

УДК 541.64:535.37

**ПОЛЯРИЗОВАННАЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ПОЛИМЕРОВ
С ИНДОЛСОДЕРЖАЩИМИ ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИМИ ГРУППАМИ**

*Анушприева Е. В., Семисотнов Г. В., Краковянк М. Г.,
Лущик В. Б.*

Проанализированы релаксационные спектры меченых индол- и антраценсодержащих макромолекул, проявляющиеся в поляризованной люминесценции растворов индол- или антраценсодержащих полимеров. Установлено, что основным релаксационным процессом, изменяющим поляризацию люминесценции индолсодержащих макромолекул, является подвижность люминесцирующих индольных групп, зависящая от контактов их с макромолекулярным окружением. Показано, что изменение подвижности индольных групп, ковалентно-связанных с макромолекулой, не коррелирует с изменением подвижности основной цепи полимера.

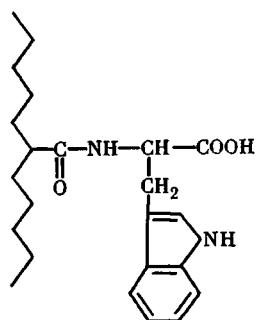
К числу полимеров с индолсодержащими люминесцирующими группами относятся белки, содержащие триптофановые остатки. При изучении конформационных превращений макромолекул белков, межмолекулярных взаимодействий, ассоциатов белков, как и при исследовании синтетических полимеров [1], метод поляризованной люминесценции может быть очень информативным.

Для количественной интерпретации данных по поляризованной люминесценции индолсодержащих люминесцирующих полимеров-белков нужно знать, как движение самой люминесцирующей (индольной) группы изменяет поляризацию люминесценции, какой вклад в изменение поляризации люминесценции обусловлен движением люминесцирующих групп и какой вклад вносит подвижность полимерной цепи. Так как движение люминесцирующей группы, а следовательно, ее вклад в изменение поляризации люминесценции может изменяться из-за изменения контактов люминесцирующей группы с макромолекулярным окружением при различных воздействиях на полимер, необходимо учитывать указанные изменения. Это значит, что прежде чем изучать белки с помощью поляризованной люминесценции триптофановых остатков, необходимо на модельных полимерных системах определить параметры люминесцирующих групп и их изменение при различных воздействиях. К числу таких параметров относятся времена, характеризующие подвижность люминесцирующих групп, мелкомасштабные релаксационные процессы, происходящие по поворотно-изомерному или крутильно-колебательному механизму, и амплитуда высокочастотных движений люминесцирующих групп (параметр $1/p_0'$).

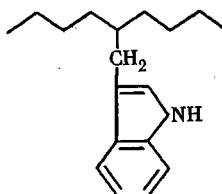
Для люминесцирующих антраценсодержащих групп эти характеристики изучены [1–4]. Поляризованная люминесценция меченых антраценсодержащих полимеров стала основой эффективного метода решения различных задач физики и химии полимеров [1, 5–8]. Антраценсодержащие люминесцирующие группы имеют ряд особенностей, делающих информативной поляризованную люминесценцию антраценсодержащих полимеров при решении различных структурных и кинетических проблем [1, 3, 4, 9].

Задача настоящей работы – изучить динамические характеристики люминесцирующих индольных групп в триптофановых остатках меченых (содержащих индольные группы) модельных синтетических полимеров, выяснить, с изменением каких релаксационных процессов связано изменение поляризации люминесценции индолсодержащих макромолекул.

В качестве объектов исследования были выбраны и специально синтезированы ПММА и полиметакриловая кислота (ПМАК) с ковалентно-присоединенными индольными группами в триптофановых остатках. Расположение индольных групп



в сополимерах Glu-Trp (глутаминовая кислота – триптофан),
Glu-Leu-Trp (глутаминовая кислота – лейцин – триптофан) и в белках



Выбранные полимеры позволяют решить все сформулированные задачи. Внутримолекулярная подвижность этих полимеров изучена в различных растворителях и при разных температурах [10, 11], а для ПМАК – и при разных степенях ионизации карбоксильных групп [12]. Сопоставление времен релаксации для релаксационных процессов, проявляющихся в поляризованной люминесценции индольных групп триптофановых остатков, с временами, характеризующими подвижность основной цепи полимера, позволит определить, с подвижностью какого участка индолсодержащих макромолекул связан наблюдющийся в поляризованной люминесценции индольных групп триптофановых остатков релаксационный процесс.

