

·快报·

三维宏观网络状囊泡薄膜的分级自组装研究*

郭美琼 洪海燕 孙晓毅 周永丰** 颜德岳**

(上海交通大学化学化工学院 上海 200240)

摘 要 分别合成以疏水性超支化聚醚(HBPO)为核,以亲水性聚环氧乙烷(EO)和聚甲基丙烯酸 *N,N*-二甲基氨基乙酯(DMAEMA)为臂的两亲性超支化多臂共聚物 HBPO-star-PEO 和 HBPO-star-PDMAEMA. 通过两者在水溶液中的复合自组装制备得到具有 pH 响应性的巨型聚合物囊泡(1 ~ 10 μm),并用 zeta 电位仪,激光共聚焦显微镜及光学显微镜对囊泡的自组装行为进行了研究. 结果表明,在等电点以前,复合囊泡始终以单个囊泡形式存在. 随着溶液 pH 的升高,囊泡逐步线型缔合成串珠结构. 在更高的 pH 下,囊泡进一步二次聚集形成具有宏观尺度的三维蜘蛛网状超分子结构,这是一类新的自组装体.

关键词 囊泡, 超支化, pH 响应, 分级自组装, 三维网络

超支化聚合物由于其具有低粘度、高流变性、大量末端官能团,同时合成相对简单等优点,目前已经吸引了大量学者的研究兴趣. 本课题组长期以来一直在从事超支化聚合物的理论研究以及可控合成方面的工作,近几年来在分子自组装方面开展了一些研究工作,发现具有不规整分子结构的超支化聚合物也可以成为分子自组装研究的优秀前体,可以自组装形成具有规整结构和功能的超分子结构. 目前,我们利用超支化聚合物自组装已得到宏观多壁螺旋管^[1],多分子复合胶束^[2],大复合囊泡^[3]等分子自组装体. 特别采用两亲性超支化聚醚直接在水中自组装形成尺寸从 100 nm ~ 100 μm 可控的聚合物囊泡^[4, 5]. 和常规的采用线型嵌段共聚物自组装得到的聚合物囊泡相比,这是一类新型的聚合物囊泡,我们将其命名为支化聚合物囊泡(branched-polymersomes, 简称为 BP)^[4]. 我们发现 BP 不仅稳定性好、渗透性强,并同时具有流动性强的优点,能够在一定的外界微扰下,如增加溶液渗透压和进行超声处理,发生自发的融合及分裂^[6, 7],因此可以作为模型薄膜来模拟生物膜的结构及变形过程. 然而由于 BP 本身由聚醚构成,缺乏功能特性. 我们知道功能化的聚合物囊泡,特别是 pH 和温度响应的聚合物囊泡在智能性药物载体研究中具有重要价值^[5]. 在保

留 BP 主体结构和性能的同时,需研究的是赋予其功能特性.

另外,聚合物囊泡由于其特殊的稳定性,可设计性,结构和组成的多样性,以及在药物释放、模板组装、催化、微纳反应器等方面的应用潜力,已经吸引了越来越多研究者的积极关注,成为当前分子自组装研究中的一个热点方向^[4 ~ 20]. 当前的囊泡自组装研究主要包括两大类工作,一类是通过合成或改性得到各种结构和组成的聚合物,然后自组装形成多尺度和多功能的聚合物囊泡,这是当前研究的主体;另一类工作主要研究聚合物囊泡的应用,包括药物的封装和释放,模板自组装,反应器等,这部分研究相对还比较少. 自组装研究要走向深入,走向成熟,研究其功能化和应用当然是一个重要的发展方向;另外组装结构的高度可控和结构的复杂程度也是自组装研究的重要发展方向^[21],然而这方面的研究还鲜有报道.

