

УДК 541.64:543.422.27

**ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИОНОВ ПЕРЕХОДНЫХ
МЕТАЛЛОВ С ЛИНЕЙНЫМ ПОЛИЭТИЛЕНИМИНОМ
МЕТОДОМ СПИНОВЫХ МЕТОК**

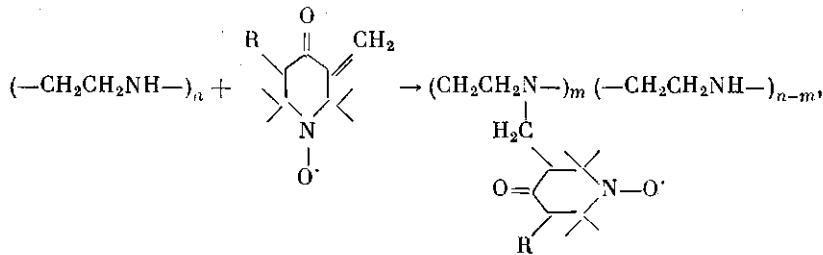
Кокорин А. И., Молочников Л. С., Яковлева И. В.,
Шапиро А. Б., Гембицкий П. А.

Методом спиновых меток изучена пространственная организация макромолекулы линейного полиэтиленамина в застеклованных водно-спиртовых растворах при комплексообразовании с ионами переходных металлов. Измерены средняя локальная плотность звеньев цепи полиэтиленамина, объем полимерного клубка, среднее расстояние между спин-метками. При комплексообразовании спин-меченным полиэтиленимином ионов Cu(II), Ni(II), Co(II) экспериментально определены средние расстояния от метки до ближайших парамагнитных комплексов. Измерение средних локальных концентраций металлокомплексов в объеме клубка полиэтиленамина из данных по их взаимодействию с метками дает заниженные результаты.

В работе [1] начато количественное изучение пространственной организации макромолекулы линейного полиэтиленамина (**ПЭИ**) при комплексообразовании с ионами переходных металлов. Для комплексов Cu(II) – ПЭИ при помощи метода ЭПР были определены средняя локальная концентрация металлокомплексов в объеме полимерного клубка $\langle C \rangle$, средний эффективный объем, занимаемый ионами меди \bar{V} , среднее расстояние \bar{r} между ними.

Известно [2, 3], что метод спиновых меток позволяет получать обширную информацию о пространственной организации макромолекулярных клубков, локальной плотности звеньев цепи, а для биополимеров – измерять расстояние между спиновой меткой и парамагнитным ионом металла. Однако для исследования структурных аспектов взаимодействия ионов переходных металлов с комплексообразующими полимерами в растворе метод спиновых меток еще не применяли. Поэтому основная цель данной работы состояла в выяснении на примере спин-меченого ПЭИ возможностей метода для изучения строения координационных соединений с макромолекулярными лигандами.

Спин-меченные производные линейного ПЭИ ($M \sim 5 \cdot 10^3$) получали по реакции



где $R = CH_2$ (I), H_2 (II).

ПЭИ (300 мг) растворяли в этаноле и инкубировали в течение 1–3 дней в 100 мл спиртового раствора радикала I или II. Непрореагировавшую метку удаляли диялизом в течение 48 ч. Получали образцы со степенью алкилирования $\beta = m/n$ равной ~1, 3, 5 и 22%. Спиновую метку I получали при взаимодействии 2,2,6,6-тетраметил-4-оксипиридин-1-оксила (0,01 моль/л) с двукратным избытком формальдегида (34% водный раствор) в водном растворе едкого натра (0,05 н.) при перемешивании.

