

ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Том (A) XXIII

1981

№ 11

УДК 541.64:539.199:547.538.141

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ И КОНФОРМАЦИЙ В РАСТВОРЕ СОПОЛИМЕРА СТИРОЛА С N,N-ДИЭТИЛАМИНОПРОПИЛМОНОАМИДОМ МАЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Желтоножская Т.Б., Поп Г.С., Еременко Б.В.,
Усков И.А.

Методами ИК-спектроскопии, потенциометрии, вискозиметрии, спектрофотометрии исследовано строение, свойства и конформации в водных и водно-солевых растворах нового синтетического полиамфолита – сополимера стирола с N,N-диэтиламинопропилмоноамидом малеиновой кислоты (I). Показано, что в твердом состоянии I, обладающий регулярной структурой, представляет собой внутреннюю соль. Проведен анализ состояния макромолекул I в водных и водно-солевых растворах. Показано, что при $[NaCl] \leq 0,1 \cdot 10^2$ моль/м³ в интервале $4,3 < pH < 9,9$ молекулы I образуют два типа компактных структур в растворе – с большей и меньшей плотностью упаковки сегментов. Определено pH перехода (6,0) и количество участвующих в нем групп. Обсуждены причины наблюдаемого влияния соли на полиамфолит, факторы стабилизации компактных структур его молекул в растворе.

Синтетические полиамфолиты, как электрохимические аналоги белков, давно привлекают внимание исследователей [1–4]. В последнее время в связи с интенсивным изучением механизма и продуктов межмакромолекулярных реакций полиамфолиты используют в качестве компонентов полизлектролитных комплексов [5]. Однако ассортимент полиамфолитов крайне ограничен, кроме того, недостаточно полно изучены их свойства и конформации в растворе. Настоящая работа посвящена изучению строения, свойств и конформаций в растворе нового синтетического полиамфолита – сополимера стирола с N,N-диэтиламинопропилмоноамидом малеиновой кислоты (I). В отличие от известных синтетических полиамфолитов, получаемых сополимеризацией кислого и основного мономеров, I был получен полимераналогичным превращением из чередующегося сополимера стирола с малеиновым ангидридом (II) и поэтому обладал регулярной структурой.

Очистку мономеров и сополимеризацию стирола с малеиновым ангидридом проводили по методике работы [6]. Строгое чередование звеньев в полученном сополимере II доказано многими авторами [6, 7]. Молекулярную массу II определяли при 303К в ТГФ по соотношению $[\eta] = 5,07 \cdot 10^{-5} \bar{M}_v^{0,81}$ [8]. N,N-диэтилпропилендиамин-1,3 синтезировали взаимодействием диэтиламина с акрилонитрилом [9] с последующим каталитическим восстановлением диэтиламин-β-пропионитрила. Восстановление осуществляли водородом в жидком аммиаке, в присутствии никеля Ренея как катализатора, под давлением $141,4 \cdot 10^5$ Па, при 393–403К. После окончания реакции продукт отфильтровывали от катализатора и перегоняли, собирая фракцию с т. кип. 441–443К. Амидирование II осуществляли свежеперегнанным N,N-диэтилпропилендиамином-1,3 в абсолютном ацетоне в токе азота при 313–323К. Мелкодисперсный осадок фильтровали, промывали ацетоном и эфиром, сушили в вакууме при 313К. Молекулярные характеристики исследуемых сополимеров представлены в табл. 1.

ИК-спектр аморфного I, спрессованного с КBr, снимали на спектрофотометре UR-10.

Потенциометрические титрования проводили в ячейке со стеклянным и хлорсеребряным электродами в токе азота при $298 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Э.д.с. ячейки измеряли компенсационным методом и переводили в значения pH по коэффициентам калибровочной прямой, рассчитанным по методу наименьших квадратов. Титровали по $5 \cdot 10^{-5} \text{ м}^3$ раствора I 0,2 н. растворами HCl и NaCl. Ионное равновесие в растворе устанавливалось практически мгновенно, поэтому последующую порцию титранта прибавляли через одну минуту.

Вязкость измеряли на вискозиметре Оствальда при $298 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Оптическую плотность определяли на спектрофотометре СФ-16А при $\lambda = 258 \text{ нм}$ (максимум поглощения бензольного кольца I).

I нерастворим в большинстве органических растворителей, но легко растворяется в воде и водно-спиртовых смесях в широкой области pH. Его раствор в деионизированной воде имел pH 6,5.

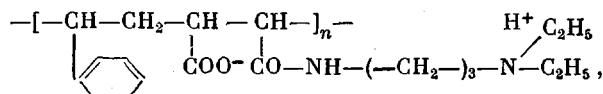
Таблица 1
Характеристики сополимеров I и II

Сополи- мер	Найдено, вес. %			Рассчитано, мол. %				Степень амиди- рова- ния, %	\bar{M}_v
	C	H	N	Ст	МА	МК	I		
I	69,36	8,27	7,68	52,8	—	3,7	43,5	92,2	$3,2 \cdot 10^5$
II	72,00	5,08	—	51,6	48,4	—	—	—	$2,0 \cdot 10^5$

Примечание. Ст — звено стиrola, МА — звено малеинового ангидрида, МК — звено малеиновой кислоты, ДАМК — звено N,N-диэтиламинопропилмоноамида малеиновой кислоты.

