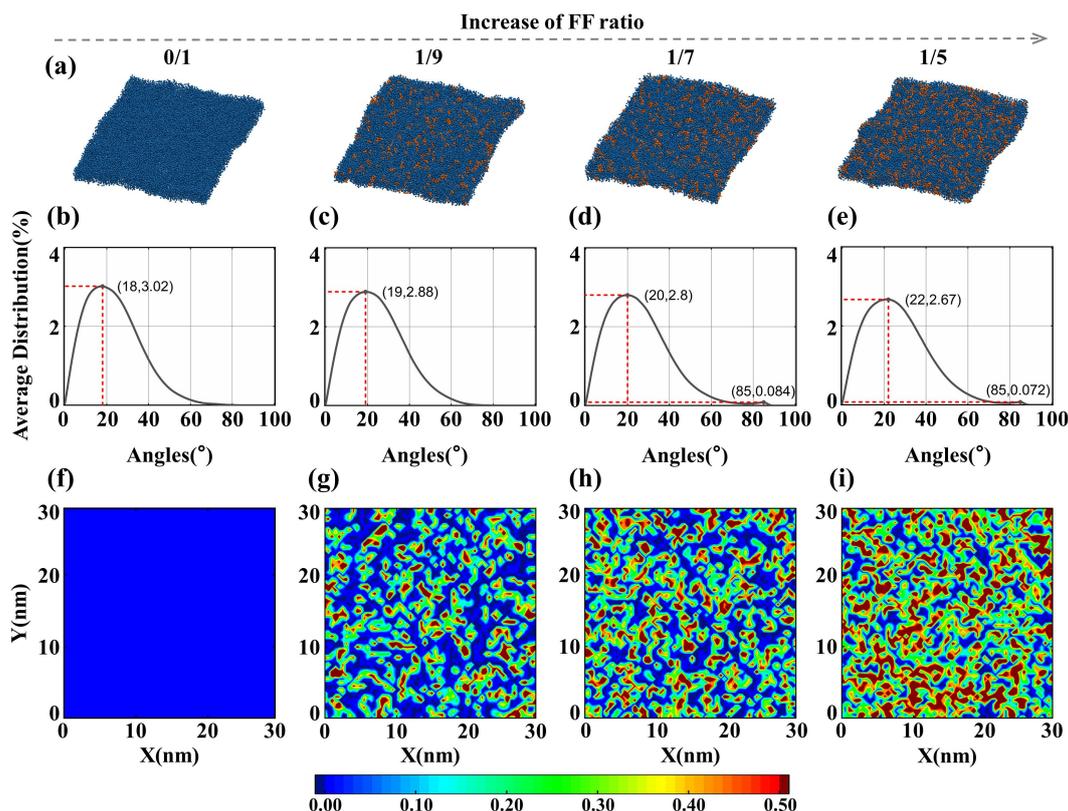


图 3-7 预组装双分子层的弯曲能力分析。(a)不同 FF 质量分数体系在 500 ns 时的模拟结果；(b-e) 对应 FF 质量分数比例的双分子层表面曲率角的平均分布；(f-i) FF 在不同 FF 占比中在双分子层上的分布映射

Fig.3-7 Bending capacity analysis of preassembled bilayer. (a) Snapshots of the pre-assembly configurations at 500 ns for four systems at different FF mass fraction ratios. (b-e) Distribution of the surface curvature angle for the each bilayer.(f-i) The distribution mapping of FF on the bilayer at different FF mass fraction ratios

### 3.4 囊泡光响应特性分析

#### 3.4.1 囊泡可逆结构变化

我们设计 F(azo)A 分子的主要目的在于构建具有应用价值的光响应囊泡。FF 的加入是为了更快速地得到囊泡结构，因此我们在通过改变模型中偶氮苯角度以考察体系光响应特性的同时，还需比较 FF 的加入是否会影响光响应特性。我们选择预组装得到的囊泡作为研究对象，以排除其他相关变量。模拟囊泡经光响应 4  $\mu\text{s}$  后的结果显示，无论体系中是否存在 FF，囊泡均向杆状囊泡转变（图 3-8 (a)）。

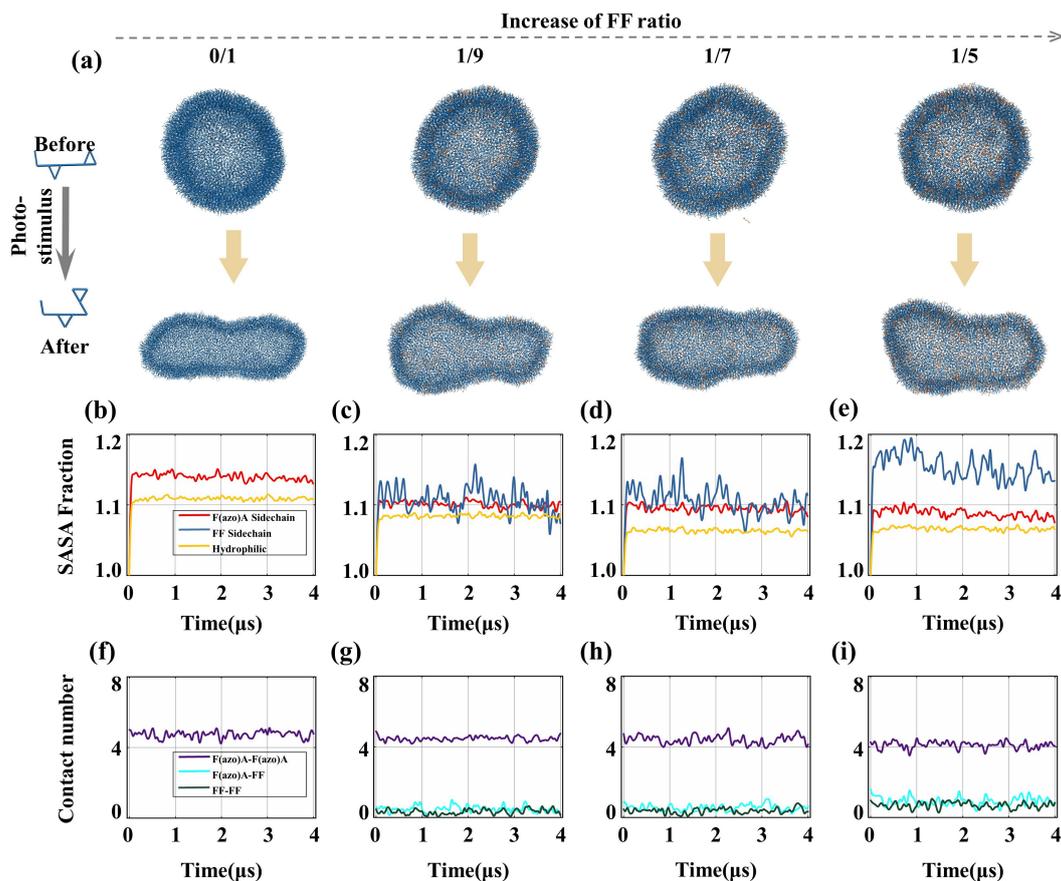


图 3-8 预组装囊泡的光响应特性分析。(a) 随 FF 质量分数占比的增加，各体系囊泡经过光响应 4  $\mu\text{s}$  后的结构示意图；(b-e) 各体系中亲水主链、F(azo)A 侧链、FF 侧链的 SASA 分数随时间变化曲线；(f-i) 各体系中 F(azo)A-F(azo)A、F(azo)A-FF 及 FF-FF 间的平均接触数随时间变化曲线

Fig.3-8 Photo-response characteristics of preassembled vesicles. (a) Snapshots of the initially vesicles and the configurations at 4  $\mu\text{s}$  after photo-response for four systems with increasing FF mass fraction ratios. (b-e) The SASA fraction of the mainchain of the hydrophilic, F(azo)A sidechain and FF sidechain for each simulation as a function of time. (f-i) The average contact number between F(azo)A-F(azo)A, F(azo)A-FF, FF-FF for each simulation as a function of time

我们同样计算了各分子亲水主链及疏水侧链的 SASA 分数（图 3-8 (b-e)），结果显示，无论是否添加 FF，各分子残基 SASA 分数都有所增加，这意味着分子的亲水和疏水部分的溶剂暴露都有所增加，且增幅随各分子浓度不同而不同。在各共组装体系中，只有 FF 侧链的 SASA 分数的增幅随 FF 浓度的增加而变大，而 F(azo)A 侧链和亲水主链的 SASA 分数的增幅有所减小，但各体系中的整体的增加量均是类似的。因此，在囊泡向杆状囊泡转变过程中，组装体溶剂暴露量增加，虽然 FF 的暴露程度会随其浓度增加而增大，但对组装体溶剂暴露程度的影响并不大。同时，各分子残基的接触数较响应前几乎没有变化（图 3-8 (f-i)），这意味着在响应过程中，FF 分子也不会出现部分聚集，仍均匀地分散在组装体中，F(azo)A 分子之间的相互作用仍然是组装的主要驱动力。

我们首先可以确定 FF 的加入不会影响囊泡的结构变化，而由于光响应带来的分子结构变化是否会引起组装体内部分子的苯环堆积变化仍需进一步分析。由在已有的研究中表明，芳香基团在分子组装中发挥着重要作用，不仅提供疏水相互作用，苯环堆积方式也影响最终组装结构。为了探究光响应前后在各组装体中芳香堆积的作用，我们计算了不同 FF 浓度下的各分子间芳香堆积模式的自由能（FEL）随质心距离和苯环间夹角的变化。根据参考文献<sup>[79,90,91]</sup>，我们将苯环堆积方式分为平行、人字形和垂直三种，对应的角度分别为  $0\sim 30^\circ$ 、 $30^\circ\sim 60^\circ$  和  $60^\circ\sim 90^\circ$ 。光响应前后计算结果分别展示在图 3-9 及图 3-10 中。

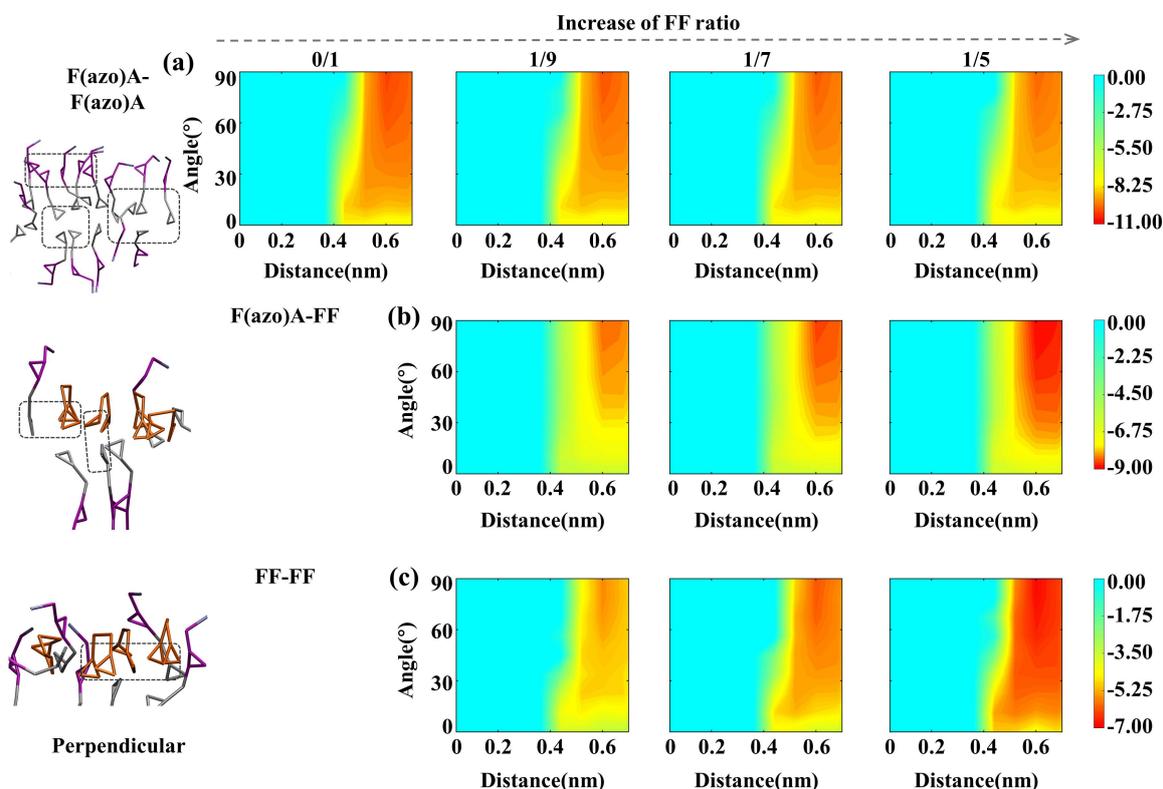


图 3-9 光响应前的苯环堆积方式分析。(a) 在不同 FF 质量分数比例下，F(azo)A 分子间苯环堆积方式的自由能随其质心距离和夹角变化的 FEL 分布图；(b) F(azo)A 与 FF 分子间的 FEL 分布；(c) FF 分子间的 FEL 分布。左侧构型展示出各分子间苯环垂直堆积

**Fig.3-9 Analysis of aromatic stacking mode before photo-response. (a) The FEL of aromatic stacking modes between F(azo)A molecules plotted as a function of their centroid distance and angle, in systems at different FF mass fraction ratios. (b) (c) Same as (a), but (b) for F(azo)A-FF, and (c) for FF-FF. The left conformations show the perpendicular stacking modes between the pairs of residues**

光响应前，在纯 F(azo)A 自组装囊泡中，F(azo)A-F(azo)A 的 FEL 最小值位于  $60^\circ\sim 90^\circ$ ，质心距离在 0.6 nm 附近，表明囊泡内苯环主要呈垂直堆积状态（图 3-9 (a)）；随各体系中 FF 质量分数占比的增加，FEL 的最小值仍处于垂直堆积区域，尽管该值区域颜色随 FF 增加而变浅，即在共组装囊泡结构中，F(azo)A 分子间苯环仍以垂直堆积作为主

