

УДК 541.64

ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛИМЕРОВ С ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИМИ МЕТКАМИ

М. Г. К раковяк, Е. В. А нуфриева, С. С. Скорогодов

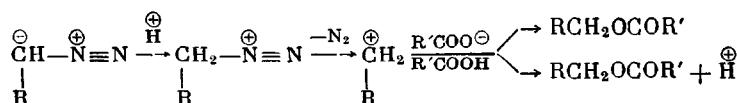
Полимеры с ковалентно присоединенными хромофорными и люминесцирующими группами все чаще используются для исследования некоторых свойств природных и синтетических макромолекул и механизмов их образования [1–4]. Релаксационные свойства полимеров с люминесцирующими группами могут быть исследованы методом поляризованной люминесценции. Этот метод неоднократно и успешно использовали для изучения быстрых релаксационных процессов, продолжительность которых сопоставима с длительностью люминесценции. Он позволяет изучать внутримолекулярную подвижность макромолекул в растворе и блоке. К числу достоинств этого метода следует отнести возможность работы в воде и других полярных растворителях, высокую чувствительность, позволяющую работать при низких концентрациях полимера в растворе.

Применение метода поляризованной люминесценции [1, 4] требует наличия ковалентно присоединенных к макромолекулам люминесцирующих меток (репортеров), обладающих определенными оптическими свойствами. Количество таких присоединенных к полимеру групп должно быть достаточным для спектральных исследований, но не должно быть большим, чтобы не исказить свойства исследуемых макромолекул.

Описано несколько способов получения макромолекул с химически присоединенными люминесцирующими группами [2, 5], однако они распространяются в основном на полимеры, имеющие NH-связи.

Цель настоящей работы заключалась в разработке удобного и универсального метода присоединения люминесцирующих групп к полимерам, макромолекулы которых содержат карбоксильные группы. Ранее нами были получены полиакриловая и полиметакриловая кислоты с ковалентно присоединенными люминесцирующими группами [4]. Однако способ их получения, заключавшийся в полимер-аналогичных превращениях соответствующих полиакрилоилхлоридов, может найти лишь ограниченное применение.

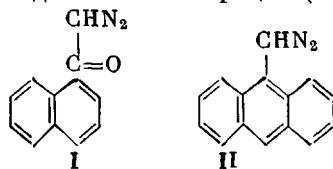
Химическое присоединение люминесцирующих групп к полимерам, содержащим карбоксильные группы, может быть осуществлено при взаимодействии алифатических диазосоединений (диазоалканов) специально подобранного строения с COOH-группами полимера. Реакция диазоалканов с карбоновыми кислотами, описываемая схемой [6]



обычно протекает в мягких условиях и в инертной среде приводит к практически количественным выходам сложных эфиров. При этом в качестве побочного продукта образуется только азот.

До настоящего времени опубликовано лишь небольшое число работ, описывающих реакции алифатических диазосоединений с полимерами, обладающими функциональными группами (обычно — OH или COOH). По методике проведения реакций все эти работы могут быть разделены на три группы: 1) реакции, протекающие в гомогенных условиях (например, метилирование карбоксильных групп в сополимерах метилметакрилата и метакриловой кислоты, растворимых в ароматических углеводородах, действием диазометана [7]); 2) реакции на границе раздела твердой и жидкой фаз (метилирование полиметакриловой кислоты действием диазометана в углеводородном растворителе [8], получение простых эфиров целлюлозы с помощью диазоалканов [9]); 3) реакции на поверхности раздела двух жидких фаз (метилирование рибонуклеиновой и дезоксирибонуклеиновой кислот в водном растворе действием эфирного раствора диазометана [10]).

В качестве реагентов для присоединения к карбоксилсодержащим макромолекулам люминесцирующих групп нами были исследованы диазометил- α -нафтилкетон (I) и 9-диазометилантрацен (II).



Выбор реагентов определялся оптическими характеристиками люминесцирующей метки и относительной устойчивостью диазоалканов.

Опыты показали, что взаимодействие углеводородного раствора I с водным раствором полиметакриловой кислоты (ПМАК) при комнатной температуре идет очень медленно. И лишь при 50—55°, увеличении количества I (1 моль I на 8 основных молей ПМАК) и продолжительном времени реакции удалось получить ПМАК, содержащую одну α -кетонафтильную группу на 300—400 элементарных звеньев. Такая относительно низкая реакционная способность I объясняется влиянием карбонильной группы, уменьшающей электронную плотность на диазуглеродном атоме и снижающей нуклеофильность диазоалканов.

