

两亲性梳形共聚物 PASP-Na-g-DDA 的合成 及接枝率对其水溶液胶束性质的影响^{*}

孙 婷 杨伯涵 李 昆 李亚鹏^{**} 王静媛

(吉林大学化学学院 麦克德尔米德实验室 长春 130023)

摘 要 天冬氨酸自身缩聚产物聚琥珀酰亚胺 (PSI) 与十二胺 (DDA) 发生氨解反应, 该氨解产物在碱性条件下水解, 制得了一种两亲性梳形共聚物 PASP-Na-g-DDA. 通过改变 DDA 与 PSI 的比例, 合成了一系列不同接枝率的两亲性梳形共聚物. 用核磁共振 (¹H-NMR) 及凝胶渗透色谱 (GPC) 对共聚物的结构进行了表征. 随着疏水链段 DDA 在共聚物中比例的增加, 分子量逐渐增加. 研究了亲疏水比例对其水溶液性质的影响. 结果表明, 只有当疏水链段含量达到 33.3% 以上时聚合物才能形成胶束, 并测试了此时聚合物的临界胶束浓度 (CMC) 值为 1.259×10^{-3} mg/mL; 用动态光散射 (DLS) 检测到, 当 DDA 比例增加时, 聚合物胶束的流体力学直径从 136 nm 减小到 97 nm; 用透射电镜 (TEM) 观察到胶束呈均匀球形.

关键词 两亲梳形共聚物, 接枝率, 胶束, 水溶液

两亲性梳形共聚物由于具有特殊的结构性质以及广泛的用途, 已成为当前高分子学科领域研究的热点之一. 与传统的直链或嵌段聚合物相比, 梳形聚合物有其独特的结构特点, 分子中所有侧链 (梳齿) 等长, 侧链之间的间隔也基本相同, 结构很规整. 相对于相同分子量的线形聚合物, 两亲性梳形共聚物在溶液中具有更为致密的结构, 更小的尺寸, 结构上的特点为亲油部分和亲水部分不相容, 易发生微相分离. 在选择性溶剂中, 分子中具有相同亲和性的部分易相互聚集而形成胶束^[1]. 因此两亲梳形共聚物自组装结构在纳米技术、生物、医药等领域有着广泛的应用前景.

聚天冬氨酸 (PASP) 由天冬氨酸自身缩聚得到^[2]. PASP 除具有一般水溶性羧酸的性质外, 还具有许多其他聚合物无法比拟的优良特性. 聚天冬氨酸最大特点是可生物降解、无毒、不破坏生态环境, 其在生化试剂和临床医学方面具有广泛的应用.

本文将 PSI 与 DDA 的氨解反应产物在碱性条件下水解, 得到了一种两亲性梳形共聚物 PASP-Na-g-DDA^[3]. 研究了 DDA 接枝率 (DDA 单元与 PSI 结构单元的摩尔百分比) 在 14.3% ~ 66.7% 之间的一系列聚合物胶束在水溶液中的性

质. 作为一类具有特殊链构造的高分子, 该两亲性梳形共聚物的优势在于, 既保留了天冬氨酸良好的可生物降解的特点, 又可通过控制单体投料比合成一系列疏水含量不同的聚合物, 并选择适当的比例, 对表面为油溶性配体的量子点, 氧化铁或者疏水性药物进行包覆, 将其转化为水溶性. 还可以根据具体需要, 通过聚合物表面的一COOH 连接一些生物分子 (如抗体), 以实现纳米粒子的外部功能化. 这种多功能的纳米粒子可用于多种疾病的跟踪检测及治疗, 包括靶向肿瘤细胞, 体内体外成像以及药物传输释放, 将会在生物医学领域有广阔的应用前景^[4-6].

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

L-天冬氨酸, 分析纯, 上海源聚生物科技有限公司; 磷酸, 分析纯, 北京化工厂. 十二胺, 天津市光复精细化工研究所; KCl 和 NaOH, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF), 分析纯, 天津市光复科技发展有限公司; 甲醇, 优级纯, 天津市光复精细化工研究所.

