

荧光探针法对 *N*-异丙基丙烯酰胺-丙烯酰胺 共聚物水溶液相变的研究*

李 俊 史向阳 吴世康**

(中国科学院感光化学研究所 北京 100101)

摘 要 合成了多种不同配比的 *N*-异丙基丙烯酰胺(NIPAM)与丙烯酰胺(AM)的共聚物.用荧光探针法研究了共聚物溶液荧光光谱随温度升高而引起的变化.研究表明:共聚物的最低临界溶液温度(LCST)取决于AM与NIPAM的组成比.AM的比例越大,LCST就越高,且有较好的正比关系.通过以共价键连接于共聚物的荧光探针法(标记法)和以小分子探针混入共聚物水溶液的方法(混入法)测定上述体系LCST的结果比较,发现标记探针法具有较高的灵敏度,更适宜用来研究共聚物水相体系的相变问题.

关键词 *N*-异丙基丙烯酰胺共聚物, LCST, 微环境, 构象转变, 荧光探针

近年来,具有两亲性质聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(NIPAM)高分子水溶液在其低临界溶液温度(LCST)时的可逆相变问题引起了人们广泛的注意^[1~4].它不仅涉及两亲高分子溶液性质,构象转变等有趣的理论问题,而且由于其热敏性导致在发生转变时引起的体积收缩行为可以在许多方面具有实际的应用价值^[5,6].但NIPAM均聚物的LCST值、即其相变温度约在32℃,这就给它的使用问题带来某些困难,如用作为温控的药物释放体系进入人体内部时,体温超过其LCST值,使温控功能不复存在.于是,这就给人们提出了一个新的课题,即如何来扩展温控体系的LCST和如何获得具有不同LCST的热敏高分子材料.从对出现LCST现象机理的讨论知道,处于水溶液中的水合PIPAAM高分子会在LCST温度到达时,因水和高分子间氢键的破坏而发生脱水现象,这就会引起分子内憎水部分发生聚结,使高分子的构象从原有的伸展形式(Coil)转变为折叠式(Globule)从而导致体积收缩^[4].按此看法,如在这类高分子链内引入亲水链节,就可能来提高体系的脱水温度,从而达到提高体系LCST的目的^[7].

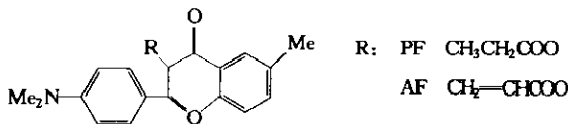
测定体系LCST温度有许多不同的方法如浊度法、光散射法,荧光法等.其基本原则是当LCST出现时,体系的宏观物理性质会随之发生变化,如溶液内颗粒粒径的变化,新的憎水微区的呈现等,因此通过对这些变化的监视就可测出体系的LCST值.对于荧光探针,本实验室已有较多

的工作报道^[8,9].探针的灵敏度除了和其分子固有的结构特征有关外,还应和其所处环境有关,但在这一方面的报道不多.本工作对结构相同但与高分子材料有着不同结合方式的两种带有荧光探针的温敏高分子体系升温过程中荧光光谱的变化进行了研究,为荧光探针处于不同环境时所表现的行为提供了新的看法.

1 实验部分

1.1 样品的制备和表征

1.1.1 探针的选用与合成 3-羟基-6-甲基-4'-*N,N*-二甲氨基黄酮丙酸酯(PF)是一种亲油性的荧光探针,在水溶液中的荧光几乎为零^[8].对周围微环境的极性极为敏感,随着极性减小,其最大发射波长向短波方向移动,荧光强度增大,并且其最大发射波长与周围极性的 $E_T(30)$ 值成线性关系^[8].PF按文献[10]方法进行合成,用于共聚到高分子主链的探针化合物单体3-羟基-6-甲基-4'-*N,N*-二甲氨基黄酮丙酸酯(AF)也按同样方法合成.产物经MS等方法表征确认无误.



1.1.2 共聚物的合成与表征 NIPAM按文献[11]方法合成.NIPAM与AM共10mmol按表1的比例和引发剂AIBN($1.5 \times 10\text{mmol}$)一起溶于15mL新蒸的THF中.溶液在高纯氮保护下搅

拌,在 60~65℃ 下反应 6h. 冷却后将混合物倒入 400mL 乙醚中,得白色沉淀. 将此沉淀物重新溶于 40mL THF 中,重复 3 次,得到纯化的白色聚合物粉末.

探针标记共聚物的合成方法同上,只是在投料时另行加入 0.5mg 可聚合探针 AF(与共聚单体的摩尔比小于 1/5000).