Анализ ИК-спектра (рис. 1) позволяет судить о полном раскрытии ангидридных циклов II при амидировании. Это подтверждает отсутствие $\nu_{C=O}$ колебаний малеинового ангидрида при 1870 и 1810 см^{-1} [10] и наличие характерных для амидной связи колебаний $\nu_{C=O} \sim 1650 \text{ см}^{-1}$ и $\delta(N-H) \sim 1560 \text{ см}^{-1}$ [11]. Интересно отметить две сильные полосы 1575 и 1400 см^{-1} , которые можно отнести только к ν_{asym} и ν_{sym} колебаниям карбоксилатиона соответственно [12].

Сопоставление данных элементного анализа и ИК-спектроскопии приводит к общей формуле звена I



представляющего собой в сухом виде внутреннюю соль с незначительным количеством неамидированных звеньев малеиновой кислоты.

Кривые отщепления протонов (поглощения гидроксилионов), рассчитанные по результатам титрований I кислотой и щелочью по методике работы [13], при нескольких ионных силах представлены на рис. 2. В отсутствие электролита при pH 2,2 все карбоксильные группы полиамфолита неионизированы, а все третичные аминогруппы заряжены, что соответствует $\text{bon}=-0$. В области pH 7–8 малые добавки кислоты или щелочи вызывают наибольшее изменение pH, что характерно для области «минимальной буферной емкости» полиамфолитов [2], которая возникает в отсутствие перекрывания областей ионизации различных типов групп. Поэтому можно считать, что при pH 7,5 заканчивается ионизация карбоксильных групп I



и начинают терять протоны заряженные аминогруппы



Появление области минимальной буферной емкости для I вполне объ-

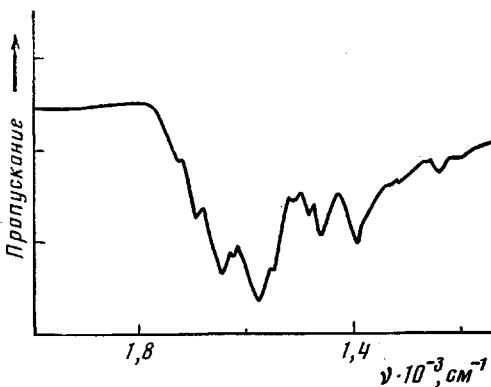


Рис. 1. Участок ИК-спектра твердого I

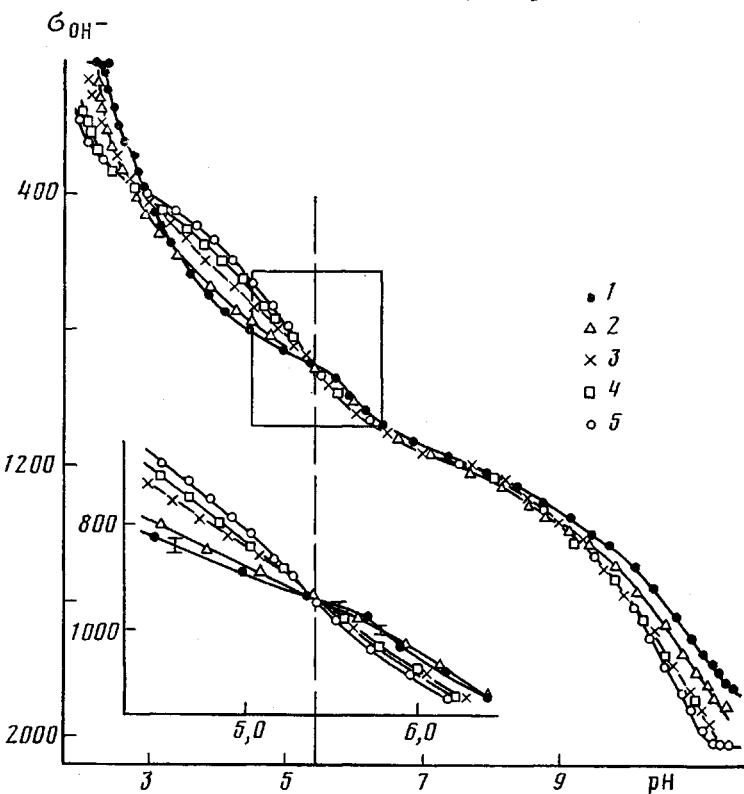


Рис. 2. Зависимость количества отщепленных протонов (в моль H^+ / моль I) в растворе полиамфолита при концентрации $1,08 \text{ кг}/\text{м}^3$ от pH при $[NaCl]=0$ (1); $0,1 \cdot 10^{-2}$ (2); $1,0 \cdot 10^{-2}$ (3); $2,0 \cdot 10^{-2}$ (4); $4,0 \cdot 10^{-2}$ и $6,0 \cdot 10^{-2}$ моль/ м^3 (5)

яснимо, поскольку в соответствующих малых молекулах [14] карбоксильные и аминогруппы, удаленные от электронакцепторных групп (сложно-эфирной, амидной и т. д.), имеют $pK 4,6$ и $10,2$ соответственно ($\Delta pK=5,6$). Кривые σ_{OH^-} (pH) для разных ионных сил пересекаются при $pH 5,4$ (рис. 2), что соответствует изоэлектрическому состоянию I. Изоэлектрическое значение pH (pI), определенное по минимуму вязкости и максимуму оптической плотности (мутности), составило $5,75$ (рис. 3). Значение pI указывает на избыток кислотных групп в полиамфолите по сравнению с основными [4, 5].

