

多功能两亲梳状聚合物的合成及包覆荧光量子点^{*}

吴战宇¹ 撒宗朋¹ 邱芳萍² 赵义丽¹ 李亚鹏¹ 王书唯¹ 王静媛^{1**}

(¹ 吉林大学化学学院 麦克德尔米得实验室 长春 130023)

(² 长春工业大学化学与生命科学学院 长春 130012)

摘 要 利用溶液聚合和成酰胺反应合成了多功能梳状两亲性共聚物,聚(甲基丙烯酸-co-甲基丙烯酸十八酯)-(乙醇胺-乙二醇胺)(PSM-EE-FA).用红外光谱(FIR),核磁共振(¹H-NMR)及凝胶渗透色谱(GPC)表征了该聚合物的结构及分子量分布.实验结果证明合成了该聚合物,其数均分子量(M_n)为28600,多分散性为1.375.用该两亲梳状聚合物包覆油溶性CdSe/ZnS量子点,通过相转移作用,得到水溶性靶向量子点(PSM-EE-FA-QDs).该水溶性量子点溶液具有较好的稳定性.通过紫外-可见(UV-Vis)及荧光发射光谱分析对该量子点的光学性质进行研究.结果表明,PSM-EE-FA-QDs的紫外-可见光谱及荧光发射光谱峰形与原量子点基本一致.由于量子点表面聚合物层的形成,峰位发生少量红移.该量子点水溶液的荧光强度是原量子点氯仿溶液的98%,荧光产率是原量子点氯仿溶液的95%.动态光散射(DLS)及透射电镜(TEM)测试结果表明水溶性量子点分布均匀.合成的水溶性量子点不但光学性能稳定,而且聚合物及水溶性量子点的合成方法较为简便.

关键词 多功能,梳状,两亲,量子点,水溶

梳状聚合物是一类具有特殊链构造的高分子,在溶液和熔体状态中表现出不同于其线形同类物的独特物理性质^[1],可用作热塑性弹性体稳定剂、分离用薄膜、水凝胶、药物载体等,也可用来制备纳米材料,因此这类聚合物的分子链构造设计越来越引起人们的关注.梳状两亲聚合物包覆装载体系,是一种新型的药物载体,具有很高的内核载药容量和独特的体内分布特征.在结构上聚合物可以划分出亲水部分和疏水部分,在水溶液中能形成具有球形内核—外壳结构的共聚物胶束,其疏水部分构成内核,亲水部分形成外壳.内核可以作为疏水性物质的容器,将物疏水性量子点,疏水性药物等包裹在核心,降低毒副作用,外壳可对药物起保护作用,提高药物的稳定性,并且达到缓释作用^[2].同时聚合物表面连接癌症靶向分子,如叶酸^[3]等还可以达到靶向癌症细胞的作用^[4].

量子点(QDs)又称半导体纳米微晶体,是一种由II~VI族或III~V族元素组成的约2~20 nm的纳米晶粒^[5,6].CdSe为核ZnS为壳的量子点具有可调节和对称的发射光谱、光化学稳定性好、激发光谱宽且连续等特点,可用于多种标记物的同时检测,极大地促进了荧光标记在生物医学

中的应用.利用靶向梳状两亲共聚物包埋荧光量子点制备荧光-靶向水溶性双功能纳米粒子,在生物探针^[7],肿瘤靶向成像^[8]等医学领域应用前景巨大.