Для определения параметра $1/p_0'$ и значения τ (времени основного релаксационного процесса, проявляющегося в поляризованной люминесценции полимеров с индольными группами в триптофановых остатках) были измерены зависимости поляризации люминесценции p от вязкости смешанных растворителей η при 298 К для полимеров ПММА и ПМАК с ковалентно-присоединенными индольными группами в триптофановых остатках (одна индольная группа на 250, 1500 звеньев основной структуры полимера). Полимеры ПММА и ПМАК с индольными группами были получены свободнорадикальной сополимеризацией соответствующих мономеров с N-метакрилоилтриптофаном.

Значения τ определяли с помощью соотношения

$$\tau = \frac{(1/p_0' + 1/3) 3\tau_\phi}{1/p - 1/p_0'}, \quad (1)$$

где τ_ϕ – длительность свечения (измерена на фазовом флуориметре [13]). Поляризация люминесценции в области свечения остатков триптофана ($\lambda_{per}=350$ нм) измерялась на установке, описанной в работе [14].

В качестве примера на рисунке представлены зависимости $1/p$ от T/η для полимеров с индольными группами. Экстраполяция линейного при больших значениях $(T/\eta) > 100$ К спуска участка зависимости $1/p$ от (T/η) к $(T/\eta)=0$ определяет параметр $1/p_0'$ (отрезок, отсекаемый на оси ординат), характеризующий амплитуду высокочастотных движений индольных групп. Высокое значение $1/p_0' = 13,5$ (возбуждение естественным светом, $\lambda_{vib}=296$ нм) для неструктурированных макромолекул (ПМАК в воде при $\alpha=0,3$) связано с большой величиной вклада f высокочастотных движений индольных групп в релаксационный спектр полимера с индольными группами.

пами ($f = (1/p_0' - 1/p_0) / (1/p_0' + 1/3) = 0,41$) и с низким значением величины p_0' — предельной поляризацией люминесценции, наблюдаемой в условиях, когда подвижность индолильных групп полностью заторможена ($1/p_0 = 7,8$).

Высокочастотное движение индолильных групп дает большой вклад в релаксационный спектр макромолекул с индолильными группами, так как дипольный момент перехода индолильной группы (в отличие от антраценодержащих люминесцирующих групп) имеет направление, не совпадающее с направлением связи, соединяющей индолильную группу с полимером. Даные таблицы показывают, что амплитуда высокочастотных движений индолильной группы $1/p_0'$ изменяется как в присутствии неполярных групп (в водных средах) из-за гидрофобных взаимодействий индолильных групп с неполярными группами макромолекулярного окружения (таблица, образцы 4, 5), так и групп, вступающих с индолильными группами в водородную связь (и под действием факторов, ее стабилизирующих) (таблица, образцы 6–8).

Характеристики полимеров с индолильными группами

Образец, %	Полимер	Растворитель	рН, α			$1/p_0'$	τ_ϕ , нс
				$\tau_{\text{оп}}^{\text{пр}}$	$\tau_{\text{иг}}^{\text{пр}}$		
1	ПММА	ДМФ	—	8,5	1,4	13,5	3,0
2	ПММА	Метилацетат	—	8,3	2,2	11,0	3,4
3	Glu-Trp (200 : 1)	0,2 M NaCl	pH 7,0	13	1,6	13,5	3,0
4	Glu-Trp (200 : 1)	0,2 M NaCl	pH 4,3	38	1,8	13,0	1,9
5	Glu-Leu-Trp (83 : 16,5 : 0,5)	0,2 M NaCl	pH 4,8	>60	9,0	11,5	2,5
6	ПМАК	Вода – NaOH	$\alpha=0,3$	10	2,7	13,5	5,4
7	ПМАК	Вода – NaOH	$\alpha=0,12$	52	4,8	11,0	4,7
8	ПМАК	Вода – HCl	$\alpha=0$	52	10,8	9,0	3,5
9	α-Лактальбумин	Вода	pH 7,0	—	19,0	10,3	2,1

