

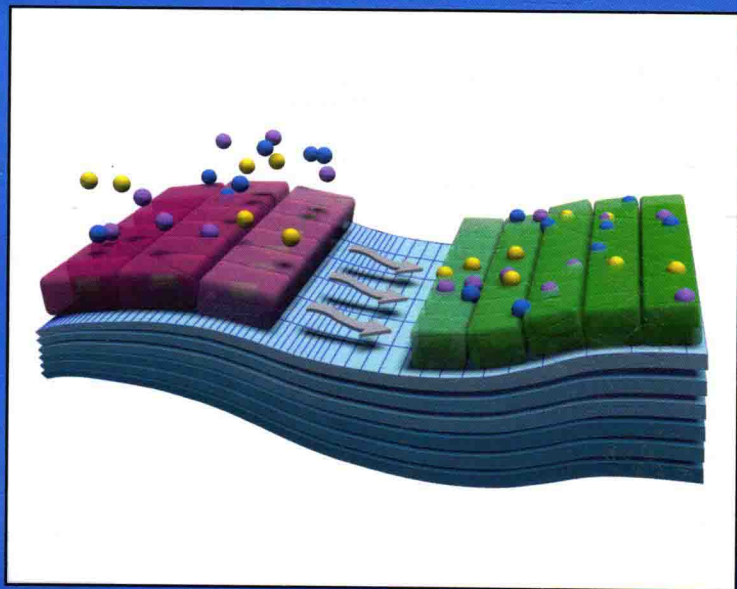
21世纪科学版化学专著系列

超分子层状结构

——界面及生物医学功能

沈家骢 计 剑 等著

GH



科学出版社

21 世纪科学版化学专著系列

超分子层状结构

——界面及生物学功能

沈家骢 计剑 等著

科学出版社

北京

内 容 简 介

超分子层状结构是自然界和生物体存在的重要结构,为构建模拟自然的天然层状结构和功能提供了丰富的启示。超分子层层组装是一种基于弱分子相互作用的层层组装技术,为制备各类功能超薄膜提供了丰富的手段。从 Decher 等提出该概念来,经过二十余年的发展,从经典的静电层状发展成为包含多种作用力、多层次组装基元和动静态多组装模式的强大薄膜制备技术。同时,由于该技术在构筑模拟层状仿生结构中的突出特点,近年来在生物医用领域显示出巨大的研究应用前景。

本书将以此为背景,在论述经典层层组装基本原理和方法学拓展的基础上,结合层层组装在近十年中的进展,论述层层组装在多层膜快速增长,多元微纳复合结构的构造及自修复和自愈合功能构筑等领域的最新成果。并进一步结合层层组装在解决生物医用界面重大科学问题的潜力,阐述该方法在包括组织再生、药物和基因传递及仿生结构模拟领域的进展和发展潜力。

本书可供从事高分子科学、生物医用材料、胶体和界面科学及超分子化学等相关领域的科研人员及研究生阅读和参考。

图书在版编目(CIP)数据

超分子层状结构:界面及生物医学功能/沈家骢,计剑等著. —北京:科学出版社,2016.5

(21世纪科学版化学专著系列)

ISBN 978-7-03-047806-1

I.①超… II.①沈…②计… III.①分子生物学—层状结构—研究 IV.①Q7

中国版本图书馆CIP数据核字(2016)第056090号

责任编辑:周巧龙/责任校对:张小霞

责任印制:肖兴/封面设计:铭轩堂

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016年5月第 一 版 开本:720×1000 1/16

2016年5月第 一 次印刷 印张:20

字数:400 000

定价:138.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

有序的有机薄膜、膜组织及膜器件的研究一直是人们关注的重点。有序膜不仅容易表征，结构与功能容易调节，而且在不同体系中，特别是生物或仿生体系中表现出如运输、分离、控释及开关等独特功能。迄今为止有两个模型体系可作为研发的参照或起点：一是LB膜；一是层层组装膜。这两者有共同特点，均是在固体基片上，从液相（溶液或悬浮液）中靠分子间作用力多次重复浸润-拉出工艺（相当于层层沉积），可在基片上覆盖（制得）几层或多层有序薄膜。其中，层层组制备过程更简单，适用基材广，并可通过多种组装基元和多种超分子组装的驱动力等参数的调控和组合，衍生出众多的超分子组装结构（如微纳有序结构，多元仿生结构）和功能（如自修复，自愈合功能）的调控方法，因此发展成为最有潜力的界面可控制备、修饰技术和各种多层复合膜产品制备技术。