要方式。苯环间不同堆积方式的概率分布进一步说明了此问题（图 3-11）：不论是纯 F(azo)A 自组装体系，还是 F(azo)A/FF 共组装体系，F(azo)A 分子间苯环排列均以垂直堆积为主，其次为人字形堆积，并且无论体系中 FF 浓度高低，堆积方式的概率分布几乎不变（图 3-11（a））。在 F(azo)A/FF 共组装体系中，F(azo)A 及 FF 分子间苯环的排布也以垂直堆积为主，并随 FF 浓度增加，FEL 最小值所在区域颜色相应加深（图 3-9（b）），但各体系中三种堆积方式的概率分布是类似的，垂直堆积始终是主要堆积方式，与 FF 浓度无关（图 3-11（b））。FF 分子间的苯环堆积情况与上述两者类似（图 3-9（c），图 3-11（c））。简而言之，在光响应之前，囊泡结构中的苯环主要以一定的角度排列，其中垂直堆积是主要堆积方式。

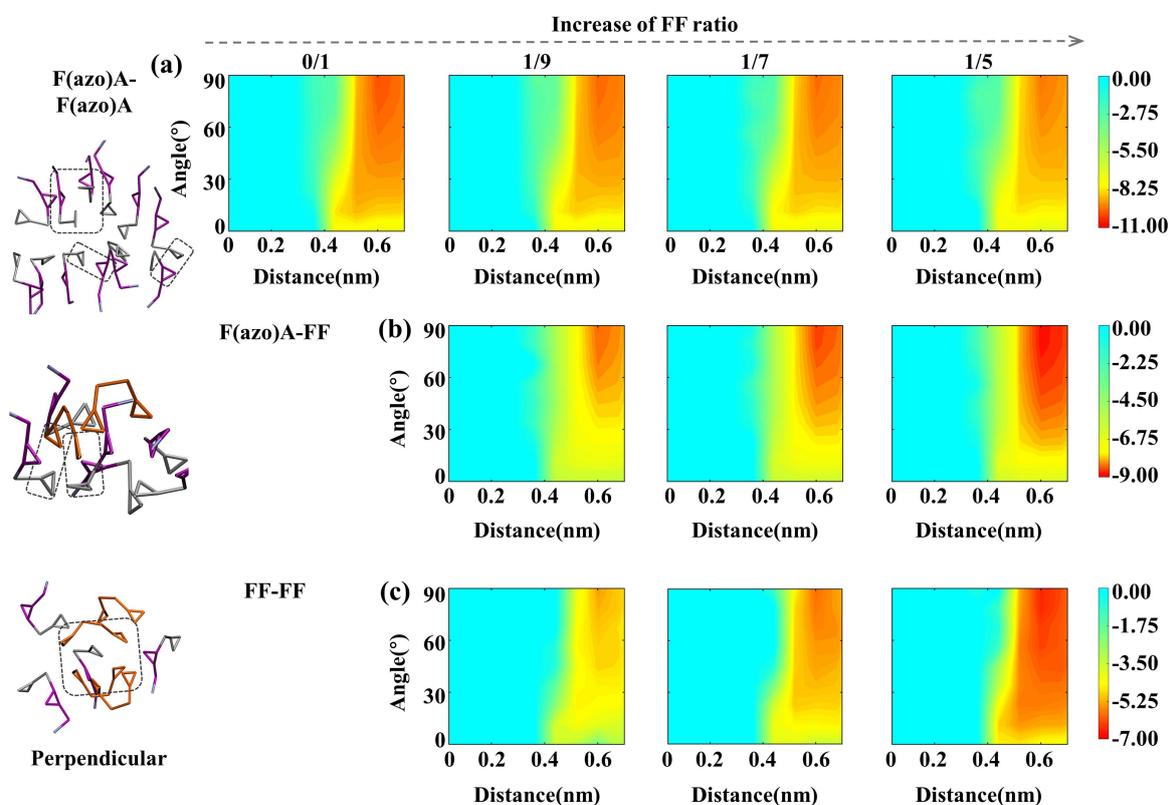


图 3-10 光响应后的苯环堆积方式分析。（a）在不同 FF 质量分数比例下，F(azo)A 分子间苯环堆积方式的自由能随其质心距离和夹角变化的 FEL 分布图；（b）F(azo)A 与 FF 分子间的 FEL 分布；（c）FF 分子间的 FEL 分布。左侧构型展示出各分子间苯环垂直堆积

**Fig.3-10 Analysis of aromatic stacking mode after photo-response. (a) The FEL of aromatic stacking modes between F(azo)A molecules plotted as a function of their centroid distance and angle, in systems at different FF mass fraction ratios. (b) (c) Same as (a), but (b) for F(azo)A-FF, and (c) for FF-FF. The left conformations show the perpendicular stacking modes between the pairs of residues**

囊泡经光响应后转变成杆状囊泡，其中的苯环堆积方式与光响应前相似。在各体系中，不论是同种分子或是不同种分子，苯环间堆积方式的 FEL 最小值点仍然位于  $60^{\circ}\sim 90^{\circ}$

之间的垂直区域，尽管随 FF 浓度的增加，F(azo)A-F(azo)的能量最小值区域有所变浅，而 F(azo)A-FF 和 FF-FF 的能量最小值区域颜色加深，但堆积方式在各体系中的概率分布不受 FF 浓度的影响（图 3-10 (a-c)）。各体系中分子苯环堆积方式的概率分布也与光响应前基本一致（图 3-11 (d-f)），即杆状囊泡内部分子间苯环也主要呈一定角度的堆积方式，以垂直堆积为主，不受 FF 浓度影响。

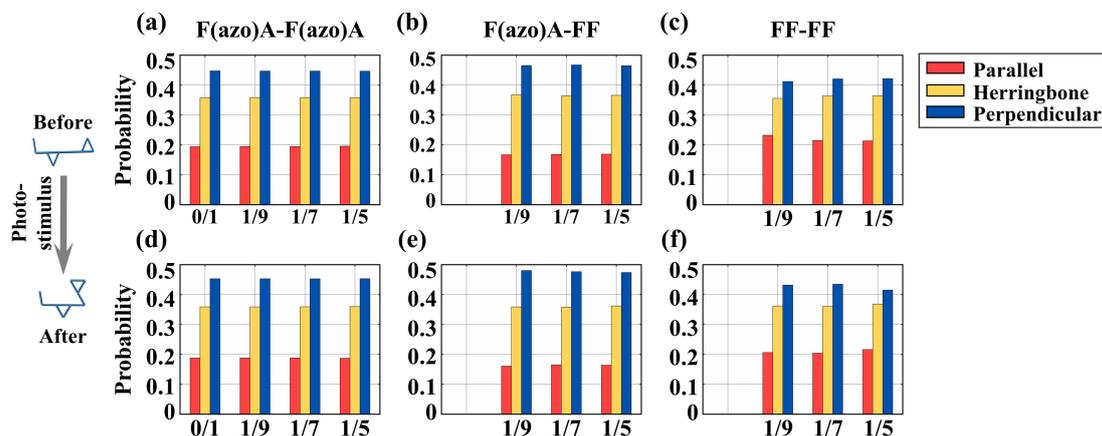


图 3-11 光响应前后各残基对在不同 FF 质量分数比例下形成平行、人字形和垂直堆积的概率分布。(a-c) 分别为响应前 F(azo)A-F(azo)A、F(azo)A-FF、FF-FF 的概率分布；(d-f) 为对应分子响应后的概率分布

**Fig.3-11 The probability distribution of residue pairs forming parallel, herringbone, and perpendicular stackings before and after photo-response in different FF mass fraction ratios. (a-c) are the probability distributions of F(azo)A-F(azo)A, F(azo)A-FF, FF-FF before the response. (d-f) Same as (a-c) but for after response**

综合以上分析，分子间苯环的堆积方式并没有体现出对光响应前后组装体结构变化的影响，故需要考虑其他方面。我们已知囊泡的 SASA 在响应后是增加的，这说明囊泡的表面积可能有所增加，因此我们计算了囊泡响应前后的表面积的变化情况（表 3-2）。结果发现，囊泡向杆状囊泡转变的过程中表面积增加。具体来说，而囊泡在响应后的表面积呈增大趋势，其变化程度较体积变化也较高，变化率最高可达 0.21。出现此现象可归因于偶氮苯的结构变化，偶氮苯分子的光异构化使分子内苯环夹角从  $180^\circ$  变为  $60^\circ$ ，偶氮苯残基的空间占据由原来的纵向变为横向，其变化过程需要一定空间，为让出变化空间，分子间互相推移，增加分子横向间距以避免空间位阻，导致了囊泡逐渐转变为杆状囊泡。

表 3-2 光响应后体系中组装体表面积的变化

Table 3-2 Changes of surface area of the assemblies in the system after light response

Surface area of assembly before and after photo-response(nm <sup>2</sup> )				
FF ratio	0/1	1/9	1/7	1/5
Before	2676.61	2630.86	2635.73	2618.40
After	3238.29	3091.88	3003.62	3019.55
After/Before	1.21	1.18	1.14	1.15

由于偶氮苯的光异构化是一个可逆、可循环的过程，根据此特性研究人员已经成功合成了具有记忆功能的复合材料，用于仿生驱动器。为考察组装得到的囊泡是否可实现光响应可逆形变，我们对响应过程进行了 2 次循环模拟（图 3-12）。在纯 F(azo)A 自组装体系中，囊泡在紫外光作用下转变为杆状囊泡，在可见光作用下迅速恢复为囊泡，反复的光变化实现了囊泡—杆状囊泡的可逆形变。在其他含有不同浓度的 FF 的共组装体系中，同样可实现在紫外—可见光循环作用下的囊泡—杆状囊泡之间的可逆结构转变。

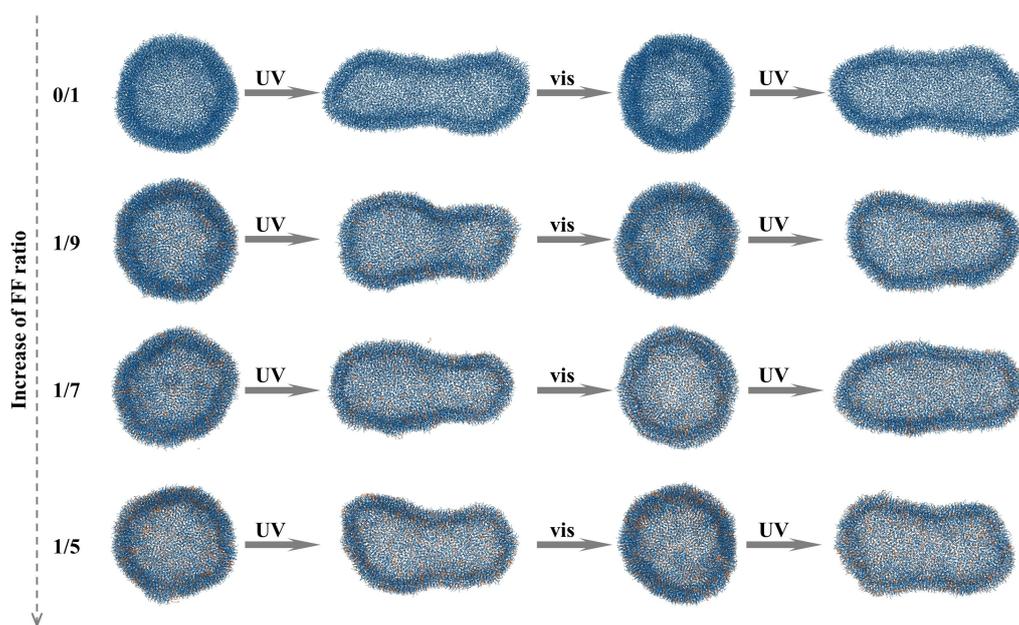


图 3-12 不同 FF 质量分数比例下经多次光响应中的组装结构转变

Fig.3-12 Structural transformation of assemblies in multiple photo-responses under different FF mass fraction ratios

### 3.4.2 囊泡渗透性变化分析

囊泡最为常见的功能是用作运输载体。一般情况下，囊泡在受到外界刺激的情况下会破裂，从而将囊泡内的药物释放出来，但这可能会对囊泡结构造成不可逆的损伤，导致药物大量释放，无法长期发挥作用。为解决该问题，实现药物的控缓释，提出了通过

环境响应调节囊泡通透性同时保持囊泡结构完整的方法<sup>[89]</sup>。在我们提出的体系中，组装得到的囊泡经光响应后不会裂解，而是发生结构变化，此结构变化增加了分子间距，这是否能有效增大组装体的渗透性，还需进一步分析。

我们通过响应过程的可视化处理发现，不论体系中是否存在 FF，囊泡内部水分子随结构变化逐渐向囊泡外扩散（图 3-13（a）），即光响应导致的囊泡结构变化使其渗透性得到加强。

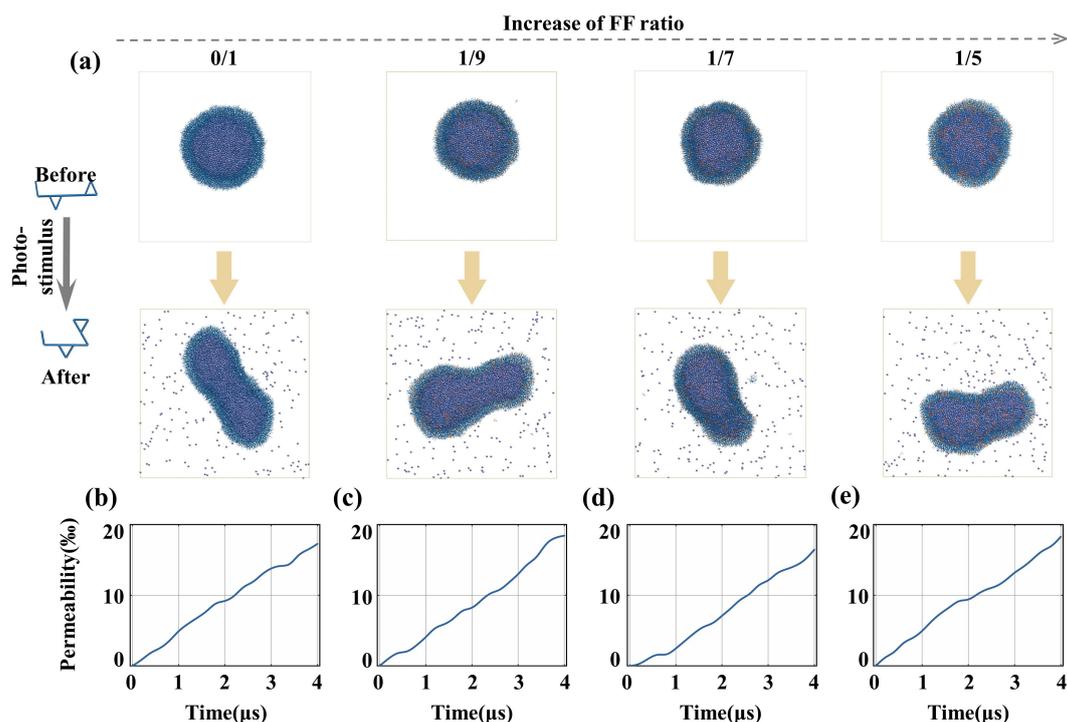


图 3-13 光响应后囊泡的渗透性分析。(a) 在光响应后的  $4 \mu\text{s}$  内，随 FF 质量分数比例增加的初始囊泡和囊泡内水分子向外扩散情况；(b-e) 各体系光响应过程中囊泡内分子向外扩散的变化

