

研究简报

含十二烷基端基聚乙二醇-*b*-聚(*N*-丙烯酰脯氨酸甲酯) 两嵌段在水溶液中的可逆再组装

雒春辉*, 勉志鹏

(北方民族大学 化学与化学工程学院, 银川 750021)

摘要:以 RAFT 聚合制备了十二烷基末端聚乙二醇-*b*-聚(*N*-丙烯酰脯氨酸甲酯)两嵌段聚合物 D₁₂-EA, 并用体积排除色谱和核磁氢谱表征了聚合物的结构。结合紫外-可见光 (UV-Vis)、动态光散射 (DLS)、静态光散射 (LLS)、透射电镜 (TEM) 以及变温核磁氢谱 (¹H NMR) 研究了其在水溶液中的可逆再组装行为。不同于普通刺激响应性两嵌段在水溶液中由单分子链组装为纳米聚集体, 在温度低于温敏性聚(*N*-丙烯酰脯氨酸甲酯)嵌段 (A 嵌段) 浊点 (CP) 时, D₁₂-EA 两嵌段水溶液自组装形成粒径为 20 nm 的球形胶束; 而当温度高于 CP 时, 球形胶束能够可逆地再组装为粒径约 90 nm 的囊泡。变温 ¹H NMR 揭示了当温度高于 CP 时, A 嵌段由亲水壳层迁移至疏水核层, 从而使体系再组装为自由能更低的结构。

关键词:氨基酸; 丙烯酰脯氨酸甲酯; 温敏性; 十二烷基; 再组装

嵌段聚合物自组装在理论和实践方面均取得了丰富的成果, 对该领域浓厚的研究兴趣促进了其在药物传递、催化、组织工程等领域的广泛应用^[1~10]。通常, 组装结构与聚合物中疏水嵌段质量分数 (f) 有关, 当 $f \leq 35\%$ (wt) 时形成球形胶束, 而 $f \geq 65\%$ (wt) 时形成囊泡^[1~3]。如果嵌段聚合物含有刺激响应链段, 在外界刺激改变下响应链段由亲水变为疏水, 从而使 f 值增加, 因而体系会再组装为自由能更低的结构^[7~10]。例如, Grubbs 课题组^[7]合成了聚乙二醇-*b*-聚异丙基丙烯酸酯-*b*-聚异戊二烯三嵌段聚合物 (PEG-*b*-PNIPAM-*b*-PI), 该三嵌段室温组装为球形胶束, 而在 PNIPAM 浊点温度以上加热 4 周以后, 球形胶束能够再组装为囊泡, 作者将再组装耗时很长的原因归结为 PNIPAM 分子间的氢键。我们课题组^[8]以聚甲基丙烯酸二甲氨基乙酯为响应性嵌段, 实现了球状胶束到线性胶束、环状胶束以及囊泡的可逆再组装。盛力合成了 pH 响应性 ABC 三嵌段, 当溶液 pH 值高于聚赖氨酸 pK_a 时, 球形胶束能够再组装成盘状胶束^[10]。

嵌段聚合物通常采用可控自由基聚合技术制备, 理想状态下聚合物末端基团均来自引发剂或链转移剂残基^[11, 12]。末端基团对温敏聚合物浊点影响显著^[13, 14], 由于末端在聚合物中的质量分数很低, 其对自组装或再组装的影响常被忽略。近期研究发现含长链疏水末端基均聚物在水溶液中的自组装行为明显不同于两嵌段聚合物^[15~17]。例如, Davis 课题组^[15]利用含苄基的链转移剂 (CTA) 调控水溶性二甲基丙烯酸酯聚合, 所得均聚物在 f 值仅为 6% (wt) 时就形成了囊泡。

本文以聚乙二醇单甲醚 ($m\text{PEG}_{45}\text{-OH}$) 与 2-(十二烷基三硫代碳酸酯基)-2-甲基丙酸 (DDMAT) 反应制备了大分子链转移剂 ($m\text{PEG}_{45}\text{-DDMAT}$), 并以此调控 *N*-丙烯酰脯氨酸甲酯 (A-Pro-OMe) 的 RAFT 聚合, 制备了十二烷基末端聚乙二醇-*b*-聚(*N*-丙烯酰脯氨酸甲酯)两嵌段。选用含长链烷基的链转移剂是希望提供初次组装的驱动力并简化聚合物制备与纯化步骤; 选用聚(A-Pro-OMe)作为温敏链段是由于聚氨基酸类温敏材料兼具生物材料和智能材料的优点^[18~26], 而且其浊点和玻璃化温度均低于室温^[19], 且分子