我们在2003年出版了一本超分子层状结构的专著，讨论了层层组装结构与功能的方方面面。十多年来层层组装及组装体的研究有了长足进展，并开启了实用化进程，生物医用材料方面的研发或许是走向实用化过程的突破口与有效的通道。十多年来我们对层层组装膜有了一些新的理解与认识：①层层组装膜是超分子组装体中最简单的体系，可以用各种超分子作用进行组装，新的作用力与组装方式层出不穷，因此新的超分子结构也层出不穷，值得关注。②在各种超分子力中，静电作用力是一种各向同性的较强的作用力，以静电力为主的组装体系中，离子强度及pH极大地影响作用基团的解离与缔合平衡，在接近中性的条件下，在层间启动分子扩散机制，强烈影响层状结构与组装过程，从而使层状膜与组装具有动态性质，表现在组装过程呈现出指数增长的规律，层状结构厚度从纳米过渡到微米，而平面均匀结构转化为明显的微纳结构，并可能带来自愈合和自修复等动态功能。③传统层层组装从纳米级层累积成有足够强度、特定功能的微米级薄膜，需要几十次反复的组装技术。为实现功能膜的快速制备，以有机微粒、聚合物复合物为一个组分的厚膜技术应运而生，只需要几次组装就能达微米级的薄膜，从超薄膜到厚膜的进展可带来多功能协调及缓释等功能。④层层组装在基底上进行，其最终产品是多层膜与基底的复合物，或形成特定基底的修饰层，有多方面的用途。若剥离基底制得无支持的或称为自支持多层膜，可制成包括薄膜支架等多种形式的自支持多层功能膜，充分发挥多层膜的双面功能，实现分离、传感及其他功能等，层层组装因此可望发展成新的功能膜制备技术。但层层组装及其组装体要走向实用化，还有待于进一步的研究与发展。

现代医学及诊疗技术的发展，直接关系到人们疑难病症的诊治、生活品质的提升、平均寿命的延长，直接带动着新兴学科及多学科的深度交叉与融合。重大的需求催生了巨大的商机，并已形成国际社会中重要的支柱产业。这些进展为生物医学材料，尤其是超分子层状结构材料带来了机遇与挑战。发挥超分子层状结构的优势，关注材料中多相复合体系的特征，有两个问题值得关注：①生物医学功能的主体是生命体，与生命活动规律紧紧相联系的细胞生物学告诉我们，生命活动规律主要应该从细胞本身去探索。生物医学材料体系中引入细胞、干细胞及其赖以生存的环境如活化因子、信号系统等，有利于组织或器官修复、再生及新的替代物的重构。②生物医学功能要有载体，简而言之就是界面或表面。界面承载着细胞的黏附、迁移、活化、分化及代谢等功能，成为细胞诱导再生的界面；界面也承载着抗菌、抗凝血、缓释传递和识别等功能，可作为多功能界面及诊疗一体化芯片；界面还可作为有机材料与无机材料的接口、有生命特征的材料与无生命特征的材料接口、各种复合技术的接口。当然，基于生命体的复杂性，将层层组装与细胞生物技术、界面、支架技术进一步整合起来，建立面对特殊功能及组装体的复合技术研发工作，还有很长的路要走。

本书定名为《超分子层状结构——界面及生物医学功能》，第1章为层层组装及动态膜的构筑；第2章与第3章为层状结构研究的进展，如快速组装与厚膜技术、有序及图案化高分子复合膜；第4章介绍用单分子力谱的方法研究超分子力的作用方式、强度与组装的形成；第5~8章主要叙述层状结构与细胞结合的特征、药物与活性物质控释过程、细胞外基质与血管组织的再生等；第9章着重介绍中空胶囊作为多种功能载体和细胞模拟体在传输过程中的动态结构与拓扑结构变化。这些研究凝聚了过去十多年以来吉林大学超分子结构与材料国家重点实验室多位研究者的工作积累，以及浙江大学生物医用大分子研究所多位研究者对层层组装在生物医用领域的应用探索成果。本书编著方式仍采用分章节多人执笔的模式，以执笔者为代表的导师与研究生的研究成果为主，兼收同时期本领域各家之精华。并请浙江大学生物医用大分子研究所的计剑教授作为总联系人，对全书进行校正。本书可推荐给从事化学、生物医学材料、医学及转化医学研究工作者与研究生参考，敬请国内外同行赐教。

计剑

2015年12月于浙江大学

目 录

前言

第 1 章 层层组装及动态特征	1
1.1 背景	1
1.2 层层组装方法的产生与发展	2
1.3 聚电解质层层组装的动态特性	4
1.3.1 聚电解质多层膜的环境依赖性	4
1.3.2 具有刺激响应功能的层层组装多层膜	7
1.3.3 聚电解质分子链动态扩散和层层组装多层膜指数增长	14
1.4 层层组装构筑动态智能仿生薄膜的进展	20
1.4.1 层层组装多层膜的界面微纳仿生构筑	20
1.4.2 层层组装多层膜的动态自愈合功能	23
1.4.3 层层组装多层膜内生物活性物质的动态负载与释放	25
1.4.4 层层组装构建动态仿细胞外基质界面	26
参考文献	31
第 2 章 快速组装与厚膜技术	39
2.1 引言	39
2.2 层层组装膜的快速构筑方法	40
2.2.1 旋涂-层层组装	40
2.2.2 喷涂-层层组装	43
2.2.3 指数增长的层层组装	47
2.2.4 聚合物复合物的层层组装	49
2.3 快速构筑的功能性层层组装厚膜	59
2.3.1 高负载量的层层组装厚膜	59
2.3.2 高机械性能的层层组装厚膜	62
2.3.3 智能型层层组装自支持膜	65
2.4 结论与展望	69
参考文献	70
第 3 章 有序及图案化高分子复合膜	74
3.1 图案化高分子复合膜的研究进展	74
3.2 高分子复合膜的制备方法 & 图案化方法	75