**Fig.3-13 Analysis of the permeability of vesicles after photo-response. (a) Snapshots of the initial vesicles and the outward diffusion of water molecules in the vesicle at  $4 \mu\text{s}$  after photo-response for four systems with increasing FF mass fraction ratios. (b-e) The changes in the outward diffusion of molecules in a vesicle during the photo-response of each system**

仅通过模拟结果的可视化，我们无法定量分析 FF 对组装体渗透性的影响，因此通过 OVITO<sup>[97]</sup>软件统计并计算了扩散至囊泡外的水分子数与囊泡内原始水分子数的比值随响应时间的变化趋势，以此作为囊泡渗透能力的判断标准（图 3-13（b-e））。在纯 F(azo)A 自组装体系中，从囊泡中释放的水分子数在模拟时间内持续增加，并可以合理推断，在接下来的一段时间内，囊泡内水分子的释放仍将呈现继续增加的趋势。这是因为偶氮苯的光异构化使分子间横向距离增加，分子间排布的紧密程度有所降低，为囊泡内部小分子向外扩散提供了通道，同时，根据表 3-3 中数据囊泡体积减小，会造成囊泡

内外的压力差使得内部分子被挤出，从而增加了囊泡的渗透性。在 FF/F(azo)A 共组装体系中，我们观察到了类似现象，即无论 FF 的浓度高低，扩散至囊泡外的水分子数也持续增加，且增加程度与纯 F(azo)A 体系类似，所以 FF 的加入并不影响囊泡的渗透性变化。

表 3-3 光响应后体系中组装体体积的变化

Table 3-3 Changes of volume of the assemblies in the system after light response

Volume of assembly before and after photo-response(nm <sup>3</sup> )				
FF ratio	0/1	1/9	1/7	1/5
Before	1896.54	1842.53	1818.48	1798.67
After	1769.97	1741.35	1740.26	1719.64
After/Before	0.93	0.94	0.96	0.96

结合上述分析，F(azo)A 可自组装得到光响应型囊泡，FF 的加入不会影响囊泡结构及光响应特性，但可以有效促进囊泡形成，FF 的浓度越高，形成囊泡的速度越快，囊泡尺寸也可以得到调节。需要注意的是，为保持体系组装形成囊泡，FF 的添加浓度有一临界值，主要由于 FF 自组装倾向较强，且其组装形貌受浓度影响，浓度较高会组装形成纳米管；再者，FF 的增加伴随着 F(azo)A 浓度的减小，可能影响光响应特性。因此，体系中 FF 的浓度应根据所需结构的性质特点来确定。

### 3.5 本章小结

本章通过 Martini 粗粒度分子动力学模拟的方法设计了一种可快速组装的光响应囊泡体系，F(azo)A 组装得到的囊泡在紫外—可见光作用下实现向杆状囊泡的可逆转变，这种结构变化与肺泡呼吸过程类似<sup>[98]</sup>，同时在转变过程中，囊泡渗透性增强，其内部分子可持续扩散至囊泡外，可用作药物控缓释的载体。在响应过程中，偶氮苯基团由反式结构变换为顺式，分子侧链由原来的直线型弯折成一定角度，此过程为避免空间位阻，分子间相互推移，增加分子间距，使囊泡逐渐向杆状过渡，也因为分子间距增加，为囊泡内分子提供了向外扩散的通路，而在此过程中分子苯环的堆积方式并没有发生变化。另外，向体系中添加合适浓度的 FF 可从双分子层融合及卷曲两方面有效促进囊泡组装过程且不影响光响应特性。在这里，F(azo)A 和 FF 在囊泡中均以双分子层结构存在，FF 均匀地分散在组装体中，不形成分相聚集。

本章通过对比分析囊泡的形成及其向杆状囊泡的转变过程，总结此类型分子的组装及结构变化规律，即分子在响应过程中分子的结构变化并未引起组装体结构类型改变，仍是双分子层结构，更多的是在响应过程中功能的改变，在后续设计具有相似类型结构和功能的组装体时有所参照。

## 第四章 光响应凝胶体系的构建及形貌调控

自组装材料具有较为广泛的结构类型，除囊泡外，水凝胶也是重要组成，其应用范围也极为广阔。短肽自组装水凝胶属于物理水凝胶，即依靠分子间非共价力相互作用结合而成。肽结构的存在为其提供了良好的生物相容性和生物降解性，且制备简单，不需要交联剂等试剂，成为生物医学具有前景的材料之一，常用于组织工程、生物传感器、免疫治疗等。虽然短肽自组装水凝胶的强度和硬度稍差，但它们对各种环境刺激表现出更高的响应性，使其在药物输送中表现出独特的优势；另由于环境刺激影响分子间相互作用，可导致凝胶性质变化，实现凝胶—溶胶转变，如含有偶氮苯的有机分子在绿光诱导下通过光热效应实现固—液态相变<sup>[99]</sup>。光响应凝胶材料在纳米驱动、人造肌肉、形状记忆等方面得到广泛研究。

本章在 F(azo)A 分子的基础上进行进一步修饰，得到分子 bisazoFA 作为研究对象，以构建自组装光响应凝胶体系。我们意在分析 bisazoFA 分子的光响应特性及其机理，并通过共组装提供响应前的形貌调控方式，从而总结不同类型的组装体的光诱导结构变化的特点，以及不同组装类型的分子共组装对结构的调控作用。

### 4.1 模拟细节

本章涉及分子选取 Martini 力场参数如图 4-1。体系浓度设置为 5wt%，bisazoFA 与 FF 按照质量分数比例添加为分别 1:0、8:1、6:1、4:1，对应 FF 在体系中的质量分数占比分别为 0/1、1/9、1/7、1/5。

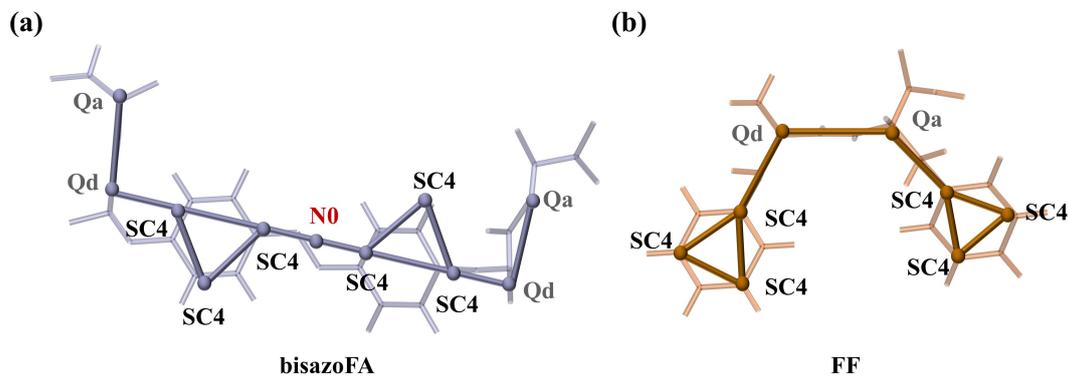


图 4-1 bisazoFA 和 FF 的全原子结构和粗粒度映射

Fig.4-1 All-atomic configuration and coarse-grained mapping of (a) bisazoFA and (b) FF

模拟所用水盒子边长为 30 nm，各体系自组装及光响应后的模拟时间均为 4  $\mu$ s。模

拟光响应角度变化的初始构型选用自组装模拟 4  $\mu\text{s}$  时刻的稳定构型。溶剂可及表面积 (SASA) 分数及苯环堆积方式的自由能景观图 (FEL) 的定义, 和分子接触等的距离定义同章节 3.1。选取体系组装模拟最后 500 ns 的数据作为 FEL 的计算对象。粘度计算参照使用 GROMACS 的周期性微扰方法 (PPM) 计算水的粘度<sup>[100]</sup>。

## 4.2 光响应短肽分子及凝胶体系的构建

### 4.2.1 光响应短肽分子的设计

由第三章可知, 在由 F(azo)A 分子自组装得到的双分子层中, 有 4 个苯环并行排列, 亲水基团位于片层两侧, 也正是由于苯环数量较多使得片层刚性过大, 不易形成囊泡。为此, 我们考虑是否可以在该结构的基础上减少片层中的苯环数量以构建刚性较小的片层, 或直接形成其他有序结构。

我们的目标依旧是设计光响应型有序结构, 故即要保持分子中存在偶氮苯基团, 又要使其具有自组装成有序结构的能力。因此, 我们将 F(azo)A 分子的另一侧加上对称的亲水主链, 即通过偶氮双键连接两 FA 分子中的苯丙氨酸 (F) (图 4-1 (a)), 构建具有对称结构的两亲分子。根据 bisazoFA 的分子结构, 我们推测该分子在可见光下能够自组装成具有单分子层的片层结构, 并由于光异构化使分子结构有较大改变从而改变组装体形貌, 进一步影响组装体的理化性质。由于分子中含有 2 个 FA 残基即两个芳香基团, 分子组装倾向较强, 在浓度较高的情况下可能很快形成片层, 在周期性的约束下不再发生结构变化, 导致组装体形貌变化得不到清晰的展示, 故适当降低体系浓度至 5wt%, 即保持了组装体形貌, 又可清晰观察光响应前后的结构差异。

### 4.2.2 凝胶体系的自组装

为验证所改性的分子的组装结构, 我们首先模拟了纯 bisazoFA 在 5wt% 浓度下的自组装, 结果表明分散体系经过 4  $\mu\text{s}$  的聚集组装并未形成预料的片层, 而是形成稳定的类似凝胶体系的三维交联网络 (图 4-2 (a-h))。组装之初, 分散的分子很快聚集成小团簇, 小团簇逐渐聚集融合成短线型结构, 然后进一步组装形成交联的三维网络。为更清晰地观察 bisazoFA 分子在组装体中的排布, 我们将部分结构放大, 如图 4-2 (i) 所示, 在纯 bisazoFA 自组装体系中, 由于分子结构呈对称分布, 亲水组分位于疏水苯基两侧, 而偶氮苯在可见光下以反式结构存在, 分子呈直线型, 故对称分布的亲水基团位于组装体外侧, 分子疏水残基贯穿在组装体中, 呈现单层分子排布。分子主、侧链的排布与其

他能形成片层的具有对称结构的分子是类似的，但 bisazoFA 分子的亲水主链与疏水侧链间有一定夹角，向外支出的主链使分子间存在阻力，故而未像其他直线型分子组装成片层，而是以三维交联网络结构存在。

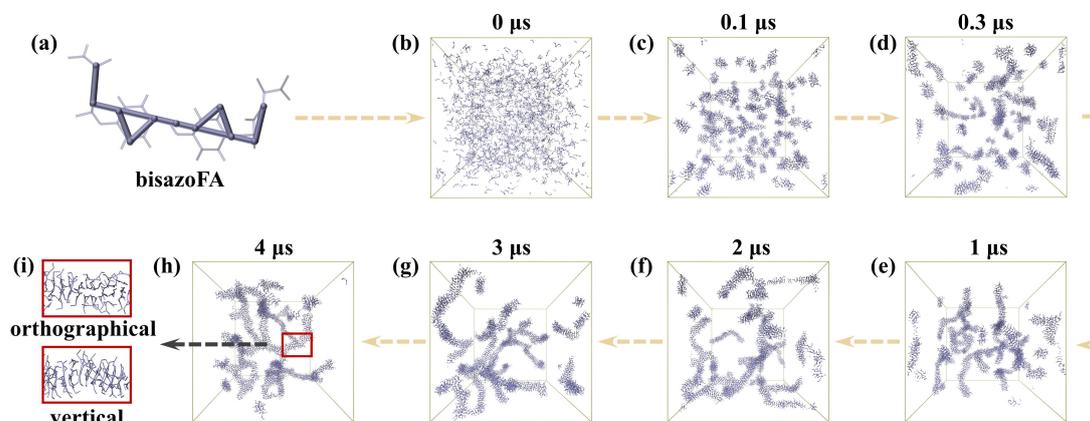


图 4-2 (a-h) bisazoFA 分子的自组装过程。(i) 组装结构的放大示意图

Fig.4-2 (a-h) Self-assembly process of bisazoFA molecules. (i) Enlarged schematic of the assembly structure

### 4.3 光响应凝胶体系的形貌调控

经过自组装模拟发现，bisazoFA 分子在组装体中的排布方式虽与其他直线型分子在单分子层中的排布有类似之处，即疏水侧链均被亲水主链保护在组装体内部，但并没有形成类似的片层，而是形成凝胶网络。对此，我们考虑是否可以通过添加其他分子，使分子之间共组装从而实现网络结构到片层的变化。苯丙氨酸二肽（FF）仍是我们作为共组装分子的首要考虑对象，除其自身所固有的自组装特点，已有研究表明向 FF 组装体系中加入 FmocFF，随 FmocFF 浓度增加，纳米管逐渐向具有凝胶特征的支片状细原纤维转变，形成的凝胶与仅含有 FmocFF 的凝胶相比，刚性增强<sup>[79]</sup>。参照上述过程，我们推测在本能形成三维交联网络的 bisazoFA 体系中加入 FF，在单层分子排列中插入双层分子排列，可能使组装结构发生变化。由于向 FF 中加入 FmocFF，组装结构会逐渐向 FmocFF 凝胶转变，所以向 bisazoFA 中加入 FF，最终的组装体结构可能会逐渐向 FF 的组装结构变化，组装形成凝胶的理化性质也可能有所改变。