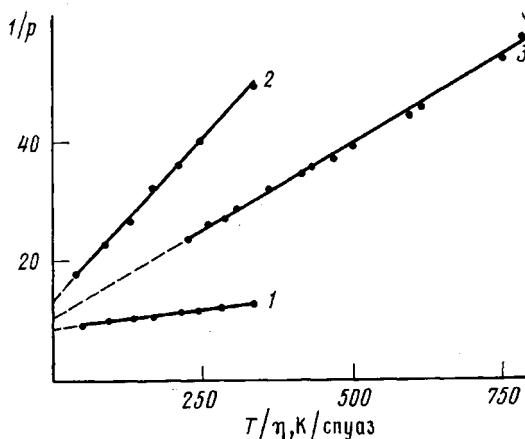
Примечание. $\tau_{\text{иг}}^{\text{пр}}$ — времена релаксации макромолекул полимеров с индолильными группами, $1/p_0'$ — параметр высокочастотных движений, τ_ϕ — длительность свечения индолильных групп в меченых полимерах, $\tau_{\text{оп}}^{\text{пр}}$ — времена релаксации, характеризующие подвижность основной цепи полимера. Значения τ приведены к одному значению вязкости растворителя $\eta_{\text{пр}} = 0,38$ спуз ($\tau_{\text{пр}} = \tau \cdot \eta_{\text{пр}} / \eta$, η — вязкость растворителя). Люминесценция возбуждалась естественным светом ($\lambda_{\text{возб}} = 296$ нм).

Сопоставление времен релаксации для релаксационного процесса, проявляющегося в поляризованной люминесценции макромолекул с индолильными группами при значениях $T/\eta > 100$ К/спуз, с временами, характеризующими подвижность основной полимерной цепи (таблица, образцы 1–8) показывает, что изменение поляризации люминесценции и в области больших значений T/η связано в основном с независимым от основной цепи движением индолильных групп и лишь в малой степени — с движением основной цепи полимера. Величина $\tau_{\text{пр}}^{\text{пр}} = 2$ нс указывает на то, что при $(T/\eta) > 100$ К/спуз в поляризованной люминесценции проявляется низкочастотное движение индолильных групп [14]. Таким движением может быть поворотно-изомерное движение индолильных групп остатков триптофана [14]. Наряду с этим движением наблюдается вклад высокочастотных движений индолильных групп. Именно с амплитудой высокочастотных движений индолильной группы связан параметр $1/p_0'$, характеризующий вклад высокочастотных движений индолильной группы в релаксационный спектр меченого полимера. Быстрыми движениями индолильных групп могут быть их крутильные колебания в пределах рассматриваемых поворотных изомеров триптофановых остатков [14].

Поскольку в поляризованной люминесценции полимеров с индолильными группами (даже при $(T/\eta) > 100$ К/спуз) проявляется движение самих индолильных групп (низкочастотное), все факторы, оказывающие влияние на амплитуду движения индолильных групп (параметр $1/p_0'$), влияют и на $\tau_{\text{иг}}$ (таблица). В отличие от индолсодержащих люминесцирующих групп

антраценсодержащие люминесцирующие группы дают информацию о подвижности основной цепи полимера, даже если антраценовое ядро присоединяется не к основной, а к боковой цепи полимера, как в антрилацилоксиметановых группах [12], ибо и в этом случае подвижность основной цепи полимера дает значительный вклад в изменение поляризации люминесценции.

Различная информативность поляризованной люминесценции антрацен- и индолсодержащих люминесцирующих групп связана с особенностями строения антраценсодержащих люминесцирующих групп. В антраценсодержащих люминесцирующих группах (в отличие от индолсодержащих) дипольный момент перехода антраценового ядра совпадает с направлением связи, соединяющей люминесцирующую группу с полимером, что исключает изменение поляризованной люминесценции из-за низкочастотного



Зависимость $1/p$ от вязкости смешанных растворителей для индолсодержащих полимеров: 1 – ПМАК, $\alpha=0$, вода – сахароза; 2 – ПМАК, $\alpha=0,3$, вода – сахароза; 3 – ПММА, метилапетат – триацетин. Концентрация полимеров 1 г/л, $\lambda_{\text{возб}}=296$ нм, $\lambda_{\text{пер}}=350$ нм, 298 К

движения самого антраценового ядра вокруг прилегающей связи. Независимое от основной цепи полимера низкочастотное движение антраценового ядра с прилегающими группами вокруг других связей в боковых цепях не может реализоваться из-за массивности антраценового ядра. Следовательно, массивность антраценового ядра играет существенную роль в увеличении вклада подвижности основной цепи полимера в изменение поляризации люминесценции.