3.2.1 高分子复合膜的制备方法	75
3.2.2 高分子复合膜的图案化方法	78
3.3 二维多级图案化高分子复合膜的制备	82
3.3.1 仿生非紧密堆积的胶体晶体阵列的制备方法	83
3.3.2 二维多级图案化聚合物刷复合膜的制备与光学性质调控	84
3.4 有序及图案化高分子复合膜的功能性研究	90
3.4.1 图案化高分子复合膜用于减反射、增透、表面亲疏水性性质调控	90
3.4.2 图案化聚合物刷复合膜作为智能基底调节生物细胞黏附生长行为	96
3.4.3 图案化高分子复合膜作为传感器	101
3.5 高分子复合膜从一维到三维的有序构筑	104
3.5.1 多层复合膜体系——一维光子晶体	105
3.5.2 有机/无机杂化智能一维光子晶体复合膜在可视检测上的应用	106
3.5.3 图案化多层高分子复合膜——向三维结构迈进	110
3.6 结论与展望	113
参考文献	114
第4章 单分子力谱与超分子结构	119
4.1 分子间相互作用的定量检测	120
4.1.1 DNA与小分子的嵌入作用	120
4.1.2 π - π 相互作用	122
4.1.3 电荷转移相互作用	124
4.1.4 SSB与单链DNA相互作用	124
4.1.5 巯基-金相互作用	126
4.1.6 分子马达	127
4.1.7 高分子界面吸附	129
4.1.8 超分子聚合物的表征	133
4.2 基于聚合物力学指纹谱的超分子相互作用检测	134
4.2.1 双链DNA力学指纹谱	134
4.2.2 蛋白质解折叠力学指纹谱	138
4.3 超分子组装体中相互作用研究	141
4.3.1 合成超分子组装体中相互作用研究	141
4.3.2 生物超分子组装体中分子间相互作用研究	146
4.4 纳米可控组装与功能材料	149
4.4.1 纳米可控组装	149
4.4.2 从蛋白质单分子力谱到生物材料	154
4.5 结论与展望	156
参考文献	156

第 5 章 层层组装与药物控释	160
5.1 引言	160
5.2 层层组装构建药物控释涂层材料的方法	161
5.2.1 药物分子直接组装制备药物控释涂层	161
5.2.2 基于药物分子扩散功能制备药物控释涂层	164
5.2.3 通过大分子前体药物组装制备药物控释涂层	165
5.2.4 将超分子预组装和层层组装结合制备药物控释涂层	165
5.3 层状多层膜药物涂层的控释行为	171
5.3.1 基于多层膜结构调控的药物控释行为	171
5.3.2 基于多层膜刺激响应特点的药物控释行为	175
5.4 多层膜药物控释功能涂层的研究	179
5.4.1 多层膜抗菌功能涂层	180
5.4.2 基因传递功能涂层的研究	183
5.5 结论与展望	184
参考文献	185
第 6 章 多层膜理化性质调控及细胞响应	192
6.1 引言	192
6.2 多层膜化学结构的调控及细胞响应	193
6.2.1 本体化学组成	193
6.2.2 表面化学组成	197
6.3 物理性质的影响	200
6.3.1 机械性质	200
6.3.2 拓扑形貌	206
6.4 多层膜图案化及细胞响应	207
6.4.1 自组装多层膜的图案化	207
6.4.2 梯度多层膜	212
6.5 结论与展望	213
参考文献	214
第 7 章 层层组装: 细胞和组织再生微环境仿生构筑的新手段	222
7.1 细胞外基质与组织再生微环境	222
7.2 层层组装固定细胞外基质分子	223
7.2.1 细胞外基质分子的生物性能	223
7.2.2 细胞外基质分子多层膜	224
7.2.3 细胞生长因子的活性负载与固定	227
7.2.4 细胞外基质分子修饰多层膜	230
7.3 层层组装多层膜模拟细胞外基质物理机械性能的研究	232
7.3.1 细胞外基质物理机械性能对细胞功能的影响	232

7.3.2 层层组装多层膜硬度调控细胞功能的研究	233
7.3.3 层层组装多层膜硬度与其他因素协同调控细胞功能的研究	237
7.4 层状生物制造：从二维到三维细胞结构的构造策略	238
7.4.1 研究三维细胞结构的意义	238
7.4.2 层状生物的构造策略	239
7.5 结论与展望	241
参考文献	242
第8章 层层组装与血管再生	248
8.1 心血管医用材料的研究现状	248
8.2 血管的层状结构和仿生学依据	249
8.3 生物分子层状仿生固定：从抗凝血到多分子协同功能界面	252
8.4 生物分子层状膜区域控释：从药物、活性因子到基因策略	253
8.5 多层膜区域物理机械性能	256
8.6 层状超薄膜在心血管细胞片技术中的应用	257
8.7 层状超薄膜作为心血管冠脉支架多功能涂层的研究：从体外到体内	261
8.8 结论与展望	264
参考文献	264
第9章 层层组装微胶囊的制备及其生物医学应用	268
9.1 绪论	268
9.2 LBL 组装多层膜微胶囊的新制备方法	269
9.2.1 基于氢键作用的多层膜微胶囊的交联	269
9.2.2 基于共价键作用的微胶囊	271
9.2.3 基于生物特异性相互作用的微胶囊	273
9.3 通过 LBL 组装的衍生方法提高微胶囊的制备速度和规模	275
9.3.1 可控沉积	276
9.3.2 核诱导的聚电解质原位沉积	276
9.3.3 模板表面聚合	277
9.3.4 多孔模板的渗透和交联	278
9.4 具有多室结构的微胶囊	279
9.5 微胶囊的形状转变	280
9.6 生物医学应用	282
9.6.1 药物载体	282
9.6.2 生物传感器	287
9.6.3 生物反应器	290
9.7 结论与展望	293
参考文献	294
索引	306