Количество групп полиамфолита (в моль $\text{H}^+/\text{моль I}$), способных присоединять или отщеплять протоны, можно определить из рис. 2 по максимальному положительному или отрицательному заряду на макромолекуле [15]. Поскольку в I области ионизации карбоксильных и аминогрупп не перекрываются, то количество групп COOH будет соответствовать также $|\Delta\text{бон-}|$ от pH 2,2 до pH 7,5, где заканчивается их титрование, а количество групп $-\text{NR}_2-|\Delta\text{бон-}|$ от pH 7,5 до pH 11,4 (pH максимального отщепления протонов молекулой I при $[\text{NaCl}] = 6,0 \cdot 10^2$ моль/м³). Полученные величины, составившие для групп COOH 1164, для групп $-\text{NR}_2$ 886 моль

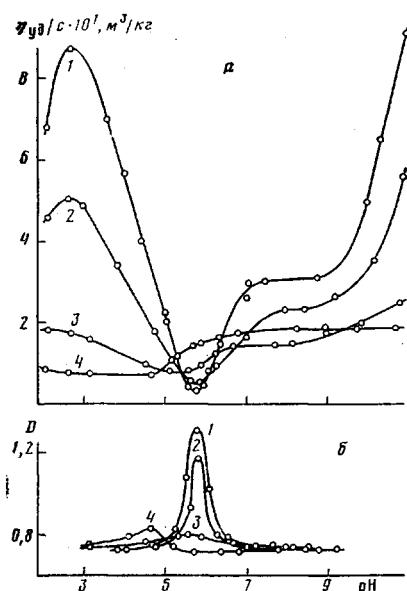


Рис. 3

Рис. 3. Зависимость приведенной вязкости (а) и оптической плотности (б) раствора I с концентрацией 1,08 кг/м³ от pH при $[\text{NaCl}] = 0$ (1); $0,1 \cdot 10^2$ (2); $1,0 \cdot 10^2$ (3); $6,0 \cdot 10^2$ моль/м³ (4)

Рис. 4. Изменение рK в зависимости от \bar{z} для третичных аминогрупп (а) и для карбоксильных групп (б) I при $[\text{NaCl}] = 0$ (1); $0,1 \cdot 10^2$ (2); $1,0 \cdot 10^2$ (3); $2,0 \cdot 10^2$ (4); $4,0 \cdot 10^2$ (5); $6,0 \cdot 10^2$ моль/м³ (6)

$\text{H}^+/\text{моль I}$, согласуются с количеством групп, рассчитанным из элементного анализа (1016 и 869 соответственно).

Отметим аномальное влияние электролита на кривую отщепления протонов при pH < 4, которое выражается в постепенном уменьшении с ростом концентрации соли количества групп COOH, титруемых в одном и том же интервале pH, т. е. в постепенном уменьшении величины $d\text{бон-}/dp\text{H}$. В результате при pH 2,2 ($[\text{NaCl}] \geq 2,0 \cdot 10^2$ моль/м³) заряжены еще ~270 моль $\text{H}^+/\text{моль I}$ карбоксильных групп I, в то время как в отсутствие соли все группы COOH полиамфолита неионизированы. В этой области pH под действием соли растет плотность упаковки сегментов I, о чем свидетельствуют данные по вязкости (рис. 3, а). Это может привести к значительному понижению локальной диэлектрической проницаемости среды вблизи карбоксильных групп, попавших внутрь клубка, и вызвать уменьшение константы диссоциации таких групп.

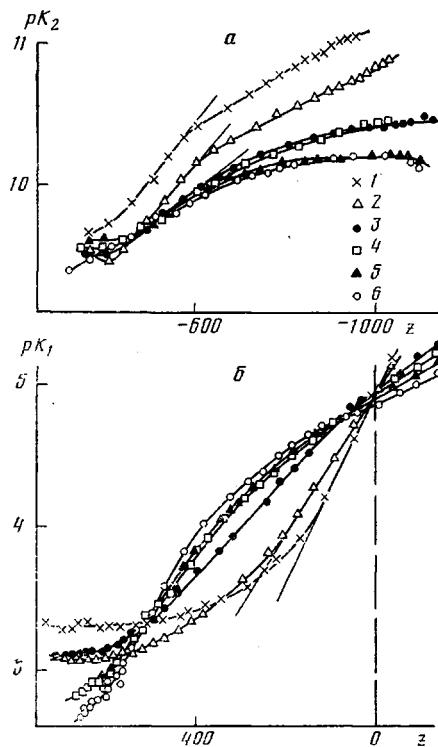


Рис. 4

Процесс диссоциации каждого типа групп полиамфолита описывается уравнением [16]

$$pK_i = pH - \lg \frac{\bar{r}_i}{\bar{n}_i - \bar{r}_i} = pH - \lg \frac{\bar{x}_i}{1 - \bar{x}_i} = pK_i^0 - 0,868\omega\bar{z}, \quad (1)$$

где pK_i — кажущаяся константа диссоциации i -го типа групп; pK_i^0 — характеристическая константа диссоциации этих групп; \bar{r}_i — среднее число протонов, оторвавшихся от данных групп, содержащихся в моле полиамфолита при некотором pH ; \bar{n}_i — общее количество таких групп в моле полиамфолита; \bar{x}_i — степень диссоциации i -го типа групп; \bar{z} — средний суммарный заряд на макромолекуле; ω — фактор электростатического взаимодействия. Поскольку \bar{r}_i и \bar{n}_i определяются в тех же единицах, что и ω ,