我们参照章节 4.1 中提及的 bisazoFA 及 FF 的浓度比例构建共组装体系，经过 4 μs 的动力学模拟，发现组装体形貌确实有所改变（图 4-3（a））。与纯 bisazoFA 体系相比，在 FF 质量分数占总体系 1/9 组中，交联的支链加宽，有部分区域形成类片层结构；随 FF 质量分数占比增加，组装体片层结构愈加明显，至 FF 质量分数占比 1/5 组中，组装

体几乎呈不规则片层结构。

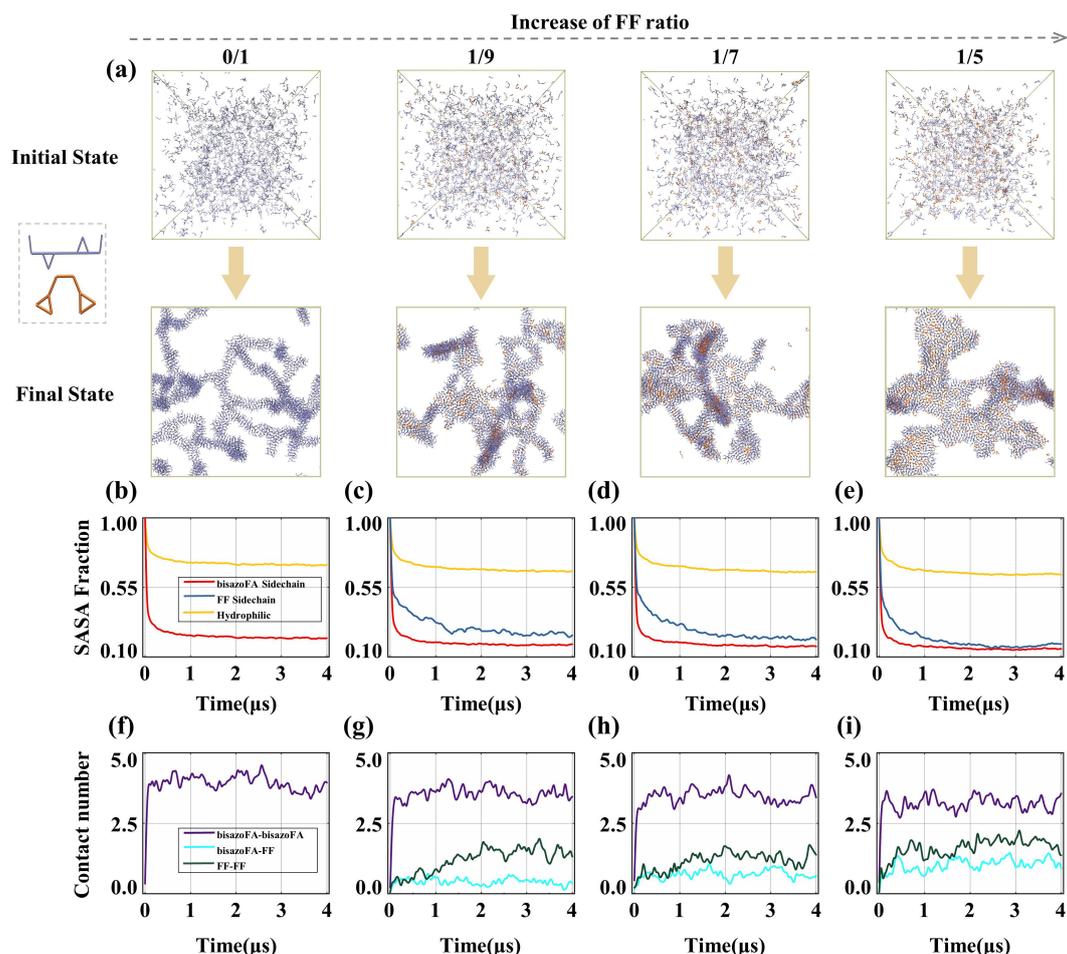


图 4-3 bisazoFA 的自组装和 FF 及 bisazoFA 在不同质量分数比例下的共组装。(a) 在不同 FF 质量分数比例下, 各体系初始随机分散状态及模拟 4  $\mu\text{s}$  后的平衡构型; (b-e) 各体系中亲水主链、bisazoFA 侧链、FF 侧链的 SASA 分数随时间变化曲线; (f-i) 各体系中 bisazoFA-bisazoFA、bisazoFA-FF 及 FF-FF 间的平均接触数随时间变化曲线

Fig.4-3 Self-assembly of bisazoFA and co-assembly of FF and bisazoFA at different FF ratios. (a) Snapshots of the initially randomly dispersed states and the equilibrium configurations at 4  $\mu\text{s}$  of four systems with increasing FF mass fraction ratios. (b-e) The SASA fraction of the mainchain of the hydrophilic, bisazoFA sidechain and FF sidechain for each simulation as a function of time. (f-i) The average contact number between bisazoFA-bisazoFA, bisazoFA-FF, FF-FF for each simulation as a function of time

同样为更清晰地观察两种分子在组装体中的排布情况, 我们选择 FF 浓度占比 1/5 组中的组装结构进行局部放大(图 4-4)。在组装体中, FF 仍以双分子层堆积的形式存在, 同时 bisazoFA 分子以单分子层排列存在, 一个 bisazoFA 分子的两对称亲水基团与上下两层的 FF 的亲水基团基本位于同一平面, bisazoFA 及 FF 疏水侧链位于组装体内部。基于此我们可以合理推断, 组装得到的片层结构与 FF 的加入密切相关, bisazoFA 在组装过程中作为片层的结构框架, FF 作为填充结构, 填充网络空白处形成片层。

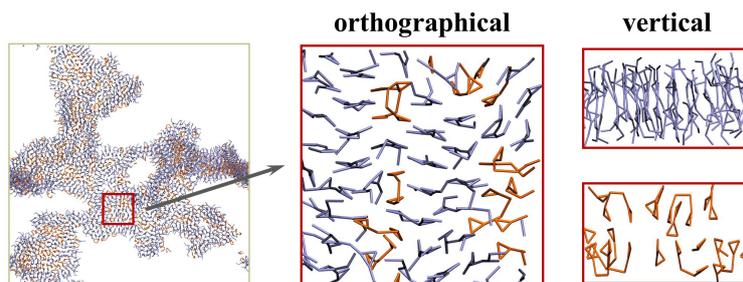


图 4-4 光响应前 FF 在体系中的质量分数比分别在 1/5 下的组装结构的放大示意图  
 Fig.4-4 The enlarged schematic diagram of assembled structure at 1/5 mass fraction ratio of FF before photo response

为探究 FF 对在组装过程的影响，我们做了如下分析。同样将 bisazoFA 及 FF 分子分为亲水主链及疏水侧链两部分，而后分别计算了体系中它们的溶剂可及表面积 (SASA) 分数 (图 4-3 (b-e)) 来研究它们在组装过程中的作用。在纯 bisazoFA 自组装体系中，亲水主链及疏水侧链的 SASA 分数迅速下降，其中疏水侧链的 SASA 分数接近 0.2，而亲水主链的平衡值约为 0.7，表明疏水侧链的溶剂暴露程度要小于亲水主链，位于组装体里侧 (图 4-3 (b))；在加入 FF 后，不论 FF 质量分数占比的高低，bisazoFA 分子的侧链及体系亲水主链仍迅速下降，相较之下，FF 侧链 SASA 分数下降速度虽然迅速，却略缓于 F(azo)A 分子 (图 4-3 (c))，平衡值也略高于 F(azo)A 分子；而随 FF 浓度的增加，FF 侧链的 SASA 分数下降速度加快，且下降幅度逐渐增大，在占比 1/5 组中，平衡值已小于 0.2 (图 4-3 (e))，说明随体系中 FF 浓度的增加，其疏水侧链的溶剂暴露反而减少，FF 侧链被更好地保护在组装体内部；此外，虽然 bisazoFA 分子的浓度随 FF 增加而减少，其侧链的 SASA 分数仍是逐渐减小的，且整个体系的疏水部分的 SASA 分数也是下降的。这与二者共组装形成类片层结构有关。分子在片层中的排列较三维网络中更为紧密，两分子的疏水侧链都倾向在组装体内部，被亲水主链更好地包裹，使整体的溶剂暴露减少，导致体系总疏水基团的 SASA 分数下降，这也与网络至片层的结构转变相吻合。

通过模拟结果发现，在共组装体系，FF 在组装体中作为填充物会出现部分聚集，为此我们计算了不同分子间的平均接触数 (bisazoFA-bisazoFA、bisazoFA-FF、FF-FF) (图 4-3 (f-i))。由于 bisazoFA 分子是体系的主要组成成分，不论在 bisazoFA 自组装体系还是共组装体系，bisazoFA 分子间的平均接触数始终是最高的 ( $\approx 5$ )，说明 bisazoFA 分子作为组装驱动力的主要提供者，主导凝胶网络结构的形成；bisazoFA-FF 及 FF-FF 间的平均接触数较小，其中 bisazoFA-FF 的值最小，在 FF 占比 1/9 组中结果最为明显，

在 FF 含量较少的体系中，FF 分子间的接触数都要高于 bisazoFA 与 FF 之间的接触数，说明 FF 分子间的相互作用要强于 bisazoFA 与 FF 之间的相互作用，导致 FF 分子的聚集，从而在组装体中出现分相现象，随着 FF 浓度的升高，其作用增强，在组装中也提供了一定的组装驱动力。

为明确各体系模拟达到平衡的时间，我们统计了各组装体系在组装过程中的团簇数变化（图 4-5）。结果显示，不论 FF 的浓度高低，组装最终达到平衡的时间是相近的，同时由代表各体系的曲线斜率也可得出各体系的组装速率是类似的。所以 FF 的加入并不会对组装过程有明显的促进作用，但可以影响组装体结构，使组装体从三维网络向片层过渡。

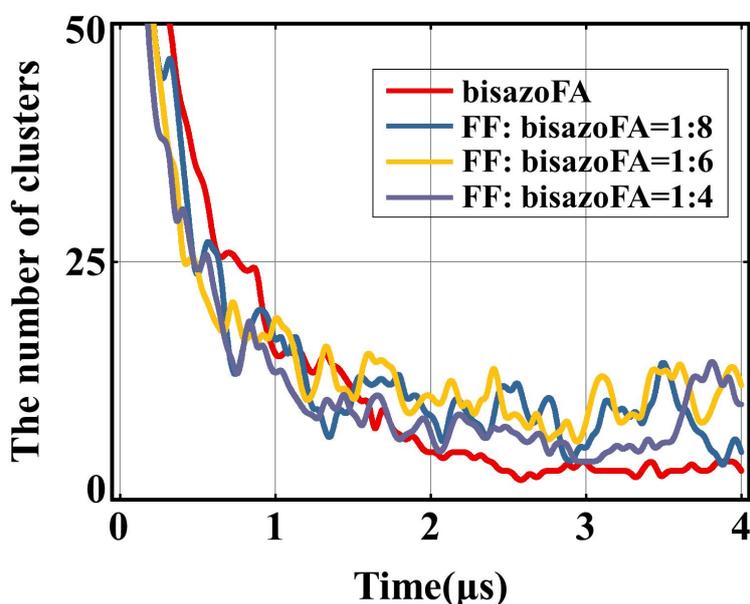


图 4-5 在不同质量分数的 FF 体系中团簇数随时间的变化

Fig.4-5 Time evolution of the number of clusters at different FF mass fraction ratios

## 4.4 组装体光响应特性分析

### 4.4.1 组装体形貌变化

通过 bisazoFA 分子的自组装，得到了三维交联网络结构。根据偶氮苯的光异构化特性，在紫外光照射下，分子会从反式结构变为顺式结构，偶氮苯基团的夹角改变，所构建的 bisazoFA 分子结构在此条件下会有较大的变化，可能导致组装体内部分子发生重排，使组装体形貌及性质发生变化。因此，我们通过改变偶氮苯夹角模拟体系在紫外光照射环境下的变化过程，观察分析组装体形貌变化机制及 FF 在其中的作用。

我们选取组装稳定构型作为模拟光响应的初始构型。经过 4 μs，各体系组装体结构

变化如图 4-6 (a) 所示。在仅 bisazoFA 分子自组装体系中，分子结构变化，使原本的三维网络结构转变为无交联的线型结构，而在有 FF 的共组装体系中，不论 FF 浓度高低，最终都形成有交联的网状结构，不同的是随 FF 浓度增加，各网络交联处的尺寸有所增大。我们同样计算了体系中各分子残基的 SASA 分数以确定其在响应过程中的作用（图 4-6 (b-e)）。在纯 bisazoFA 自组装体系中，响应过程中，亲水主链及疏水侧链的 SASA 分数都有所下降，疏水侧链下降更为明显，说明经光响应后体系的溶剂暴露减少，疏水侧链经结构变化后更彻底地位于组装体内部；而其他含有 FF 的体系，亲水主链及 bisazoFA 及 FF 疏水侧链的 SASA 分数都呈增加趋势，且随 FF 浓度的增加，bisazoFA 分子浓度虽然减小，但其侧链的溶剂暴露程度则有所增加。关于此现象，我们通过组装结构的局部放大图来进行解释（图 4-7）。在仅 bisazoFA 分子体系中（图 4-7 (a)），多个分子沿圆周排列，偶氮所在位置指向圆心，分子亲水主链位于结构外侧，对疏水残基起到一定的包裹作用，相较于自组装体系中的单层分子排布，此种分子排布方式更有利于形成疏水内核，减小溶剂暴露程度，所以 SASA 分数减小；在 bisazoFA 及 FF 共组装体系中，以 FF 占比 1/5 组为例（图 4-7 (b)），不同于自组装网络结构，此时的网络支链呈现线型结构，而在网络交联处则由于 FF 的存在呈双分子层结构。在光响应前的片层结构中，FF 虽有部分聚集现象，但两分子还是有穿插存在的区域，所以在响应过程中，由于 bisazoFA 分子结构变化需要一定的空间，而 FF 双分子层的存在对结构变化有所阻碍，故组装体会先发生膨胀，留出可供分子变化的空间，不仅使疏水残基的 SASA 有所增加，同时也导致了体系中亲水主链的 SASA 分数增加。当 bisazoFA 分子完成结构变化后会再次组装形成无交联的线型结构，FF 则逐渐聚集形成双分子层。此过程并未使各体系中的疏水残基的溶剂暴露减少，主要是因为相较于响应前的片层，线型结构中各分子与溶剂分子的接触可能性更大，在网络的节点处，也因为不同分子结构的共存使其无法像纯粹的双分子层般堆积紧密，使得各分子的溶剂暴露较响应前增加。在形成网络交联处的结构中，有部分 bisazoFA 分子由于双分子层的限制而无法实现结构的完全变化。