核磁测试采用 Varina Unity-300 (300 MHz) 核磁谱仪, 氘代氯仿作溶剂, TMS 为内标. 聚合物的

^{*} 2010-08-23 收稿, 2010-09-28 修稿; 国家自然科学基金 (基金号 20904014)、吉林省科技厅青年基金 (基金号 20080119) 和教育部青年基金 (基金号 2070310) 资助项目; ^{**} 通讯联系人, E-mail: liyapeng@jlu.edu.cn

分子量及其分布在 Waters410 型凝胶渗透色谱仪 (GPC) 上测定, 色谱仪带有 10 μm Styragel HT6E 柱 (300 mm $\times$ 7.8 mm), 四氢呋喃为流动相, 流速为 1 mL/min, 以单分散性的聚苯乙烯标样作普适校正; 动态光散射 (DLS) 通过 zeta 电位分析仪 (Brookhaven Instruments Corporation) 获得; 荧光发射光谱通过 Jobin Yvon Spex Fluorolog 3 荧光分光光度计测得; 透射电镜 (TEM) 图像通过 Hitachi H-8100 型透射电子显微镜获得。

1.2 两亲性梳形共聚物 PASP-Na-g-DDA 的合成

1.2.1 中间体聚琥珀酰亚胺 PSI 的合成

L-天冬氨酸 (10 g, 75.2 mmol) 加入圆底烧瓶, 缓慢滴加 85% 磷酸 (1 g, 8.67 mmol), 室温下搅拌 15 min, 转入到 180 $^{\circ}\text{C}$ 油浴中, 在 N_2 气氛下加热 4 h, 自然冷却到室温, 向烧瓶中加入 40 mL DMF, 将固体溶解, 离心除去不溶物。清液倒入

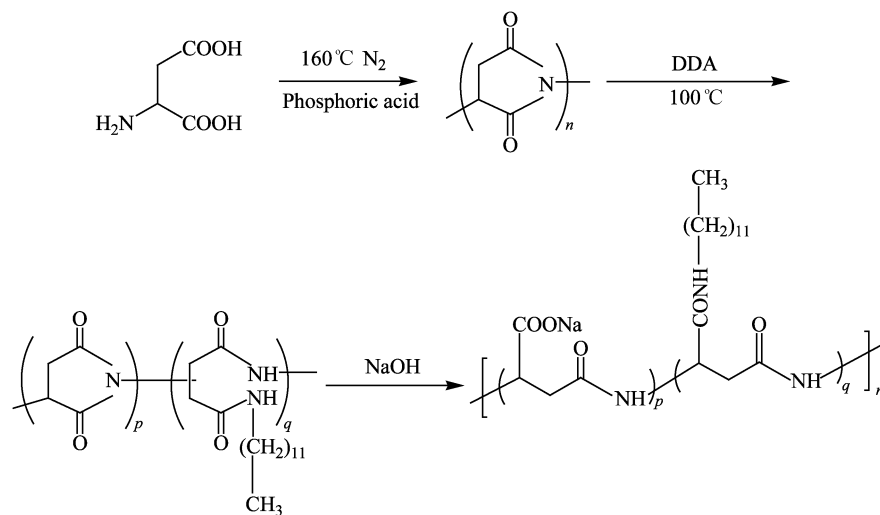
KCl 饱和溶液, 所得沉淀用水反复洗涤, 离心后将所得固体置于 85 $^{\circ}\text{C}$ 真空烘箱干燥, 得到白色粉末 PSI。

1.2.2 PSI-g-DDA 的合成

以 DDA 接枝率为 33.3% 为例, 将 PSI (1 g, 10.3 mmol) 溶于 10 mL DMF, 加入 DDA (0.635 g, 3.43 mmol), 在 100 $^{\circ}\text{C}$ 油浴、 N_2 气氛下加热搅拌 7 h。反应液用甲醇反复沉淀, 离心。产物在 100 $^{\circ}\text{C}$ 真空烘箱中烘干 24 h, 得到 PSI-g-DDA 固体。研成细粉末备用。其他接枝率的聚合物合成方法相同。

1.2.3 PASP-Na-g-DDA 的合成

将 0.395 g NaOH 溶于 15 mL 蒸馏水, 制成 NaOH 溶液, 滴加到 PSI-g-DDA (2 g) 固体中, 冰浴搅拌 24 h, 水解后的产物用甲醇洗至中性, 真空烘箱中烘干 24 h, 得到 PASP-Na-g-DDA 固体。研成细粉末备用。示意图 1 给出了聚合物的合成路线。