Таблица 2
Характеристические константы диссоциации боковых карбоксильных групп и аминогрупп I

Полиамфолит	$[NaCl] \cdot 10^{-3}$, моль/м ³	$pK_i^0 (-COOH)$	$pK_2^0 (-NR_3)$
I	0	4,94	8,10
	0,1	4,93	8,01
	1,0	4,94	8,51
	2,0	4,92	8,69
	4,0	4,90	8,78
	6,0	4,86	8,80
	МАК — ДАЭМА [4]	0	8,90

Примечание. МАК — ДАЭМА — сополимер метакриловой кислоты с N,N-диэтиламиноэтилметакрилатом.

можно непосредственно из кривых отщепления протонов рассчитать зависимость pK от \bar{z} для каждого типа групп (рис. 4). pK_2^0 для третичных аминогрупп при разных ионных силах находили экстраполяцией линейных участков кривых рис. 4, *a* к $\bar{z}=0$. Значения pK_i^0 карбоксильных групп определяли непосредственно по кривым рис. 4, *b* при $\bar{z}=0$. Полученные значения представлены в табл. 2.

pK_i^0 и pK_2^0 , определенные при $[NaCl]=0$, отличаются от приведенных значений pK для соответствующих малых молекул. Как показало исследование равновесий ионов водорода, в природных полиамфолитах — белках такое уменьшение силы кислотных или основных групп может быть связано [11, с. 27] либо с неравноценностью групп одного типа по характеристикам свойствам (α - и γ -COOH-группы белков [14]), либо со сближением части групп одного типа или попаданием их в область более низкой локальной диэлектрической проницаемости, чем диэлектрическая проницаемость растворителя. В последнем случае уменьшение силы кислотных или основных групп связано с различными конформациями полиамфолитов в растворе. Карбоксильные группы I (табл. 1) неравноценны по характеристикам свойствам, однако третичные аминогруппы в связи с регулярным строением исходного II можно рассматривать как идентичные в указанном смысле. Поэтому представляло интерес проанализировать состояние макромолекул полиамфолита в водных и водно-солевых растворах при различных pH .

В качестве параметра, который характеризует состояние молекул полиамфолита в растворе и по которому можно следить за его изменением, использовали фактор электростатического взаимодействия (уравнение (1)), который определяет электростатический вклад в химический потенциал макрионов в растворе [17]

$$W_{ex} = N_A k T \omega (\bar{z})^2, \quad (2)$$

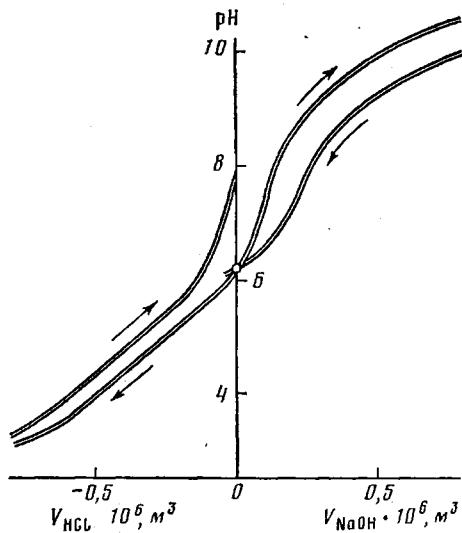


Рис. 5

Рис. 5. Кривые прямого и обратного титрований раствора I с концентрацией 1,08 кг/м³ 0,2 н. HCl и 0,2 н. NaOH при концентрации NaCl в растворе 2,0·10² моль/м³. Кружком отмечено начало прямого титрования. Ширина кривых соответствует статистической ошибке определения pH, рассчитанной из десяти параллельных измерений [15].

Рис. 6. Изменение фактора электростатического взаимодействия в растворе I в зависимости от pH при $[NaCl]=0$ (1); $0 \cdot 10^2$ (2); 10^2 (3); $2 \cdot 10^2$ (4); $4 \cdot 10^2$ (5); $6 \cdot 10^2$ моль/м³ (6). Штриховой линией показано изоэлектрическое состояние полиамфолита ($\bar{z}=0$) в отсутствие соли