10.14028/j.cnki.1003-3726.2018.02.005

收稿: 2017-07-18; 修回: 2017-11-21;

基金项目: 国家自然科学基金(21464001), 宁夏自然科学基金(NZ17099), 中国科学院 2014 年“西部之光”人才培养计划;

作者简介: 雒春辉(1982—), 男, 博士, 主要从事功能高分子的研究;

* 通讯联系人, E-mail: luochunhui@iccas.ac.cn.

中不含氢键给体,因此有利于再组装^[7, 8];选用 PEG 作为亲水链段是考虑其优异的水溶性与生物相容性。不同于普通刺激响应性两嵌段在水溶液中由单分子链组装为纳米聚集体^[5, 6],该两嵌段在室温水溶液中可以自发形成球形胶束,而升高温度至聚(A-Pro-OMe)浊点以上,球形胶束会迅速地再组装为囊泡。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

脯氨酸甲酯盐酸盐(上海吉尔生化公司),丙烯酰氯(阿拉丁试剂),聚乙二醇单甲醚(mPEG₄₅-OH)(Aldrich 公司),以上试剂均购买后直接使用。偶氮二异丁氰,国药集团化学试剂有限公司,甲醇重结晶后使用。二氯甲烷、四氢呋喃和正己烷经过高纯氮鼓泡除氧以及活性氧化铝干燥后使用。去离子水经 Millipore Milli-Q 纯水仪纯化后使用。

凝胶渗透色谱(GPC)采用 SSI 泵、Wyatt Optilab DSP 和 Wyatt DAWN EOS 光散射检测器,DMF (0.1g/l 溴化锂)为淋洗液,淋洗速度为 1mL/min,柱温 50℃,PS 标样作为标准进行分子量校正。氢核磁共振采用 Bruker AV300 FT-NMR spectrometer,升温氢谱时将样品在设定温度下恒温 15min 然后测量。UV-Vis 在 Shimadzu spectrophotometer 上进行程序控温的紫外-可见(UV-Vis)吸收光谱测定吸光度,吸收波长为 500nm,以纯净水为参比,升温速度 1℃/min。TEM 测试在日本 JEOL 2200FS 仪器上进行,将样品分散在碳支持膜的铜网上室温晾干。动态光散射(DLS)和静态光散射(LLS)使用 ALV/DLS/SLS-5022F 光散射仪,配有 ALV-5000 相关器,22mW UNIPHASE He-Ne 激光光源(波长 632.8nm),ALV/high QE APD avalanche diode 光纤光学检测系统。测量前用 0.45nm 的 PTFE 过滤除尘,将样品在设定温度下恒温 15min 然后测量,数据用 ALV Correlator Control 光散射软件处理。

1.2 聚合物的合成

单体 A-Pro-OMe^[19]以及大分子链转移剂 mPEG₄₅-DDMAT^[12]分别参考文献方法合成,并用¹H NMR 表征其结构。两嵌段的合成步骤如下:将 A-Pro-OMe (183mg, 1mmol)、mPEG₄₅-DDMAT (47.28mg, 0.02mmol)、AIBN(1.64mg, 0.01mmol)、搅拌磁子以及 2mL THF 加入聚合管中。除氧后真空封管于 60℃反应 24h 后,取微量样品进行核磁和 GPC 分析,转化率=88.9%;GPC ($M_n=8.0$ KDa, $M_w/M_n=1.10$)。聚合物溶液在过量乙醚中沉淀三次,收集固体并干燥得到嵌段聚合物 mPEG₄₅-*b*-poly(A-Pro-OMe)₄₄,为便于讨论下文用 D₁₂-EA 来代替两嵌段聚合物。

1.3 D₁₂-EA 两嵌段聚合物组装方法

D₁₂-EA 采用直接水合的方法组装,即将 10.0mg D₁₂-EA 溶于 10.0mL 去离子水中室温搅拌 24h 至澄清。对于温度诱导的再组装,将聚合物溶液除氧密封后,在设定温度下搅拌 2h。