共聚物组成比的测定采用元素分析法,即通

过测定产物中的 C,H 含量,通过联立方程计算确定. 从三种典型样品数据表明,投料比与组成比基本相同.

共聚物分子量采用凝胶透过色谱法(PL-GPC 210)测定,以标准聚苯乙烯为基准,四氢呋喃为流动相. 结果列于表 1. 从表中的结果表明,共聚物的数均分子量在 2000 左右.

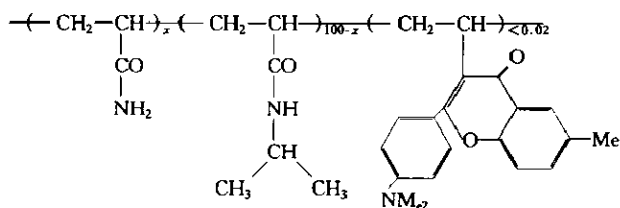
Table 1 Some physico-chemical data of the copolymers studied

AM%	0	3	5	7	13.7	18.2	0*	5*	7*	10*
M_n	2583	2162	2142	1892	1795	1569	2889	2228	2009	1721
M_w	7165	5562	5177	4616	4052	3346	8028	6012	4822	4063
M_w/M_n	2.77	2.57	2.42	2.44	2.26	2.13	2.78	2.70	2.40	2.36
LCST(℃)	35	38.5	40	42.5	50	56	33	37	39	42

* Copolymerized with probe AF

1.2 共聚物中探针含量的测定

利用紫外吸收光谱得出不同浓度探针溶液吸收光谱的峰值吸收与探针浓度关系的标准曲线. 用此曲线测出共聚物中探针单体的含量. 结果表明共聚物中探针含量小于 0.02mol%.



1.3 荧光光谱测定

在浓度为 2mg/mL 的共聚物水溶液中加入荧光探针 PF(浓度为 1×10^{-5} mol/L). 在不同温度下用 Hitachi MPF-4 型荧光光谱仪记录荧光光谱,激发波长为 380nm. 激发和发射狭缝均为 8nm. 每一测定温度点的平衡时间为 15min.

探针标记共聚物水溶液浓度为 2mg/mL,测量方法同上.

2 结果与讨论

图 1 中列出了利用探针混入法测得的共聚物水溶液在不同温度下的荧光光谱. 从图中可以看到,在温度低于 LCST 时,溶液的荧光强度几乎为零. 随溶液温度的不断升高,溶液的荧光强度变化不大,但当温度升高到一定程度时,荧光强度突然激增,并且随温度升高继续上升. 图 2 中列出的是探针标记共聚物水溶液的荧光光谱. 从图中可见,

与水溶液探针混入法一样,在温度到达 LCST 时荧光强度开始上升. 但不同的是,探针标记的共聚物在未达到 LCST 前就可观察到一定的荧光强度. 这是因为探针分子是处于共聚物的骨架上,它所处的环境本身就比水溶液中的极性要小,因此具有一定的荧光发射. 同时值得注意的是随温度升高,在 LCST 附近可以观察到光谱的峰值波长向短波方向移动. 图 3 表示了随温度变化探针标记聚合物溶液荧光光谱最大发射波长的变化. 联系探针分子荧光光谱与其周围溶剂极性变化的关系,这一结果明确的反映出在体系温度升高过程中,水分子被聚合物排出和共聚物逐渐形成紧密折叠结构的过程. 从以上的对比和分析,可以认为探针标记法所得结果比水溶液中探针混入法提供了更多的信息,它更能详细的反映共聚物分子随

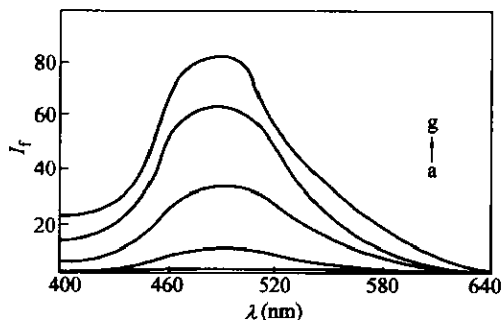


Fig. 1 Fluorescence spectra of PF in aqueous solution of NIPAM-AM copolymer
Copolymer concentration: 2mg/mL; Temperature: a) 36.5, b) 27.5, c) 39.0, d) 40.5, e) 41.5, f) 42.5, g) 43.5