Существует еще одна особенность антраценового ядра, отличающая его от индольных групп: оно не имеет групп, образующих водородную или электростатическую связь. С перечисленными особенностями антраценсодержащих люминесцирующих групп связаны высокая информативность и чувствительность метода поляризованной люминесценции при исследовании антраценсодержащих полимеров. Индолсодержащие люминесцирующие группы в меченных полимерах, а следовательно, и в белках дают информацию о подвижности индольных групп. На основе поляризованной люминесценции этих групп можно получить информацию о подвижности триптофановых остатков в белках, в состав которых входят индольные группы [14]. Эта информация представляет большой интерес при решении различных проблем физики белка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Anufrieva E. V., Gotlib Yu. Ya. Advances Polymer Sci., 1981, v. 40, № 1, p. 1.
2. Ануфриева Е. В., Волькенштейн М. В., Готлиб Ю. Я., Краковяк М. Г., Скорогодов С. С., Шевелева Т. В. Докл. АН СССР, 1970, т. 194, № 5, с. 1108.
3. Ануфриева Е. В., Готлиб Ю. Я., Краковяк М. Г., Паутов В. Д. Высокомолек. соед. А, 1976, т. 18, № 12, с. 2740.
4. Ануфриева Е. В., Готлиб Ю. Я., Краковяк М. Г., Паутов В. Д., Шелехов Н. С. Высокомолек. соед. А, 1977, т. 19, № 11, с. 2488.

5. Краковяк М. Г., Ануфриева Е. В., Ананьева Т. Д., Громова Р. А., Лущик В. Б., Скороходов С. С. Высокомолек. соед. А, 1976, т. 18, № 7, с. 1494.
6. Krakovyak M., Ananieva T., Anufrieva E., Gotlib Yu., Nekrasova T., Skorokhodov S. Makromolek. Chem., 1981, v. 182, p. 1009.
7. Ануфриева Е. В., Краковяк М. Г., Громова Р. А., Миловская Е. Б., Рудковская Г. Д., Замойская Л. В., Лущик В. Б., Шевелева Т. В. Высокомолек. соед. А, 1981, т. 23, № 12, с. 2668.
8. Ануфриева Е. В., Паутов В. Д., Геллер Н. М., Краковяк М. Г., Паписов И. М. Докл. АН СССР, 1975, т. 220, № 2, с. 353.
9. Ануфриева Е. В. Дис. на соискание уч. ст. докт. физ.-мат. наук. Л.: ИВС АН СССР, 1974, с. 80.
10. Ануфриева Е. В., Волькенштейн М. В., Краковяк М. Г., Шевелева Т. В. Докл. АН СССР, 1971, т. 200, № 2, с. 358.
11. Ануфриева Е. В., Волькенштейн М. В., Готлиб Ю. Я., Краковяк М. Г., Торчинский И. А., Шевелева Т. В. Изв. АН СССР. Сер. физ., 1970, т. 34, № 3, с. 518.
12. Ануфриева Е. В., Волькенштейн М. В., Краковяк М. Г., Шевелева Т. В. Докл. АН СССР, 1968, т. 182, № 2, с. 361.
13. Борисов А. Ю., Тумерман Л. А. Изв. АН СССР. Сер. физ., 1959, т. 23, № 1, с. 97.
14. Semisotnov G. V., Anufrieva E. V., Zykherman K. H., Kasatkin S. B., Ptitsyn O. B. Biopolymers, 1981, т. 20, № 11, с. 2287.

Институт высокомолекулярных
соединений АН СССР

Поступила в редакцию
20.IV.1981

POLARIZED LUMINESCENCE OF POLYMERS WITH INDOL-CONTAINING LUMINESCENT GROUPS

Anufrieva Ye. V., Semisotnov G. V., Krakovyak M. G., Lushchik V. B.

Summary

The relaxational spectra of indol- and anthracene-containing macromolecules manifesting in polarized luminescence of their solutions have been analysed. The main relaxational process affecting the polarized luminescence of indol-containing macromolecules was found to be the mobility of luminescent indol groups dependent on their contacts with macromolecular environment. The absence of the correlation between the change of the mobility of indol groups chemically bound with a macromolecule and the change of the mobility of the main chain of a polymer was shown.