Scheme 1 Synthesis scheme of the amphiphilic comb-polymer, PASP-Na-g-DDA

1.2.4 聚合物胶束溶液的配制

将 0.01 g 聚合物 PASP-Na-g-DDA (DDA% = 33.3%), 溶解在 9 mL DMF 溶液, 置于透析袋中透析 72 h, 除去 DMF, 准确量取袋中溶液的体积为 18.0 mL, 即胶束溶液的浓度为 0.555 mg/mL。准备 9 只干燥的玻璃瓶, 向每只中注入 20 μL 芘 (浓度为 4.75×10^{-5} mol/L) 的丙酮溶液, 待丙酮全部挥发。将以上所得的胶束溶液稀释成 9 个不同浓度梯度的溶液, 分别定容到 10 mL, 转移到上述所得的芘溶液中。

2 结果与讨论

2.1 共聚物的核磁表征

为了确定合成的各阶段产物, 我们用 $^1\text{H-NMR}$ 对其结构进行了表征。

图 1(A) 为 PSI 的氢核磁谱图。在 a ($\delta = 4.4, 4.6$ 和 4.7) 处的吸收峰为 PSI 单元环上次甲基的氢质子峰。b ($\delta = 2.3 \sim 2.8$ 和 3.3) 处为 PSI 单元环上 $-\text{CH}_2-$ 的氢质子峰。与标准谱图上的数据一致, 证明已合成了中间体 PSI。

图 1(B) 为 PSI-g-DDA 的氢核磁谱图。在 c ($\delta = 1.25$) 和 d ($\delta = 0.88$) 处分别为 DDA 烷基链

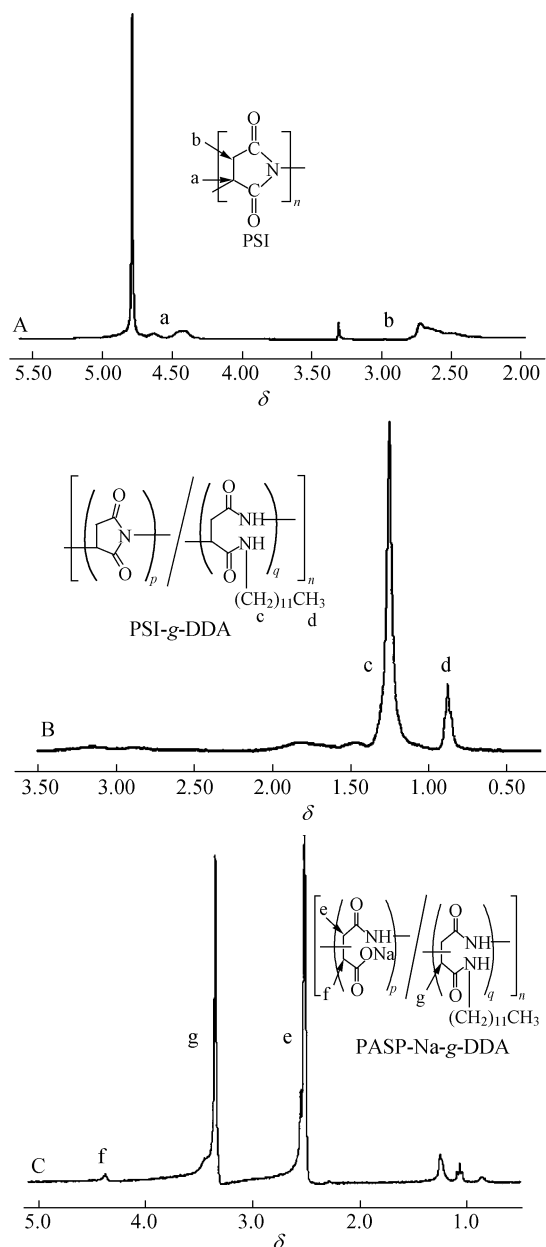


Fig. 1 (A) ^1H -NMR spectrum of PSI; (B) ^1H -NMR spectrum of PSI-g-DDA; (C) ^1H -NMR spectrum of PASP-Na-g-DDA

上 $-\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}_3$ 上的氢质子峰,证明在聚合物主链接入了 DDA.

图 1(C) 为 PASP-Na-g-DDA 的氢核磁谱图. 在 δ 为 0.85, 1.0 和 1.25 处分别为 DDA 烷基链上 $-\text{CH}_3$ 和 $-\text{CH}_2-$ 上的氢质子峰; e ($\delta = 2.5$) 处为聚合物主链上 $-\text{CH}_2-$ 的氢质子峰, f ($\delta = 4.3$) 处为主链上次甲基的氢质子峰; g ($\delta = 3.3$) 处为主链上接有烷基链的次甲基上的氢质子峰, 证明水解反应顺利进行, 合成了 PASP-Na-g-DDA.