本文首先用甲基丙烯酸(MAA)和甲基丙烯酸十八酯(SMA)合成两亲性聚(甲基丙烯酸-co-甲基丙烯酸十八酯)(PSM),其次通过酰胺反应将PSM表面的大部分羧基连接上乙醇胺(EtA),合成水溶性更好的两亲聚合物聚(甲基丙烯酸-co-甲基丙烯酸十八酯)-乙醇胺(PSM-EtA),进一步通过酰胺反应将叶酸乙二醇胺(EDA-FA)连接到PSM-EtA的残余羧基上,最终得到表面连有靶向分子叶酸的多功能两亲性聚合物(PSM-EE-FA).该聚合物既作为相转移剂,利用疏水作用力包埋油溶性量子点及疏水性药物,又可以利用其表面的靶向分子使整个包覆体系具有靶向癌症细胞的功能.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

甲基丙烯酸,分析纯,天津光复精细化工研究所,使用前重蒸;甲基丙烯酸十八酯,天津市天骄化工有限公司,使用前用乙醇重结晶;过硫酸铵

^{*} 2009-05-04 收稿,2009-06-10 修稿;国家自然科学基金(基金号 20574028)和吉林省科技厅青年基金(基金号 20080119)资助项目;

^{**} 通讯联系人, E-mail: jingyuanwang_chem@yahoo.com.cn

(AP), 分析纯, 北京化学试剂公司; *N,N*-二环己基碳酰亚胺(DCC), 化学纯, 国药集团化学试剂有限公司; 吡啶, 分析纯, 北京市庆盛达化工技术有限公司; 乙醇胺, 化学纯, 国药集团化学试剂有限公司, 使用前干燥减压蒸馏; 叶酸乙二胺, 按文献方法^[9]合成; 四甲基氢氧化铵(THAM) 25% 溶液, 中国医药(集团)上海化学试剂公司. 表面配体为十八胺的油溶性 CdSe/ZnS 量子点由美国 Ocean 纳米科技公司 Y. Andrew Wang 提供, 其量子产率为 42%. 其它试剂及常用溶剂均为分析纯以上.

FTIR 分析采用 Impact 410 傅立叶变换红外光谱仪(KBr 压片)(美国 Nicole 公司); ¹H-NMR 测试采用氘代 DMSO 作溶剂, 用 ARX-500 核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司)进行测试. GPC 分析用 Waters-515HPLC 泵, 配以 Waters2410RI 检测器(美国 Waters 公司)进行测试, 采用四氢呋喃(TFH)为流动相, 流速 1.0 mL/min, 测试温度 30℃. 量子点的紫外-可见(UV-Vis)光谱用 Cary 5000 紫外-可见-近红外分光光度计(美国 Varian 公司)测试; 荧光发射光谱由 Spex Fluorolog 3 荧光分光光度计测试(法国 Jobin Yvon 公司); 透射电镜(TEM)图片由 H-8100 透射电子显微镜(日本 Hitachi 公司)获得; 量子点溶液的动态光散射(DLS)实验由 zeta 电位分析仪(美国 Brookhaven 仪器公司)测试, 测试温度 25℃, pH 7.0.