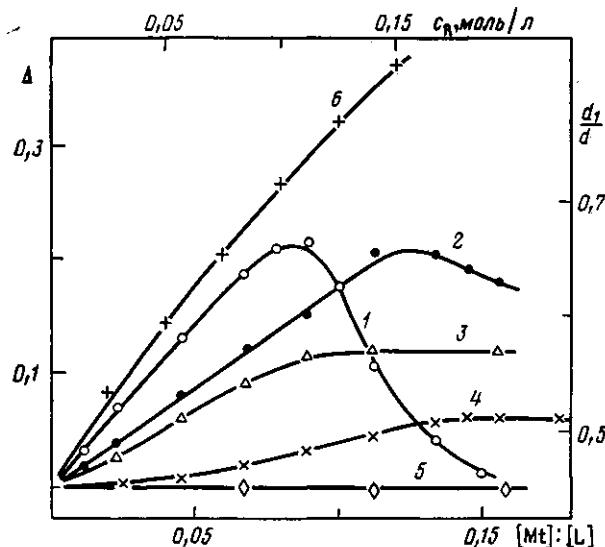


Рис. 1. Зависимость параметров d_1/d (1–5) и Δ (6) от концентрации нитроксильного радикала c_R и от относительной концентрации ионов металла $[Mt]:[L]$ в растворе спин-меченого ПЭИ ($\beta=5\%$) при 77 К: 1 – Cu^{2+} , 2 – Ni^{2+} , 3 – Co^{2+} , 4 – Zn^{2+} , 5 – Na^+ . $[L]=0,045$ моль/л

шивании в течение 30 мин. Дальнейшее выдерживание реакционной смеси ведет к образованию бирадикального аддукта диенового синтеза [4]. Диметиленкетон I выделен в виде гексановой вытяжки, очищен колоночной хроматографией на силикагеле (элюент гексан:эфир=1:1), устойчив в разбавленном растворе в течение 5–6 сут при 4–6°. $R_f \sim 0,85$ (гексан: эфир=1:1). Монометиленкетон II получен при проведении реакции в растворе поташа и снижении концентрации формальдегида до полуторакратного избытка. Из реакционной смеси радикал II выделен экстракцией бензолом, очищен колоночной хроматографией на силикагеле (элюент бензол: этилацетат=3:1). $R_f \sim 0,77$. Полученные непредельные кетоны характеризовали в виде их производных со вторичными аминами 3,5-диморфолинометилен-2,2,6,6-тетраметил-4-оксопиридин-1-оксил ($m_e^+=368$. Найдено, %: С 61,8; Н 9,31; N 11,3. $C_{18}H_{34}N_3O_4$. Вычислено, %: С 61,9; Н 9,29; N 11,41. $T_{пл}=170-172^\circ$) и 3-пиперидинометилен-2,2,6,6-тетраметил-4-оксопиридин-1-оксил ($m_e^+=267$. Найдено, %: С 67,6; Н 9,73; N 10,59. $C_{15}H_{27}O_2N_2$. Вычислено, %: С 67,38; Н 10,17; N 10,48. $T_{пл}=89-91^\circ$).

Введение $>4-5\%$ метки I в ПЭИ приводило к выпадению части полимера из раствора вследствие спшивания макромолекул за счет второй метиленовой группы. Поэтому основные результаты получены на образцах ПЭИ, меченых радикалом II.

В работе использовали соли $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$, $Zn(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$, $Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ и $NaNO_3$ квалификации х.ч. и ч.д.а. Растворитель – хорошо стекающаяся смесь вода: этанол – 1:1 (по объему). Добавки растворов солей вводили в раствор ПЭИ микрощипцами фирмы «Hamilton».

Спектры ЭПР регистрировали при 77 К на радиоспектрометре ЭПР-В (ИХФ АН СССР) в тонкостенных кварцевых ампулах, а спектры поглощения – на спектрофотометре «Specord UV-Vis».

Перенесение результатов, полученных в застеклованных при 77 К матрицах, на растворы полимеров при комнатной температуре возможно для термодинамически хороших растворителей [2, 5, 6]; таковым для ПЭИ является 50%-ная смесь вода – этанол. Определяя структурные параметры макромолекул в замороженных растворах можно из величины магнитного диполь-дипольного взаимодействия между спин-метками или между меткой и парамагнитными ионами металла. Ее характеризовали при помощи эмпирического параметра формы спектра d_1/d , равного отношению суммарной амплитуды крайних компонент спектра ЭПР к амплитуде центральной компоненты [5, 7]. Параметр d_1/d можно представить в виде

$$d_1/d = (d_1/d)_0 + \Delta, \quad (1)$$

где $(d_1/d)_0$ – значение d_1/d в отсутствие диполь-дипольного взаимодействия, а Δ – вклад в d_1/d , зависящий от величины диполь-дипольного взаимодействия. Для радикалов I и II в 50%-ном (по объему) водно-этанольном растворе $(d_1/d)_0=0,365 \pm 0,005$. Локальную концентрацию спин-меток в объеме клубка ПЭИ в отсутствие парамагнитных ионов металла c_L определяли при помощи градиуровки, приведенной на рис. 1. Среднюю локальную плотность звеньев цепи ρ_L , объем полимерного клубка \bar{V} , среднее расстояние между спин-метками \bar{r} определяли из соотношений [5]

$$\rho_L = 100c_L/\beta, \quad \bar{V} = n/c_L, \quad \bar{r} = (100\bar{V}/\beta\bar{P})^{1/3} \quad (2)$$