2 结果与讨论

2.1 D₁₂-EA 的合成与表征

以 mPEG₄₅-DDMAT 为链转移剂调控单体 A-Pro-OMe 进行 RAFT 聚合得到了 D₁₂-EA 两嵌段,聚合结束后,在乙醚中反复沉淀以除去杂质,并真空干燥至恒重。图 1 是 mPEG₄₅-DDMAT 以及 D₁₂-EA 两嵌段的 GPC 曲线。与 mPEG₄₅-DDMAT 相比,D₁₂-EA 的流出时间减小,说明扩链成功。此外,聚合物具有对称的单峰,多角度光散射计算出的数均分子量为 8.0KDa, $M_w/M_n=1.10$,说明聚合可控。根据转化率(88.9%)以及单体与链转移剂的摩尔比($[M]_0/[CTA]_0=50$)计算可知,聚合度为 44,由此计算出其理论分子量为 10.4KDa,略高于 GPC 的测量值。

图 2 是单体 A-Pro-OMe、mPEG₄₅-DDMAT 大分子链转移剂以及 D₁₂-EA 两嵌段聚合物的¹H NMR 谱图。可以看出,单体 A-Pro-OMe 和链转移剂 mPEG₄₅-DDMAT 中各质子的特征峰以及积分面积与理论分析一致^[12, 19]。同时,D₁₂-EA 聚合物的谱图(见图 2C)中末端基里的亚甲基特征峰 *a*、大分子 CTA 里

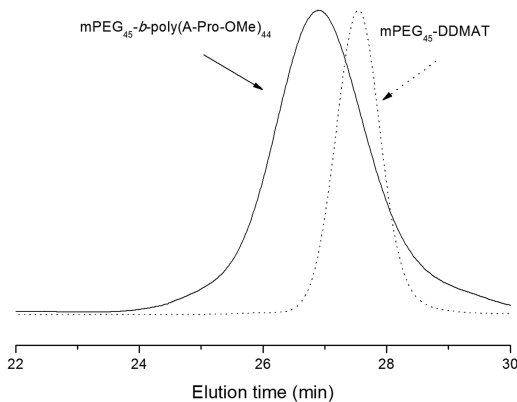


图 1 大分子链转移剂 $m\text{PEG}_{45}$ -DDMAT 以及 D_{12} -EA 两嵌段聚合物的 GPC 曲线(溶剂 DMF)

Figure 1 GPC curves of $m\text{PEG}_{45}$ -DDMAT(macro-CTA) and $m\text{PEG}_{45}$ -*b*-poly(A-Pro-OMe)₄₄ (D_{12} -EA) in DMF

乙二醇的特征峰 g 以及单体 A-Pro-OMe 的特征峰 c 均清晰可见,进一步说明聚合成功。此外,根据 g 与 c 积分面积(见图 2C)之比可以计算出单体 A-Pro-OMe 的聚合度为 45,而通过转化率计算的单体聚合度为 44,二者一致。

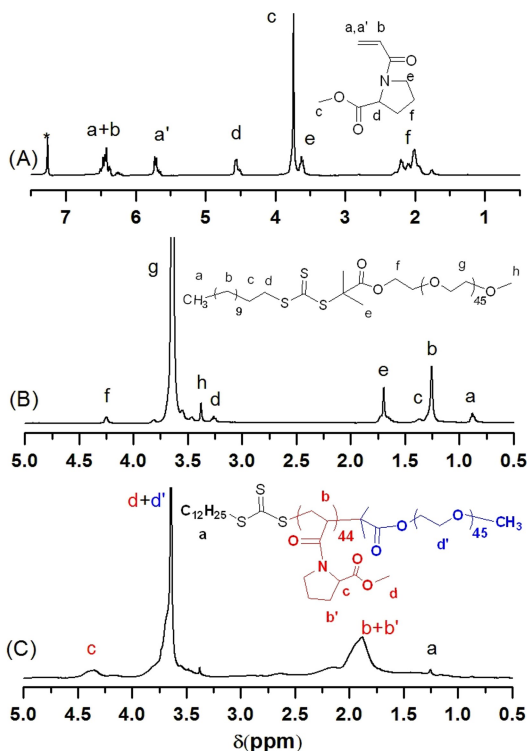


图 2 (A) N -丙烯酰脯氨酸甲酯单体、(B)大分子链转移剂 $m\text{PEG}_{45}$ -DDMAT, 以及(C) D_{12} -EA 两嵌段聚合物的氢核磁共振谱图(溶剂 CDCl_3)