本文通过复合自组装,在 BP 薄膜中引入具有 pH 响应的超支化多臂共聚物,既保留了 BP 的形貌和流动性,同时赋予其 pH 响应的特性. 特别发现该复合囊泡具有分级自组装能力,在强碱性条件下聚合物囊泡能够进一步聚集,逐步形成一维的串珠和三维的类似于蜘蛛网的超分子结构. 这种以囊泡为构筑单元的复杂网络结构还是第一

* 2008-01-07 收稿,2008-01-22 修稿. 国家自然科学基金(基金号 50503012,20774057,50633010)、国家重点基础研究发展计划(973 计划,项目号 2007CB808000)和上海市基础研究重大项目(项目号 07DJ14004)、上海市重点学科(项目号 B202)资助项目; ** 通讯联系人,

E-mail: yfzhou@sjtu.edu.cn; dyyan@sjtu.edu.cn

次被观察到.

首先,根据文献[4],以 3-乙基-3-羟甲基环氧丁烷(EHO)与环氧乙烷(EO)为反应原料,通过“一壶两步”的阳离子开环聚合反应,合成了以疏水性超支化聚醚(HBPO)为核,亲水性 PEO 为臂的两亲性超支化多臂共聚物 HBPO-star-PEO(分子结构示意图见图 1a).该聚合物中 EO 和 EHO 结构单元的摩尔比 $R_{AC} = 2:1$.该聚合物能够直接在水中自组装形成平均尺寸为 $20\ \mu\text{m}$ 的大囊泡.

又根据文献[2],通过原子转移自由基聚合(ATRP)的方法合成以疏水性超支化聚醚(HBPO)为核,亲水性聚甲基丙烯酸 *N,N*-二甲氨基乙酯(DMAEMA)为臂的两亲性超支化多臂共聚物 HBPO-star-PDMAEMA(分子结构示意图见图 1b, DMAEMA 结构单元和 EHO 结构单元的摩尔比为 50:1).该聚合物能够直接在水中自组装形成平均尺寸为 $60\ \text{nm}$ 的球形胶束.

