

КИНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД ОБНАРУЖЕНИЯ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ МЕЖДУ МАКРОМОЛЕКУЛАМИ

И. Н. Топчиева, Аммар Бешир, В. А. Кабанов

Одним из методов изучения взаимодействий между макромолекулами является использование метки, ковалентно связанной с одним из макромолекулярных компонентов. Чаще всего с этой целью применяют стабильные радикалы, люминесцентные и хромофорные группы [1]. Одной из наиболее чувствительных меток является каталитическая. В данной работе показана возможность использования каталитической метки для изучения комплексообразования между полиоксиэтиленом (ПОЭ) и полиаллиловым спиртом (ПАС). Известна способность ПОЭ образовывать комплексы с поликислотами [2]. Можно полагать, что благодаря свойству ПОЭ образовывать водородные связи круг комплексующихся с ним макромолекул может быть значительно расширен. В настоящей работе в качестве донора водородных связей использован ПАС – разветвленный полимер, содержащий первичные гидроксильные группы. Выбор этого полимера обусловлен также и тем, что он наряду с гидрофильными группами содержит гидрофобные участки, благодаря которым может быть достигнуто лучшее связывание с полиоксиэтиленовой цепью. Роль гидрофобного взаимодействия при комплексообразовании ПОЭ с поликислотами проявляется в различной устойчивости комплексов ПОЭ – полиакриловая и ПОЭ – полиметакриловая кислоты [3].

В нашем случае каталитическую метку, представляющую собой имидазольную группу, вводили на концы молекулы ПОЭ этерификацией гидроксильной группы ПОЭ N-бензоил-L-гистидином. Каталитические свойства образующегося полиоксиэтиленового эфира N-бензоил-L-гистидина (ПОБГ) описаны ранее [4].

Экспериментальная часть

Препарат слабо разветвленного ПАС молекулярного веса 20 000, полученного радиационной полимеризацией аллилового спирта в комплексе с $MgCl_2$, был любезно предоставлен нам Мастеровой. Синтез ПОБГ и нитрофенилацетата (НФА) проводили по методике, описанной в работе [4]. При приготовлении фосфатного буфера с концентрацией фосфат-ионов, равной 10^{-2} моль/л, использовали растворы одно- и двухзамещенного фосфата калия [5].

Методика измерений скорости гидролиза НФА в присутствии ПАС и системы ПАС – ПОБГ приведена в работе [4]. ПАС вносили в кювету в виде водно-этанольного раствора, ПОБГ – в виде водного раствора.

Результаты и их обсуждение

Поскольку как ПОБГ [4], так и ПАС [6] обнаруживают каталитические свойства в реакции гидролиза НФА, вопрос о существовании комплекса ПАС – ПОЭ может быть решен путем сравнительного изучения каталитической активности компонентов каталитической системы и комплекса в реакции гидролиза НФА. Характер рН-зависимости скорости гидролиза НФА, катализируемого ПОБГ и ПАС, обсуждался в работах [6, 7]. Активность ПАС в реакции гидролиза НФА обусловлена каталитическим действием комплекса ПАС – двухзамещенный фосфат-ион [6]. При сопоставлении кривых 3 и 4, рис. 1 становится очевидным, что кривая 3 не может быть получена аддитивным сложением кривых 1 и 2, т. е. между ПАС и ПОБГ, по-видимому, образуется комплекс. Необходимо было выяснить, какой вклад в каталитическую активность комплекса вносит двухзамещенный фосфат-ион, способный сорбироваться макромолекулами ПАС.

С этой целью была изучена рН-зависимость скорости гидролиза НФА в присутствии системы ПАС — немодифицированный ПОЭ. Оказалось, что при всех изученных рН система не обладает катализической активностью. Это указывает на то, что образование комплекса ПАС — ПОЭ приводит к вытеснению фосфатных ионов с поверхности ПАС. Полагая, что комплексообразование между ПАС и ПОБГ осуществляется за счет тех же сил, что и между ПАС и ПОЭ, можно считать, что катализическая активность комплекса ПАС — ПОБГ обусловлена действием имидазольных групп ПОБГ.

Для проверки предположения о существовании комплекса ПАС — ПОБГ в фосфатном буфере нами были изучены диаграммы состав — свойство. В качестве изучаемого свойства измеряли скорость катализического гидролиза НФА при двух значениях рН (7,5 и 8,0). Состав системы ПАС — ПОБГ варьировали таким образом, чтобы общая концентрация компонентов оставалась постоянной и равной $2,6 \cdot 10^{-2}$ моль/л (в расчете на мономерное звено). На рис. 2 приведены соответствующие диаграммы, измеренные при двух различных рН. В обоих случаях вид кривых указывает на существование стехиометрических комплексов ПАС — ПОБГ в отношении 1 : 1 (в расчете на мономерное звено).