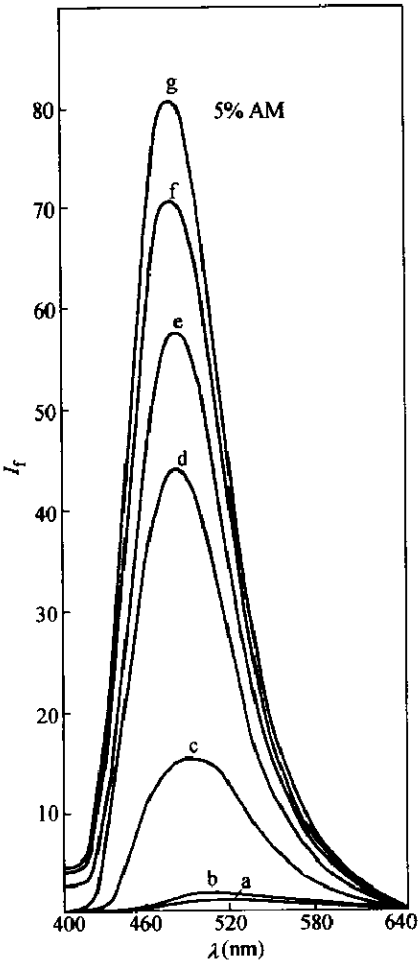


Fig. 2 Fluorescence spectra of AF labeled on NIPAM-AM copolymer in aqueous solution
Copolymer concentration: 2mg/mL; Temperature:
a) 32.0, b) 37.0, c) 38.5, d) 39.5, e) 40.0, f) 41.0, g) 41.5

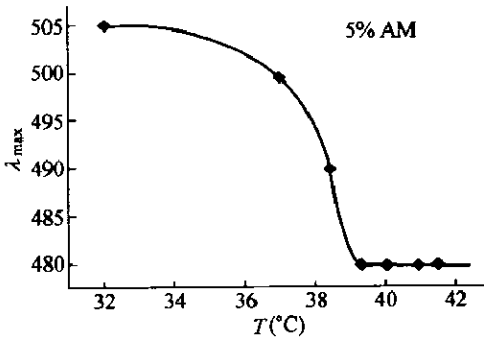


Fig. 3 The change of λ_{max} of AF with temperature in aqueous solution of NIPAM-AM copolymer

温度升高而发生的构象变化过程。

图 4 是根据图 1 和图 2 共聚物水溶液中测得的荧光强度对温度的作图,做切线可确定 LCST

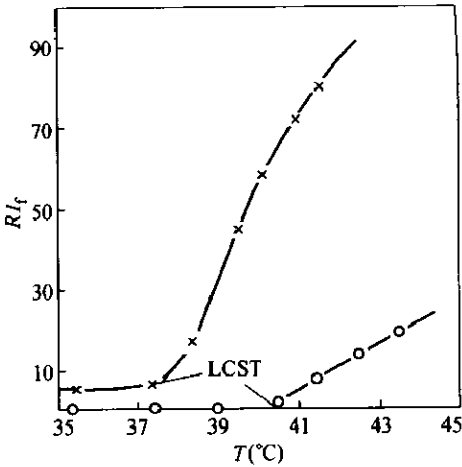


Fig. 4 The change of RI_f of PF at λ_{max} with the temperature
○: Probe mixed; ×: Probe copolymerized

值.对比探针标记法和混入法,可以看到探针标记法所得的结果比水溶液探针混入法得到的荧光强度随温度变化曲线更为陡峭,说明探针标记法具有更高的温度敏感性.这可能是因为在水溶液探针混入法中,探针分子有一个进入疏水微区的扩散过程,并仅有部分探针分子处于疏水区中,而部分探针仍处于水溶液中.因此虽然其荧光强度随温度升高从几乎为零到出现荧光,变化倍数很大,但是没有标记探针那么敏锐.实验还发现,从上述两种不同方式引入探针分子时,虽引入的探针浓度相差不大,但由探针标记法测得的荧光强度几乎是水溶液探针混入法的几十倍.这也从另一侧面证明了在以探针混入法测定时,仅有部分的探针分子,甚至很小部分的分子进入疏水微区的推测.

将不同配比共聚物的 LCST 值与共聚物的组成比作图(图 5),可以看到,随共聚物中 AM 比例的增大,LCST 不断升高,其间成正比关系.这一结果充分表明:在共聚物中亲水单体的加入,可以提高共聚物的脱水温度,从而提高体系的 LCST 值,这就为人为的选定某一特定 LCST 的体系创造了条件.同时也从另一方面证明了 LCST 现象的生成是和亲水高分子的脱水问题相联系.从实验中还可看到由标记探针法测得的 LCST 值比相应水溶液探针混入法测得的 LCST 值要低,由于共聚物中共聚探针的含量很少,因此高分子链上的探针单体链节对共聚物分子的构象变化影响不大,不会因此而影响 LCST 值的变化.为此,从两

