

3. N. Ogata, C. Azuma, J. Polymer Sci., 9, A-1, 759, 1971.
4. G. P. Belonovskaja, J. D. Chernova, L. A. Korotneva, L. S. Andrianova, B. A. Dolgoplosk, S. K. Zakharov, Yu. N. Sazanov, K. K. Kalninskij, L. M. Kaljuzhnaja, M. F. Lebedeva, Европ. Полимер. J., 12, 817, 1976.
5. И. В. Андреева, М. М. Котон, В. Н. Артемьевая, Н. В. Кукаркина, Т. Д. Глумова, Высокомолек. соед., A19, 1780, 1977.

УДК 541.64 : 539.2

ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНАЯ ПОДВИЖНОСТЬ И РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ КАРБОКСИЛЬНЫХ ГРУПП В СТРУКТУРИРОВАННЫХ МАКРОМОЛЕКУЛАХ

Аннубриева Е. В., Краковляк М. Г., Кузнецова Н. П.,
Гудкин Л. Р., Паутов В. Д.

При исследовании реакций между функциональными группами синтетических макромолекул и низкомолекулярными реагентами было обнаружено, что наибольшей реакционной способностью обладают группы, расположенные в наиболее подвижных участках полимерной цепи [1]. Можно полагать, что наиболее гетерогенной внутримолекулярной подвижностью (ВМП) будут обладать структурированные макромолекулы, так как показано, что ВМП существенно изменяется при образовании различных элементов внутримолекулярной структуры (локальных структурированных участков [2], α -спиральных участков [3], элементов третичной структуры, обусловленных слизанием структурированных участков [3], или, наконец, образованием глобулярной структуры [4]). Именно поэтому при изучении связи реакционной способности функциональных групп макромолекул с их ВМП в качестве объектов исследования значительный интерес представляют макромолекулы с элементами вторичной и третичной структуры и среди них, в первую очередь, макромолекулы белковых глобул. Исследование реакционной способности функциональных групп структурированных макромолекул при разных степенях их превращения в сочетании с изучением ВМП участка цепи, несущего прореагировавшую группу, может оказаться весьма информативным как при исследовании корреляции между локальной реакционной способностью и ВМП макромолекул, так и при изучении структурно-динамической гетерогенности структурированных макромолекул, представляющей самостоятельный интерес.

В качестве примера предлагаемого подхода нами изучено взаимодействие арилдиазоалканов (9-антрилдиазометана (АДМ) и дифенилдиазометана (ДДМ)) с карбоксильными группами химотрипсиногена (ХТГ). В результате реакции с участием АДМ COOH-группа макромолекулы превращается в 9-антрилметилкарбоксилатную, которая может быть использована в качестве люминесцирующей метки для изучения динамических характеристик участка цепи с прореагировавшей группой методом поляризованной люминесценции [5]. Реакция COOH-группы с ДДМ блокирует ее, защищая от последующей реакции с АДМ и тем самым препятствуя ее превращению в люминесцирующую метку.

Исследовали ВМП макромолекул ХТГ после реакций с диазоалканами, осуществляемых тремя способами: 1) проводили реакцию только с АДМ (ХТГ – АДМ); 2) наиболее реакционноспособные COOH-группы ХТГ блокировали взаимодействием с ДДМ, затем проводили реакцию ХТГ с АДМ (ХТГ – ДДМ – АДМ); 3) образец ХТГ – АДМ обрабатывали ДДМ в условиях способа 2 (для определения влияния образующихся дифенилметилкарбоксилатных групп на подвижность участков ХТГ, содержащих прореагировавшие с АДМ группы), (ХТГ – АДМ – ДДМ).

Времена релаксации τ , характеризующие различные релаксационные процессы в макромолекулах ХТГ, параметры высокочастотных крутильных колебаний

$\frac{1}{P'_0}$ и длительность свечения τ_ϕ люминесцирующих групп

ХТГ	τ , нсек			$\frac{1}{P'_0}$	τ_ϕ , нсек
	τ_w^*	$\tau_{\text{цел}}^{**}$	$\tau_{\text{ВМП}}^{***}$		
ХТГ после реакции с АДМ	41	49	220	8,1	11,1
ХТГ после последовательных реакций с ДДМ и АДМ	45	49	360	8,4	9,9
ХТГ после последовательных реакций с АДМ и ДДМ	41	49	220	8,1	11,8

* τ_w — время вращательной релаксации для совокупности проявляющихся в поляризации люминесценции релаксационных процессов.