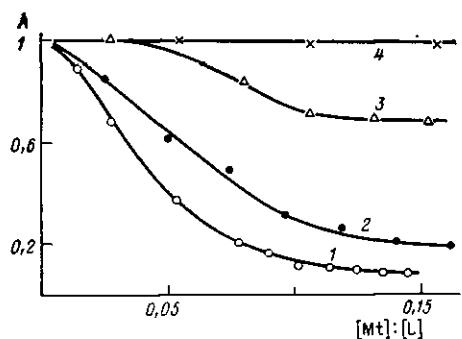


Рис. 2

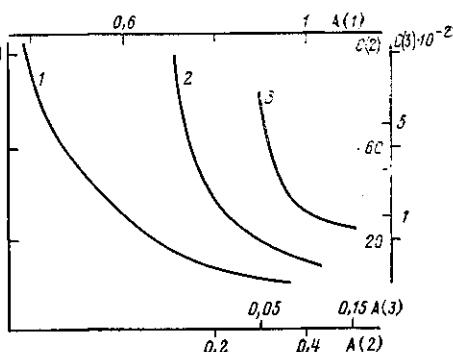


Рис. 3

Рис. 2. Изменение амплитуды центральной компоненты спектра ЭПР спин-метки $A = I/I_0$ от относительной концентрации ионов металла $[Mt]:[L]$ в растворе спин-меченного ПЭИ ($\beta=5\%$) при 77 К: 1 – Cu^{2+} , 2 – Ni^{2+} , 3 – Co^{2+} , 4 – Zn^{2+} . $[L]=0,045$ моль/л

Рис. 3. Зависимость параметра C от степени уменьшения амплитуды сигнала ЭПР нитроксильного радикала $A = I/I_0$ при его взаимодействии с парамагнитным ионом металла

Здесь $P \approx 120$ – степень полимеризации; n – среднее число спин-меток, присоединенных к одной макромолекуле; β выражено в %.

В таблице приведены данные, характеризующие макромолекулу спин-меченого ПЭИ в отсутствие комплексообразования с ионами переходных металлов. Из таблицы следует, что значения ρ_L и \bar{V} , характеризующие клубок в целом, не зависят от типа метки и в пределах ошибки измерения от степени алкилирования вплоть до 20 %. При этом локальная концентрация меток в клубке c_L изменяется почти на порядок. Для ПЭИ с $\beta=5\%$ варьирование концентрации полимера в растворе от 0,01 до 0,12 моль/л (по звену) не приводило к изменению параметров d_i/d и c_L , т. е. в указанном интервале в хорошем растворителе ПЭИ находится в виде изолированных и практически не взаимодействующих клубков. Отметим, что измеренная величина ρ_L (несколько десятых моль/л), по-видимому, является типичной для гибкоценных полимеров в хороших растворителях. Действительно, близкие значения ρ_L были получены для этанольных [2], водно-метанольных [5] растворов поли-4-винилпиридина и аморфного линейного полиглицидилметакрилата в $CHCl_3$ и смеси толуол : хлороформ = 2 : 3 (по объему) [6].

Титрование раствора спин-меченого ПЭИ парамагнитными ионами $Cu(II)$, $Ni(II)$ и $Co(II)$ вызывает в спектрах ЭПР радикалов изменения двух типов. Во-первых, наблюдается увеличение параметра Δ , которое при некоторой концентрации металла сменяется уменьшением Δ , сильнее выраженным для ионов с большим временем спин-решеточной релаксации T_1 – $Ni(II)$ и особенно $Cu(II)$ (рис. 1). Во-вторых, происходит значительное падение интенсивности спектров ЭПР радикалов при практически неизменной ширине ΔH компонент спектра, причем этот эффект наиболее значителен также для ионов меди (рис. 2). Добавление ионов Na^+ не вызывает изменений в величине d_i/d , а в случае $Zn(II)$ параметр d_i/d

Локальные концентрации спин-меток c_L и некоторые характеристики клубков ПЭИ в застеклованных растворах при 77 К