1.2 多功能两亲聚合物 PSM-EE-FA 的合成

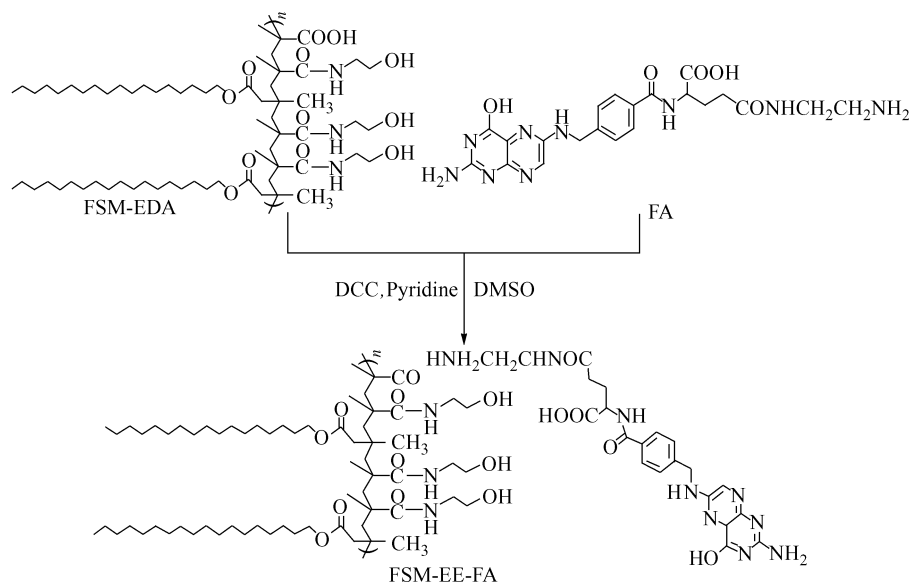
1.2.1 PSM 的合成 在 250 mL 三口瓶内将

6.5 mL MAA(0.350 mol) 和 11.830 g SMA(0.175 mol) 溶于 90 mL 异丙醇, 氮气保护下在 70℃ 油浴中一边加热一边搅拌, 以 2 滴/s 的速度滴加 10.0 mL 1.8% 过硫酸铵水溶液, 搅拌反应 3 h. 反应结束后, 反应产物用 0℃ 无水乙醚进行沉淀并将粗产品洗 3 次, 沉淀真空干燥 3 天, 得到两亲性的聚(甲基丙烯酸-co-甲基丙烯酸十八酯)(PSM). 产物为白色粉末, 产率 95%.

1.2.2 PSM-EtA 的合成 利用酰胺反应, 将 PSM 表面的大部分羧基与亲水性 EtA 相连接, 增加两亲聚合物的亲水性. 将 0.412 g PSM 加入 100 mL 圆底烧瓶里, 加入 4.0 mL 纯化 DMSO 超声溶解, 再加入纯化的乙醇胺 75 μL 及适量的 DCC 和吡啶, 30℃ 磁力搅拌反应 16 h. 反应结束后, 反应物用 0℃ 乙醚沉淀并洗 3 次, 沉淀真空干燥 2 天, 得到聚(甲基丙烯酸-co-甲基丙烯酸十八酯)-乙醇胺 PSM-EtA 白色粉末, 产率 70%.

1.2.3 双功能两亲聚合物 PSM-EE-FA 的合成

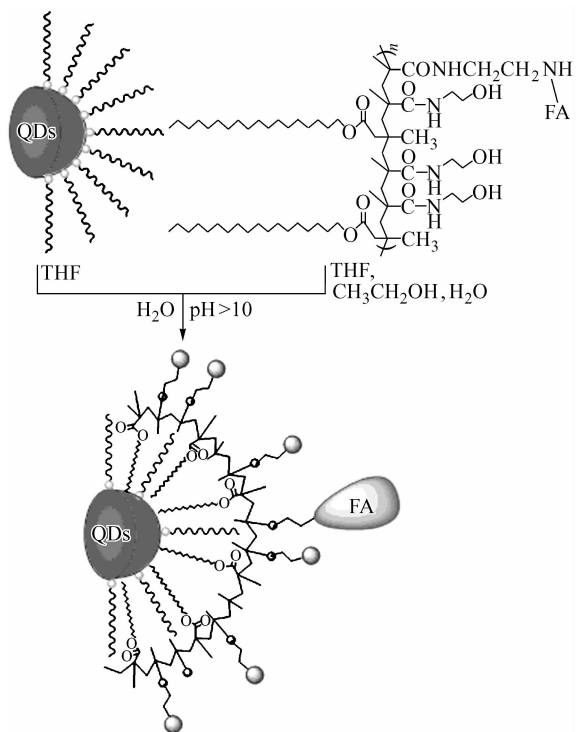
利用酰胺反应, 将 EDA-FA 链接到 PSM-EtA, 合成连有靶向分子叶酸的两亲梳状聚合物 PSM-EE-FA, 其合成过程如示意图 1 所示. 将 0.430 g PSM-EtA 和 0.012 g EDA-FA 及适量的 DCC 和吡啶, 加入 100 mL 圆底烧瓶里, 加入 4.0 mL 纯化 DMSO 超声溶解, 反应过程及产物处理过程同 1.2.2 节. 最终得到聚(甲基丙烯酸-co-甲基丙烯酸十八酯)-(乙醇胺-乙二胺叶酸) PSM-EE-FA 黄色粉末, 产率 55%.