** $\tau_{\text{цел}}$ — время вращательной релаксации макромолекул как целого. Определено из гидродинамических данных на основе соотношения

$$\tau_{\text{цел}} = \frac{2 \cdot [\eta] \cdot \eta \cdot M}{R \cdot T} [6], \text{ где } [\eta] — \text{характеристическая вязкость растворов полимера, } M — \text{молекулярная масса полимера, } \eta — \text{вязкость растворителя, } T — \text{температура, } R — \text{газовая постоянная.}$$

*** $\tau_{\text{ВМП}}$ — время, характеризующее внутримолекулярную подвижность макромолекул. Определено из соотношения $\frac{1}{\tau_w} = \frac{1}{\tau_{\text{цел}}} + \frac{1}{\tau_{\text{ВМП}}}$ [4].

Во всех случаях среднее количество присоединенных антраценовых групп составляло одну на 6 макромолекул ХТГ. Приведенные в таблице экспериментальные данные показывают, что в макромолекулах ХТГ имеются участки с различной ВМП, характеризуемой значениями $\tau_{\text{ВМП}}=220$ и 360 нсек соответственно. При этом в реакцию с арилдиазоалканом охотнее вступают COOH-группы, расположенные в более подвижных участках макромолекул. Можно предполагать, что наличие в макромолекуле белка карбоксильных групп, отличающихся по динамическим характеристикам и реакционной способности, связано с их различным функциональным назначением.

АДМ и ДДМ получали окислением гидразонов 9-антральдегида и бензофенона желтой окисью ртути [7, 8] ХТГ (Reanal, Венгрия) предварительно очищали на сепадексе G-75 в 0,001 н. HCl и лиофилизовали. Взаимодействие АДМ с карбоксильными группами ХТГ осуществляли при сливании 0,5%-ных растворов белка в воде и АДМ в диоксане в объемных соотношениях 10 : 1 и при последующем перемешивании реакционной смеси при 6° в течение 2 час. Реакцию карбоксильных групп ХТГ с ДДМ проводили аналогично, но при объемных соотношениях исходных растворов 1 : 1 и в течение 20 час. Избыток реагента и продукты его распада, нерастворявшиеся в реакционном растворе, удаляли центрифугированием. Окончательную очистку ХТГ после реакции с арилдиазоалканами осуществляли на сепадексе G-10 в воде.

Институт высокомолекулярных соединений АН СССР

Поступила в редакцию
30 VI 1977

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Г. Краковяк, Е. В. Ануфриева, М. В. Волькенштейн, Т. Д. Ананьева, Ю. Я. Готлиб, Р. А. Громова, С. П. Козел, Г. И. Лашков, В. Б. Лущик, В. Д. Паутов, С. С. Скорогодов, Т. В. Шевелева, Докл. АН СССР, 224, 873, 1975.
2. Е. В. Ануфриева, М. В. Волькенштейн, М. Г. Краковяк, Т. В. Шевелева, Докл. АН СССР, 182, 361, 1968.
3. Е. В. Anufrieva, V. E. Bychkova, M. G. Krakovjak, V. D. Pautov, O. B. Ptitsyn, FEBS Lett., 55, 46, 1975.
4. Е. В. Ануфриева, М. В. Волькенштейн, Ю. Я. Готлиб, М. Г. Краковяк, В. Д. Паутов, В. Б. Степанов, С. С. Скорогодов, Докл. АН СССР, 207, 1379, 1972.
5. Е. В. Ануфриева, Ю. Я. Готлиб, М. Г. Краковяк, С. С. Скорогодов, Высокомолек. соед., A14, 1430, 1972.
6. В. Н. Цветков, В. Е. Эскин, С. Я. Френкель, Структура макромолекул в растворе, «Наука», 1964.
7. T. Nakaya, T. Tomomoto, M. Imoto, Bull. Chem. Soc. Japan, 40, 691, 1967.
8. J. B. Miller, J. Organomet. Chem., 24, 560, 1959.