Исследования показали, что II, в отличие от I, легко реагирует с различными карбоксилсодержащими соединениями в мягких условиях.

Реакция II с карбоксилсодержащими полимерами, в результате которой образуются макромолекулы с люминесцирующими 9-антрилацилоксиметановыми группами, может быть осуществлена по различным методикам, выбор которых зависит от свойств полимера. Если полимер и II растворяются в общем растворителе, то наиболее удобной является гомогенная методика. В этом случае при исследованных соотношениях II и ПМАК 30—50% II реагируют с карбоксильными группами полимера.

В случае водорастворимых полимеров можно использовать одну из гетерофазных методик. Если к водному раствору полимера при перемешивании добавляется раствор II в смешивающемся с водой растворителе (диоксан, спирты и др.), то образуется тонкая суспензия II, и реакция идет на поверхности раздела твердое вещество — жидкость. Реакция на поверхности раздела жидкость — жидкость осуществляется при перемешивании смеси водного раствора полимера и раствора II в несмешивающемся с водой растворителе (эфир, предельные и ароматические углеводороды и т. д.). При применении гетерофазных методик значительная часть II расходуется на побочные реакции, поэтому для получения полимеров с определенным количеством хромофорных групп требуется предварительный экспериментальный подбор количественного соотношения реагентов.

Очистка полимеров от непрореагированного II и низкомолекулярных продуктов его превращений может осуществляться многократным пере-

осаждением полимера, диализом или с помощью адсорбционно-хроматографических методов.

Спектры поглощения и люминесценции растворов макромолекул с 9-антрилацилоксиметановыми группами хорошо совпадают со спектрами модельного соединения — 9-антрилацетоксиметана и существенно отличаются от спектров исходного диазосоединения II (рис. 1 и 2). Другой кри-

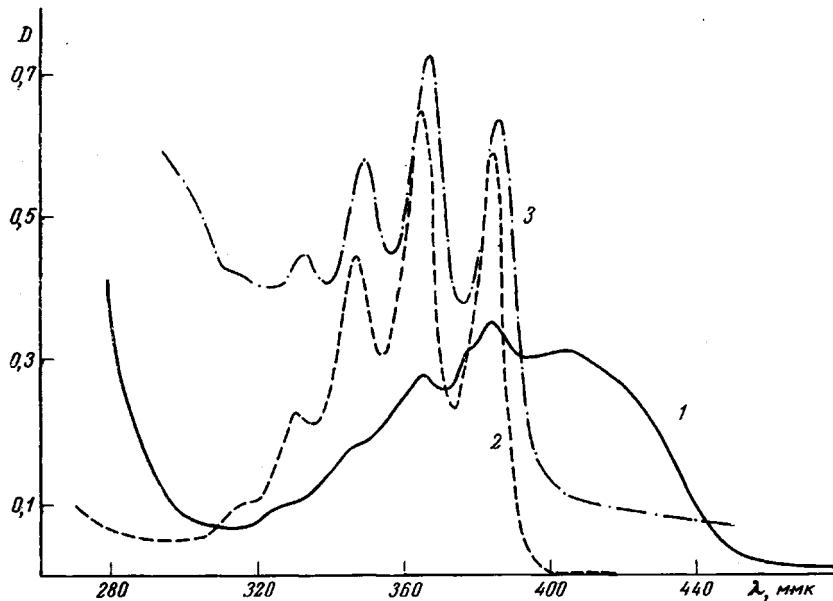


Рис. 1. Спектры поглощения растворов в метаноле:

1 — 9-диазометилантрацен (II); 2 — модельное соединение 9-антрилацетоксиметан ($c = 7,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л) и 3 — ПМАК, содержащая одну 9-антрилацилоксиметановую группу на 1400 звеньев полимера (сполимера = 8,5 мг/мл)

терий присоединения люминесцирующих групп к макромолекуле — высокая степень поляризации люминесценции (10%) в среде низкой вязкости, где поляризация люминесценции 9-антрилацетоксиметана мала (~1%).