Метка	$\beta, \%$	$d_i/d \pm 0,005$	$c_L, \text{моль/л}$	$\rho_L, \text{моль/л}$	$\bar{V}, \text{нм}^3$	$\bar{r}, \text{А}$
I	~ 1 $3 \pm 0,5$	0,39 0,42	– 0,018	– $0,6 \pm 0,1$	– 330 ± 50	– 45
II	$5 \pm 0,5$ 22 ± 2	0,45 0,67	0,028 0,12	$0,56 \pm 0,06$ $0,54 \pm 0,05$	355 ± 35 360 ± 30	39 23,8

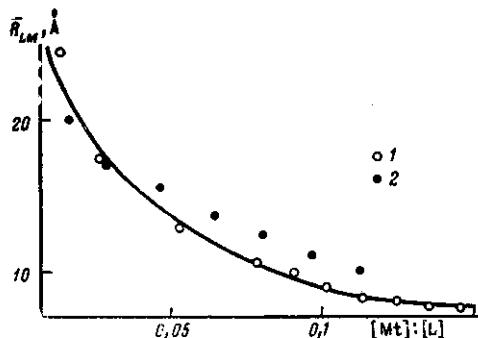


Рис. 4

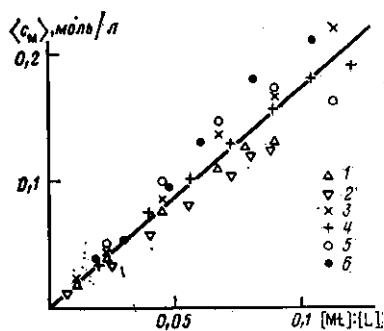


Рис. 5

Рис. 4. Изменение среднего расстояния \bar{R}_{LM} от спин-метки до ближайшего иона $\text{Cu}(\text{II})$ от соотношения $[\text{Mt}]:[\text{L}]$ в растворе спин-меченого ПЭИ при 77 К: 1 – метка II, $\beta=5\%$, $[\text{L}]=0,045$ моль/л; 2 – метка I, $\beta=3\%$, $[\text{L}]=0,012$ моль/л

Рис. 5. Зависимость эффективной локальной концентрации $\langle c_m \rangle$ -металлокомплексов в клубке ПЭИ от соотношения $[\text{M}]:[\text{L}]$ при 77 К для ионов Cu^{2+} (1, 2), Ni^{2+} (3, 4), Co^{2+} (5, 6). $[\text{L}]=0,045$ (1, 3, 5) и 0,012 моль/л (2, 4, 6)

несколько возрастает, выходя на плато при насыщающих концентрациях металла (рис. 1). Аналогичные результаты получены и для вчетверо меньшей концентрации ПЭИ.

Уменьшение амплитуды сигнала ЭПР с ростом концентрации меди полностью обратимо и не связано с потерей парамагнетизма меткой: добавление в раствор немеченого ПЭИ вызывает перераспределение ионов $\text{Cu}(\text{II})$ между клубками, уменьшение локальной концентрации комплексов $\langle c_m \rangle$ в полимере и приводит к восстановлению интенсивности спектра ЭПР радикала. Подобный эффект наблюдали ранее при изучении металлодержащих биополимеров методом спиновых меток [3, 8] и объяснили в работах [8, 9]. Было показано, что уменьшение амплитуды сигнала ЭПР метки при почти неизменной ширине линий вызвано взаимодействием в паре радикал – парамагнитный ион, если время релаксации электронного спина иона находится в интервале $10^{-6} > T_1 > 10^{-10}$ с [9]. Вследствие сильной анизотропии этого взаимодействия в спектре ЭПР наблюдается только часть первоначального сигнала практически не измененного по форме, в то время как для других ориентаций линии уширяются настолько, что перестают быть регистрируемыми. При более коротких T_1 эффект также наблюдается, но его количественное описание весьма затруднительно.

В случае спин-меченого ПЭИ, измеряя величину падения амплитуды центральной компоненты спектра $I/I_0 = A$, из данных рис. 2 с помощью соотношения [9]

$$\bar{R}_{LM} = (g\beta\mu^2\tau/\hbar C)^{1/4} \quad (3)$$

можно рассчитать среднее расстояние \bar{R}_{LM} от метки до ближайшего иона $\text{Cu}(\text{II})$. Здесь g – g -фактор радикала; β – магнетон Бора; μ – магнитный момент, равный $1,8\beta$; τ – время спин-решеточной релаксации парамагнитного иона, равное 10^{-8} с; C – параметр, определяемый из графика на рис. 3. Результаты приведены на рис. 4. Видно, что при насыщающих концентрациях меди минимальное расстояние \bar{R}_{LM} составляет 7,5–8 Å. В интервале $[\text{Mt}]:[\text{L}] = 0,015–0,14$ величина \bar{R}_{LM} уменьшается в ~ 3 раза.