此外，我们结合模拟结果以及各分子间的平均接触数（图 4-6 (f-i)），可以进一步地说明 FF 的聚集现象。如图，FF 分子间的平均接触数是高于 FF 与 bisazoFA 分子间接触数的，且较响应前有所增加，在网络节点处也可明显看出 FF 的聚集。在光响应前，FF 分子在组装体中已表现出聚集倾向，在响应后的聚集倾向则更加明显。这是因为 bisazoFA 分子经光响应后，偶氮苯夹角由原本的  $180^\circ$  变为  $60^\circ$ ，组装结构由有交联网络

转变成无交联线状,在有 FF 体系中,FF 无法在线型结构中存在,会被 bisazoFA 分子“挤出”组装体,使 FF 分子逐渐聚集在一起,形成双分子层结构,构成网络的交联点,连接由 bisazoFA 分子形成的线型结构。

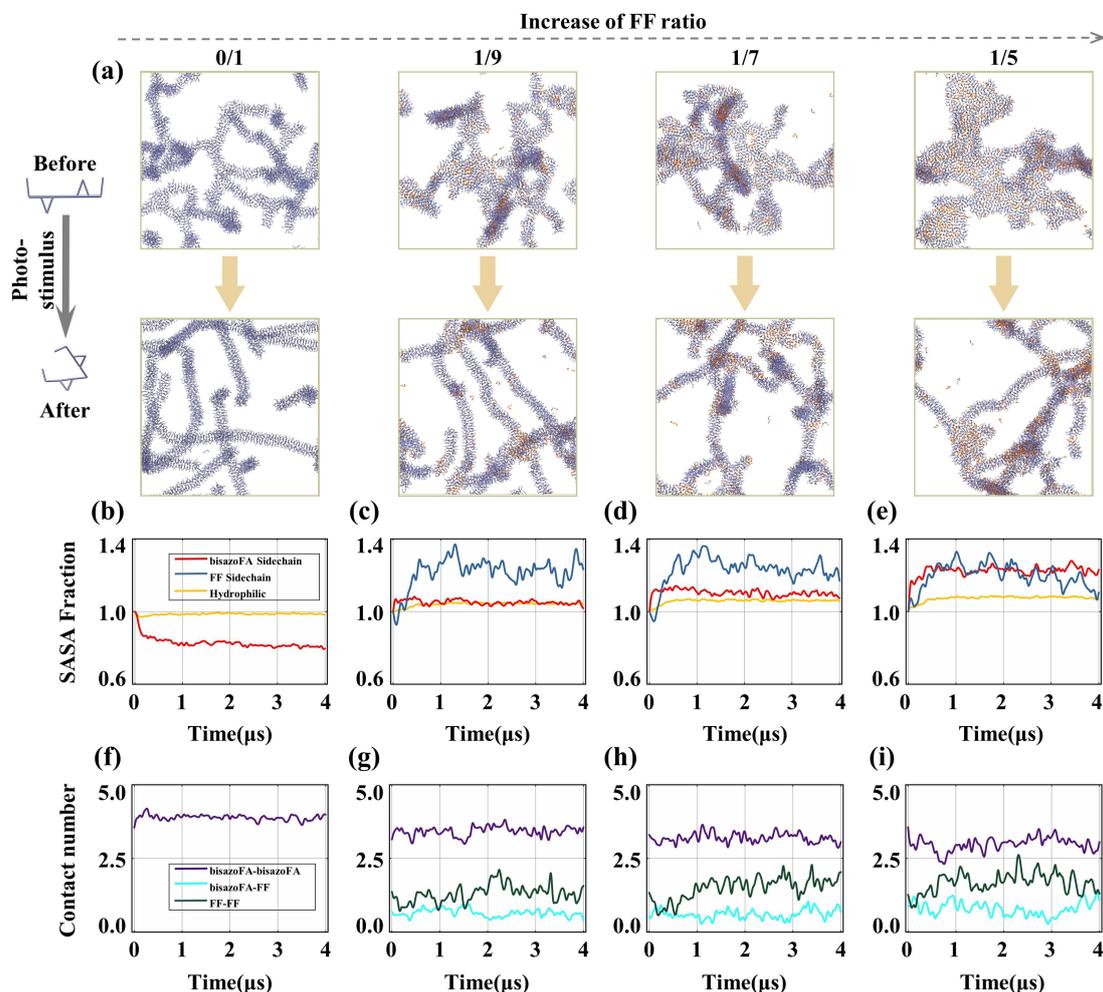


图 4-6 bisazoFA 和 FF 及 bisazoFA 在不同质量分数比例下的光响应特性分析。(a) 在不同 FF 质量分数比例下,各体系经光响应  $4 \mu\text{s}$  后的平衡构型; (b-e) 各体系中亲水主链、bisazoFA 侧链、FF 侧链的 SASA 分数随时间变化曲线; (f-i) 各体系中 bisazoFA-bisazoFA、bisazoFA-FF 及 FF-FF 间的平均接触数随时间变化曲线

**Fig.4-6 Photo-response characteristics of bisazoFA and of FF and bisazoFA at different FF mass fraction ratios. (a) Snapshots of the initially configurations and the configurations at  $4 \mu\text{s}$  after photo-response for four systems at different FF mass fraction ratios. (b-e) The SASA fraction of the mainchain of the hydrophilic, bisazoFA sidechain and FF sidechain for each simulation as a function of time. (f-i) The average contact number between bisazoFA-bisazoFA, bisazoFA-FF, FF-FF for each simulation as a function of time**

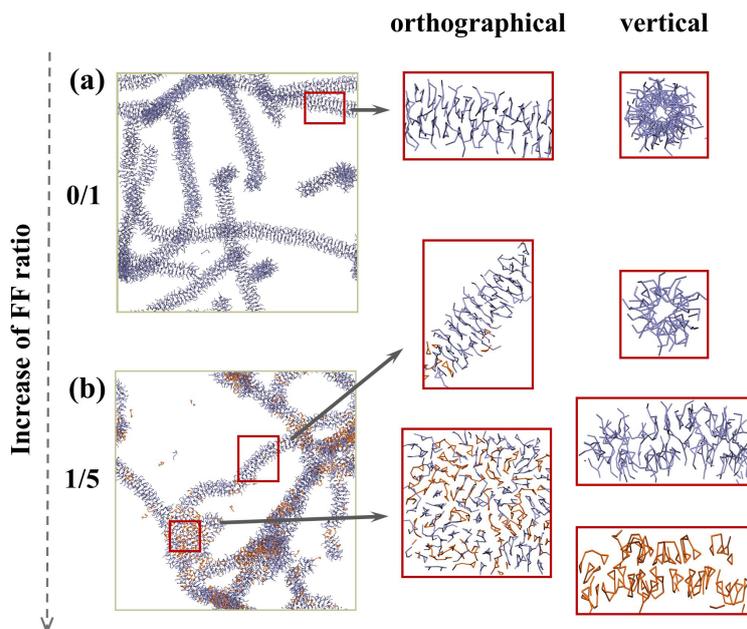


图 4-7 光响应后 FF 在体系中的质量分数比分别在 (a) 0/1 及 (b) 1/5 下的组装结构放大图  
 Fig.4-7 The enlarged schematic diagram of assembled structure of FF mass fraction ratio at (a) 0/1 and (b) 1/5 in the systems after photo-response

已知芳香族残基堆积在自组装中起着重要作用，为分析组装体在光响应前后的结构变化是否与苯环的堆积方式有关，我们计算了不同 FF 浓度下的芳香堆积模式的自由能（FEL）随质心距离和苯环间夹角的变化（图 4-8，图 4-9）。光响应前，在纯 bisazoFA 分子的自组装网络中，bisazoFA 分子间的 FEL 最小值区域位于  $60^{\circ}\sim 90^{\circ}$ ，质心距离约为 0.6 nm，说明在网络结构中，分子中苯环主要以垂直堆积的方式存在。在各 bisazoFA/FF 共组装体系中，随 FF 浓度的增加，bisazoFA-bisazoFA 间的 FEL 最小值区域颜色变浅，但仍位于垂直堆积区域，同时在质心距离 0.5 nm 左右的  $0^{\circ}\sim 30^{\circ}$  区域出现一极值点，说明随 FF 增加，分子间苯环除垂直堆积，平行堆积倾向也逐渐增强（图 4-8 (a)）。通过苯环不同堆积方式的概率分布可以更清晰地看到，在纯 bisazoFA 自组装体系中，垂直堆积占比最高，随 FF 浓度升高，垂直堆积的概率逐渐降低，而平行堆积的概率逐渐升高，直至 FF 质量分数占比 1/5 组中，平行堆积与垂直堆积的概率几乎一致（图 4-10(a)）。在共组装体系中，bisazoFA-FF 间的 FEL 最小值位于质心距离 0.6 nm 附近的  $60^{\circ}\sim 90^{\circ}$  区域，且随 FF 浓度升高而逐渐加深（图 4-8 (b)），根据堆积方式的概率分布，不论 FF 的浓度高低，苯环垂直堆积是分子间的主要堆积方式（图 4-10 (b)）。类似现象也出现在 FF 分子间，FEL 的最小值区域始终位于质心距离 0.6 nm 附近的  $60^{\circ}\sim 90^{\circ}$  区域，尽管随 FF 浓度增加区域颜色逐渐加深，但各浓度下苯环堆积方式的概率分布是类似的，

均以垂直堆积为主要堆积方式（图 4-8（c），图 4-10（c））。所以在网络结构中，bisazoFA 分子间苯环倾向垂直堆积，而在片层结构中，bisazoFA 分子间苯环不仅呈垂直堆积，还有呈平行堆积的倾向，并随 FF 浓度升高而愈加明显，即 FF 的加入使 bisazoFA 分子从垂直堆积逐渐向平行堆积过渡。

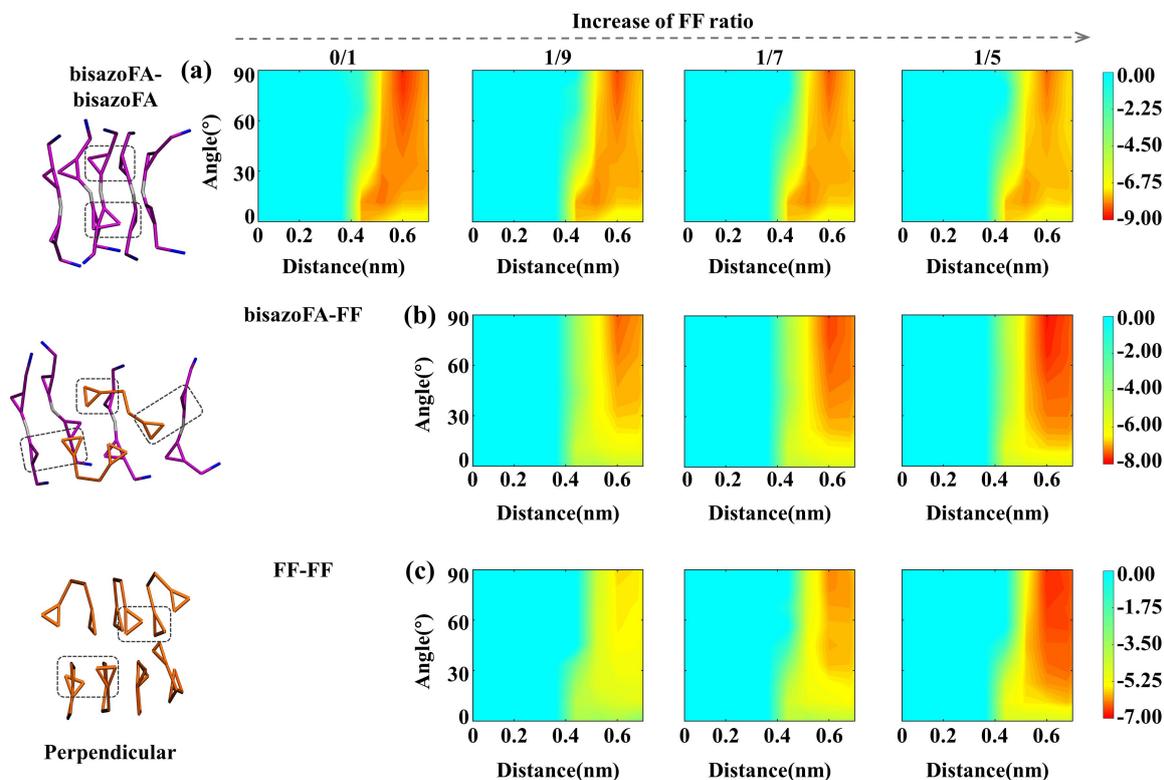


图 4-8 光响应前的苯环堆积方式分析。(a) 在不同 FF 质量分数比例下，bisazoFA 分子间苯环堆积方式的自由能随其质心距离和夹角变化的 FEL 分布图；(b) bisazoFA 与 FF 分子间的 FEL 分布；(c) FF 分子间的 FEL 分布。左侧构型展示出各分子间苯环垂直堆积

**Fig.4-8 Analysis of aromatic stacking mode before photo-response. (a) The FEL of aromatic stacking modes between bisazoFA molecules plotted as a function of their centroid distance and angle, in systems at different FF mass fraction ratios. (b) (c) Same as (a), but (b) for bisazoFA-FF, and (c) for FF-FF. The left conformations show the perpendicular stacking modes between the pairs of residues**

光响应后，自组装及共组装体系均发生了结构变化。在纯 bisazoFA 分子自组装体系中，交联网络转变成无交联的线型，组装体中分子排列方式不同，其中苯环堆积方式较光响应前也有所改变。根据计算结果，bisazoFA 分子间 FEL 最小值点区域位于质心距离 0.5 nm 附近的  $0^{\circ}\sim 30^{\circ}$  区域（图 4-9（a）），结合堆积方式的概率分布（图 4-10（d）），与响应前的垂直堆积不同，响应后的 bisazoFA 分子倾向平行堆积，人字交叉堆积次之。在其他与 FF 共组装体系中，bisazoFA 分子间的 FEL 在质心距离 0.5 nm 附近的  $0^{\circ}\sim 30^{\circ}$  区域的颜色随 FF 浓度升高而逐渐变浅，但仍是极值点区域。其他区域表现不明显，结