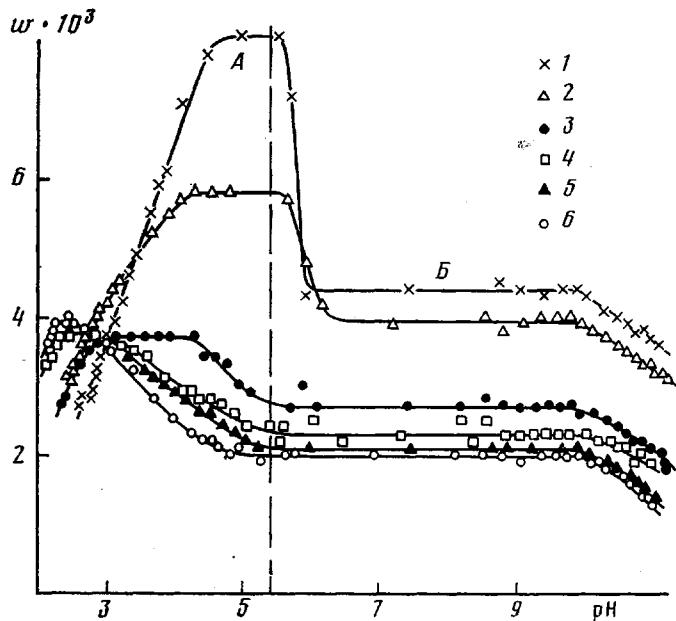


Рис. 6

(N_A – число Авогадро, k – постоянная Больцмана, T – абсолютная температура) и не зависит от \bar{z} , а зависит от ионной силы, температуры, сольватации, размера и возможной агрегации молекул полиамфолита. При постоянной температуре и ионной силе, в разбавленном растворе, где можно пренебречь молекулярной ассоциацией, фактор ω определяется только конформацией макромолекул (размером клубка, формой, распределением заряженных групп в объеме макроиона).

Практически фактор ω определяли по тангенсу угла наклона кривых рис. 4, который равен $0,868\omega$ (уравнение (1)). Непосредственный анализ этих кривых свидетельствует о том, что в отсутствие электролита при $\bar{z} < -600$ ($pH > 9,9$) и $\bar{z} > 130$ ($pH < 4,3$) происходит резкое уменьшение угла наклона, что может быть вызвано набуханием макромолекулярных клубков или изменением их формы под действием сил отталкивания одноимен-

но заряженных групп, а также неспецифическим связыванием противоионов полем макроиона [18]. В этой связи интересно проследить влияние pH (или \bar{z}) на гидродинамический радиус молекул I. Изменения приведенной вязкости на рис. 3, a при малых добавках соли (кривые 1 и 2) не могут полностью отразить изменение радиуса эквивалентной сферы вследствие значительного влияния ионной силы и величины \bar{z} на константу Хаггинса концентрационной зависимости η_{ud}/c [19]. Однако при ионной силе в растворе $\sim 10^2$ моль/м³ и выше ее влиянием, а также влиянием \bar{z} на константу Хаггинса можно пренебречь [19]. Таким образом, кривая 3 (рис. 3, a) отражает изменение характеристической вязкости молекул I и свидетельствует об увеличении их размера или асимметрии с ростом \bar{z} .

Таблица 3

Влияние хлорида натрия на изоэлектрическое состояние макромолекул в растворе

$c \text{NaCl} \cdot 10^{-2}$, моль/м ³	Количество Cl^- на группу $-\text{NR}_2\text{H}^+$	pI	pI ₀	ΔpI	Количество связанных молей Cl^- на моль I	Количество групп $-\text{NR}_2\text{H}^+$, связанных с Cl^- , %
0,1	3	5,75	—	0	—	—
1,0	33	5,50	5,75	0,26	76	8,6
6,0	200	4,60	—	1,15	323	36,7

Примечание. Значение pI₀, определенное из вискозиметрических измерений, отличается от значения, определенного из данных потенциометрического титрования. Однако при расчете количества связанных молей Cl^- с молем полиамфолита в изоэлектрическом состоянии это не имеет значения, поскольку нас интересует величина ΔpI .

тому \bar{z} . Это позволяет связать изменение угла наклона кривых рис. 4 с перестройкой молекулярной структуры под действием \bar{z} , т. е. с изменением конформации макромолекул I. Обратимость кривых титрования полиамфолита в интервале $3,5 < \text{pH} < 9,5$ ($[\text{NaCl}] = 2,0 \cdot 10^2$ моль/м³) и их необратимость от pH 2,0 и 11,6 (рис. 5) также свидетельствуют о специфической нативной конформации I, причем необратимость может быть связана как с необратимым разрушением нативной структуры, так и с низкой скоростью установления конформационного равновесия.

Добавки соли вызывают постепенное уменьшение фактора ω при титровании аминогрупп I (рис. 4, a), что обусловлено экранированием одноименно заряженных групп малыми ионами электролита и свидетельствует о его неспецифическом влиянии как ионной силы на полиамфолит в этой области pH. При титровании карбоксильных групп (рис. 4, б) с увеличением концентрации электролита ω вблизи $\bar{z}=0$ уменьшается, а при больших положительных \bar{z} возрастает, что более наглядно проявляется на рис. 6. Интерпретировать изменения фактора ω в этой области pH сложнее вследствие постепенного уменьшения pI при $[\text{NaCl}] \geq 10^2$ моль/м³ (рис. 3). Сопоставление данных по смещению pI с аномальным ходом кривых отщепления протонов в области pH < 4 под действием электролита свидетельствует о специфическом влиянии хлорида натрия на полиамфолит в области ионизации карбоксильных групп. Причиной специфического воздействия NaCl на молекулы I является, по-видимому, связывание хлорид-ионов с заряженными в этой области pH третичными аминогруппами. В результате образуется прочный комплекс между катионом четвертичного азота и сильно поляризуемым анионом хлора (связывание в слое Штерна) [20]. Изучение связывания Cl^- с белками показало [21, 22], что оно может существенно возрастать с ростом положительного \bar{z} и резко уменьшаться до нуля при увеличении отрицательного \bar{z} . Таким образом, в области связывания положительные значения \bar{z} , рассчитанные из кривой отщепления протонов при pH < pI, будут в действительности меньше, что скажется на точности расчета фактора ω . По величине смещения