Figure 2 ^1H NMR spectra of A-Pro-OMe (A), $m\text{PEG}_{45}$ -DDMAT (B) and D_{12} -EA (C) in CDCl_3

2.2 D_{12} -EA 水溶液性质

不同于含短链烷基末端基的刺激响应性两嵌段在水溶液中以单分子链形式存在^[5,6], Du 课题组发现含有 C_{12} 端基的水溶性聚合物在水溶液中的临界胶束浓度为 0.02mg/mL ^[16]。因此,将 D_{12} -EA 配制成

1.0mg/mL 的水溶液,采用动态光散射研究了其室温时的流体力学半径(R_h),实验结果如图 3A 所示。动态光散射表明,1mg/mL 的 D_{12} -EA 水溶液在室温时流体力学半径为 21nm,而单分子溶解状态的聚合物其流体力学半径通常小于 10nm^[6, 14],进一步说明 D_{12} -EA 形成了聚集体。内插图是在多个角度(30°、60°、90°、120°和 150°)的动态光散射结果,可以看出流体力学半径不随角度变化,说明聚集体是各向同性的结构^[27]。采用静态光散射与动态光散射相结合的方法研究聚集体形貌,其原理是均方旋转半径与流体力学半径的比值($\langle R_g \rangle / \langle R_h \rangle$)反映了高分子链段密度的分布以及对应的形貌。对于球形胶束其理论值为 0.77,而囊泡其理论值为 1.0^[5, 8, 27]。由静态光散射实验可以计算出均方旋转半径为 17nm,由此可知 $\langle R_g \rangle / \langle R_h \rangle$ 为 0.81,说明 D_{12} -EA 水溶液室温下为球形胶束^[5, 8, 27]。对于上述 D_{12} -EA 水溶液,TEM 进一步证实,室温时形成的是球形胶束(见图 3B),仔细测量可知,球形胶束的直径约等于 18nm,略小于动态光散射的结果。

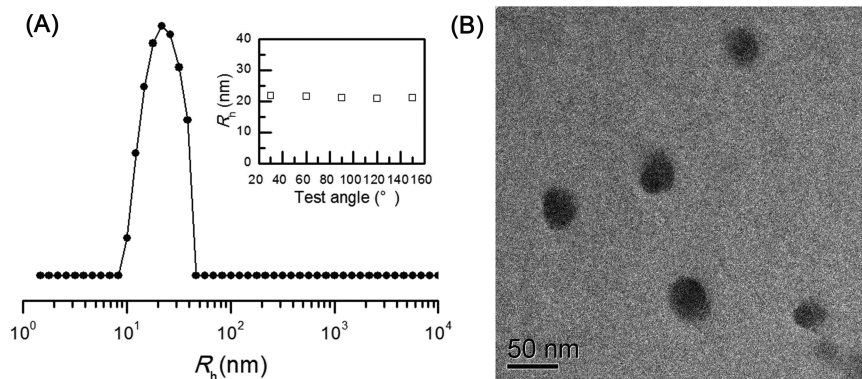


图 3 D_{12} -EA 两嵌段聚合物水溶液的(A)动态光散射以及(B)透射电镜图(浓度为 1mg/mL)

Figure 3 DLS results of D_{12} -EA aqueous solution at room temperature with concentration of 1mg/mL

2.3 D_{12} -EA 水溶液在温度诱导下的可逆再组装

采用浊度法跟踪了 D_{12} -EA 球形胶束水溶液透光率随温度的变化,实验结果如图 4 所示。可以看出:在温度低于 45℃时,透光率约为 96%,接近于参比物纯净水的数值(100%),而内插图也显示此时 D_{12} -EA 水溶液澄清透明。在 45~55℃内透光率急剧地从 96%降低至 30%,此时 D_{12} -EA 水溶液由澄清变为乳白色。此外,温度高于 55℃时,透光率逐渐降低并稳定在 20%,但未低至 0,这主要是由于 PEG 链段的存在使再组装取代了相分离过程^[7, 8]。冷却曲线显示,这一转变很快,而且不存在任何滞后现象,这主要源于 A-Pro-OMe 分子中只含氢键受体,不会形成分子间氢键^[19],这一特点有利于体系在温度升高时迅速地再组装为自由能更低的结构^[7]。