第1章 层层组装及动态特征

计 剑 沈家骢

1.1 背 景

在化学、物理学、材料学和相关工程科学不断相互交叉和促进的过程中，形成了合成材料的高速发展，并成为现代科学技术的基石。然而，与自然界中生命体经过亿万年进化而形成的天然生物材料相比，合成材料在结构和功能上依然具有很大的差别。首先，与多数合成材料相对单一无序的结构相比，天然生物材料采用有序的复合结构形成了许多令人羡慕的功能。例如，贝类可在常温下通过磷酸钙材料在蛋白质模板上层状有序生长，获得具有高强度、高韧性的层状有机-无机复合材料（贝壳）^[1]。其次，天然生物材料能够通过动态结构和过程，对环境的变化进行调整，具有刺激响应和自我修复功能^[2]。寻求一种模拟天然生物材料有序复合结构和动态响应功能的材料制备方法，可以为设计和制造具有智能仿生功能的材料提供崭新的途径。

具有动态智能仿生特点的有机超薄膜是其中最为活跃的领域之一。人们通过各种手段从宏观、微观和分子各个层次开始对有机超薄膜的有序结构和动态仿生功能进行研究。在这一过程中，产生了包括LB膜^[3]、自组装单分子膜^[4, 5]等一系列精确的界面有序组装技术，可从分子层次实现超薄膜分子的有序调控。但是，这些技术很难实现大规模薄膜的制备，无法实现工业设计与制造。而传统的可工业实现的涂层技术却无法实现有序结构的调控。寻求一种结合两者优势的超薄膜制造技术是该领域发展的关键。

另外，人类对健康和生命质量要求的不断提升，对于实现疾病诊断治疗和组织器官再生或重建的生物医用功能材料及器械提出了重大需求。据世界卫生组织的统计，目前生物医用材料和器械的使用，每年可多挽救500万人的生命，提高5000万人的生活质量，并在世界范围内形成一个超过4500亿美元的朝阳产业。然而，目前绝大多数生物医用材料都是从传统的非生命材料衍生而来，与具有动态自适应的高选择性生命体系存在巨大的差别。这种差别会直接导致现有生物医用材料在生物相容性和生物功能性上的巨大问题。如何向生命体学习，并通过材

科学和工程学手段，构筑具有动态智能仿生特点的新型功能材料，既是生物医用材料和器械发展中的重大挑战，也同时为我们在生物医用材料领域实现创新提供巨大机遇和空间。

1.2 层层组装方法的产生与发展

早在 1966 年，Iler^[6] 等就报道了通过交替吸附原理制备超薄膜的方法。然而，由于缺乏对纳米尺度结构的表征方法，这一概念被忽视了近二十年。直到 Decher 等^[7-9] 系统研究并完善了一种由带相反电荷的聚电解质在液 / 固界面通过静电作用交替沉积制备多层膜的技术，从而开启了自组装聚电解质多层膜 (polyelectrolyte multilayer) 构建和功能化研究的新纪元。如图 1-1 所示，这种静电自组装技术十分简单，将表面带正电荷的基片浸入含有带负电荷的聚电解质溶液中，静置一段时间，取出清洗去掉吸附不牢的聚电解质，再浸到带正电荷的聚电解质溶液中，然后清洗，循环以上过程，就可以制得多层膜。每次组装过程中电荷的过度补偿和多层膜表面电荷逆转是层层组装得以实现的关键因素^[10, 11]。从更深层次的热力学角度理解，在基于静电力作用的层层组装过程中，大分子链释放带相反电荷的小分子时产生的熵增益是驱动层层组装过程持续进行的最终驱动力^[12, 13]。目