Экспериментальная часть *

Полиакриловая (ПАК) и полиметакриловая кислоты были получены радикальной полимеризацией соответствующих мономеров [11, 12] и очищены многократным переосаждением из метанола эфиром или этилацетатом. I синтезировали взаимодействием диазометана [13] и хлорангидрида α -нафтойной кислоты в эфирном растворе по описанной методике [14]. После двукратной перекристаллизации из бензола I имел т. пл. 53,5–54,5° (лит. данные т. пл. 55° [4]). Положение полос поглощения в ИК-спектре полученного нами I хорошо совпадает с литературными данными [15].

Реакция I с ПМАК. Основной опыт. Смесь растворов 0,1 г (0,0012 моля) ПМАК в 10 мл H_2O и 0,03 г (0,00015 моля) I в 8 мл гексана перемешивали при 50–55° в течение 14 час. Отделяли водный слой и после пятикратной промывки эфиром испаряли воду с помощью ротационного испарителя. Полученный полимер трижды переосаждали из метанола этилацетатом. УФ-спектр этого образца ПМАК (рис. 3, кривая 3) содержит полосу поглощения с $\lambda_{\text{макс}} = 304 \text{ nmk}$, характерную для α -кетонафтильной группировки (рис. 3, кривая 1).

Холостой опыт. Реакционную смесь того же состава, что и в основном опыте, энергично перемешивали в течение 1 мин., после чего аналогично основному опыту выделяли и очищали ПМАК. Ее УФ-спектр приведен на рис. 3 (кривая 2).

Определение количества присоединенных к ПМАК α -кетонафтильных групп. Количество α -кетонафтильных групп, ковалентно присоединенных к макромолекулам ПМАК, оценивали с помощью метода УФ-спектроскопии. Спектроскопическое исследование образца ПМАК, полученного в холостом опыте, было предпринято для того, чтобы учесть поглощение, вызванное

* При участии Т. В. Шевелевой, Н. П. Новожиловой, С. Г. Теличкиной.

не присоединенными хромофорными группами, а молекулами соединений, содержащих кетонафтильную группировку (диазометил- α -нафтилкетон или низкомолекулярные продукты его превращения), от которых не удалось освободить полимер.

Концентрацию ковалентно присоединенных к ПМАК α -кетонафтильных групп в растворе (метанол) рассчитывали по уравнению $c = \Delta D / \varepsilon d$, где c — концентрация α -кетонафтильных групп ($\text{моль}/\text{л}$); D — оптическая плотность; $\Delta D = D_{\text{осн}} - D_{\lambda 304}$; ε — мольный коэффициент поглощения; d — длина кюветы, см.

Величину $\varepsilon_{\lambda 304} = 6300$ определяли из измеренного в тех же условиях УФ-спектра раствора метил- α -нафтилкетона в метаноле [16], принятого нами в качестве модельного соединения.

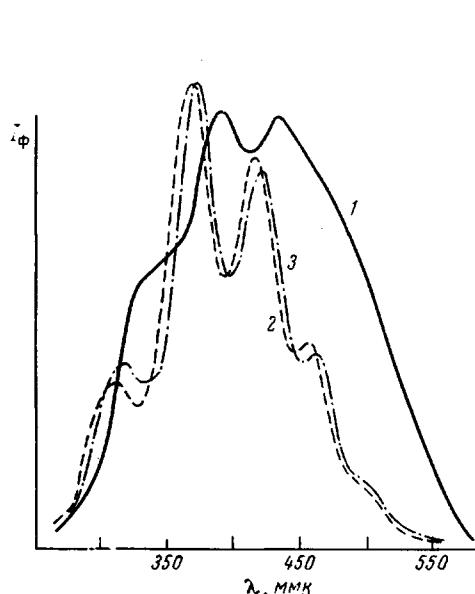


Рис. 2

Рис. 2. Спектры люминесценции:

1 — раствор 9-диазометилантрацена (II) и 2 — 9-антрилацетоксиметана в бензоле ($c = 7,5 \cdot 10^{-6} \text{ моль}/\text{л}$); 3 — водный раствор ПМАК, содержащий одну 9-антрилацетоксиметановую группу на 1400 звеньев полимера (сполимера = 0,5 $\text{мг}/\text{мл}$)

Рис. 3. Спектры поглощения растворов в метаноле:

