

·研究简报·

规整链球型含 C_{60} 聚(丙烯酸 β -羟乙酯)的合成及其在水中的自组装*

黎淳昭 张炜程 魏柳荷 杜福胜 李子臣 李福绵**

(北京大学化学与分子工程学院高分子科学与工程系 北京 100871)

关键词 原子转移自由基聚合, 链球型含 C_{60} 聚合物, 囊泡, 透射电镜, 荧光

C_{60} 由于其独特的物理化学性质, 在生命科学中引起了人们的广泛兴趣. 例如: 水溶性 C_{60} 的羧酸衍生物, 羟基取代 C_{60} , C_{60} 的氨基酸水溶性衍生物的合成已有报道^[1-3], 并被用来研究 C_{60} 的生物化学及医学活性. Tokuyama^[4] 等合成了酶功能化 C_{60} 及与核酸连接的 C_{60} , 研究并证明了它的细胞毒性及 G-选择 DNA 切割能力等生化活性. Friedman^[5] 等合成了水溶性 C_{60} 的羧酸衍生物, 研究了它对 HIV-1 艾滋病毒的抑制作用, 此外, 关于不同 C_{60} 含量的 C_{60} 蛋白质衍生物的合成及性质的研究也有报道^[6].

C_{60} 是一个直径为 0.71 nm 的刚性疏水球, 虽然能溶于某些有机溶剂如苯、甲苯、氯苯、 CS_2 等, 但其溶解度甚小, 经亲水极性基团修饰的 C_{60} 水溶性衍生物应为一两亲性的化合物. 它在水溶液中的形态将会对 C_{60} 的物理化学性质产生重要的影响. 迄今, 已有许多关于亲水性 C_{60} 衍生物的合成及表征的报道, 但关于亲水性 C_{60} 衍生物在水溶液中自组装的研究尚刚刚开始. Galdi^[7] 等研究了 C_{60} 的马来酸水溶性衍生物的氧化还原特性, 认为此衍生物在水中可能是以簇的形式存在. Sano^[8] 等研究了哑铃型双臂季铵盐的亲水性 C_{60} 衍生物在水中的自组装行为, 认为它在水中是以球形囊泡的形式存在. 最近, Chu^[9] 等运用光散射方法发现双亲性五苯基取代 C_{60} 的钾盐在水中可以自组装成为有序的囊泡结构. 然而关于以一条具有设计分子量以及窄分子量分布的亲水性线形高分子链与单个 C_{60} 球连接的规整 (Well-defined) 链球型高

分子在水中自组装行为的研究却鲜见报道. 本文合成了以 C_{60} 封端的具有设计分子量以及窄分子量分布的聚丙烯酸羟乙酯 (Poly (2-hydroxyethyl acrylate), PHEA), 并且用透射电镜, 荧光等方法研究了其在水中的自组装行为.

1 原料及实验步骤

C_{60} 为北京大学化学学院以电弧法自制, 经 HPLC 测试其纯度 > 99.9%. 丙烯酸- β -羟乙酯 (2-Hydroxyethyl acrylate, HEA) 以 $CaCl_2$ 充分干燥后减压蒸馏. 2-溴丙酸甲酯 (Methyl 2-bromopropionate, MBP), 三甲基氯硅烷 (Chlorotrimethylsilane, TMS) 和 2,2'-联吡啶 (2,2'-bipyridine, bipy) 均为 Aldrich 公司产品, 未经纯化直接使用. 其他常用溶剂与试剂按照常规方法纯化.

虽然已有 HEA 原子转移自由基聚合 (ATRP) 的研究报道, 但发现 HEA 的羟基不利于合成可控的具有较低聚合度的 PHEA. 为了获得具有设计分子量及窄分子量分布的 PHEA, 本文以三甲基氯硅烷保护 HEA 的羟基, 所得单体通过 ATRP 方法 (以 MBP/CuBr/bipy 为引发聚合体系) 合成端基带溴的 PHEA-Br, 然后以其为大分子引发剂在 ATRP 条件下 (以 CuBr/bipy 为催化体系) 与大过量的 C_{60} 反应, 最后水解除去 TMS 保护基以得到规整的链球型双亲性大分子.

2 样品制备及透射电镜 (TEM) 观察

将用 Formar 膜覆盖并经喷碳处理过的 230 目铜网, 浸于已知浓度的链球型含 C_{60} 聚合物溶液中约 20 min, 于室温下晾干后, 再将其浸入 5% 的醋酸双氧铀水/乙醇混合溶液中染色约 5 min. 在

* 2001-07-30 收稿, 2001-09-11 修稿; 国家自然科学基金资助项目 (基金号 29992590-4); ** 通讯联系人

JEM-100CXII 透射电子显微镜下观测.其加速电压为 100 kV.