2.2 聚合物的 GPC 表征

合成了一系列 DDA 接枝率不同的聚合物 PSI-g-DDA, 并测定了其分子量, 列于表 1.

Table 1 The molecular weight and polydispersity index of PSI-g-DDA

Grafting level(%)	M_w	Ret. time(min)	M_w/M_n
14.3	911	10.07	1.42
20.0	1803	9.73	1.10
33.3	3663	9.13	1.10
40.0	3671	8.91	1.14
50.0	3843	8.91	1.68
66.7	7303	7.72	1.34

从测试结果可以看出, 随着聚合物中疏水链段比例的增加, 聚合物的分子量是不断增大的. 显然, 随着支化度的增加, 聚合物链在色谱柱中经过的路径变短, 会先被洗脱出来, 流出时间变短. 从分散系数可以看出, 这几种接枝率的聚合物的分子量分布都比较窄.

2.3 聚合物胶束的流体力学直径

聚合中间体聚琥珀酰亚胺 PSI 在水中的溶解性非常差, 于是我们开环后在环上接有疏水烷基链十二胺, 再经过水解可得到游离的水溶性羧基. 疏水链太多或太少都会限制聚合物的应用^[7]. 疏水链太多, 则亲水链相对减少, 形成胶束后的水溶性不佳; 疏水链太少, 疏水链段之间的作用力就会减弱, 甚至无法形成胶束. 因此疏水链段的含量是研究该聚合物水溶液性质的关键所在.

用动态光散射 (DLS) 测定了几种接枝率的聚合物胶束的流体力学直径, 将结果列于表 2.

Table 2 Hydrodynamic diameters and polydispersity index of the micelles formed by PASP-Na-g-DDA

Grafting level(%)	D(nm)	Polydispersity index
33.3	136	0.214
40.0	108	0.275
50.0	103	0.297
66.7	97	0.335

从这组数据可以看到, 随着 DDA 在聚合物中比例的增加, 胶束直径逐渐变小. 这是由于疏水链段的增加使得链段间的“疏水-疏水”作用力变强, 同时, 疏水链之间还存在一定的氢键作用, 这使得胶束的流体力学体积减小, 自聚集更为紧密, 所形成粒子的尺寸也逐渐变小. 由于分子间的疏水链段之间也存在一定的相互作用, 使得聚合物胶束的流体力学直径呈多分散分布^[8]. 而对于接枝率为 14.3% 和 20.0% 的 2 种聚合物, 用 DLS 无法获

得它们的流体力学直径. 这是由于疏水链段含量太少,疏水链之间的作用力减弱而无法形成胶束.

2.4 聚合物的临界胶束浓度 (CMC)

Kalyanasundaram^[9]等在 1977 年研究发现芘单体的荧光强度会随着其周围环境的变化而产生变化,并将其应用到对于胶束系统的研究当中. 芘的溶解性对其荧光强度有着重要的影响,尤其在极性溶剂中,其荧光强度有着显著的增强,这是由于在极性溶剂中的偶极矩作用使芘产生了荧光作用. 两亲性接枝共聚物的疏水链段之间由于疏水相互作用力聚集形成胶束的内核,胶束的外壳则由亲水链段组成. 由于芘具有较强的疏水性,在两亲性聚合物胶束体系中,芘会更好的溶解在聚集体的疏水区域,而当聚合物的浓度太小不能形成胶束时,芘就会从胶束体系中分离出来,因此芘可作为荧光探针来测定形成胶束时的浓度,即临界胶束浓度 (CMC)^[10-13].

利用芘作为荧光探针来表征 DDA 接枝率为 33.3% 的两亲性梳形共聚物的临界胶束浓度. 测定 9 个含有芘的不同浓度梯度的胶束溶液的荧光光谱,得到谱图上 I_{372}/I_{392} (I_3/I_1) 的值,列于表 3. 随着溶液浓度的减小, I_3/I_1 也呈减小的趋势.