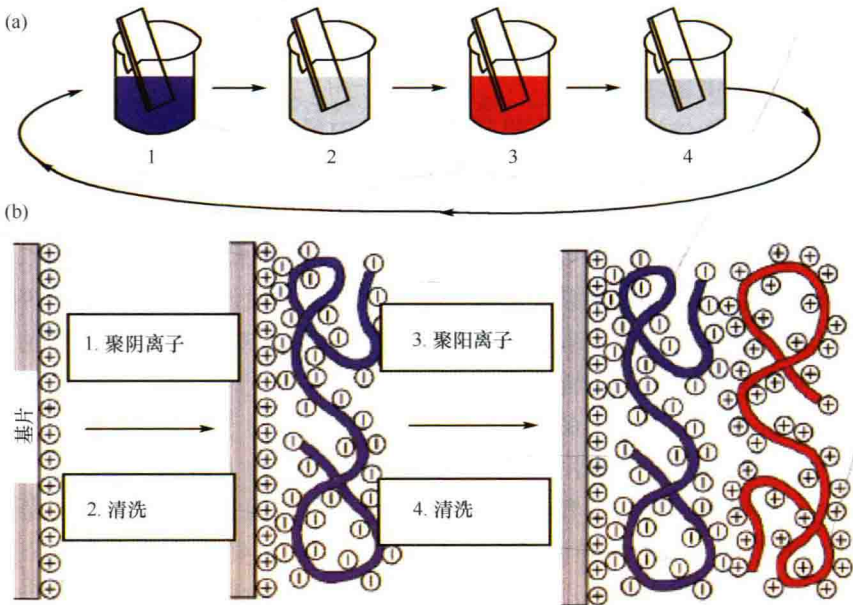


图 1-1 聚电解质层层组装的原理图。(a) 聚电解质层层组装步骤；(b) 聚电解质层层组装原理^[9]

前, 层层组装多层膜增长的驱动力已经从最初的静电作用扩展到氢键^[14, 15]、配位键^[16]、共价键^[17, 18]、主客体作用^[19]和分子识别作用^[20]等。事实上, 层层组装只需要至少两个相互作用的基元 A 和 B, 在表面交替涂覆时, B 上的作用基团不会完全被表面上 A 的基团抵消, 而是会产生过度补偿的 B 基元上的新的作用基团, 这种通过交替沉积而实现超薄膜生长的过程就会不断进行。对基于静电组装而言这种过度补偿就是电荷的过度补偿, 当聚阳离子不仅中和表面吸附聚阴离子的负电荷, 而且带来更多的正电荷时, 就又可以为下一次聚阴离子的组装提供基础。事实上, 这种过度补偿的过程, 对于带有多作用基团的组装基元是十分普遍的, 因此可以实现这种组装的基元也是十分普遍的, 包括合成聚电解质、蛋白质、DNA、纳米微粒、胶束囊泡、天然黏土、石墨烯等碳材料, 甚至病毒和细胞都可以通过层层组装, 为超薄膜的功能构筑提供丰富的手段。

与其他的分子界面技术不同, 层层组装可采用许多可工业实现的技术实现, 尽管最初采用的交替浸涂技术也可简易地实现大面积样品的制备, 但耗时较长。通过另两种更快速的可工业实现的旋涂、浸涂技术和层层组装原理相结合, 并结合层层组装基元的复合设计, 人们发展了更为快速的层层组装技术, 为层状膜的快速制备提供了有效方法(在本书第 2 章集中论述)。与此同时, 由于层层组装从本质上是由分子间相互作用驱动的微组装技术, 可以在具有任何复杂形状的基材, 包括平面、纤维、微粒、图案化表面及多孔三维材料和复杂形状的机械上实现超薄膜的物理化学性质的精确控制^[21]。由于层层组装是一种模板组装技术, 因此在组装完成后, 还可以通过对模板的脱除, 获得自支持超薄膜。当模板为球形微粒时, 这种特殊的自支持超薄膜可成为具有封闭结构的微胶囊, 为物质传递和空间受限反应提供特殊的可能(在本书第 8 章集中论述)。

基于以上特点, 层层组装原理和技术已在包括光学^[22]、能源^[23]、生物材料表面修饰^[24, 25]、基因和药物控释^[26, 27]、分离^[28]、传感器^[29, 30]等研究领域, 成为最有前景的可最终工业实现的超薄膜制备技术。本书将主要在论述层层组装基本特性后, 集中论述其在生物仿生医用材料领域中的特点。

事实上在生物医用材料领域, 在对生命体中使用传统合成材料问题的不断分析过程中, 人们也开始认识到, 如何制备模拟生命体的有序复合结构和动态演化功能, 制备具有对环境刺激响应和自我修复再生的材料, 是生物医用材料发展的必然趋势。

在由层层组装构筑的超薄膜中, 除去少部分采用共价键合为动力的超薄膜, 绝大多数依然是采用弱相互作用为驱动力的超分子超薄膜。尽管早期的研究更集中在对多层膜稳定性和层状有序结构的研究中, 然而由于弱相互作用的特点, 这类超薄膜的动态性能是与生俱来的。即使在 Decher 最早报道层状多层膜的论述中, 也用了“模糊(fuzzy)”的组装来描述这种层层组装的动态特性^[9]。而随着层层组装技术的不断发展和创新, 充分认识层层组装的动态特性, 并由此开发

具有刺激响应、自我修复和动态演变的智能超薄膜材料已成为其重要的领域和方向。本章将集中针对基于静电组装的超薄膜发展和动态性能研究,论述层层组装在动态智能仿生超薄膜构筑中的进展。首先论述影响层层组装动态特性的基本因素,然后综述如何通过对这些因素的调控获得具有刺激响应功能的超薄膜材料,并进一步结合应用论述层层组装多层膜在实现构筑动态仿生智能超薄膜材料中的特点。