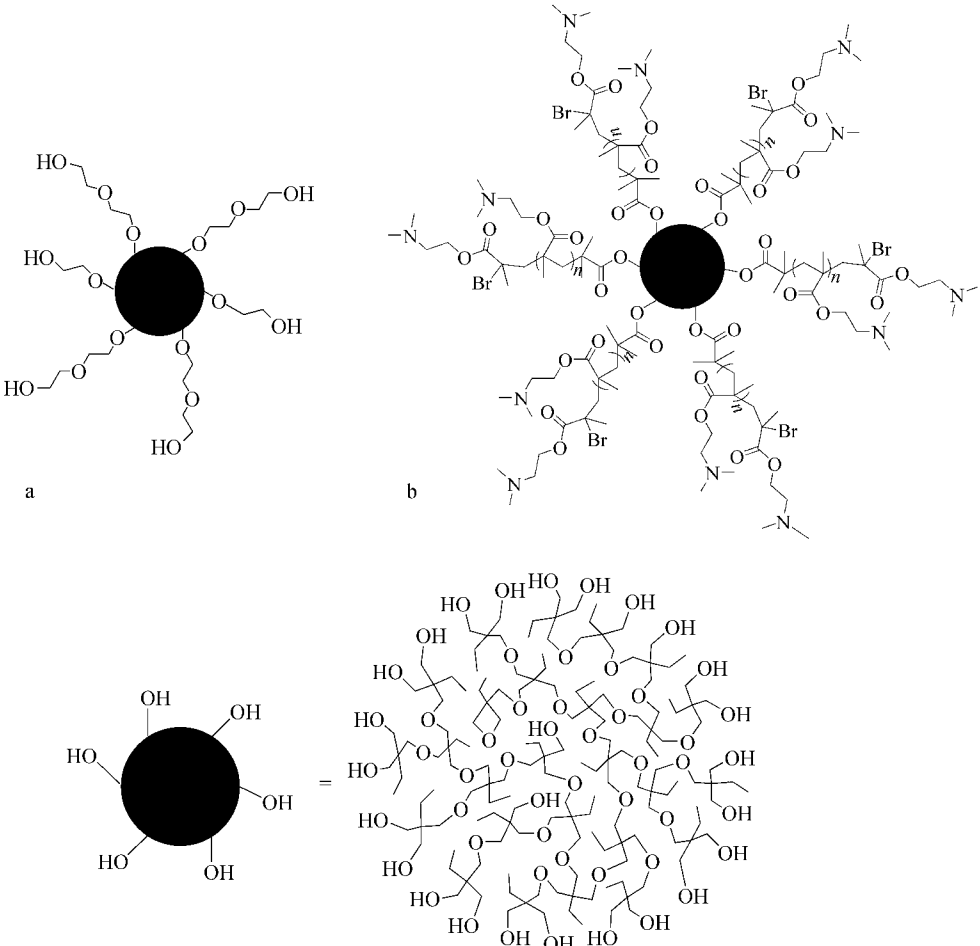


Fig. 1 Schematic representation of the multiarm copolymers (only six arms are shown for simplicity)
a) HBPO-star-PEO ;b) HBPO-star-PDMAEMA

具体的组装过程是首先称取 HBPO-star-PEO ($R_{AC} = 2:1$) $20\ \text{mg}$ 和 HBPO-star-PDMAEMA $2\ \text{mg}$,并分别溶于 $2\sim 3\ \text{mL}$ 三氯甲烷中.搅拌待充分溶解后,将后者溶液滴加入前者溶液中,搅拌使相互混合均匀后,放置真空烘箱 40°C 烘干去除溶剂三氯甲烷,得到薄膜状固体.量取 $\text{pH} = 1$ 的 HCl 水溶液 $10\ \text{mL}$,倒入其中,搅拌将其溶解.然后在溶液中加入一定量的 NaOH ,调节溶液 pH 至恒定

值.我们发现在各个 pH 条件下,均能够得到尺寸为 $1\sim 10\ \mu\text{m}$ 的复合囊泡.

本论文所用的表征方法是(1)分别对 HBPO-star-PEO, HBPO-star-PDMAEMA 的水溶液(浓度分别为 $2\ \text{mg/mL}$, $1\ \text{mg/mL}$)和复合囊泡水溶液进行 zeta 电位测试, zeta 电位测试仪的型号为 Zetasizer 2000 ;(2) 将各种 pH 的复合囊泡溶液转移到培养皿中,直接用光学显微镜进行观察(型号为 Leica

Dmlp,TMS94),采用 10 倍的目镜,63,40 和 20 倍的长焦物镜来观察囊泡的形貌 ;(3)在复合囊泡水溶液中加入罗丹明,待溶解后,静置24 h,然后将样品滴加到载玻片上,并直接用激光共聚焦显微镜(型号为 LSM 510 META)进行观察.

图 2 为复合囊泡、纯的 HBPO-star-PEO 囊泡及纯的 HBPO-star-PDMAEMA 胶束的 zeta 电位曲线. 纯的 HBPO-star-PDMAEMA 胶束在较宽的 pH 范围内具有正的电位,其电位值随着溶液 pH 增大而减小,等电点约在 $\text{pH} = 8.9$,这一结果与文献^[22]吻合. 纯的 HBPO-star-PEO 囊泡本身不带电荷,其电位曲线基本为接近 0 的一条平线. 复合囊泡的电位随 pH 值的变化趋势与纯的 HBPO-star-PDMAEMA 基本一致,其等电点约在 8.6. 因此可以间接证明通过本论文的方法,HBPO-star-PDMAEMA 已经复合到 HBPO-star-PEO 构成的囊泡(BP)中,而且该聚合物主要处于 BP 的表面.