Scheme 1 Synthesis scheme of the amphiphilic copolymer, PSM-EE-FA

1.3 水溶性量子点 PSM-EE-FA-QDs 的制备

水溶性量子点 PSM-EE-FA-QDs 的合成过程如示意图 2 所示. 在 100 mL 圆底烧瓶中, 将 0.020 g PSM-EE-FA 溶解在 2.0 mL THF-水混合溶剂中 (体积比 1:1), 滴加 1.0 mL CdSe/ZnS 量子点 THF 溶液 (UV-Vis 580 nm 附近第一吸收峰, OD = 1.0), 再加入 1.0 mL THF, 调节混合液 pH 10, 磁力搅拌 2 h, 这个过程使两亲聚合物上的疏水长碳链通过疏水作用力穿插到量子点表面的十八胺配体中. 然后向体系中加入 2.0 mL 水, 增加混合溶剂中水的比例. 再经过旋转蒸发除去 THF, 使体系完成相转移作用, 从而使聚合物的亲水部分, 如乙醇胺及叶酸部分等暴露在体系中, 而疏水部分则包裹了量子点隐藏在内. 最后用水透析 2 天, 经 0.45 μm 滤膜过滤透析液得到橙红色澄清 PSM-EE-FA-QDs 水溶液.



Scheme 2 Schematic representation of the preparation of PSM-EE-FA-QDs

1.4 水溶性量子点 PSM-EE-FA-QDs 的表征

对合成的水溶性量子点 PSM-EE-FA-QDs 进行紫外-可见光谱分析, 荧光发射光谱分析, 并根据文献[10]计算其荧光量子产率(QY). 其次, 对 PSM-EE-FA-QDs 水溶液及 CdSe/ZnS 量子点氯仿溶液进行 DLS 测试(25 $^{\circ}\text{C}$), 并对 PSM-EE-FA-QDs 进行 TEM 分析, 从而确定该量子点的尺寸分布情

况.

2 结果与讨论

2.1 PSM-EE-FA 的表征

2.1.1 PSM-EE-FA 的红外表征 图 1 为 PSM (a), PSM-EtA (b), EDA-FA (c) 和 PSM-EE-FA (d) 的红外光谱图. 图中, (a), (b) 和 (d) 均在 1710 cm^{-1} 附近出现了羰基的特征吸收峰, 2900 cm^{-1} 附近则出现烷基的特征吸收峰. 而 (b), (c) 和 (d) 在 3200 cm^{-1} 附近均出现了酰胺基的特征吸收峰. 但是 (b) 相对 (a) 而言, 在 3400 及 3200 cm^{-1} 附近分别出现了 O—H 及 N—H 的伸缩振动, 同时在 1300 cm^{-1} 出现了 C—N 的伸缩振动峰, 表明已经合成 PSM-EtA; 同样 (d) 相对 (a) 和 (b) 而言, 在 1500 及 700 cm^{-1} 附近出现了叶酸上苯环的特征峰, 表明已经合成 PSM-EE-FA. 红外光谱图的分析表明, 聚合物 (d) 同时具备 PSM-EtA 和 EDA-FA 的特征峰, 因此肯定了 PSM-EtA 和 EDA-FA 反应得到两亲性共聚物 PSM-EE-FA.