1.3 聚电解质层层组装的动态特性

聚电解质层层组装弱相互作用的基本特点决定了层状多层膜在组装过程中和成膜后具有强烈的环境依赖性,表现出对环境温度、pH、离子强度等因素变化的动态特性。而丰富的组装基元,又提供了通过分子设计引入对光、电、磁等可控外部因素的手段,可进一步强化层状多层膜的动态性能,构建具有刺激响应功能的智能超薄膜。进一步的研究显示,在含弱电解质的层状多层膜中,聚电解质链本身都可能是动态的,在组装过程中和成膜后,均可以实现在多层膜内的动态扩散行为,从这一角度层状多层膜可被看成一个“流动”的动态固体膜。基于以上三个层次的动态特性,使层状多层膜更接近于天然生物材料,在构筑仿生界面材料上体现出独特的优势。

1.3.1 聚电解质多层膜的环境依赖性

在以静电作用为驱动力的聚电解质层层组装中,显然任何改变电荷平衡的物理、化学及生物因素均会直接改变多层膜组装行为和功能特性。大量的研究表明,层层组装多层膜的厚度、表面形貌和本体结构等都可通过调节组装溶液的各项参数(如离子强度^[31, 32]、pH^[33, 34]),采用不同组装方法^[35, 36]以及组装后处理^[34, 37]等方式进行调控,并且多层膜的基本性质也始终随着环境的动态变化而变化。

以离子强度的影响为例,当强聚电解质溶液中不存在或者存在少量盐时,聚电解质链上的同种电荷存在静电排斥,因此,聚电解质链几乎完全伸展,呈棒状构象,就会得到较薄的多层膜。而当溶液中存在大量盐时,这些反离子部分屏蔽了聚电解质链上的电荷,聚电解质链形成了无规卷曲构象,被吸附到基材上的聚电解质仍保持或者部分保持其在溶液中的构象,那么得到的膜就会很厚。例如,Ramos等^[38]报道了离子强度对聚二甲基丙烯基氯化铵/聚苯乙烯磺酸钠(PDDA/PSS)多层膜含水量的影响。以PDDA为最外层的多层膜,置于NaCl溶液中后,膜层会迅速失去高达50%的水分而收缩,膜厚由300 nm减少至100 nm,而以

PSS 为最外层的多层膜基本不受离子强度的影响。多层膜厚度受离子强度的影响能用作纳米反应器或者保护器, 该体系最大的优势在于: 组装过程简单, 适应于任何基底得到的涂层, 只需在最外层加上一层 PSS 就能终止反应。我们^[32]也报道了聚赖氨酸 / 脱氧核糖核酸 (PLL/DNA) 超薄膜在不同盐离子浓度溶液中的解组装及 DNA 释放行为。当 PLL/DNA 超薄膜浸泡在 0.5 mol/L NaCl 溶液中 12 h 时, 只有 6.25% 的 DNA 减少; 当溶液离子浓度达到 1.5 mol/L 时, 只有很少量的 DNA 可以检测到, 说明超薄膜几乎完全解组装。原因是当溶液中的离子浓度过高时, 溶液中的离子能够攻击并有可能破坏 PLL 与 DNA 分子之间的作用力, 导致超薄膜的破坏。离子强度也能调控基底表面的硬度^[39], 从而影响链球菌的生长。

相对于强聚电解质多层膜而言, 弱聚电解质多层膜性能的可调控性更强, 从而逐渐成为多层膜研究的热点^[33, 34, 37, 40-44]。由于弱聚电解质的 pH 敏感性, 通过简单的 pH 调节就能够控制链的电荷密度, 而聚电解质的电荷密度会影响它的溶液行为, 决定聚电解质发生吸附时所采取的构象^[45-48]。这也就意味着通过有目的地调节一种或者两种聚电解质的 pH, 就可以有选择地控制多层膜内部和表面的组分以及其他物理性质。

Rubner 小组首先系统研究了组装溶液的 pH 对线性增长的聚烯丙基胺 / 聚丙烯酸 (PAH/PAA) 多层膜组装行为的影响^[33]。他们发现溶液 pH 的细微变化就能导致多层膜厚度的较大改变^[40], 如图 1-2 所示, 当 PAH 的 pH 从 7.5 变成 8.5 时, PAH/PAA 单个双层的膜厚可以从几个埃增加到 140 Å。从图 1-2 中还可以看出, 在 pH 2.5 ~ 9 的范围内, PAA 的 pH 对膜厚的影响比较大, 在 PAA 的 pH 小于 5 时单个双层膜厚普遍较大, 而 PAH 仅在 pH 为 8.5 或更大的时候才会对膜厚有较大影响。pH 对多层膜膜厚的调节主要是通过改变溶液中聚电解质的电离度和分子构象来实现的^[40, 49]。当 PAA 溶液 ($pK_a=6.5$) 的 pH 小于 5 时, PAA 的电离度小于 10%, 聚合物链上电荷量大大减少, 分子呈卷曲结构, 因而需要更多量的 PAA 才能完成对多层膜表面电荷的补偿并实现电荷的逆转。而 PAH 溶液的 pK_a 值大约为 9, 仅当溶液 pH 接近或者大于 9 时才会使得 PAH 的电离程度和分子构象发生较大的变化, 从而对多层膜厚度的增强产生较大贡献。可见, 调节聚电解质溶液的 pH 接近其 pK_a 能够在很大程度上改变组装得到的多层膜的厚度。