合苯环概率分布可以发现，在响应后的网络结构中 bisazoFA 分子呈人字堆积 ( $30^\circ\sim 60^\circ$ ) 较多，在 FF 浓度占比 1/9 及 1/7 组中，平行堆积概率次之，而在 1/5 组中则是垂直堆积方式位于第二位。在响应过程中，bisazoFA 中苯环从垂直堆积向平行堆积转变，响应后 bisazoFA 分子沿圆周排列形成的线型结构主要以平行堆积的方式，而在 FF 存在的体系中，除线型结构，还有部分双分子层，片层结构的存在阻碍了分子从垂直堆积向平行堆积的过渡，且体系中 FF 越多，双分子层越多，阻碍越明显，从而出现图 4-9 (d) 中的概率分布情况，即人字堆积随 FF 在体系中的浓度增加逐渐成为苯环的主要堆积方式。在共组装体系中，bisazoFA-FF 以及 FF-FF 之间的 FEL 最小值区域同光响应前一致，均位于质心距离 0.6 nm 附近的  $60^\circ\sim 90^\circ$  区域，并随 FF 浓度升高，区域颜色加深，表明较强的垂直堆积倾向，苯环堆积方式的概率分布同样表明，不论 FF 浓度的高低，bisazoFA-FF 以及 FF-FF 之间均以垂直堆积为主 (图 4-9 (b-c)，图 4-10 (e-f))。

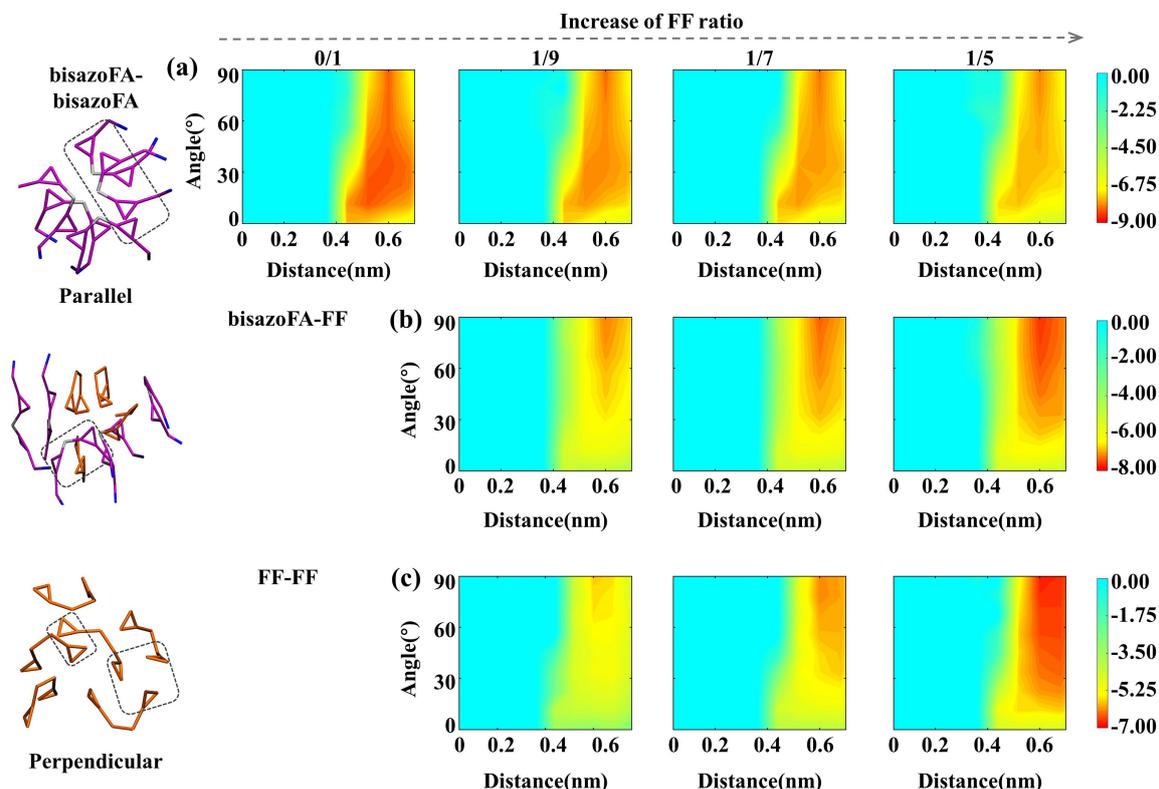


图 4-9 光响应后的苯环堆积方式分析。(a) 在不同 FF 质量分数比例下，bisazoFA 分子间苯环堆积方式的自由能随其质心距离和夹角变化的 FEL 分布图；(b) bisazoFA 与 FF 分子间的 FEL 分布；(c) FF 分子间的 FEL 分布。左侧构型展示出各分子间苯环平行及垂直堆积

**Fig.4-9 Analysis of aromatic stacking mode before photo-response. (a) The FEL of aromatic stacking modes between bisazoFA molecules plotted as a function of their centroid distance and angle, in systems at different FF mass fraction ratios. (b) (c) Same as (a), but (b) for bisazoFA-FF, and (c) for FF-FF. The left conformations show the parallel and perpendicular stacking modes between the pairs of residues**

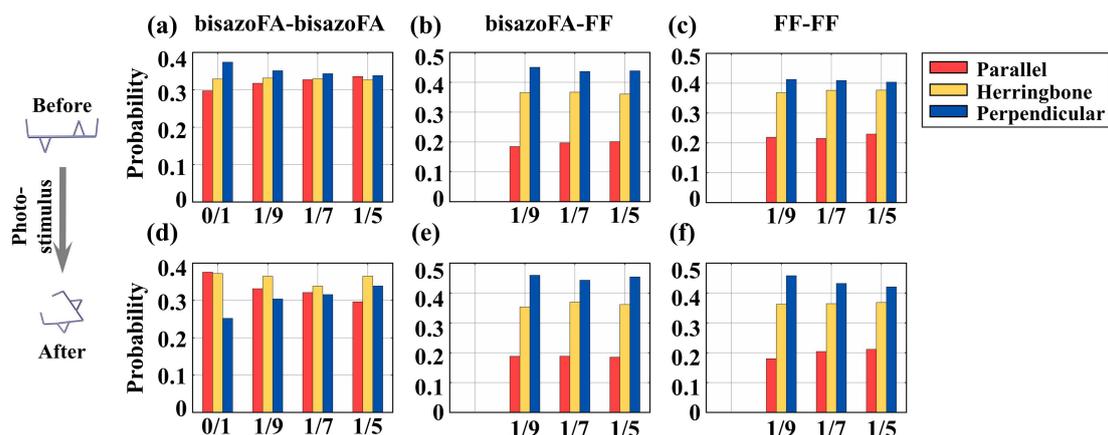


图 4-10 光响应前后各残基对在不同 FF 质量分数比例下形成平行、人字形和垂直堆积的概率分布。(a-c) 分别为响应前 bisazoFA-bisazoFA、bisazoFA-FF、FF-FF 的概率分布；(d-f) 为对应分子响应后的概率分布

**Fig.4-10 The probability distribution of residue pairs forming parallel, herringbone, and perpendicular stackings before and after photo-response in different FF mass fraction ratios. (a-c) are the probability distributions of bisazoFA-bisazoFA, bisazoFA-FF, FF-FF before the response. (d-f) Same as (a-c) but for after response**

综上，FF 的存在使组装体在自组装过程中从网络结构向片层过渡，片层的形成离不开 FF 双分子层的支撑，此时，bisazoFA 分子间的堆积方式从垂直向平行堆积过渡，bisazoFA 与 FF 以及 FF 之间的堆积主要是垂直堆积；在经光响应后，无 FF 的情况下，网络解体，形成无交联的线型结构，此时分子主要以平行堆积方式存在；而在有 FF 的情况下，则是片层分散形成三维网络，bisazoFA 分子经光异构化组装成线型结构，由 FF 聚集形成的双分子层作为连接点使线型结构连接成网络，此时，线型结构中的 bisazoFA 仍倾向以平行堆积的方式，而在双分子层区域，bisazoFA 向平行堆积转变受阻，故以人字堆积为主，bisazoFA 与 FF 以及 FF 之间的堆积仍主要是垂直堆积。故 FF 的加入对响应前后的组装结构均有影响。

由于偶氮苯的可逆光异构化特点，我们通过反复改变偶氮苯基团夹角来模拟体系在紫外-可见光交替作用下的结构变化。结果如图 4-11 所示。在纯 bisazoFA 自组装体系，经两次光异构化，都实现了三维网络至无交联线型结构的可逆转变；在其他共组装体系中，经过两次紫外-可见光的交替作用，也都实现了片层至三维网络的可逆转变。此步骤证明了 FF 的加入虽对光响应前后的结构有明显影响，但并不会影响结构变化的光控可逆性。

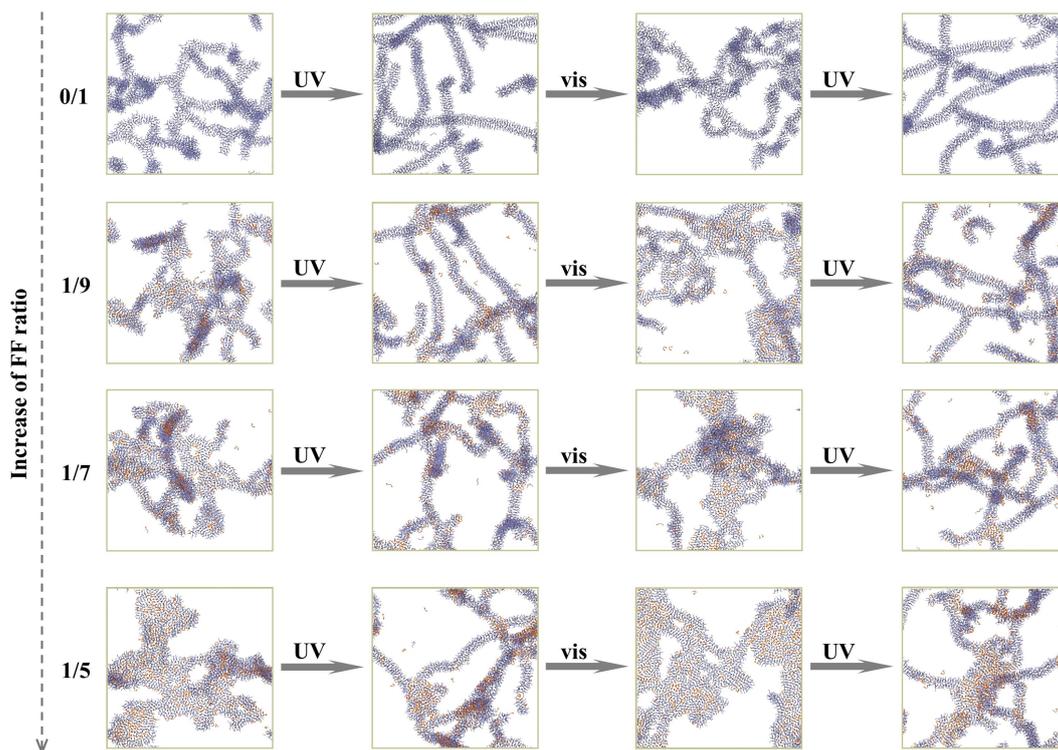


图 4-11 不同 FF 质量分数比例下经多次光响应中的组装结构转变

Fig.4-11 Structural transformation of assemblies in multiple photo-response under different FF mass fraction ratios

#### 4.4.2 凝胶网络粘度变化

对偶氮苯及其衍生物的应用不仅在光诱导机械运动上有广泛报道，对光调节机械性能，如刚度及韧性的报道也有涉及，如利用增压多肽及偶氮苯表面活性剂共组装得到的蛋白质纤维在光诱导结构变形后机械性能有所增加<sup>[101]</sup>。另外，利用偶氮苯影响水凝胶网络中可逆的构象转变，进而转变为粘弹性的变化，对促进体外细胞培养增强材料的创造、光触发释放封装药物分子有重要意义<sup>[102]</sup>。

由上述可知，各体系在光响应前后有较为明显的结构变化，推测这种结构变化会导致凝胶体系理化性质或机械性能的改变。因此我们通过模拟计算各体系在光响应前后的粘度变化（图 4-12）来说明其物理性质的变化。在无 FF 体系中，经光响应后组装体由三维交联网络转变为无交联线型，其计算粘度在响应后有明显下降；在有 FF 体系中，经响应后片层结构转变为有交联网络，其计算粘度在响应后增加。我们利用组装体 SASA 的变化解释这一现象。由图 4-6（b）可知，在 bisazoFA 自组装体系中，不论亲水主链还是疏水侧链，响应后的 SASA 分数都减小，组装体的溶剂暴露整体减小；在有 FF 的共组装体系，各残基 SASA 分数均增加，即不论 FF 浓度高低，整个组装体的 SASA 在

响应后是增加的，即溶剂暴露增加。粘度是分子对溶剂阻碍的表现，组装体在溶剂中暴露面积越多，与溶剂分子间的接触面积越大，阻碍越强，表现出的粘度越高，反之则表现为低粘度。因此光诱导结构变化可有效改变组装体粘度，根据体系中是否含有 FF，其变化也趋势不同，FF 在体系中可使组装体粘度变化反向，因此可以根据所需材料性质选择是否添加 FF 以及添加的浓度。

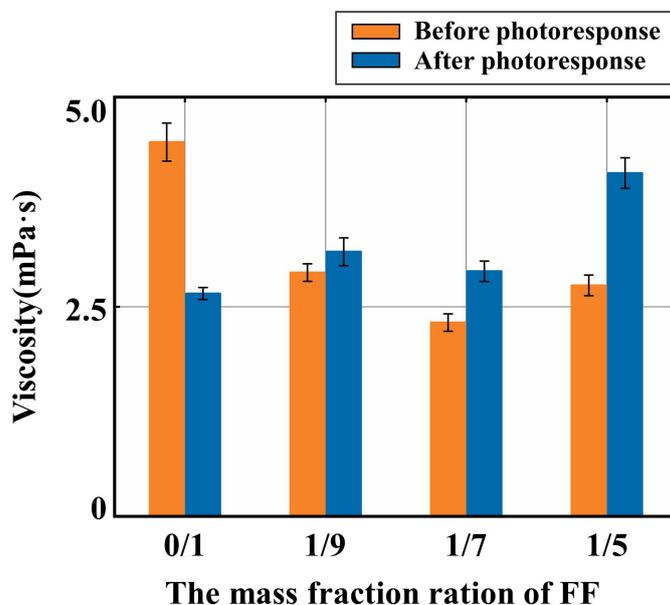


图 4-12 不同 FF 质量分数比例下各组装体光响应前后的粘度变化

Fig.4-12 The viscosity changes of assemblies before and after photo-response at different FF mass fraction ratios