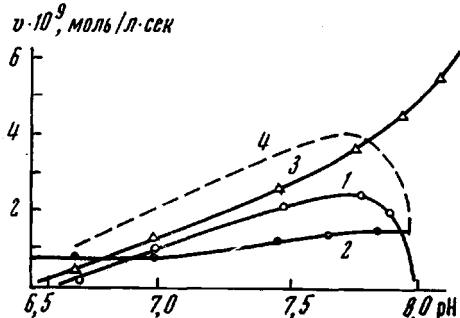


Рис. 1. Зависимости скорости гидролиза НФА в присутствии ПАС (1), ПОБГ (2) и системы ПОБГ — ПАС (3) в 10^{-2} М фосфатном буфере при 25° от pH раствора

[НФА] = $1,8 \cdot 10^{-4}$ моль/л; 1 — $6 \cdot 10^{-2}$ моль/л ПАС [1]; 2 — $6 \cdot 10^{-2}$ моль/л ПОБГ; 3 — $6 \cdot 10^{-2}$ моль/л ПОБГ + $6 \cdot 10^{-2}$ моль/л ПАС. Кривая 4 получена графическим сложением кривых 1 и 2

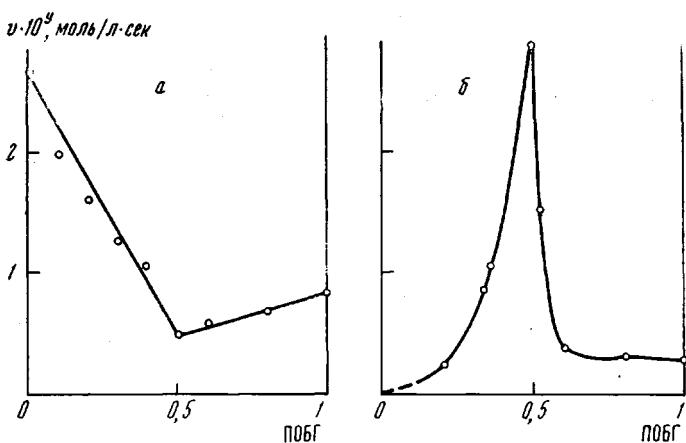


Рис. 2. Диаграммы скорости гидролиза НФА — мольный состав катализитической системы ПОБГ — ПАС в расчете на мономерное звено при pH 7,5 (а) и 8,0 (б). Общая концентрация компонентов на звено $2,6 \cdot 10^{-2}$ моль/л, [НФА] = $1,8 \cdot 10^{-4}$ моль/л; фосфатный буфер, 25° ; содержание имидазольных групп ПОБГ в расчете на концевую группу составляет 28%

Представляло интерес исследовать характер зависимости скорости гидролиза НФА в присутствии системы ПОБГ — ПАС от концентрации субстрата. Соответствующие зависимости, измеренные при двух значениях pH 7,2 и 8,0, имеют гиперболический характер и спроямляются в координатах Лайнувера — Берка. Из линейной анаморфозы кривой зависимости

скорости от концентрации субстрата были найдены параметры уравнения Михаэлиса K_m и v_{\max} . Для сравнения в таблице приведены соответствующие параметры гидролиза НФА, катализируемого ПОБГ. Видно, что K_m на порядок ниже для системы, содержащей комплексно связанные ПОБГ и ПАС по сравнению с соответствующей константой для ПОБГ, что указывает на большее сродство субстрата к системе ПОБГ — ПАС. В то же время улучшение сродства субстрата к катализатору не приводит к выигрышу в каталитической эффективности системы ПОБГ — ПАС по сравнению со свободным ПОБГ.

Параметры уравнения Михаэлиса для гидролиза НФА, катализируемого ПОБГ и комплексом ПОБГ — ПАС

Катализатор	Содержание имидазола в ПОБГ, %	pH	$K_m \cdot 10^3$, моль/л	$v_{\max} \cdot 10^3$, моль/л·сек
ПОБГ ПОБГ — ПАС ПОБГ — ПАС	20	7,2	3,3	1,2
	28	7,2	0,2	1,0
	35	8,0	0,2	1,7

зывает на большее сродство субстрата к системе ПОБГ — ПАС. В то же время улучшение сродства субстрата к катализатору не приводит к выигрышу в каталитической эффективности системы ПОБГ — ПАС по сравнению со свободным ПОБГ.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию
9 XII 1971

Литература

1. F. E. Bailey, R. D. Lundberg, R. W. Callard, J. Polymer Sci., A2, 845, 1964
2. W. Scholtan, Makromolek. Chem., 11, 131, 1953.
3. А. Н. Антипина, В. Ю. Барановский, И. М. Паписов, В. А. Кабанов
Высокомолек. соед., А14, 941, 1972.
4. И. Н. Топчиеva, А. Б. Соловьева, Б. И. Курганов, В. А. Кабанов, Вы-
сокомолек. соед., А14, 825, 1972.
5. Ю. Ю. Лурье, Справочник по аналитической химии, «Химия», 1965, стр. 227.
6. И. Н. Топчиеva, А. Бешир, В. А. Кабанов, Высокомолек. соед., Б15, № 8,
1973.
7. И. Н. Топчиева, А. Б. Соловьева, Б. И. Курганов, В. А. Кабанов, Вы-
сокомолек. соед., А14, 1774, 1972.