Table 3 Ratio of I_3 and I_1 of pyrene in different concentration of polymer micelle

Concentration of micelle (mg/mL)	I_3/I_1
5×10^{-2}	0.8750
2.5×10^{-2}	0.8472
5×10^{-3}	0.7226
5×10^{-4}	0.6252
2.5×10^{-4}	0.6030
5×10^{-5}	0.6603
2.5×10^{-5}	0.6598
5×10^{-6}	0.6653
5×10^{-7}	0.6420

图 2(a)给出了芘在不同浓度的聚合物胶束溶液中的荧光发射光谱. 在聚合物水溶液浓度小于 CMC 时,体系中没有胶束存在,因此芘被暴露于水溶液之中,其周围的环境极性不再变化,芘的 I_3/I_1 和其在水中的 I_3/I_1 相对应,几乎没有变化;而当聚合物溶液浓度由 5×10^{-4} mg/mL 变为 5×10^{-3} mg/mL 时荧光强度有显著的变化,聚合物在水溶液中形成了胶束,芘进入到胶束的疏水内核当中,增加了其在水溶液中的溶解性^[14]. 我们通过芘在 372 nm 和 392 nm 的荧光发射强度比

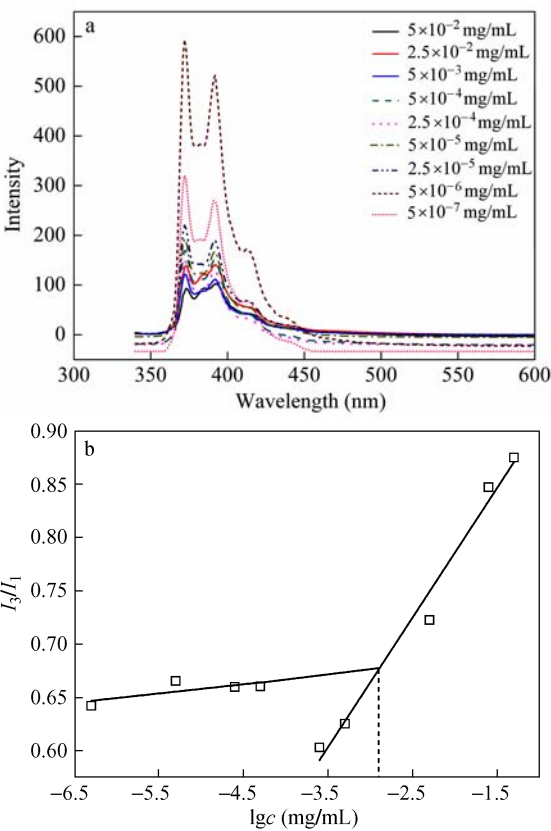


Fig. 2 (a) Fluorescence emission spectra of pyrene with different concentration of PASP-Na-g-DDA; (b) Plot of intensity versus $\lg c$ for PASP-Na-g-DDA

可以得到两亲性梳形共聚物十二胺接枝的聚天冬氨酸钠 PASP-Na-g-DDA 的 CMC 为 1.259×10^{-3} mg/mL. 而对于接枝率为 14.3% 和 20.0% 这 2 种聚合物,没有获得其 CMC 值,进一步证明了这 2 种接枝率的聚合物疏水链段含量太少,疏水链之间的作用力太弱,是无法形成胶束的.

2.5 聚合物胶束的的形貌

用 TEM 观察了接枝率为 50% 的聚合物胶束的形貌,从图 3 中可以观察到该纳米粒子呈均匀的球形,粒径为 80 nm. TEM 的测量值要明显小于通过 DLS 所得的测量值(103 nm),这是由于 DLS

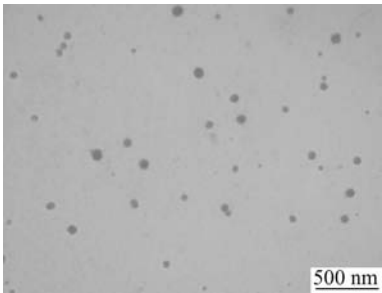


Fig. 3 TEM image of micelle formed by PASP-Na-g-DDA

测试是在溶液状态下进行的,此时的胶束处于溶胀状态,也就是说聚合物的亲水链段在水溶液中处于伸展状态,而 TEM 测试的是干燥状态下的胶束,故其值会比 DLS 测定值小.

3 结论

通过天冬氨酸自身缩聚产物 PSI 与 DDA 发生氨解、水解反应,得到了两亲性梳形共聚物——十二胺接枝的聚天冬氨酸钠 PASP-Na-g-DDA. 改

变反应物中 DDA 与 PSI 的比例,合成了一系列 DDA 接枝率不同的两亲性梳形共聚物. DDA 比例的不同导致其水溶液的性质有很大差异. 选择适当的比例,对油溶性量子点或者疏水性药物进行包覆,将其转化为水溶性. 还可以根据具体需要,通过聚合物表面的一COOH 连接一些生物分子. 这种多功能的纳米粒子将会在生物医学检测及治疗方面有广阔的应用前景.