采用动态光散射研究了 D_{12} -EA 在温度诱导下的再组装过程,试验结果如图 5A 所示。可以看出:当温度低于浊点时,流体力学半径基本为 21nm,而散射光强在 5kHz 左右。而当温度升高至浊点 50℃时,流体力学半径急剧增大至 92nm,此时散射光强也由 5kHz 增加至 96kHz,散射光强度的增加是由聚集体的粒径增大引起的^[14, 22]。进一步升高温度至 55℃,流体力学半径稳定在 89nm。由静态光散射实验可知,在 55℃时均方旋转半径为 84nm,由此可知 $\langle R_g \rangle / \langle R_h \rangle$ 为 0.94,与囊泡的理论值接近^[5, 8, 27]。而将 D_{12} -EA 溶液冷却至 25℃后,其流体力学半径恢复至 20nm(见图 5B)。综上所述, D_{12} -EA 两嵌段在温度诱导下的再组装是完全可逆的。

进一步采用核磁研究了 D_{12} -EA 两嵌段在溶液中的再组装过程,结果如图 6 所示。可以看出:在 D_{12} -EA 良溶剂 $CDCl_3$ 中十二烷基及 PEG 和 poly(A-Pro-OMe)的特征峰(a, c, d)均清晰可见;而在选择性溶剂 D_2O 中,十二烷基的特征峰 a 消失,而 PEG 和 poly(A-Pro-OMe)嵌段的特征峰 c、d 清晰可见,说明此时疏水的十二烷基末端基形成了胶束核层,而 PEG 和 poly(A-Pro-OMe)一起构成胶束壳层;在 D_2O 中 55℃(高于浊点)恒温 15min 后,只有 PEG 的信号可见,说明此时 poly(A-Pro-OMe)由亲水的壳层迁

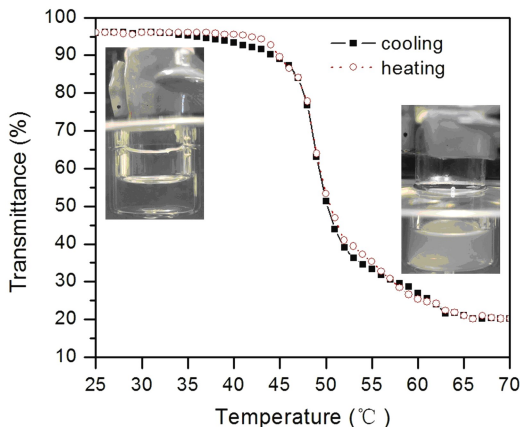


图 4 D_{12} -EA 两嵌段聚合物水溶液透光率随温度的变化(浓度为 1.0mg/mL,升温速率为 1.0°C/min)

Figure 4 Transmittances of D_{12} -EA aqueous solution upon heating and cooling
($c=1.0\text{mg/mL}$, heating rate=1.0°C/min)

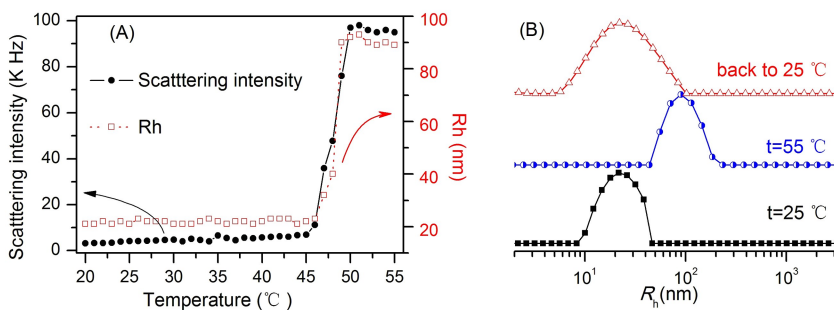


图 5 D_{12} -EA 两嵌段聚合物水溶液流体力学半径以及散射光强度随温度的变化(浓度为 1.0mg/mL,测试角度为 90°)

Figure 5 Radius and Scatter intensity of D_{12} -EA aqueous solution upon heating ($c=1.0\text{mg/mL}$, test angle=90°)