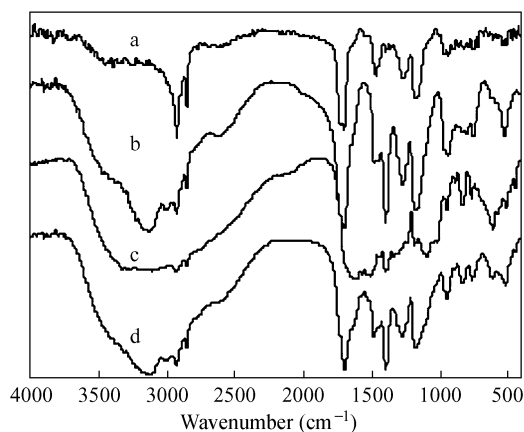


Fig. 1 FTIR spectra of PSM (a), PSM-EtA (b), EDA-FA (c) and PSM-EE-FA (d)

2.1.2 PSM-EE-FA 的 ^1H -NMR 表征 图 2 为共聚物的 ^1H -NMR 图谱, 其中, $\delta = 0.88$ (a) 的三重峰和 $\delta = 1.26 \sim 1.31$ (b) 的多重峰分别为 SMA 上疏水连端甲基峰 ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$) 和亚甲基峰 ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$ 和 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$); $\delta = 1.64$ 的三重峰为 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}-$ (c), $\delta = 4.13$ 附近为 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}-$ (d); $\delta = 8.03$ 为 EtA 部分上 $-\text{CONHCH}_2-$ (e), 3.61 附近为 $-\text{CONHCH}_2-$ (f), 3.00 附近为 $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (g); $\delta = 2.05 \sim 2.15$ 附近的多重峰为 EDA-FA 部分上的 $-\text{COCH}_2\text{CH}_2-$ (h), 8.45 附近为 $-\text{HN}-$

CO—(i), 7.70 附近为叶酸苯环的特征峰(j), 5.6 附近为 $\text{PhCH}_2\text{NH—}$ (k), 6.90(1) 附近为氨嘌呤的端氨基峰($-\text{CNH}_2$)。 $^1\text{H-NMR}$ 谱图分析结果进一步证明, 两亲性梳状聚合物 PSM-EE-FA 已被合成了。

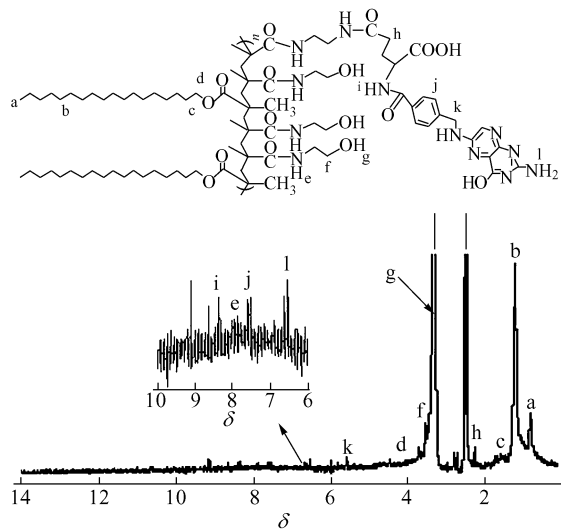


Fig. 2 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of PSM-EE-FA

2.1.3 PSM-EE-FA 的 GPC 表征 图 3 是 PSM-EE-FA 的 GPC 谱图。该聚合物的数均分子量 (M_n) 是 28600, 多分散指数 (M_w/M_n) 是 1.375。可以看出, 聚合物分子量较小, 分子量分布较窄, 这使最终形成的水溶性量子点可以更容易地穿过生物膜组织, 使其更广泛地应用于生物医学领域。