$$\Delta pI = |pI - pI_0|, \quad (3)$$

где pI_0 – изоэлектрическое pH в отсутствие электролита; pI – изоэлектрическое pH при некоторой его концентрации – определили из соответствующей кривой отщепления протонов число молей H^+ , которое должно присоединиться к молю I для перехода от $pH=pI_0$ к $pH=pI$ и которое соответствует числу молей Cl^- , связавшихся с молем полиамфолита в изоэлектрическом состоянии ($pH=pI_0$) при добавлении к нему данного количества соли (табл. 3). При низких концентрациях соли ($\leq 0,1 \cdot 10^2$ моль/м³) связывание Cl^- с I в изоэлектрическом состоянии не наблюдали. По-видимому, отрицательно заряженная карбоксильная группа, расположенная в звене рядом с положительно заряженной аминогруппой, успешно конкурирует с малым количеством Cl^- , приходящимся в растворе на группу $-NR_2H^+$. Поэтому поправки в значения \bar{z} незначительны во всем интервале $pH < pI$, исключая, возможно, очень кислые среды, если связывание растет с ростом положительного \bar{z} . При более высоких ионных силах корректная интерпретация изменения фактора ω в кислой области pH требует внесения соответствующих поправок в значение \bar{z} .

Характер изменения фактора ω (рис. 6) и $\eta_{уд}/c$ (рис. 3, a) в зависимости от pH для I в воде и при $[NaCl]=0,1 \cdot 10^2$ моль/м³ указывает на образование его макромолекулами двух типов компактных структур – A и B. Состоянию A вблизи $pH=pI$ соответствует большее значение фактора ω и меньшее приведенной вязкости, поэтому оно характеризуетсяней по сравнению с состоянием B плотностью упаковки сегментов. Образование синтетическими полиамфолитами компактных (часто нерастворимых структур) вблизи изоэлектрической точки и влияние на их растворимость силы кислотных и основных групп уже обсуждалось [23, 24]. Таким образом, растворимость I в изоэлектрическом состоянии обусловлена как практически равным содержанием кислотных и основных групп, так и цвиттер-ионной структурой его молекул в растворе ($pK_2^0 \gg pK_1^0$) [4], которая способствует образованию достаточного количества внутримолекулярных ионных пар



чтобы удержать свернутую макромолекулу в растворе. Особенность поведения I, в отличие от других синтетических полиамфолитов, состоит в образовании устойчивого промежуточного состояния B при изменении конформации макромолекул от компактной, глобулярной, к максимально расширенной, или асимметричной. Отметим, что такие тонкие конформационные изменения свойственны многим белкам [11]. Устойчивость состояния B в широкой области pH связана, по-видимому, с сохранением отдельных внутримолекулярных контактов типа солевых и водородных связей, которые не разрушились при переходе A → B. Этому, очевидно, способствует минимальная буферная емкость полиамфолита в этой области pH, когда \bar{z} на макромолекуле существенно не меняется.

Различие между состояниями A и B (рис. 6) наиболее значительно в отсутствие соли ($\Delta\omega_{AB}=3,7 \cdot 10^{-3}$). При $[NaCl]=0,1 \cdot 10^2$ моль/м³ $\Delta\omega_{AB}$ уменьшается до $1,65 \cdot 10^{-3}$, что коррелирует с увеличением гидродинамического радиуса макромолекул I при $pH=pI$ (рис. 3, a, кривая 2). Дальнейший рост концентрации электролита вызывает дальнейшее увеличение размера молекул в состоянии A вплоть до постоянного значения (кривые 3 и 4), и, кроме того, смещение его в кислую область pH. Зависимость плотности упаковки сегментов I в состоянии A от концентрации электролита свидетельствует о проницаемости компактной структуры для малых ионов и о значительном положительном вкладе электростатических сил в стабилизацию компактной структуры полиамфолита вблизи изоэлектрической точки. Смещение состояния A в кислую область при $[NaCl] \geq 10^2$ моль/м³ сопровождается расширением интервала его устойчивости (рис. 3, a), что подтверждает практическая независимость $\eta_{уд}/c$

от pH в интервале $pH < pI$ ($[NaCl] = 6,0 \cdot 10^2$ моль/м³) и сильная опаленность раствора при повышенных концентрациях I (~4,4 кг/м³). Вероятно, это связано со значительным возрастанием связывания Cl^- влево от pI , при котором \bar{z} по мере протонирования карбоксильных групп остается близким к нулю.

Резкое уменьшение фактора ω и резкий рост η_{sp}/c в малом интервале pH от 5,5 до 6,0 ($[NaCl] \leq 0,1 \cdot 10^2$ моль/м³), а также появление максимума при pH 6,0 на кривых зависимости буферной емкости от pH (рис. 7) свидетельствуют о кооперативности перехода $A \leftrightarrow B$ при данных ионных силах [25], которая связана, по-видимому, с разрывом ($A \rightarrow B$) или образо-

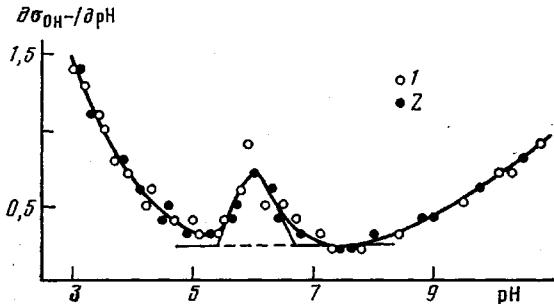


Рис. 7. Зависимость буферной емкости раствора полиамфолита с концентрацией $1,08$ кг/м³ от pH при $[NaCl]=0$ (1); $0,1 \cdot 10^2$ моль/м³ (2)