#### 4.5 本章小结

本章通过 Martini 粗粒度分子动力学模拟，构造了一种基于二肽 FA 的光响应分子 bisazoFA，在可见光下组装形成凝胶似的三维网络，经光响应后网络解体形成无交联结构，响应后粘度降低，在响应过程中分子由并行排列转变为沿圆周排列，此时分子间苯环的排列方式也由于分子的光异构化而从垂直堆积向平行堆积转变。与 FF 的共组装可通过改变分子间的堆积方式实现组装结构在未响应时的形貌调控，即实现网络至片层的变化，光响应后的组装体结构发生变化，粘度升高。凝胶粘度可能影响其耐溶解性，进而影响运输分子的释放，因此根据响应前后的粘性可逆变化为设计新型的智能响应材料提供了新的思路，例如水凝胶的粘弹性的可逆变化允许细胞的生长及增殖，短肽也具有固有的细胞相容性，有利于作为细胞培养支架。

本章通过对比分析 bisazoFA 分子的组装及响应特点，不同于 F(azo)A 分子的位移累

积效果，此类分子的结构变化对组装体形貌影响较大，即由于分子结构变化会导致分子堆积方式变化，进而导致组装体形貌变化；和具有不同组装结构的分子共组装，同样使组装体形貌及性质有较大的变化。两种形貌调控方式的有效结合，实现了组装体功能的多样化，有助于对类似结构的定向调控。

## 结 论

本论文主要基于粗粒度分子动力学的方法，通过构建不同的基于二肽 FA 的偶氮苯衍生分子，研究其自组装及响应机制，主要通过分析组装体中各分子残基所发挥的作用以及偶氮苯光异构化所带来的结构及性质变化，并根据组装过程及组装体的特点提出了相关措施。我们希望能够通过对照总结不同类型分子的响应特点，帮助合理设计新型的光响应分子并提供形貌调控措施。具体的研究结论如下：

(1) 通过在二肽 FA 氨基端的侧链上引入偶氮苯基团构建可自组装成囊泡的光响应分子 F(azo)A，并在紫外光的作用下实现囊泡到杆状囊泡的可逆转变，在结构转变过程中，囊泡渗透性增强。响应过程中，分子结构虽发生了变化，但分子间的堆积方式并未改变，仍以垂直堆积为主。囊泡向杆状囊泡的转变主要是由于为避免空间位阻而引起的分子位移导致的。向体系中加入适当浓度的 FF，通过破坏 F(azo)A 分子的紧密堆积来增强片层的融合能力和弯曲能力，使之更容易形成囊泡，却不影响囊泡的光响应特性。

(2) 在 F(azo)A 分子的基础上构建了具有对称结构的 bisazoFA 分子，该分子可自组装成凝胶类的三维交联网络，并通过偶氮苯的光异构化使组装体转变成无交联线型结构，粘度也有所下降。在响应过程中，分子从平行排列转变成绕圆周排布，分子堆积方式从垂直堆积逐渐变成平行堆积。在体系中加入 FF，其双分子层结构的存在改变了分子间的堆积方式，从而使网络转变为片层，并在响应后大量聚集形成网络的交联点，这种结构变化也导致了凝胶粘度的不同变化。

综上，本文旨在分析在不同类型的组装体中，由偶氮苯光异构化所引起的结构变化机理，有利于根据目标结构及功能进行合理的分子设计。此外，根据组装类型选择共组装分子，也有利于定向调控组装体形貌。以上研究结果有助于人们对自组装机理的进一步理解，尤其是分子结构变化的累积效果，为设计并制备具有特定功能的肽基纳米材料提供一些参考。

## 参考文献

- [1] Das A. K., Gavel P. K. Low Molecular Weight Self-Assembling Peptide-Based Materials for Cell Culture, Antimicrobial, Anti-Inflammatory, Wound Healing, Anticancer, Drug Delivery, Bioimaging and 3D Bioprinting Applications[J]. *Soft Matter*, 2020, 16(44): 10065-10095.
- [2] Makam P., Gazit E. Minimalistic Peptide Supramolecular Co-Assembly: Expanding the Conformational Space for Nanotechnology[J]. *Chemical Society Reviews*, 2018, 47(10): 3406-3420.
- [3] Hu X., Liao M., Gong H., et al. Recent Advances in Short Peptide Self-Assembly: From Rational Design To Novel Applications[J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2020, 45: 1-13.
- [4] 郭家田, 卢玉超, 毕晨, 等. 刺激响应型肽自组装及其应用[J]. *化学进展*, 2019, 31(01): 83-93.
- [5] Cui H., Cheetham A. G., Pashuck E. T., et al. Amino Acid Sequence in Constitutionally Isomeric Tetrapeptide Amphiphiles Dictates Architecture of One-Dimensional Nanostructures[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2014, 136(35): 12461-12468.
- [6] Velichko Y. S., Stupp S. I., De La Cruz M. O. Molecular Simulation Study of Peptide Amphiphile Self-Assembly[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2008, 112(8): 2326-2334.
- [7] Li Q., Jia Y., Dai L., et al. Controlled Rod Nanostructured Assembly of Diphenylalanine and Their Optical Waveguide Properties[J]. *ACS Nano*, 2015, 9(3): 2689-2695.
- [8] Zhao Y., Yang W., Wang D., et al. Controlling the Diameters of Nanotubes Self-Assembled from Designed Peptide Bolaphiles[J]. *Small*, 2018, 14(12): e1703216.
- [9] Liao H. S., Lin J., Liu Y., et al. Self-Assembly Mechanisms of Nanofibers from Peptide Amphiphiles in Solution and On Substrate Surfaces[J]. *Nanoscale*, 2016, 8(31): 14814-14820.
- [10] Ma M., Kuang Y., Gao Y., et al. Aromatic-Aromatic Interactions Induce the Self-Assembly of Pentapeptidic Derivatives in Water To Form Nanofibers and

- Supramolecular Hydrogels[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 132(8): 2719-2728.
- [11] Zhu P., Yan X., Su Y., et al. Solvent-Induced Structural Transition of Self-Assembled Dipeptide: from Organogels to Microcrystals[J]. *Chemistry*, 2010, 16(10): 3176-3183.
- [12] Aggeli A., Nyrkova I. A., Bell M., et al. Hierarchical Self-Assembly of Chiral Rod-Like Molecules as a Model for Peptide beta-Sheet Tapes, Ribbons, Fibrils, and Fibers[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, 98(21): 11857-11862.
- [13] Adamcik J., Mezzenga R. Adjustable Twisting Periodic Pitch of Amyloid Fibrils[J]. *Soft Matter*, 2011, 7(11): 5437-5443.
- [14] Hu Y., Lin R., Zhang P., et al. Electrostatic-Driven Lamination and Untwisting of beta-Sheet Assemblies[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(1): 880-888.
- [15] Xie Y., Wang Y., Qi W., et al. Reconfigurable Chiral Self-Assembly of Peptides through Control of Terminal Charges[J]. *Small*, 2017, 13(30): e1700999.
- [16] Zhang P., Wang F., Wang Y., et al. Self-Assembling Behavior of pH-Responsive Peptide A6K without End-Capping[J]. *Molecules*, 2020, 25(9).
- [17] Li Q., Yang X., Zhang L., et al. Thermally Induced Structural Transition of Peptide Nanofibers into Nanoparticles with Enhanced Fluorescence Properties[J]. *Chempluschem*, 2020, 85(7): 1523-1528.
- [18] Huang R., Wang Y., Qi W., et al. Temperature-Induced Reversible Self-Assembly of Diphenylalanine Peptide and the Structural Transition From Organogel To Crystalline Nanowires[J]. *Nanoscale research letters*, 2014, 9(1): 653-661.
- [19] Dcona M. M., Mitra K., Hartman M. C. T. Photocontrolled Activation of Small Molecule Cancer Therapeutics[J]. *RSC Medicinal Chemistry*, 2020, 11(9): 982-1002.
- [20] Chen S., Costil R., Leung F. K., et al. Self-Assembly of Photoresponsive Molecular Amphiphiles in Aqueous Media[J]. *Angewandte Chemie. International Edition*, 2021, 60(21): 11604-11627.
- [21] Bandara H. M. D., Burdette S. C. Photoisomerization in Different Classes of Azobenzene[J]. *Chemical Society Reviews*, 2012, 41(5): 1809-1825.
- [22] Zhang L., Pan J., Liu Y., et al. NIR-UV Responsive Actuator with Graphene Oxide/Microchannel-Induced Liquid Crystal Bilayer Structure for Biomimetic Devices[J].

- ACS Applied Materials & Interfaces, 2020, 12(5): 6727-6735.
- [23] Ye Q., Huo M., Zeng M., et al. Photoinduced Reversible Worm-to-Vesicle Transformation of Azo-Containing Block Copolymer Assemblies Prepared by Polymerization-Induced Self-Assembly[J]. *Macromolecules*, 2018, 51(9): 3308-3314.
- [24] Johny M., Vijayalakshmi K., Das A., et al. Modulating the Phe-Phe Dipeptide Aggregation Landscape via Covalent Attachment of An Azobenzene Photoswitch[J]. *Chemical Communications*, 2017, 53(67): 9348-9351.
- [25] Chen C. S., Xu X. D., Li S. Y., et al. Photo-Switched Self-Assembly of a Gemini Alpha-Helical Peptide into Supramolecular Architectures[J]. *Nanoscale*, 2013, 5(14): 6270-6274.
- [26] Han S., Cao S., Wang Y., et al. Self-Assembly of Short Peptide Amphiphiles: The Cooperative Effect of Hydrophobic Interaction and Hydrogen Bonding[J]. *Chemistry*, 2011, 17(46): 13095-13102.
- [27] Xiong Q., Liu Z., Han W. Sequence-Dependent Nanofiber Structures of Phenylalanine and Isoleucine Tripeptides[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(22): 8431-8444.
- [28] Clerici F., Erba E., Gelmi M. L., et al. Non-Standard Amino Acids and Peptides: From Self-Assembly To Nanomaterials[J]. *Tetrahedron Letters*, 2016, 57(50): 5540-5550.
- [29] Smith A. M., Williams R. J., Tang C., et al. Fmoc-Diphenylalanine Self Assembles to a Hydrogel via a Novel Architecture Based on pi-pi Interlocked beta-Sheets[J]. *Advanced Materials*, 2008, 20(1): 37-41.
- [30] Yadav V. N., Comotti A., Sozzani P., et al. Microporous Molecular Materials from Dipeptides Containing Non-proteinogenic Residues[J]. *Angewandte Chemie. International Edition*, 2015, 54(52): 15684-15688.
- [31] Cheng H. B., Zhang S., Qi J., et al. Advances in Application of Azobenzene as a Trigger in Biomedicine: Molecular Design and Spontaneous Assembly[J]. *Advanced Materials*, 2021, 33(26): e2007290.
- [32] Fatás P., Bachl J., Oehm S., et al. Multistimuli-Responsive Supramolecular Organogels Formed by Low-Molecular-Weight Peptides Bearing Side-Chain Azobenzene Moieties[J]. *Chemistry-A European Journal*, 2013, 19(27): 8861-8874.

- [33] Yeoh Y. Q., Horsley J. R., Yu J., et al. Short Photoswitchable Antibacterial Peptides[J]. *ChemMedChem*, 2020, 15(16): 1505-1508.
- [34] Zhao Y., Yang W., Chen C., et al. Rational Design and Self-Assembly of Short Amphiphilic Peptides and Applications[J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2018, 35: 112-123.
- [35] Wang H., Feng Z., Xu B. Assemblies of Peptides in a Complex Environment and their Applications[J]. *Angewandte Chemie. International Edition*, 2019, 58(31): 10423-10432.
- [36] Fan T., Yu X., Shen B., et al. Peptide Self-Assembled Nanostructures for Drug Delivery Applications[J]. *Journal of Nanomaterials*, 2017, 2017: 4562474.
- [37] Sis M. J., Webber M. J. Drug Delivery with Designed Peptide Assemblies[J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2019, 40(10): 747-762.
- [38] Boekhoven J., Zha R. H., Tantakitti F., et al. Alginate-peptide Amphiphile Core-Shell Microparticles as a Targeted Drug Delivery System[J]. *RSC Advances*, 2015, 5(12): 8753-8756.
- [39] Shah A., Malik M. S., Khan G. S., et al. Stimuli-Responsive Peptide-based Biomaterials as Drug Delivery Systems[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 353: 559-583.
- [40] Kar S., Pramanik A. pH Responsive Soft Vesicles through Self-assembly of Peptide beta-Turns[J]. *Chemistry Letters*, 2011, 40(6): 564-566.
- [41] Goel R., Garg C., Gautam H. K., et al. Fabrication of Cationic Nanostructures From Short Self-Assembling Amphiphilic Mixed alpha/beta-Pentapeptide: Potential Candidates for Drug Delivery, Gene Delivery, and Antimicrobial Applications[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 111: 880-893.
- [42] Zhu W., Fang S., Zhang Y., et al. Functional Vesicles Formed by Anticancer Drug Assembly[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2015, 25(2): 188-191.
- [43] Han K., Zhang J., Zhang W., et al. Tumor-Triggered Geometrical Shape Switch of Chimeric Peptide for Enhanced in Vivo Tumor Internalization and Photodynamic Therapy[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(3): 3178-3188.
- [44] Yang H., Chen D., Xiao R., et al. Facile Fabrication of pH-Sensitive Peptide-inorganic Hollow Spheres Using a Template-Free Method[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2017, 5(24): 4569-4573.