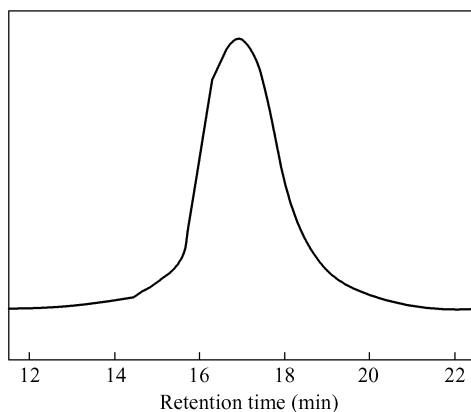


Fig. 3 GPC curve of PSM-EE-FA

2.2 水溶性量子点 PSM-EE-FA-QDs 的性质

2.2.1 PSM-EE-FA-QDs 的光学特性及量子产率

图 4 和图 5 分别为油性 CdSe/ZnS QDs 氯仿溶液和 PSM-EE-FA-QDs 的紫外光谱和荧光发射光谱图。从图 4 可以看出, 原量子点分别在 580 及 560 nm 处有吸收峰。PSM-EE-FA-QDs 的吸收

峰与其相比, 峰形基本没有发生变化, 说明量子点在包埋过程中没有收到破坏。而两个峰的峰位各有约 2 nm 左右的红移, 这是纳米粒子表面包裹了聚合物的证据。

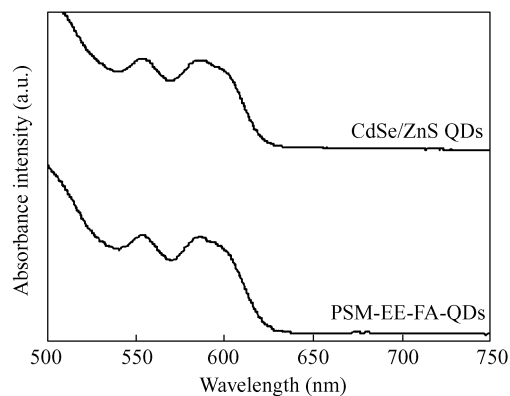


Fig. 4 UV-Vis spectra of the CdSe/CdS QDs in chloroform and the PSM-EE-FA-QDs in water

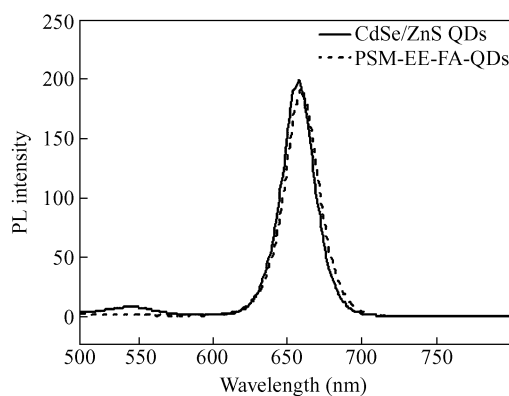


Fig. 5 PL spectra of the CdSe/CdS QDs in chloroform and the corresponding PSM-EE-FA-QDs in water

另外通过图 5 可以看出, 水溶性量子点 PSM-EE-FA-QDs 的荧光发射强度与原量子点基本一致, 可以达到 98%。但是与原量子点相比, 包覆后形成的水溶性量子点 605 nm 处的峰红移了约 3 nm, 而且其相对于原量子点在 500 nm 处的峰消失了。首先, 红移现象是量子点表面形成的聚合物层造成的, 是聚合物包埋在量子点表面的有力证据。其次, 500 nm 处峰的消失可以归因于聚合物层本身对内部量子点所发出荧光的吸收作用。由于这种吸收作用是微弱的, 因此使原量子点 500 nm 处较弱的荧光发射峰消失了, 但是这种吸收作用对 605 nm 处的峰影响较小。这个现象进一步说明通过相转移作用, 聚合物层包裹在疏水性量子点表面, 最终形成了水溶性 PSM-EE-FA-QDs。

另外通过文献[10]中测定荧光产率的方法,

可以得到 PSM-EE-FA-QDs 的荧光产率约为 40%, 与原量子点的荧光产率 (42%) 相比较, PSM-EE-FA-QDs 的荧光产率约为原 CdSe/ZnS QDs 荧光产率的 95%. 通过对荧光谱图及量子产率结果的分析可知, 水溶性 PSM-EE-FA-QDs 量子点很好地保持了原量子点的强荧光特性.