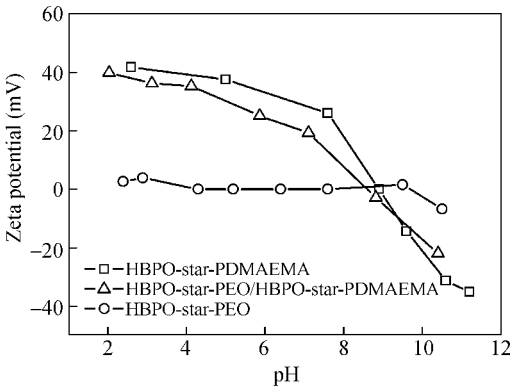


Fig. 2 Plots of Zeta Potential versus pH of aqueous vesicle solution prepared by the complex of HBPO-star-PDMAEMA and HBPO-star-PEO

在复合囊泡制备完成后,我们尝试调节溶液的 pH 值,结果发现复合囊泡具有 pH 响应性,在不同的 pH 下,囊泡的形貌发生了变化. 由于作为空白的纯 BP 并没有 pH 响应能力,因此,可以肯定 HBPO-star-PDMAEMA 已经复合到 BP 中,从而赋予囊泡 pH 响应能力.

在等电点之前,由于复合囊泡中 HBPO-star-PDMAEMA 的含氮基团质子化,囊泡带正电荷,囊泡之间由于静电排斥变得非常稳定,能够自由分布在溶液中,而且久置后依然以单个囊泡的形式存在. 图 3 为 pH 为 3.04 和 8.07 时的囊泡的显微镜照片,可以看到囊泡在水溶液中随机分散.

但在溶液 pH 超过等电点之后,复合囊泡的

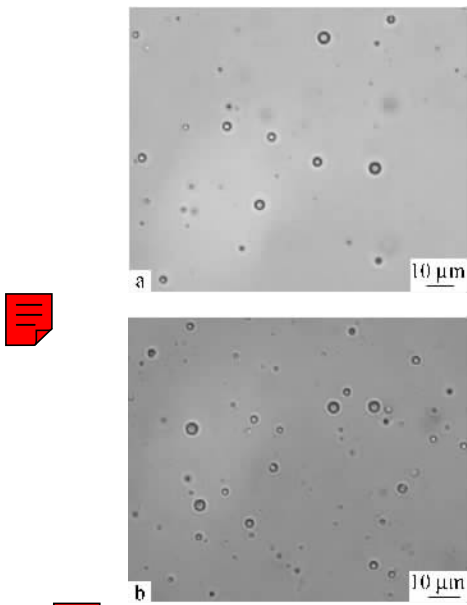


Fig. 3 The micrographs of the complex vesicles in the solution of $\text{pH} = 3.04$ (a) and $\text{pH} = 8.07$ (b)

质子化效应减弱,疏水性增强,囊泡间开始产生缔合作用,缔合现象随 pH 增大变得越来越明显. 图 4 为在 $\text{pH} = 13.28$ 时囊泡溶液的显微镜照片,可以看到囊泡线型缔合成串珠结构,左上角的插图展示了一个更为完整的串珠囊泡. 而在放置半小时后,缔合体逐渐增大,形成大囊泡和小囊泡互相连接的‘葡萄串’结构(右下角的插图).

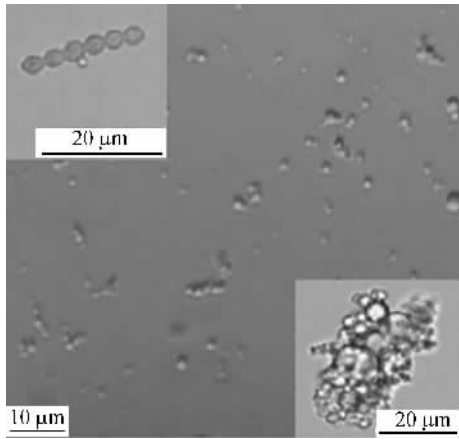


Fig. 4 The micrographs of complex vesicles in the solution of $\text{pH} = 13.28$