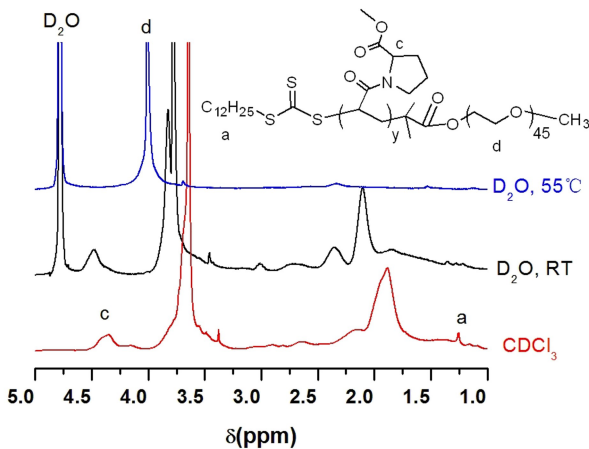


图 6 D_{12} -EA 两嵌段聚合物在不同溶剂中的氢核磁共振图

(A) $CDCl_3$; (B) D_2O , 室温; (C) D_2O , 55°C

Figure 6 ^1H NMR spectra of D_{12} -EA block in $CDCl_3$, D_2O at RT, and D_2O at 55°C

移至疏水的核层。

两亲性嵌段聚合物自组装的理论计算和实验结果均已证实,胶束稳态结构是成核聚合物链的构象

熵、胶束壳层链段的排斥力以及胶束核/壳层界面的表面张力达到平衡的结果^[1~3]。根据该理论并结合¹H NMR 实验可知,D₁₂-EA 两嵌段在水溶液中可逆再组装的机理如图 7 所示:在室温时 D₁₂-EA 倾向于形成以十二烷基为疏水内核的球形胶束,亲水的 PEG 和 poly(A-Pro-OMe)嵌段共同构成壳层。考虑到此时疏水部分的质量分数 f 仅为 2%,此时球形胶束自由能最低^[1~3, 16]。而当溶液温度高于浊点时,poly(A-Pro-OMe)嵌段由亲水变得疏水,导致胶束壳层排斥力减弱,此时 f 值达到 80%,因此球形胶束重排为自由能更低的囊泡^[3, 5, 8]。

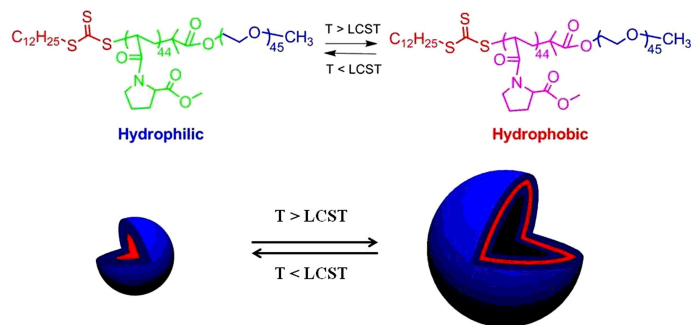


图 7 D₁₂-EA 两嵌段聚合物在水溶液中可逆再组装的机理

Figure 7 Scheme illustration of temperature-induced re-assembly of D₁₂-EA block aqueous solution

3 结论

采用 RAFT 聚合制备了含十二烷末端基的聚乙二醇-*b*-聚(*N*-丙烯酰脯氨酸甲酯)两嵌段聚合物 D₁₂-EA,利用 GPC 和¹H NMR 表征了聚合物的结构。结合浊度实验(UV-Vis)、动态光散射(DLS)、静态光散射(LLS)、TEM 以及核磁氢谱(¹H NMR)研究了 D₁₂-EA 两嵌段在水溶液中的可逆再组装行为。研究表明,D₁₂-EA 在水溶液中自组装为球形胶束,而当温度高于聚(*N*-丙烯酰脯氨酸甲酯)浊点时,球形胶束互相聚集融合再组装为囊泡,采用¹H NMR 分析了再组装过程的驱动力。许多生命过程均包含刺激响应机理,研究这一过程是自组装领域的热点之一。我们的实验结果为模拟这一过程提供了新思路,即利用末端基团提供初次组装的驱动力。此外,氨基酸温敏链段的引入有望使材料在手性分离、催化、生物医药等领域具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] Riess G. Prog Polym Sci, 2003, 28(7): 1107~1170.
- [2] Bates FS, Fredrickson G H. Annu Rev Phys Chem, 1990, 41(1): 525~557.
- [3] Jain S, Bates FS. Science, 2003, 300(5618): 460~464.
- [4] Li Z B, Kesselman E, Talmon Y, Hillmyer M A, Lodge T P. Science, 2004, 306(5693): 98~101.
- [5] Liu S Y, Billingham N C, Armes S P. Angew Chem Int Ed, 2001, 40(12): 2328~2331.
- [6] Luo C H, Liu Y, Li Z B. Macromolecules, 2010, 43(19): 8101~8108.
- [7] Sundaraman A, Stephan T, Grubbs R B. J Am Chem Soc, 2008, 130(37): 12264~12265.
- [8] Luo C H, Liu Y, Li Z B. Soft Matter, 2012, 8(9): 2618~2626.
- [9] Moughton A O, Patterson J P, O'Reilly R K. Chem Commun, 2010, 47(1): 355~357.
- [10] 盛力, 陈红, 符文鑫, 李志波. 高分子学报, 2015(8): 982~988.
- [11] Braunecker W A, Matyjaszewski K. Prog Polym Sci, 2007, 32: 93~146.
- [12] Moad G, Chong Y K, Postma A, Rizzardo E, Thang S H. Polymer, 2005, 46(19): 8458~8468.
- [13] Jiang X G, Zhao B. J Polym Sci, Part A: Polym Chem, 2007, 45(16): 3707~3721.
- [14] Luo C H, Zhao B, Li Z B. Polymer, 2012, 53(8): 1725~1732.
- [15] Xu J T, Tao L, Boyer C, Lowe A B, Davis T P. Macromolecules, 2010, 43(1): 20~24.