2.2.2 PSM-EE-FA-QDs 的尺寸测定 图 6 是 PSM-EE-FA-QDs (a) 水溶液和 CdSe/CdS QDs (b) 氯仿溶液的动态光散射测试结果, 其水力直径 (mean diameter) 为别为 16.7 和 8.5 nm, 可以估算溶液中聚合物层的厚度约为 $(16.7 - 8.5)/2 = 4.1$ nm. 但由于测量水力直径时, 两种量子点溶液的溶剂是不同的, 所以估算的结果会存在误差, 因此还对 PSM-EE-FA-QDs 进行了透射电镜测试.

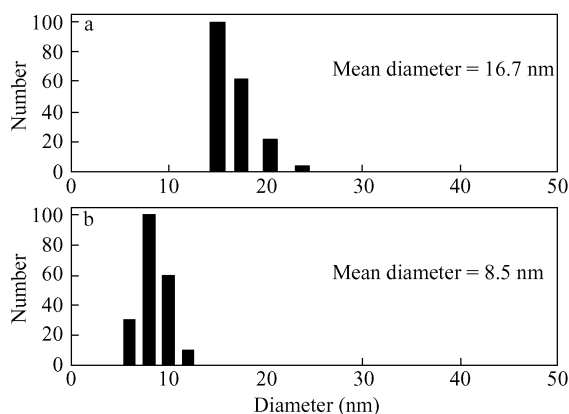


Fig. 6 Hydrodynamic diameter of PSM-EE-FA-QDs (a) and CdSe/CdS QDs (b)

图 7 是 PSM-EE-FA-QDs 的透射电镜图. 图中可以观察到两种不同的粒子形态, 这分别是包埋了量子点的实心球和未包埋量子点的空心球. 颜色较深的规则球形粒子为两亲聚合物包埋量子点

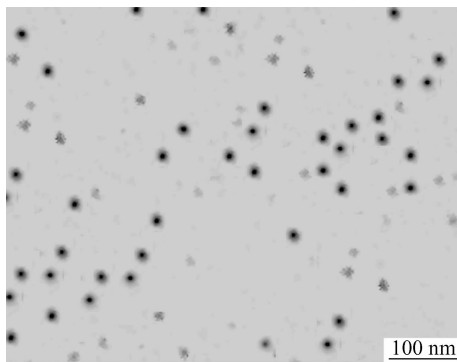


Fig. 7 TEM image of PSM-EE-FA-QDs

后形成的形貌, 可以看出这些粒子具有明显的双层结构, 内层为量子点, 外层为聚合物层. 而颜色较浅的不规则球形粒子是没有包埋量子点的聚合物粒子形貌, 由于其内部没有包埋量子点, 因此颜色较浅且整体形状为不规则球形. 从图 7 可以看到实心球和空心球的尺寸分布都是很均匀的. 与标尺相比较, 在干燥状态下的粒径约分别为 12 nm 及 10 nm. 这样的纳米尺寸保证了纳米粒子可以自由地出入细胞膜组织, 被细胞吞噬及代谢, 为其在生物医学领域的应用提供了保障.

3 结论

以甲基丙烯酸和甲基丙烯酸十八酯为单体, 以乙醇胺及叶酸乙二胺为表面修饰分子, 合成了连有肿瘤靶向分子 (叶酸) 的梳状两亲聚合物. 通过两亲共聚物疏水链与油溶量子点表面疏水配体的疏水作用, 合成了稳定性好的水溶性量子点, 该量子点很好地保持了原量子点的光学特性, 粒子分散较好. 总之, 利用多功能梳状两亲共聚物包埋荧光量子点制备水溶性双功能纳米粒子, 有望在肿瘤靶向成像及生物探针等医学领域得到广泛应用.