在更高的 pH 下,溶液中出现一层肉眼可见的多孔薄膜. 图 5 (a) 为膜的数码相机照片,如图所示,该薄膜具有类似蜘蛛网的结构,布满整个培养皿的底部(白色部分为聚合物网),网格的中心部位比较致密,而边缘相对疏松. 我们在薄膜的水溶液中加入罗丹明,然后用激光共聚焦显微镜对

薄膜进行观察(图 5b).发现该薄膜能够很好地封装和富集罗丹明,显示出很强的红色荧光,同时从图 5(b)中可以证实该薄膜的多孔结构(黑色部分为孔洞结构).图 5(c)和 5(d)分别是薄膜的显微

镜照片.图 5(c)清晰地展示了薄膜的网格结构,很显然该蜘蛛网状组装体的网格尺寸不均匀.进一步放大构成网格的边(图 5d),发现每条边都是由尺寸为 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ 的聚合物囊泡紧密堆积而成.

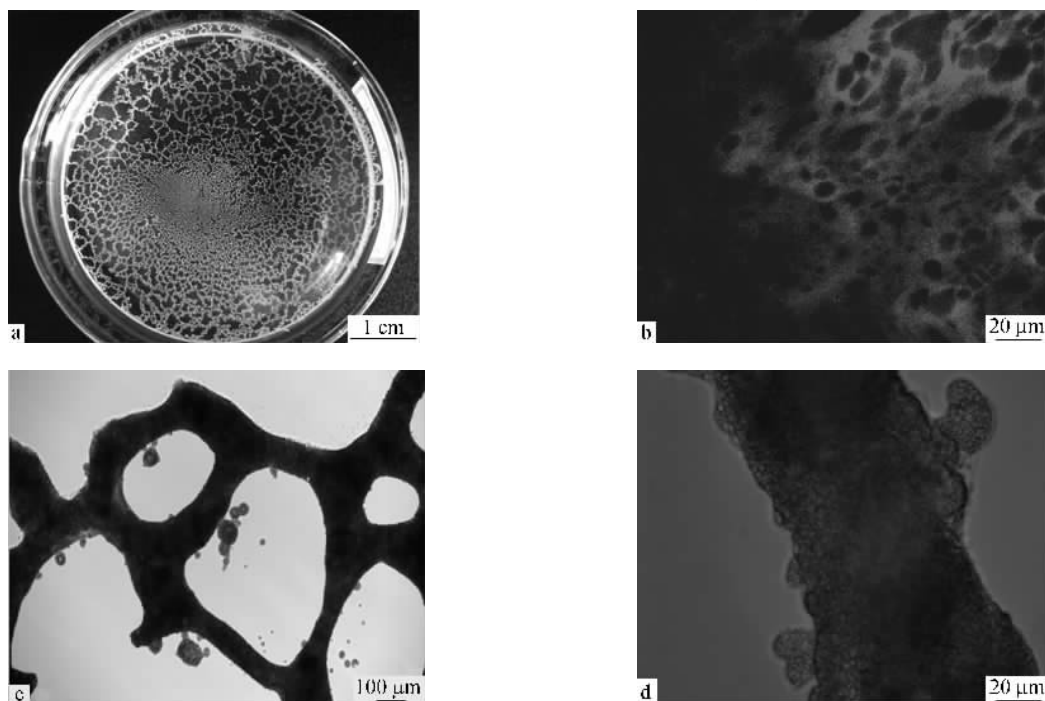


图 5 (a) The digital photo of the macroscopic membrane with three-dimensional networks; (b) The LSCM image of the membrane after encapsulated with hydrophilic rhodamine B; (c) A part of the membrane networks observed by the optical microscope; (d) The magnified micrograph of the rim of the network

从图 5 可以看出,复合的聚合物囊泡在高 pH 条件下通过二级自组装,进一步聚集形成了蜘蛛网状的三维超分子结构.迄今为止,三维自组装的研究工作还鲜有报道. Bates 等^[23]用聚(1,2-丁二烯-*b*-环氧乙烷)嵌段共聚物在一定的聚合物浓度下在水中自组装形成三维的纳米网络胶束结构,但其网格的尺寸大约在 $10 \sim 200 \text{ nm}$ 之间,构成网格的聚合物胶束直径大约为 20 nm . 本论文所报导的网络尺寸非常巨大,直接肉眼可见,而且是通过囊泡的二次组装得到,是一类新的超分子结构.