弱聚电解质多层膜在组装过程中存在很大的层间穿插现象, 穿插程度与两种聚电解质层的相对厚度有关。因此, 通过控制这种穿插程度可以控制多层膜的表面组分以及润湿性^[33, 40]。当 pH 较低时, PAA 的离子化程度较低, PAA 链采取卷曲构象, PAA 层的厚度较大, 而 PAH 的离子化程度较高, 采用伸展构象, PAH 层较薄。以最外层为 PAA 为例, 在组装的过程中, 内层的 PAH 不易穿插到外层的 PAA 层。相反, PAA 却很容易穿插到 PAH 层中。这样就能够得到富集 PAA 的多层膜, 得到的多层膜相对亲水。当 pH 较高时, 多层膜内和表面 PAH 的含量相对较高。而当溶液的 pH 为中性时, PAA 和 PAH 的含量旗鼓相当。

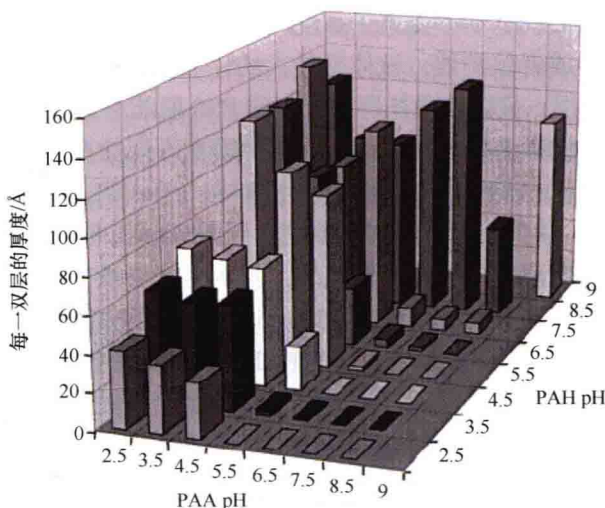


图 1-2 PAH/PAA 多层膜平均每一双层的厚度与两种浸涂组装溶液 pH 之间的关系^[39]

另外，通过控制聚电解质溶液的 pH，可以调节多层膜的离子交联程度，控制多层膜的溶胀度（swellability）^[34, 44, 47, 48]，从而可以进一步控制多层膜的弹性模量。当用高度离子化的聚电解质组装多层膜时，聚电解质之间的离子交联度较高，当多层膜置于水溶液中时多层膜的溶胀度较低，多层膜的弹性模量就比较高。反之，多层膜的溶胀度越高，弹性模量越低。

不但聚电解质溶液的 pH 对多层膜性能影响很大，多层膜后处理溶液的 pH 对多层膜的性能也有很大的影响。特别对于弱聚电解质构建的多层膜而言，pH 的变化能调控多层膜的大幅度溶胀，如 Hammond 等^[50] 研究发现将不同双层的干态聚烯丙基胺 / 磺化聚苯乙烯（PAH/SPS）多层膜置于 pH 5.5 ~ 6.0 的二次水中时，1 min 内多层膜溶胀幅度在 24% ~ 63% 之间，而将其再置于 pH 小于 4.0 的水环境条件下 15 min，与干态时厚度相比，其溶胀幅度在 833% ~ 983% 之间，与湿态时厚度相比，溶胀幅度高达 500% ~ 685%。究其原因，pH 4.0 是多层膜内聚电解质 PAH 的 pK_a 值，pH 的变化急剧改变了膜内的电荷比，一方面导致大量对离子如 OH^- 、 Cl^- 等进入膜内以维持电荷平衡，另一方面水进入膜内以维持渗透压的平衡，最终导致多层膜的大幅溶胀，且这一过程是可逆的。对多层膜进行酸处理，可以得到纳米或者微米孔形貌^[34, 51]，如对 PAA/PAH 多层膜，结合两步酸处理可以得到梳状结构的较大微孔形貌^[47]。这种纳米或者微米孔的形成被归因于 pH 诱导的分子链间的离子键断裂和重组。Rubner 小组已经将这种孔结构应用于抗反射涂层^[52]、布拉格反射镜（Bragg reflectors）^[51]、药物释放涂层^[53] 以及超疏水表面^[54] 的构建。

利用多层膜对 pH 的依赖性，还可以设计 pH 刺激响应释放的药物传递体系。

由于在不同 pH 下, 多层膜中的弱聚电解质的带电量往往不同, 而这导致膜内分子间正负电荷作用力的不同。对小分子药物而言, 意味着可与小分子药物结合的电荷量会随 pH 的改变而改变。如 Rubner 等^[55]在 2002 年首先研究了这种释放机理, 他们发现, 将相同条件下组装得到的装载有小分子染料亚甲基蓝 (MB) 的 PAA/PAH 多层膜置于不同 pH 的溶液中, 其染料释放速率和相同时间内的释放曲线不完全相同, 这是因为, pH 变化导致多层膜组分之间的作用力增强, 小分子药物与多层膜之间的作用力就会相应地减弱, 其释放速率也就随之增加, 相反, 由于 pH 的变化使得多层膜组分之间的相互作用力减弱时, 小分子药物与多层膜之间的作用力就会增加, 小分子药物的释放速率也就随之放缓。而当多层膜中装载的是大分子药物时, 调节 pH 就相当于调节大分子药物和多层膜组分之间作用力的强弱, 即调节多层膜的稳定性。如 Anzai 等^[56]研究发现, 由抗生物素蛋白 (avidin) 和 2-亚胺生物素修饰的聚乙烯亚胺 (PEI) 组装而成的多层膜, 在不同 pH 的缓冲溶液中, 多层膜的解组装速率不相同, 从而释放出抗生物素蛋白的速率也不相同。近年来, 胶束、微胶囊等也被作为组分引入到多层膜中, 特别是 pH 响应性的胶束参与的多层膜设计已成为高分子科学与药物传递领域的研究热点。