- [45] Roth-Konforti M. E., Comune M., Halperin-Sternfeld M., et al. UV Light-Responsive Peptide-Based Supramolecular Hydrogel for Controlled Drug Delivery[J]. *Macromol Rapid Commun*, 2018, 39(24): e1800588.
- [46] Jervis P. J., Hilliou L., Pereira R. B., et al. Evaluation of a Model Photo-Caged Dehydropeptide as a Stimuli-Responsive Supramolecular Hydrogel[J]. *Nanomaterials*, 2021, 11(3): 704-724.
- [47] Doran T. M., Ryan D. M., Nilsson B. L. Reversible Photocontrol of Self-Assembled Peptide Hydrogel Viscoelasticity[J]. *Polymer Chemistry*, 2014, 5(1): 241-248.
- [48] Liu G. F., Ji W., Wang W. L., et al. Multiresponsive Hydrogel Coassembled from Phenylalanine and Azobenzene Derivatives as 3D Scaffolds for Photoguiding Cell Adhesion and Release[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2015, 7(1): 301-307.
- [49] Ding X., Zhao H., Li Y., et al. Synthetic Peptide Hydrogels as 3D Scaffolds for Tissue Engineering[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2020, 160: 78-104.
- [50] Ji W., Tang Y., Makam P., et al. Expanding the Structural Diversity and Functional Scope of Diphenylalanine-Based Peptide Architectures by Hierarchical Coassembly[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2021, 143(42): 17633-17645.
- [51] Ikeda M., Tanida T., Yoshii T., et al. Installing Logic-Gate Responses to a Variety of Biological Substances in Supramolecular Hydrogel-Enzyme Hybrids[J]. *Nature Chemistry*, 2014, 6(6): 511-518.
- [52] He M., Li J., Tan S., et al. Photodegradable Supramolecular Hydrogels with Fluorescence Turn-On Reporter for Photomodulation of Cellular Microenvironments[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(50): 18718-18721.
- [53] Sun Y., Li X., Zhao M., et al. Bioinspired Supramolecular Nanofiber Hydrogel through Self-assembly of Biphenyl-Tripeptide for Tissue Engineering[J]. *Bioactive Materials*, 2022, 8: 396-408.
- [54] Ghosh M., Halperin-Sternfeld M., Grinberg I., et al. Injectable Alginate-Peptide Composite Hydrogel as a Scaffold for Bone Tissue Regeneration[J]. *Nanomaterials*, 2019, 9(4): 497-511.
- [55] Hung B. P., Gonzalez-Fernandez T., Lin J. B., et al. Multi-Peptide Presentation and Hydrogel Mechanics Jointly Enhance Therapeutic Duo-Potential of Entrapped Stromal

- Cells[J]. *Biomaterials*, 2020, 245: 119973.
- [56] Zhang F., Hu C., Kong Q., et al. Peptide-/Drug-Directed Self-Assembly of Hybrid Polyurethane Hydrogels for Wound Healing[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(40): 37147-37155.
- [57] Nam J., Lim H. K., Kim N. H., et al. Supramolecular Peptide Hydrogel-Based Soft Neural Interface Augments Brain Signals through a Three-Dimensional Electrical Network[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(1): 664-675.
- [58] Li L. M., Han M., Jiang X. C., et al. Peptide-Tethered Hydrogel Scaffold Promotes Recovery from Spinal Cord Transection via Synergism with Mesenchymal Stem Cells[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(4): 3330-3342.
- [59] Chakraborty P., Oved H., Bychenko D., et al. Nanoengineered Peptide-Based Antimicrobial Conductive Supramolecular Biomaterial for Cardiac Tissue Engineering[J]. *Advanced Materials*, 2021, 33(26): e2008715.
- [60] Smith D. J., Brat G. A., Medina S. H., et al. A Multiphase Transitioning Peptide Hydrogel for Suturing Ultrasmall Vessels[J]. *Nature Nanotechnology*, 2016, 11(1): 95-102.
- [61] Tao K., Makam P., Aizen R., et al. Self-Assembling Peptide Semiconductors[J]. *Science*, 2017, 358(6365): eaam9756.
- [62] Moklyak V., Hrubiak A., Gogitidze Z., et al. Biopolimer Peptide Batteries-A New Concept for Environmentally Friendly and Safer Energy Storage[J]. *Batteries*, 2021, 7(3): 50-61.
- [63] Xue B., Qin M., Wang T., et al. Electrically Controllable Actuators Based on Supramolecular Peptide Hydrogels[J]. *Advanced Functional Materials*, 2016, 26(48): 9053-9062.
- [64] Fan Z., Sun L., Huang Y., et al. Bioinspired Fluorescent Dipeptide Nanoparticles for Targeted Cancer Cell Imaging and Real-Time Monitoring of Drug Release[J]. *Nature Nanotechnology*, 2016, 11(4): 388-394.
- [65] Chakraborty P., Guterman T., Adadi N., et al. A Self-Healing, All-Organic, Conducting, Composite Peptide Hydrogel as Pressure Sensor and Electrogenic Cell Soft Substrate[J]. *ACS Nano*, 2019, 13(1): 163-175.
- [66] Yoshii T., Onogi S., Shigemitsu H., et al. Chemically Reactive Supramolecular Hydrogel

- Coupled with a Signal Amplification System for Enhanced Analyte Sensitivity[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(9): 3360-3365.
- [67] Chen X., Yeoh Y. Q., He Y., et al. Unravelling Structural Dynamics within a Photoswitchable Single Peptide: A Step Towards Multimodal Bioinspired Nanodevices[J]. *Angewandte Chemie. International Edition*, 2020, 59(50): 22554-22562.
- [68] Li L., Chen J., Wang Z., et al. A Supramolecular Gel Made from an Azobenzene-Based Phenylalanine Derivative: Synthesis, Self-Assembly, and Dye Adsorption[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2021, 628: 127289.
- [69] Das B. K., Pramanik B., Chowdhuri S., et al. Light-Triggered Syneresis of a Water Insoluble Peptide-Hydrogel Effectively Removes Small Molecule Waste Contaminants[J]. *Chemical Communications*, 2020, 56(23): 3393-3396.
- [70] Hospital A., Goñi J. R., Orozco M., et al. Molecular Dynamics Simulations: Advances and Applications[J]. *Advances and applications in bioinformatics and chemistry*, 2015, 8: 37-47.
- [71] Karplus M., Mccammon J. A. Molecular Dynamics Simulations of Biomolecules[J]. *Nature Structural Biology*, 2002, 9(9): 646-652.
- [72] Singh N., Li W. Recent Advances in Coarse-Grained Models for Biomolecules and Their Applications[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15): 3774-3794.
- [73] Frederix P. W. J. M., Ulijn R. V., Hunt N. T., et al. Virtual Screening for Dipeptide Aggregation: Toward Predictive Tools for Peptide Self-Assembly[J]. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2011, 2(19): 2380-2384.
- [74] Frederix P. W. J. M., Scott G. G., Abul-Haija Y. M., et al. Exploring the Sequence Space for (tri-)Peptide Self-Assembly to Design and Discover New Hydrogels[J]. *Nature Chemistry*, 2015, 7(1): 30-37.
- [75] Tang Y., Bera S., Yao Y., et al. Prediction and Characterization of Liquid-Liquid Phase Separation of Minimalistic Peptides[J]. *Cell Reports Physical Science*, 2021, 2(9): 100579.
- [76] Mushnoori S., Schmidt K., Nanda V., et al. Designing Phenylalanine-Based Hybrid Biological Materials: Controlling Morphology via Molecular Composition[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2018, 16(14): 2499-2507.

- [77] Guo C., Arnon Z. A., Qi R., et al. Expanding the Nanoarchitectural Diversity Through Aromatic Di- and Tri-Peptide Coassembly: Nanostructures and Molecular Mechanisms[J]. ACS Nano, 2016, 10(9): 8316-8324.
- [78] Tang Y., Yao Y., Wei G. Expanding the Structural Diversity of Peptide Assemblies by Coassembling Dipeptides with Diphenylalanine[J]. Nanoscale, 2020, 12(5): 3038-3049.
- [79] Chakraborty P., Tang Y., Guterman T., et al. Co-Assembly between Fmoc Diphenylalanine and Diphenylalanine within a 3D Fibrous Viscous Network Confers Atypical Curvature and Branching[J]. Angewandte Chemie. International Edition, 2020, 59(52): 23731-23739.
- [80] Liwo A., Czaplewski C., Sieradzan A. K., et al. Theory and Practice of Coarse-Grained Molecular Dynamics of Biologically Important Systems[J]. Biomolecules, 2021, 11(9): 1347-1377.
- [81] Marrink S. J., Risselada H. J., Yefimov S., et al. The MARTINI Force Field: Coarse Grained Model for Biomolecular Simulations[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2007, 111(27): 7812-7824.
- [82] Monticelli L., Kandasamy S. K., Periole X., et al. The MARTINI Coarse-Grained Force Field: Extension to Proteins[J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2008, 4(5): 819-834.
- [83] De Jong D. H., Singh G., Bennett W. F. D., et al. Improved Parameters for the Martini Coarse-Grained Protein Force Field[J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2013, 9(1): 687-697.
- [84] Zhao M., Sampath J., Alamdari S., et al. MARTINI-Compatible Coarse-Grained Model for the Mesoscale Simulation of Peptoids[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2020, 124(36): 7745-7764.
- [85] Li Z., Wang P., Liu B., et al. Unusual, Photo-Induced Self-Assembly of Azobenzene-Containing Amphiphiles[J]. Soft Matter, 2014, 10(43): 8758-8764.
- [86] Zheng X., Wang D., Shuai Z. Coarse-Grained Molecular Dynamics Simulations of Photoswitchable Assembly and Disassembly[J]. Nanoscale, 2013, 5(9): 3681-3689.
- [87] Abraham M. J., Murtola T., Schulz R., et al. GROMACS: High Performance Molecular Simulations through Multi-Level Parallelism from Laptops to Supercomputers[J].

- SoftwareX, 2015, 1-2: 19-25.
- [88] Humphrey W., Dalke A., Schulten K. VMD: Visual Molecular Dynamics[J]. *Journal of Molecular Graphics*, 1996, 14(1): 33-38.
- [89] Yao Y., Yu Y., Wan X., et al. Azobenzene-Based Cross-Linked Small-Molecule Vesicles for Precise Oxidative Damage Treatments Featuring Controlled and Prompt Molecular Release[J]. *Chemistry of Materials*, 2021, 33(18): 7357-7366.
- [90] Chakraborty P., Tang Y., Yamamoto T., et al. Unusual Two-Step Assembly of a Minimalistic Dipeptide-Based Functional Hydrogelator[J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(9): e1906043.
- [91] Basavalingappa V., Guterman T., Tang Y., et al. Expanding the Functional Scope of the Fmoc-Diphenylalanine Hydrogelator by Introducing a Rigidifying and Chemically Active Urea Backbone Modification[J]. *Advanced Science (Weinh)*, 2019, 6(12): 1900218.
- [92] Martinez L., Andrade R., Birgin E. G., et al. PACKMOL: a Package for Building Initial Configurations for Molecular Dynamics Simulations[J]. *JOURNAL OF COMPUTATIONAL CHEMISTRY*, 2009, 30(13): 2157-2164.
- [93] Guo C., Luo Y., Zhou R., et al. Probing the Self-Assembly Mechanism of Diphenylalanine-Based Peptide Nanovesicles and Nanotubes[J]. *ACS Nano*, 2012, 6(5): 3907-3918.
- [94] Adler-Abramovich L., Marco P., Arnon Z. A., et al. Controlling the Physical Dimensions of Peptide Nanotubes by Supramolecular Polymer Coassembly[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(8): 7436-7442.
- [95] Huang C., Quinn D., Sadovsky Y., et al. Formation and Size Distribution of Self-Assembled Vesicles[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2017, 114(11): 2910-2915.
- [96] Santos D. E. S., Pontes F. J. S., Lins R. D., et al. SuAVE: A Tool for Analyzing Curvature-Dependent Properties in Chemical Interfaces[J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2020, 60(2): 473-484.
- [97] Stukowski A. Visualization and Analysis of Atomistic Simulation Data With OVITO - the Open Visualization Tool[J]. *Modelling and Simulation in Materials Science and Engineering*, 2009, 18: 015012.

- [98] Guo X., Ji X., Li X., et al. Gas-Responsive Self-Assemblies for Mimicking the Alveoli[J]. *Macromolecular rapid communications*, 2021, 42(18): e2100019.
- [99] Wu Z., Ji C., Zhao X., et al. Green-Light-Triggered Phase Transition of Azobenzene Derivatives toward Reversible Adhesives[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2019, 141(18): 7385-7390.
- [100] Zhao L., Cheng T., Sun H. On the Accuracy of Predicting Shear Viscosity of Molecular Liquids Using the Periodic Perturbation Method[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2008, 129(14): 144501.
- [101] Sun J., Ma C., Maity S., et al. Reversibly Photo-Modulating Mechanical Stiffness and Toughness of Bioengineered Protein Fibers[J]. *Angewandte Chemie. International Edition*, 2021, 60(6): 3222-3228.
- [102] Bhutani U., Laha A., Mitra K., et al. Sodium Alginate and Gelatin Hydrogels: Viscosity Effect on Hydrophobic Drug Release[J]. *Materials Letters*, 2016, 164: 76-79.

## 致 谢

时间如白驹过隙，三年的硕士生活已接近尾声，回想在石油大学的点点滴滴，充满了酸甜苦辣，更多的是收获与成长。在论文撰写期间，对各位老师、师兄师弟及同学所给予的帮助和支持致以诚挚的谢意。

首先，感谢我的导师张军教授。张老师在我困惑迷茫之时给了我来到课题组学习成长的机会。三年里，张老师经常主动与学生交流，了解学生的科研进度，并给予严谨、中肯的建议，经常会与学生交流科研心得、发掘科研新思路。张老师丰富的人生阅历、严谨的治学态度使我受益颇多。在校期间，张老师始终以鼓励代替苛责，用他的宽容及信赖使我不惧困难，在实践中逐渐成长。今后也当谨记教诲，精进不休。

感谢李振副教授在日常学习、论文选题、框架梳理、科研方法等方面给予的指导及帮助，在遇到问题时耐心解答，并分享个人科研及学习经验，帮助我养成良好的学习习惯，受益匪浅。感谢燕友果教授、王晓副教授在日常学习中给予关于科研方法的建议。感谢各位师兄在我起步阶段的引路和指导，和就论文内容及具体细节的大力协助及技术支持。感谢课题组所有师兄师弟师妹的陪伴及鼓励。

感谢我的家人及朋友，在三年的学习生活中一直给予我默默地关怀，在我思虑过多、前途迷茫时给予我最大的精神支持，成为我最坚强的后盾。

最后，衷心感谢各位专家、老师在百忙之中对本文的审阅，并恳请提出宝贵意见及批评。