ванием ($B \rightarrow A$) в узком интервале pH большого количества внутримолекулярных солевых связей между противоположно заряженными группами. pH максимума кривых рис. 7 (ограничен пунктирными линиями) соответствует pH конформационного перехода, а площадь пика

$$\Delta\sigma_{OH^-}^{per} = \int_{pH_1}^{pH_2} \left(\frac{\partial\sigma_{OH^-}}{\partial pH} \right)_T d pH \quad (5)$$

количеству участвующих в нем групп [25]. Поскольку в области pH перехода титруются только группы COOH 1, то именно улучшением их контакта с растворителем в результате перехода $A \rightarrow B$ (или соответственно ухудшением такого контакта при $B \rightarrow A$) и обусловлено резкое увеличение (уменьшение) буферной емкости макромолекул полиамфолита. Поэтому величина $\Delta\sigma_{OH^-}^{per}$, которая для $[NaCl] \leq 0,1 \cdot 10^2$ моль/м³ составила 109 групп (моль H⁺/моль I) равна числу групп COOH, диссоциация которых облегчается или, наоборот, затрудняется при конформационном переходе $A \leftrightarrow B$.

Компактное состояние глобулярных белков в растворе сопоставляют с заряженной непроницаемой сферой. Правомерность такого сравнения была доказана сравнением экспериментально найденного фактора ω и рассчитанного теоретически по модели непроницаемой сферы [22]. Это подтверждает низкая степень сольватации молекул белка в растворе (~0,2 кг воды на 1 кг белка) и независимость их размера в компактном состоянии от концентрации соли. Чтобы охарактеризовать компактную структуру I в состоянии A при малых ионных силах, были рассчитаны значения среднего радиуса эквивалентной сферы R_e макромолекулы при $pH=pI$ в отсутствие соли и при $[NaCl]=0,1 \cdot 10^2$ моль/м³ по величинам характеристической вязкости [17, с. 624]. Приняв параметр сольватации $\delta=0,2$ [17, с. 391], определили радиус макромолекулы по плотности I R_0 . Плотность оценивали пикнометрически при 298К, используя в качестве второго компонента ацетон, в котором полиамфолит не растворялся и не набухал. Значение d составило 1053 кг/м³, а парциальный удельный объем

$V_2 = 9,5 \cdot 10^{-4}$ м³/кг. Из величин d и R_e (в воде) определяли эффективный параметр гидратации I и количество молекул воды, приходящихся на звено полиамфолита. Значения R_0 и R_e ([NaCl] = 0,1 · 10² моль/м³) использовали для расчета фактора ω по модели непроницаемой сферы

$$\omega = \frac{\epsilon^2}{2DR_e kT} \left(1 - \frac{\chi R_e}{1 + \chi a} \right) \quad (6)$$

и по модели полностью проницаемой сферы

$$\omega = \frac{\epsilon^2}{4DkT\chi R_e^2} \left[1 - \frac{1 - \chi R_0}{1 + \chi R_0} e^{-2\chi(R_e - R_0)} \right], \quad (7)$$

где ϵ — элементарный заряд, D — диэлектрическая проницаемость растворителя, a — радиус максимального приближения малого иона к центру макроиона, χ — параметр Дебая — Хюкеля. В табл. 4 представлены полученные результаты.

Таблица 4
Характеристики макромолекул I в растворе в состоянии A при низких ионных силах

$I \cdot 10^{-2}$, мол/м ³	$[M] \cdot 10^2$, м ³ /кг	$R_e \cdot 10^2$, м	$R_0 \cdot 10^2$, м	$\frac{\delta}{kg H_2O}$ $kg I$	n , молекула H_2O звено I	χ, m^{-1}	$\omega \cdot 10^3$ непрониц.	$\omega \cdot 10^3$ прониц.	$\omega \cdot 10^3$ экспер.
0	1,2	84,5	52,5	3,85	72	—	—	—	—
0,1	1,9	98,4	52,5	—	—	3,3 · 10 ⁸	8,6	5,7	5,8

* Предполагали, что макромолекула полиамфолита в изоэлектрическом состоянии не влияет на ионную силу раствора.

Экспериментальное значение ω близко к рассчитанному для полностью проницаемой сферы и существенно меньше, чем полученное для непроницаемой сферы. Это коррелирует с высокой степенью сольватации макроионов I в растворе и с зависимостью их размера в изоэлектрическом состоянии от концентрации электролита. Следовательно, молекулы I в состоянии A при низких ионных силах можно сравнить с сильно сольватированной, проницаемой сферой.

Определяющим фактором стабилизации компактных конформаций белков, содержащих 30–50% неполярных участков, является гидрофобное взаимодействие, обусловленное специфической структурой воды [26]. Молекула I содержит 52 мол.% неполярных звеньев стирола, поэтому гидрофобные взаимодействия и здесь, очевидно, будут играть решающую роль в стабилизации компактных конформаций полиамфолита. Некоторый вклад могут вносить также водородные связи, возникающие между боковыми аминными группами, достаточно удаленными друг от друга по цепи, как это было показано при изучении гребнеобразных полимеров [27].