1.3.2 具有刺激响应功能的层层组装多层膜

除基于聚电解质多层膜自身电荷随环境变化的动态特性外, 通过将具有刺激响应的基元引入聚电解质多层膜, 也可为设计具有刺激响应功能的超薄膜提供广阔的途径。

基于环境的水解行为可理解为最普通的刺激响应功能。2000 年, 麻省理工学院 (MIT) 的 Lynn 和 Hommand 等报道了一种具有水解功能的可降解聚电解质, 通过该电解质和 DNA 组装, 可获得具有水解功能的 DNA 传递体系^[57]。与水解相比较, 酶解具有更高的选择性, 我们通过可降解的 PLL 和 DNA 组装, 获得了具有酶降解特性的 DNA 体系, 获得了更为理想的调控功能^[58], 并实现了对心血管内皮的原位转染, 有效提升了血管原位内皮化过程, 降低了心血管支架植入后的再狭窄^[59]。

与生物医用背景结合, 基于肿瘤周围组织的低 pH 和高还原性谷胱甘肽环境, 基于 pH 和氧化还原的刺激响应行为成为纳米药物传递中关键的领域。而将具有 pH 和氧化还原响应的基元结合到聚电解质中, 就可以为设计具有 pH 和氧化还原响应的层状超薄膜提供众多的可能。

Lynn 等合成了一种 pH 响应的具有电荷逆转功能的聚阳离子, 和质粒 DNA 组装制备获得了超薄膜, 该超薄膜在低 pH 环境下会发生 pH 响应的电荷逆转过

程,使多层膜解离,由此可实现 pH 响应的 DNA 控释过程^[60]。在最近的研究中,我们以 pH 敏感的聚合物前药设计思想为启示,将疏水阿霉素通过 pH 敏感的胺键结合到透明质酸分子上,获得了 pH 敏感的聚阴离子前药分子。该分子和聚赖氨酸层层组装获得了具有 pH 响应行为的药物控释超薄膜,可实现在常规 pH 下药物的稳定包埋,而在肿瘤低 pH 环境下的响应性释放,在肿瘤介入药物涂层支架的应用中显示出积极的前景^[61]。类似的聚合物前药思想也被 Hammond 等应用于具有超长药物控释时间的生物医用装置药物控释涂层的研究,他们通过在可降解聚合物上由缓慢水解的酯键键合药物,实现了药物在近 14 个月内的长效释放^[62]。

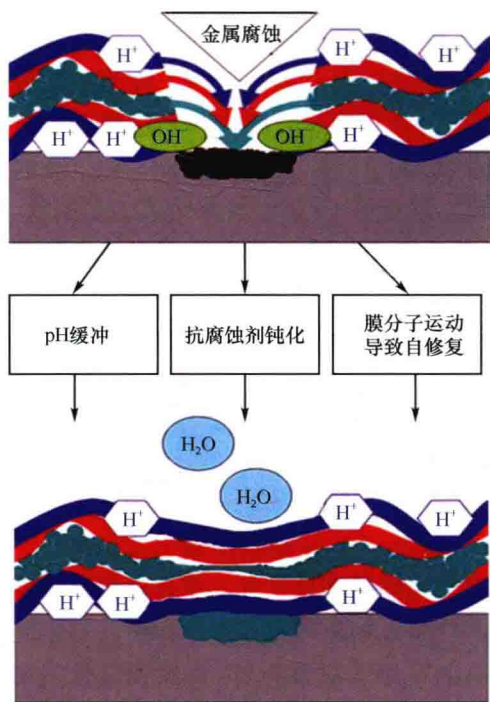


图 1-3 一种抗金属腐蚀自修复多层膜的原理图

实现对腐蚀缺损部位的自修复(图 1-3)。

Oupický 等依据二硫键对高还原性谷胱甘肽的敏感性,采用二硫键桥联的 HIV-1 转录反式激活因子(PTAT)多肽和质粒 DNA 组装制备了超薄膜。该膜在常规生理环境下稳定,而在细胞浆质膜高还原性谷胱甘肽类似环境中会发生解组装,是一种对生理还原性信号有响应的多层膜^[64](图 1-4)。

生理环境中酶是催化多种生物反应的关键催化剂,在这些催化过程中,会伴随包括局部 pH、氧化还原电位等一系列信号的反应。因此,在多层膜中负载可催化作用环境中化学反应的生物酶,事实上就赋予了多层膜依据环境变化,产生各种结构和性能变化的能力。这一变化被广泛用来构筑各种传感器^[65-70]。结合糖尿病治疗的应用背景,该体系也被用来设计对血糖敏感的超薄膜体系,以进一步实现对血糖的检测及通过对胰岛素的释放实现血糖控制^[67, 71, 72]。