囊泡能够二次组装形成如此巨大的三维超分子结构首先是因为构筑单元的特殊性,由于构成蜘蛛网的基本单元是尺寸为 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ 的聚合物囊泡,因此容易进一步自组装形成大结构.其次,这和囊泡的性能有关,由于囊泡复合了 HBPO-star-PDMAEMA,该聚合物分子在高 pH 条件下由亲水性转变为疏水性,由于它处于复合囊泡的外表面,因此囊泡的疏水性也增强,很容易互相缔合在一起.相比较,没有复合 HBPO-star-PDMAEMA 的 BP 会自

由悬浮于水溶液中,不会相互缔合^[4].然而,尽管我们可以很容易地解释复合囊泡的缔合过程(如图 4 所示),但是囊泡缔合体为什么能够进一步支化,并逐步形成网络结构,这还有待进一步深入研究.我们认为该组装过程可能涉及一个分级机制,囊泡先组装形成线型的串珠结构,然后串珠结构进一步排列,形成葡萄串结构,最后葡萄串结构和串珠结构互相连接形成三维网络结构.

综上所述,本文通过两亲性超支化多臂共聚物的复合自组装得到 pH 响应的聚合物囊泡,并通过该复合囊泡在 pH 诱导下的分级自组装过程,首次制备了宏观尺度的三维网状超分子结构.该网状组装体有望作为模板,来制备具有复杂网络和多孔结构的有机/无机杂化材料.另外由于我们所得的组装结构尺寸巨大,可以用光学显微镜实时观察,因此有可能真正揭开囊泡支化和网络化的机制,并达到最终控制支化结构的目的.而组装体支化结构的控制,是实现三维分子自组装的重要途径.

REFERENCES

- 1 Yan D Y, Zhou Y F, Hou J. *Science*, 2004, 303: 65 ~ 67
- 2 Hong H Y, Mai Y Y, Zhou Y F, Yan D Y, Cui J. *Macromol Rapid Commun*, 2007, 28: 591 ~ 596
- 3 Mai Y Y, Zhou Y F, Yan D Y. *Small*, 2007, 3: 1170 ~ 1173
- 4 Zhou Y F, Yan D Y. *Angew Chem Int Ed*, 2004, 43: 4896 ~ 4899
- 5 Zhou Y F, Yan D Y, Dong W Y, Tian Y. *J Phys Chem B*, 2007, 111: 1262 ~ 1270
- 6 Zhou Y F, Yan D Y. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 3223 ~ 3226
- 7 Zhou Y F, Yan D Y. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 10468 ~ 10469
- 8 Wei Liuhe (魏柳荷), Zhang Weicheng (张炜程), Chen Yu (陈宇), Zhu Mingqiang (朱明强), Du Fusheng (杜福胜), Li Zicheng (李子臣), Li Fumian (李福绵). *Acta Polymerica Sinica (高分子学报)*, 2002, (4): 548 ~ 551
- 9 Zhang L, Eisenberg A. *Polym Adv Technol*, 1998, 9: 677 ~ 699
- 10 Luo L, Eisenberg A. *J Am Chem Soc*, 2001, 123: 1012 ~ 1013
- 11 Discher B M, Hammer D A, Bates F S, Discher D E. *Curr Opin Coll Int Sci*, 2000, 5: 125 ~ 131
- 12 Antonietti M, Forster S. *Adv Mater*, 2003, 15: 1323 ~ 1333
- 13 Wang Y P, Ma N, Wang Z Q, Zhang X. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 46: 2823 ~ 2826
- 14 Sun J, Chen X S, Deng C, Yu H J, Xie Z G, Jing X B. *Langmuir*, 2007, 23: 8308 ~ 8315
- 15 Zou J H, Ye X D, Shi W F. *Macromol Rapid Commun*, 2005, 26: 1741 ~ 1745
- 16 Li X L, Ji J, Wang X L, Wang Y X, Shen J C. *Macromol Rapid Commun*, 2007, 28: 660 ~ 665
- 17 Li X L, Ji J, Shen J C. *Macromol Rapid Commun*, 2006, 27: 214 ~ 218
- 18 Li Z C, Xie X M, Fan Q H, Fang Y F. *Chinese J Polym Sci*, 1992, 10(1): 26 ~ 31
- 19 Li Z C, Shen Y, Liang Y Z, Li F M. *Chinese J Polym Sci*, 2001, 19: 297 ~ 301
- 20 Zou Peng (邹鹏), Pan Caiyuan (潘才元). *Acta Polymerica Sinica (高分子学报)*, 2007, (10): 974 ~ 978
- 21 Service R F. *Science*, 2005, 309: 95 ~ 95
- 22 Gohy J F, Creutz S, Garcia M, Mahltig B, Stamm M, Jerome R. *Macromolecules*, 2000, 33: 6378 ~ 6387
- 23 Jain S, Bates F S. *Science*, 2003, 300: 460 ~ 464