1 — модельное соединение метил- α -нафтилкетон, ($c = 1 \cdot 10^{-2} \text{ г}/\text{л}$); 2 — ПМАК, полученная в холостом опыте (сполимера = 3 $\text{г}/\text{л}$); 3 — образец ПМАК из основного опыта (сполимера = 3 $\text{г}/\text{л}$)

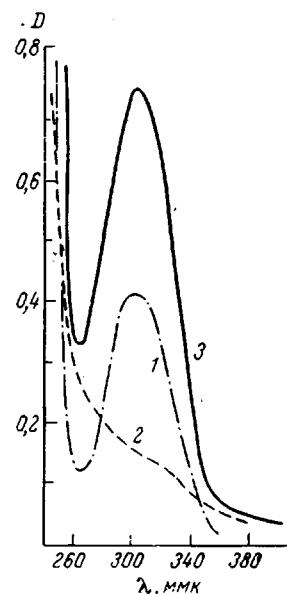


Рис. 3

Измерения, проведенные таким образом, показали, что образцы ПМАК, полученные по описанной методике, содержат одну хромофорную группу на 300—400 звеньев полимера.

9-Диазометилантрацен получали окислением гидразона 9-антральдегида по описанному способу [17]. Его УФ-спектр приведен на рис. 1 (кривая 1).

Содержание 9-антрилацетоксиметановых групп в полимерах определяли с помощью метода УФ-спектроскопии аналогично тому, как это было описано выше для полимеров, содержащих α -кетонафтильные группы. В качестве модели использовали 9-антрилацетоксиметан, полученный взаимодействием II с уксусной кислотой [17]. $\varepsilon_{\lambda 384}$ данной хромофорной группы в метаноле, определенный с помощью 9-антрилацетоксиметана для $\lambda = 384 \text{ мкм}$, равен 7500.

Получение полимеров с ковалентно присоединенными 9-антрилацетоксиметановыми люминесцирующими группами. Ниже приведены примеры опытов по получению полимеров с присоединенными люминесцирующими метками с использованием различных методик.

Получение ПАК с 9-антрилацетоксиметановыми метками (ПАК-А). К раствору 1,5 г (0,021 осново-моль) ПАК в 30 мл метанола при перемешивании (не следует пользоваться магнитными мешалками) при комнатной температуре добавляли 9 мг ($4,13 \cdot 10^{-5}$ моля) II в 4,5 мл очищенного диоксана (из расчета одна молекула II на 500 звеньев ПАК). Через 2 часа полимер осаждали эфирем, отделяли, тщательно промывали эфирем, вновь переосаждали из метанола эфирем и высушивали. Полученный таким способом образец ПАК-А содержал одну лю-

минесцирующую группу на 1500 звеньев полимера, т. е. с ПАК прореагировало ~30% взятого II.

Получение ПМАК с 9-антрилацилоксиметановыми метками (ПМАК-А). К перемешиваемому раствору 0,1 г ПМАК ($1,16 \cdot 10^{-3}$ осново-моль) в 3 мл воды при комнатной температуре добавляли раствор 0,5 мг II ($2,3 \cdot 10^{-6}$ моля) в 0,25 мл очищенного диоксана. Почти сразу же в реакционной смеси появлялись нерастворимые в воде желтоватые частицы, сохранявшиеся до конца опыта. Через 1,5 часа реакционную смесь фильтровали, раствор пятикратно промывали эфиром и с помощью лиофильной сушки выделяли полимер. Образец ПМАК-А, полученный в этом опыте, имел УФ-спектр, характерный для модельного соединения 9-антрилацилоксиметана и содержал одну люминесцирующую метку на 10 000 звеньев полимера.

Получение полиметилметакрилата с 9-антрилацилоксиметановыми метками (ПММА-А). ПММА-А получен при метилировании ПМАК-А действием диазометана в толуольной среде по описанной методике [8] и дважды переосажден из толуола петролейным эфиром и из хлороформа метанолом. Аналогичным способом могут быть получены и другие полиалкилакрилаты и полиалкилметакрилаты с ковалентно присоединенными люминесцирующими метками.