REFERENCES

- 1 Jiang Ming(江明), Eisenberg A, Liu Guojun(刘国军), Zhang Xi(张希). Macromolecular Self-Assembly(大分子自组装), 1st ed(第一版). Beijing(北京): Science Press(科学出版社), 2006. 310 ~ 312
- 2 Nakato T, Kusuno A, Kakuchi T. J Polym Sci, 2000, 38: 117 ~ 122
- 3 Nakato T, Tomida M. Polym Bull, 2000, 44: 385 ~ 391
- 4 Gil P R, Parak W J. ACS Nano, 2008, 2(11): 2200 ~ 2205
- 5 Yu W W, Chang E, Falkner J C, Zhang J Y, Al-Somali A M, Christie M S, Johns J, Drezek R, Colvin V L. J. Am Chem Soc, 2007, 129: 2871 ~ 2879
- 6 Weng K C, Noble C O, Papahadjopoulos-Sternberg B, Chen F F, Drummond D C, Kirpotin D B, Wang D, Hom Y K, Hann B, Park J W. Nano Letter, 2008, 8(9): 2851 ~ 2857
- 7 Li J H, Xu Y Y, Wang J H, Du C H. Chinese J Polym Sci, 2009, 27(6): 821 ~ 831
- 8 Kang H S, Shin M S, Kim J D, Yang J W. Polym Bull, 2000, 45: 39 ~ 43
- 9 Kalyanasundaram K, Thomas J K. J Am Chem Soc, 1977, 99(7): 2039 ~ 2044
- 10 Martic P E, Nair M. J Colloid Interface Sci, 1994, 163: 517 ~ 519
- 11 Yekta A, Duhamel J, Brochard P, Adiwidjaja H, Winnik M A. Macromolecules, 1993, 26: 1829 ~ 1836
- 12 Zhang Xiaohong(张晓宏), Wu Shikang(吴世康). Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 1999, (2): 183 ~ 187
- 13 Shen Yanqing(沈燕清), Wang Pengfei(汪鹏飞), Wu Shikang(吴世康). Photographic Science and Photochemistry(感光科学与光化学). 1996, 14(3): 261 ~ 265
- 14 Wang Shuwei(王书唯). Chemoenzymatic Preparation of Amphiphilic functional block Copolymer and Study of Self-assembly and Drug Delivery Behavior(化学酶法制备两亲功能嵌段共聚物及自组装与载药行为的研究). Doctoral Dissertation of Jilin University(吉林大学博士学位论文), 2010

PREPARATION OF AMPHIPHILIC COMB-POLYMER PASP-Na-*g*-DDA AND EFFECT OF GRAFTING LEVEL ON MICELLAR BEHAVIOR IN WATER SOLUTION

SUN Ting, YANG Bohan, LI Kun, LI Yapeng, WANG Jingyuan

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

Abstract Poly(succinimide) (PSI), obtained by polymerization of aspartic acid, reacted with dodecylamine (DDA) and then hydrolyzed under basic condition for preparing an amphiphilic comb-polymer PASP-Na-*g*-DDA. By varying the molar ratio of DDA and PSI, a series of polymers was synthesized with different grafting level of DDA. Then their structure was characterized by gel permeation chromatography (GPC) and ^1H -nuclear magnetic resonance (^1H -NMR). The results showed that the targeted products were prepared successfully, and the molecular weight increased when the ratio of hydrophobic chains DDA increased. Also, it was studied that how the ratio of hydrophilic chains and hydrophobic chains affects the properties of the micelles formed by these polymers and it was revealed that only the percentage of hydrophobic chains reached up to 33.3% or above could the polymers form micelles; the critical micelle concentration (CMC) value of the polymer of which the grafting level was 33.3% was 1.259×10^{-3} mg/mL. The particle sizes of the micelles formed by the polymers were tested by dynamic light scattering (DLS); along with increasing the ratio of DDA in the polymer chain, the hydrodynamic diameter of the micelles decreased from 136 nm to 97 nm; even spherical micelle was observed under transmission electron microscope (TEM).

Keywords Amphiphilic comb-polymer, Grafting level, Micelle, Water solution