MACROSCOPIC THREE-DIMENSIONAL SUPRAMOLECULAR NETWORKS
THROUGH HIERARCHICAL SELF-ASSEMBLY OF POLYMER VESICLES

GUO Meiqiong, HONG Haiyan, SUN Xiaoyi, ZHOU Yongfeng, YAN Deyue
(College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240)

Abstract Synthesis and supramolecular self-assembly of hyperbranched polymers (HBPs) have received more and more attention in recent year, and many delicate supramolecular structures at all scales and dimensions were generated up to now. However, most of the work reported the one-step self-assembly process from HBPs to supramolecular aggregates. Herein, we report a hierarchical self-assembly of HBPs: the polymer first self-assembled into giant polymer vesicles, and then the vesicles further aggregated into macroscopic supramolecular network. Two kinds of amphiphilic multiarm copolymers with a same hydrophobic hyperbranched poly[3-ethyl-3-(hydroxymethyl) oxetane] (HBPO) core and different hydrophilic poly(ethylene oxide) (PEO) and poly(2-(dimethylamino) ethyl methacrylate) (DMAEMA) arms were synthesized by a “graft from” method. The obtained HBPO-star-PEO can self-assemble in water into giant vesicles, and the HBPO-star-PDMAEMA is pH-responsive and can self-assemble in water into large multimolecular micelles. However, when the two polymers were mixed together, they would co-assemble into pH-responsive giant vesicles around 1 ~ 10 μm in water. The self-assembly behavior of the complex vesicle was studied by zeta potential analyzer, laser scanning confocal microscope (LSCM) and optical microscope. The results show that the complex vesicles were electriferous in the solution, and the iso-electric point (IEP) was 8.6, which indicated that PDMAEMA chains were located in the shells of the complex vesicles. At the pH below IEP, the complex vesicles were stable and could be suspended randomly in the solution because of the protonization of

PDMAEMA chains. When the solution pH was higher than IEP, the vesicles gradually aggregated together to form the supramolecular structures like pearl necklace and the grape bunch with the increase of pH due to the deprotonation of the vesicles. At an even higher pH, the vesicles aggregated to a three-dimensional macroscopic network like a spider web. It is a novel supramolecular structure and belongs to macroscopic molecular self-assembly. The strong cohesion of the individual vesicles is responsible for the formation of such a macroscopic and highly branched vesicle network. It is expected that the present work will give a new light on controlling the hierarchical self-assembly of vesicles and on the preparation of branched and network supramolecular systems. In addition, the supramolecular network can be used as a complex template to direct the self-assembly of some inorganic precursors.

Keywords Vesicles, Hyperbranched, pH-responsive, Hierarchical self-assembly, Three-dimensional networks