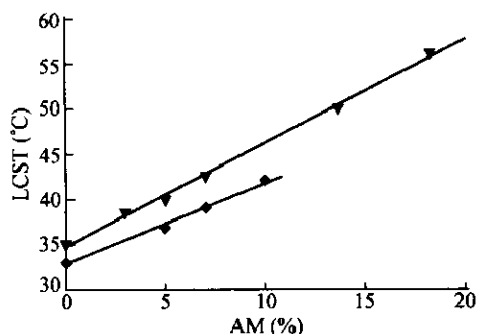


Fig. 5 The change of LCST with contents of AM in copolymers

▼: Probe mixed; ◆: Probe copolymerized

种方法得到的 LCST 值的差异可以得到如下的看法:即水溶液探针混入法不仅对确定 LCST 值不如探针标记法敏感,而且测出的 LCST 值偏大,不能较好的反映体系相变发生的温度.其原因即在体系达到 LCST 温度时,混入的探针分子还需要

一个由水相扩散进入疏水微区的过程.而用探针标记法,因探针分子本身就处于共聚物的骨架之中,当构象发生变化时,其探针分子周围的极性就立即发生变化,而不存在任何扩散问题.因此由它测出的 LCST 较之水溶液探针混入法要准确,及时.

在合成了一组由不同组成比的(*N*-异丙基丙烯酰胺)-(丙烯酸)共聚物基础上利用荧光探针法测定了它们的 LCST 值.结果表明得到的共聚物的 LCST 值由原来(*N*-异丙基丙烯酰胺)均聚物的 32℃ 扩展到了 50℃ 以上,这将有利于该类热敏性高聚物在温控药物释放等方面的实际应用.

工作中用了两种不同方法在共聚物溶液中引入荧光探针分子,发现利用探针单体标记共聚物的方法具有较多的优点.它不仅可提高测定 LCST 的灵敏度,并且还能用于研究体系在脱水过程中的变化过程等问题.

REFERENCES

- Heskins M, Guillet J E. *J Macromol Sci:Chem*, 1968, 2:1441~1445
- Ringsdorf H, Venzmer J, Winnik F M. *Macromolecules*, 1991, 24:1678~1686
- Shi Xiangyang(史向阳), Wu Shikang(吴世康), Sun Caomin(孙曹民). *Acta Polymerica Sinica (高分子学报)*, 1999, (2):210~216
- Shi Xiangyang(史向阳), Li Junbai(李峻柏), Sun Caomin(孙曹民), Wu Shikang(吴世康). *Chemical Journal of Chinese Universities (高等学校化学学报)*, 1999, 20:135~139
- Mukae K, Bae Y H, Okano T, Kim S W. *Polym J*, 1990, 22:250
- Wu X S, Hoffman A S, Yager P. *Polymer*, 1992, 33:4659
- Iwai Kaoru, Matsumoto Naomi, Niki Makiko, Yamamoto Masao. *Mol Cryst Liq Cryst*, 1998, 315:53~58
- Shen Yanqing(沈燕清), Zhong Weibing(钟唯兵), Wang Pengfei(汪鹏飞), Wu Shikang(吴世康). *Functional Polym(功能高分子)*, 1994, 7(4):433~438
- Yan Z L, Wu S K. *J Photochem Photobiol, A:Chem*, 1996, 96:199~202
- Wang P F(汪鹏飞). The photophysical and photochemical properties of intramolecular charge transfer compound—enone compounds. Thesis of Doctor Degree in The Institute of Photographic Chemistry, Chinese Academy of Sciences(博士学位论文,中国科学院感光化学研究所). 1995
- Plaut H, Ritter J J. *J Amer Chem Soc*, 1951, 73:4076

A STUDY ON THE PHASE CHANGE OF POLY(*N*-ISO-PROPYLACRYLAMIDE-*CO*-ACRYLAMIDE) AQUEOUS SOLUTION BY FLUORESCENT PROBE

LI Jun, SHI Xiangyang, WU Shikang

(*Institute of Photographic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101*)

Abstract A group of Poly(*N*-iso-propylacrylamide-*co*-acrylamide) with different component ratio have been prepared in this work. The change of the fluorescence spectrum of probes dissolved in the copolymer solution in water was studied with increase of temperature. The results indicated that the lower critical solution temperature (LCST) depends on the component ratio of the copolymers. The higher contents of AM in copolymers, the higher LCST was observed. By comparison of the two methods of using fluorescent probes—labeled on copolymer backbones and dissolved in aqueous solutions, it was found that the labeled probe method exhibits higher sensitivity and is more suitable for the study of the phase transition of polymer solutions.

Key words Poly(*N*-iso-propylacrylamide), LCST, Microenvironment, Configuration, Transition, Fluorescent probe