Получение полиглютаминовой кислоты с 9-антрилацилоксиметановыми метками (ПГК-А). К раствору 12 мг натриевой соли ПГК в 3 мл воды добавляли раствор 0,3 мг II в 3 мл эфира и перемешивали в течение 1,5 час. при комнатной температуре. Водный слой отделяли и пятикратно промывали эфиром. ПГК-А, выделенная с помощью лиофильной сушки, содержала одну 9-антрилацилоксиметановую группу на 10 000 звеньев полимера.

Таким образом, предлагаемый нами метод позволяет присоединять люминесцирующие метки к различным карбоксилсодержащим полимерам. К числу его достоинств следует отнести малую продолжительность и мягкие условия протекания реакции, что позволяет использовать этот метод для введения «репортёров» в малостабильные, в частности, биологические объекты. При этом образующаяся в результате описанной реакции 9-антрилацилоксиметановая люминесцирующая группа обладает удобными для измерений оптическими характеристиками — интенсивной полосой люминесценции в видимой области спектра с выраженной колебательной структурой и большой величиной поляризации.

Выходы

1. Предложен метод получения карбоксилсодержащих полимеров с ковалентно присоединенными люминесцирующими группами, основанный на взаимодействии 9-диазометилантрацена с COOH-группами макромолекул.

2. Получены полиакриловая, полиметакриловая, полиглютаминовая кислоты и некоторые их эфиры (полиметилметакрилат, полибутилметакрилат) с присоединенными люминесцирующими метками.

3. Исследованы некоторые оптические характеристики присоединенных к полимерам 9-антрилацилоксиметановых групп (спектры поглощения и флуоресценции, поляризация свечения).

Институт высокомолекулярных соединений
АН СССР

Поступила в редакцию
4 XI 1968

ЛИТЕРАТУРА

1. G. Weber, Biochem. J., **52**, 145, 1952.
2. Г. Кемерер, Химия и технология полимеров, 1966, № 3, 26.
3. М. Г. Краковяк, Е. В. Ануфриева, С. С. Скородов, Высокомолек. соед., **8**, 1681, 1966.
4. Е. В. Ануфриева, М. В. Велькеништейн, М. Г. Краковяк, Т. В. Шевелева, Докл. АН СССР, **182**, 361, 1968.
5. R. F. Steiner, H. Edelhoch, Chem. Revs., **62**, 457, 1962.
6. H. Zollinger, Azo- and diazochemistry aliphatic and aromatic compounds, New York — London, 1961.
7. Ю. Н. Панов, Диссертация, 1967.
8. A. Katchalsky, H. Eisenberg, J. Polymer Sci., **6**, 145, 1951.
9. М. Я. Пормале, Е. А. Плискова, С. Н. Данилов, Ж. прикл. химии, **39**, 2310, 1966.

10. E. Krick, P. Emmelot, Biochim. et biophys. acta, **91**, 59, 1964.
 11. S. Newman, W. R. Kriegbaum, J. Laugier, P. Flory, J. Polymer Sci., **14**, 451, 1954.
 12. T. H. Некрасова, О. Б. Птицын, М. С. Шиканова, Высокомолек. соед., **A10**, 627, 1968.
 13. Синтезы органических препаратов, под ред. Казанского, сб. 2, Изд-во иностр. лит., 1949, стр. 174.
 14. H. Schubert, L. Selisko, J. Pract. Chem., **16**, 1, 1962.
 15. P. Yates, B. L. Shapiro, N. Yoda, L. Fugger, J. Amer. Chem. Soc., **79**, 5756, 1957.
 16. V. Baddeley, J. Chem. Soc., 1947, 99.
 17. T. Nakaya, T. Tomimoto, M. Imoto, Bull. Chem. Soc. Japan, **40**, 691, 1967.
-

PREPARATION OF POLYMERS WITH LUMINESCENT MARKS

M. G. Krakovyak, E. V. Anufrieva, S. S. Skorokhodov

Summary

In order to prepare model polymers with luminescent marks for studies of intramolecular motion by the technique of polarized luminescence interaction of carboxylated polymers with 9-diazomethylanthracene and diazomethyl- α -naphthylketone has been studied. Different techniques of the reaction have been developed, and polyacrylic, polymethacrylic, polyglutaminic acids and some of their esters (polymethylmethacrylate, polybutylmethacrylate) with the luminescent marks have been synthesized. Some optical characteristics of the chromophoric groups fastened to the macromolecules (absorption and fluorescent spectra, polarization of emission) have been studied.