Table 1 The molecular weight and polydispersity of PHEATMS-Br and hammer-like C₆₀ conjugated PHEA-TMS prepared under ATRP condition

Run	PHEA-TMS-Br			PHEA-TMS-C ₆₀ -Br		
	<i>M_n</i> (× 10 ³) ^a	<i>M_w</i> (× 10 ³) ^a	<i>M_w</i> / <i>M_n</i>	<i>M_n</i> (× 10 ³) ^a	<i>M_w</i> (× 10 ³) ^a	<i>M_w</i> / <i>M_n</i>
1	4.80	5.72	1.19	5.46	6.66	1.22
2	8.01	9.02	1.12	8.29	9.62	1.16

^a Determined by GPC analysis in THF, monodisperse polystyrene samples were used as the standards.

3 结果及讨论

由于 C₆₀ 的强疏溶剂性,链球型含 C₆₀ 高分子 C₆₀-PHEA 在 PHEA 的选择性溶剂中将会自组装形成聚集体.图 1 是用 TEM 所观察的 C₆₀-PHEA-2(见表 1 中 Run 2)在水溶液中的聚集形态.可以清晰地看到,聚集体内部颜色较浅而周围一圈颜色较深,是较为典型的球型囊泡结构,其内部半径约为 50 nm,壁厚约为 13 nm.以 TEM 观测 C₆₀-PHEA 在水中聚集形态所用的染色剂是亲水的醋酸双氧铀,染色时被吸附于聚集体的亲水段,即 PHEA 链段,由于亲水部分的电子密度增大,电子束不能透过,因而用 TEM 观察时呈黑色.然而,实验中并未观察到清晰的双层结构,首先这是由于 C₆₀-PHEA 聚集体的疏水部分是直径不到 0.71 nm 的 C₆₀,若其为双层时,囊泡壁层疏水区厚度也只在 1.42 nm 左右,透射电镜难以分辨.另一方面,已经有许多 C₆₀ 络合过渡金属形成的报道,C₆₀ 作为一个多双键的化合物,也可能会与醋酸双氧铀产生一定的络合作用,使其与邻近的聚合物链的电子密度差别减小,这也可能是观察不到双层结构的另一原因.图 2 是 C₆₀-PHEA-1 (对应表 1 中 Run 1)在水中聚集形态的 TEM 照片,也可以观察到类似的半径约为 85 nm 规则空心圆球状囊泡结构.通过对比可以发现,C₆₀-PHEA 在水中所形成囊泡型聚集体的尺寸随 PHEA 分子量的增大而减小.

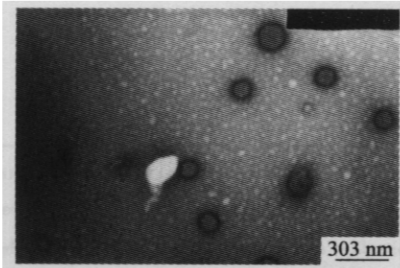


Fig.1 Negatively-stained TEM image of vesicles formed from C₆₀-PHEA-2 in water

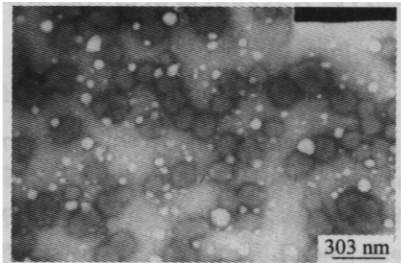


Fig.2 Negatively-stained TEM image of vesicles formed from C₆₀-PHEA-1 in water

亲水性囊泡所具有的一个重要特点在于,它有一个大的内水相,其能够包纳水溶性的小分子化合物.因此可以用链球型 C₆₀-PHEA 聚集体对小分子水溶性荧光化合物-荧光素 5(6)-CF 的包纳实验来验证聚集体内水相的存在.该化合物在 490 nm 处有特征吸收,以 490 nm 激发则于 520 nm 处呈现特征的荧光发射峰.