- [16] Du J Z, Willcock H, Patterson J P, Portman I, O'Reilly, R K. *Small*, 2011, 7(14): 2070~2080.
- [17] Zhou Y Q, Liu B Y, Wang X G. *Polymer*, 2016, 97(1): 1~10.
- [18] He C L, Zhuang X L, Tang Z H, Tian H Y, Chen X S. *Adv Healthcare Mate*, 2012, 1(1): 48~78.
- [19] Mori H, Iwaya H, Nagai A, Endo T. *Chem Commun*, 2005, 38(38): 4872~4874.
- [20] 卢汝烽, 胡继文, 张干伟, 肖定书. *高分子学报*, 2012, 53(3): 000239~249.
- [21] Luo C H, Fu W X, Li Z B, Zhao B. *Polymer*, 2016, 101: 319~327.
- [22] 雒春辉. *高分子学报*, 2016, (7): 925~930.
- [23] Yu D Y, Luo C H, Fu W X, Li Z B. *Polym Chem*, 2014, 5(15): 4561~4568.
- [24] 陈平, 符文鑫. *高分子学报*, 2015, (10): 1223~1230.
- [25] Zhang S S, Chen C Y, Li Z B. *Chin J Polym Sci*, 2013, 31(2): 201~210.
- [26] Shen Y, Fu X H, Fu W X, Li Z B. *Chem Soc Rev*, 2015, 44(3): 612~22.
- [27] Burchard W. *Adv Polym Sci*, 1983, 48: 1~124.

Reassembly of Poly(ethylene oxide)-*b*-poly(*N*-acryloyl-*L*-proline methyl ester) Diblock with Dodecyl Endgroup in Water

LUO Chun-hui^{*}, MIAN Zhi-peng

(*School of Chemistry and Chemical Engineering, North Minzu University, Yinchuan 750021, China*)

Abstract: A block copolymer, poly(ethylene oxide)-*b*-poly(*N*-acryloyl-*L*-proline methyl ester) short as D₁₂-EA, was prepared via RAFT polymerization using macromolecular chain transfer agent containing dodecyl endgroup, whose structure was characterized by GPC and ¹H NMR. The self-assembly of D₁₂-EA in water and the reassembly behavior upon variation of temperature was explored via a combination of UV-Vis, dynamic light scatter (DLS), static light scatter (SLS), TEM, and temperature-variable ¹H NMR. The D₁₂-EA formed spherical micelle in water with radius about 20 nm when solution temperature was below the cloud point (CP) of thermo-sensitive poly(*N*-acryloyl-*L*-proline methyl ester) (A block). However, it reversibly transformed into vesicle with radius around 90 nm when solution temperature was above CP of A block. As revealed by ¹H NMR spectra, the transition from sphere to vesicle was driven by the switch of A block from hydrophilic corona to hydrophobic core of micelle above CP to form aggregate with lower free energy.

Key words: Amino acid; *N*-Acryloyl-*L*-proline methyl ester; Thermo-sensitive; Dodecyl; Reassembly