REFERENCES

- 1 Wang Shuhui (王书会), Yan Hongxia (颜红侠), Ma Xiaoyan (马晓燕), Huang Yun (黄韵), Zhang Qilu (张启路). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2008, (9): 880 ~ 886
- 2 Hirano S, Hayashi K, Hirochi K. *Carbohydr Res*, 1992, 225: 175 ~ 178
- 3 Wu J, Liu Q, Lee R J. *Int J Pharm*, 2006, 316: 148 ~ 153
- 4 Ballou B, Lagerholm B C, Ernst L A, Bruchez M P, Waggoner A S. *Bioconjugate Chem*, 2004, 15: 79 ~ 86
- 5 Brus L J. *Phys Chem*, 1986, 90: 2555 ~ 2560
- 6 Alivisatos A P. *Science*, 1996, 271: 933 ~ 937
- 7 Gao X H, Cui Y Y, Levenson R M, Chung L W K, Nie S M. *Nat Biotechnol*, 2004, 22: 969 ~ 976
- 8 Alivisatos A P. *Nat Biotechnol*, 2004, 22: 47 ~ 52
- 9 Schneider R, Schmitt F, Frochot C, Fort Y, Lourette N, Guillemin F, Muller J, Barberi-Heyob M. *Bioorg Med Chem*, 2005, 13: 2799 ~ 2808
- 10 Qu L, Peng X. *J Am Chem Soc*, 2002, 124: 2049 ~ 2055

SYNTHESIS OF A MULTIFUNCTIONAL COMB-TYPE AMPHIPHILIC POLYMER AND ITS USE FOR ENCAPSULATING LUMINESCENT QUANTUM DOTS

WU Zhanyu¹, SA Zongpeng¹, QIU Fangping², ZHAO Yili¹,

LI Yapeng¹, WANG Shuwei¹, WANG Jingyuan¹

(¹ Alan G. MacDiarmid Institute, College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130023)

(² College of Chemistry and Life Science, Changchun University of Technology, Changchun 130012)

Abstract Solution polymerization and amidation reaction were used to synthesize the multifunctional comb-type amphiphilic polymer, poly(stearyl methacrylate-co-methylacrylic acid)-(ethanolamine-ethanediamine-folic acid) (PSM-EE-FA). A study on structure and configurations was conducted through Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and nuclear magnetic resonance (¹H-NMR). The molecular weight distribution was determined by gel-permeation chromatography (GPC). It was found that the polymer was synthesized successfully, and that the number-average molar mass and the polydispersity index were 28600 and 1.375 respectively. Through the phase transfer process, the amphiphilic polymer was used to encapsulate hydrophobic CdSe/ZnS core-shell quantum dots (QDs) in chloroform to get water-soluble, targeting quantum dots (PSM-EE-FA-QDs). The water-soluble QDs solution was stable. The optical properties of PSM-QDs were determined by ultraviolet-visible (UV-Vis) and fluorescence emission spectrum. As shown in the results, the UV-Vis and fluorescence emission peaks were similar to those of the original hydrophobic QDs. However, because of the formation of the polymer layer on the surface of the QDs, the red-shifts of the peaks were observed. The resulting PSM-EE-FA-QDs retained 98% of the photoluminescence value of the original CdSe/ZnS QDs in chloroform. The quantum yield (QY) of the PSM-EE-FA-QDs was 95% of the original QDs. With the dynamic light scattering (DLS) and transmission electron microscopy (TEM) results, it was indicated that the water-soluble QDs were well-dispersed within the polymer. In addition to good performance of PSM-EE-FA-QDs, the synthesis of the copolymer and the corresponding water-soluble QDs is relatively simple.

Keywords Multifunctional, Comb-type, Amphiphilic, QDs, Water-soluble