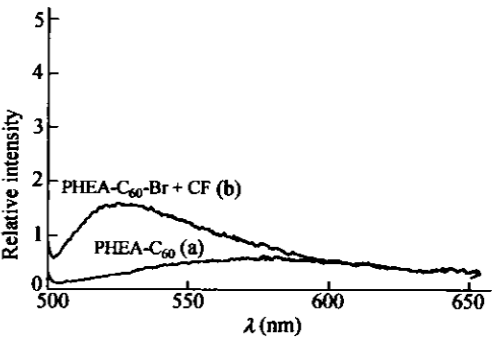


Fig.3 The fluorescence emission spectra of vesicles in water assembled from well-defined PHEA-C₆₀ macromolecules (a) without and (b) containing 5(6)-carboxyfluorescein(5(6)-CF) λ_{ex} = 490 nm

对未包纳 5(6)-CF 的 C₆₀-PHEA 水溶液,在 490 nm 波长下激发,从发射谱图上可以看到,体系只呈现背景噪音,基本上没有观察到荧光发射.将超声处理后的 C₆₀-PHEA 和荧光素混合溶液经过 SephadexG-50 柱色谱分离后得到包纳有 5(6)-CF 的 C₆₀-PHEA 聚集体溶液,在 520 nm 呈现较强

的荧光发射,这对应于荧光素 5(6)-CF 的特征发射光谱.由于 SephadexG-50 柱色谱分离原理是按分子量大小来分离的,所以分子量大的先被洗脱出来,分子量小的后被洗脱出来.也就是说,此方法能保证在 C_{60} -PHEA 囊泡外水相的小分子荧光素 5(6)-CF 能够被完全分离.所以在先收集的 C_{60} -PHEA 聚集体溶液中出现荧光素 5(6)-CF 的特征荧光发射,证明荧光素已被包纳进聚集体囊泡

的内水相中.不过荧光素在囊泡聚集体内水相中浓度较高,由于局部浓度自淬灭作用,体系的荧光强度较弱.

综上所述,本文以透射电镜,荧光等方法证明了通过 ATRP 方法合成的 C_{60} -PHEA 水溶性链球型高分子在水中能形成囊泡型聚集体,且发现该聚集体的尺寸随 PHEA 分子量的增加而减小.

REFERENCES

- 1 Naim A, Shevlin P B. *Tetrahedron Lett*, 1993, 33: 7097 ~ 7098
- 2 Lamparth I, Hirsh A. *Chem Commun*, 1994, 1727 ~ 1728
- 3 Nakamura E, Tokuyama H, Yamago S, Shiraki T, Sugiura Y. *Chem Soc Jpn*, 1996, 69: 2143 ~ 2145
- 4 Tokuyama H, Yamago S, Nakamura E. *J Am Chem Soc*, 1993, 115: 7918 ~ 7920
- 5 Simon H, Friedman, Dianne L, DeCamp, Rint P. *J Am Chem Soc*, 1993, 115: 6506 ~ 6507
- 6 Prato M, Suzuki T, Foroudian S H. *J Am Chem Soc*, 1993, 115: 1594 ~ 1596
- 7 Guldi D M, Hartmut H. *J Phys Chem*, 1995, 99: 1348 ~ 1351
- 8 Sano M, Oishi K, Ishi T, Shinkai S. *Langmuir*, 2000, 16: 3773 ~ 3776
- 9 Zhou S, Burger C, Chu B, Sawamura M, Nagahama N. *Science*, 2001, 291: 1944 ~ 1946

SYNTHESIS OF A WELL-DEFINED HAMMER-LIKE C_{60} CONJUGATED POLY(2-HYDROXYETHYL ACRYLATE) AND ITS SELF-ASSEMBLY IN WATER

LI Chunzhao, ZHANG Weicheng, WEI Liuhe, DU Fusheng, LI Zichen, LI Fumian

(Department of Polymer Science and Engineering, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871)

Abstract Atom transfer radical polymerization of protected 2-hydroxyethyl acrylate (HEA-TMS) was conducted to prepare well-defined bromo-terminated macroinitiators, which were further allowed to react with large excess amount of C_{60} under ATRP condition. A well-defined hammer-shaped C_{60} -PHEA was then obtained by hydrolysis of C_{60} -PHEA-TMS under mild conditions. A TEM observation of the association behavior of these well-defined hammer-like C_{60} -PHEA macromolecules showed that they assemble into spherical vesicles in water. Their characteristic inner water phase was further confirmed by fluorescence probe method. Also, it was found that the size of vesicles decreased as the increase of molecular weight of PHEA.

Key words Atom transfer radical polymerization, Hammer-shaped C_{60} conjugated polyhydroxyethyl acrylate, Vesicle, Transmission electron microscopy, Fluorescence probe