В заключение авторы благодарят А. Б. Зезина за обсуждение работы и высказанные замечания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Erlich G., Doty P. J. Amer. Chem. Soc., 1954, v. 76, № 14, p. 3764.
2. Alfrey T., Alfrey Jr., Pinner S. H. J. Polymer Sci., 1957, v. 23, № 1, p. 533.
3. Лебедев В. С., Гасурин Р. К. Высокомолек. соед., 1964, т. 6, № 8, с. 1353.
4. Mazur J., Silberberg A., Katchalsky A. J. Polymer Sci., 1959, v. 35, № 1, p. 43.
5. Савинова И. В., Федосеева Н. А., Евдаков В. П., Кабанов В. А. Высокомолек. соед. А, 1976, т. 18, № 9, с. 2050.
6. Nobumichi Ohno, Katsutochi Nitta, Shio Makino, Shintaro Sugai. J. Polymer Sci., Polym Phys. Ed., 1973, v. 11, № 3, p. 413.
7. Alfrey T., Lavin E. J. Amer. Chem. Soc., 1945, v. 67, № 11, p. 2044.
8. Спирин Ю. Л., Яцимирская Т. С. Высокомолек. соед. А, 1976, т. 18, № 4, с. 755.
9. Терентьев А. П., Кост А. Н. Реакции и методы исследования органических соединений. М. — Л.: Госхимиздат, 1952, с. 47.

10. Дехант И., Данц Р., Киммер В., Шмольке Р. Инфракрасная спектроскопия полимеров. М.: Химия, 1976, с. 167.
11. Структура и стабильность биологических макромолекул / Под ред. Волькенштейна М. В. М.: Мир, 1973, с. 481.
12. Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул. М.: Изд-во иностр. лит., 1963, с. 289.
13. Кенчингтон А. В сб.: Аналитические методы белковой химии. М.: Изд-во иностр. лит., 1963, с. 394.
14. Cohn B. J., Edsall J. T. Protein, Amino-Acids and Peptides as Ions and Dipolar Ions. New York: Reinhold Publish Corporation, 1943.
15. Желтонощкая Т. Б., Еременко Б. В., Усков И. А., Губарь В. А., Нечаев А. Н. Вестник Киевского гос. ун-та. Серия химич., 1978, № 19, с. 55.
16. Tanford C. J. Amer. Chem. Soc., 1950, v. 72, № 1, p. 441.
17. Тенфорд Ч. Физическая химия полимеров. М.: Химия, 1965, с. 760.
18. Oosawa F. Polyelectrolytes. N. Y.: Dekker, 1971, p. 160.
19. Buzzell J. G., Tanford C. J. Phys. Chem., 1956, v. 60, № 9, p. 1204.
20. Gregor H. P. The Modes of Specific Binding of Ions to Polyelectrolytes.— In: Polyelectrolytes. Dordrecht — Boston, 1974, p. 87.
21. Scatchard G., Scheinberg I. H., Armstrong S. H. J. Amer. Chem. Soc., 1950, v. 72, № 1, p. 540.
22. Tanford C., Swanson S. A., Shoe W. S. J. Amer. Chem. Soc., 1955, v. 77, № 24, p. 6414.
23. Alfrey T., Alfrey Ir., Morawetz H. J. Amer. Chem. Soc., 1952, v. 74, № 1, p. 436.
24. Alfrey T., Alfrey Ir., Fuoss R. M., Morawetz H., Pincher H. J. Amer. Chem. Soc., 1952, v. 74, № 1, p. 438.
25. Perlmann G. E., Oplatka A., Katchalsky A. J. Biol. Chem., 1967, v. 242, № 22, p. 5163.
26. Измайлова В. Н., Ребиндер П. А. Структурообразование в белковых системах. М.: Наука, 1974, с. 8.
27. Кузнецова Н. А., Моисеенко В. М., Роганова З. А., Смолянский А. Л., Шибаев В. А. Высокомолек. соед. А, 1977, т. 19, № 2, с. 399.

Киевский государственный
университет им. Т. Г. Шевченко

Поступила в редакцию
11.II.1980

STUDY OF PROPERTIES AND CONFORMATIONS
IN SOLUTION OF COPOLYMER OF STYRENE
WITH N,N-DIETHYLAMINOPROPYLMONOAMIDE
OF MALEIC ACID

*Zheltonozhskaya T. B., Pop G. S., Yeremenko B. V.,
Usov I. A.*

Summary

The structure, properties and conformations in aqueous and water-salt solutions of novel synthetic polyampholyte — copolymer of styrene with N,N-diethylaminopropylmonoamide of maleic acid (I) have been studied by IR-spectroscopy, potentiometry, viscometry and spectrophotometry methods. It was shown that in solid state I having the regular structure is the internal salt. The state of I macromolecules in aqueous and water-salt solutions was analysed. At $[NaCl] \leq 0.1 \cdot 10^2$ mol/m³ for the range $4.3 < \text{pH} < 9.9$ the formation of two types of compact structures of I molecules in solution was shown — with higher and lower density of segments packing. pH of the transition between these two structures was found being equal to 6.0, as well as the number of participating groups. The reasons of the observed salt effect and the factors stabilizing the compact structures of polyampholyte molecules in solution are discussed.