Увеличение параметра Δ при добавлении к раствору ПЭИ ионов цинка (рис. 1) связано с усилением диполь-дипольного взаимодействия между радикалами Δ_{LL} и свидетельствует о повышении локальной плотности звеньев в клубке ПЭИ при комплексообразовании. Изменение ионной силы раствора, создаваемое добавками NaNO_3 , не влияло на величину параметра d_L/d . Из данных рис. 1 и таблицы следует, что при координации $\text{Zn}(\text{II})$ значение c_L возрастает в ~ 2 раза, т. е. средний объем клубка \bar{V} становится вдвое меньше исходного.

Используя принцип независимости диполь-дипольного взаимодействия между парамагнетиками [10], были оценены эффективные локальные концентрации c_m парамагнитных ионов в клубке ПЭИ из их взаимодействия со спин-метками Δ_{LM}

$$\Delta = \Delta_{LL} + \Delta_{LM} \quad (4)$$

Зависимость \bar{c}_m от концентрации Cu(II), Ni(II) и Co(II) в растворе представлена на рис. 5. При расчете значений c_m из данных рис. 1 использовали коэффициенты α , приведенные в работе [7], которые учитывают, что метка взаимодействует с парамагнетиками, обладающими более коротким, чем у нее временем T_1 . Для всех ионов в интервале концентраций ПЭИ 0,01–0,1 моль/л зависимости c_m от $[Mt]:[L]$ в пределах ошибки измерения практически совпадают. Это показывает, что, во-первых, характер изменения среднего объема клубка ПЭИ при координации ионов Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} одинаков, и, во-вторых, при указанных концентрациях ПЭИ образование межмолекулярных комплексов не происходит.

Отметим, что приведенные на рис. 5 значения $\langle c_m \rangle$ в 2–4 раза меньше измеренных в работе [1] непосредственно из спектров ЭПР комплексов меди. «Заниженность» величин $\langle c_m \rangle$, оцененных из взаимодействия парамагнитных комплексов со спин-метками связано, по-видимому, с тем, что в регистрируемых спектрах ЭПР меток отсутствуют вклады от ближайших к ионам металла и наиболее сильно взаимодействующих с ними радикалов, т. е. с помощью спиновых меток из данных рис. 1 определяется заниженная величина $\langle c_m \rangle$. Чем выше содержание металлокомплексов в макромолекуле, тем сильнее в диполь-дипольное взаимодействие становится вклад ближайшего парамагнетика и тем значительнее будут отличия от истинных значений $\langle c_m \rangle$, определенных по спин-меткам.

Участок уменьшения параметра d/d на рис. 1 для ионов Cu(II) и Ni(II) также объясняется сохранением в спектре ЭПР сигнала лишь от небольшой доли меток (возможно, на концевых NH_2 -группах), расположенных далеко от металлокомплексов и почти не взаимодействующих с ними.

Таким образом, в работе при помощи метода спиновых меток измерена средняя локальная плотность звеньев цепи линейного ПЭИ ρ_L , определен объем полимерного клубка \bar{V} в застеклованном растворе, среднее расстояние между спин-метками \bar{r} . При комплексообразовании спин-меченым ПЭИ ионов Cu(II), Ni(II), Co(II) экспериментально установлена зависимость среднего расстояния между меткой и ближайшим парамагнитным комплексом R_{LM} от содержания ионов металла в клубке. Показано, что комплексы указанных ионов металла, в пределах погрешности измерения, распределены в объеме клубка ПЭИ одинаково (с близкими средними локальными концентрациями). Измерение средних локальных концентраций металлокомплексов $\langle c_m \rangle$ в объеме клубка ПЭИ из данных по их взаимодействию с метками дает заниженные результаты. По-видимому, это связано с нарушением хаотического характера распределения радикалов в объеме макромолекулы при образовании большого числа комплексов и локализации меток в рыхлых периферийных областях клубка. Очевидно, чем дальше находятся спин-метки от координирующих групп полимера (длинные «ножки» меток), тем меньше возможности использованного метода для изучения структурных перестроек макромолекулы в процессе комплексообразования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кокорин А. И., Шубин А. А. // Журн. структур. химии. 1988. Т. 29. № 6.
2. Вассерман А. М., Коварский А. Л. Спиновые метки и зонды в физико-химии полимеров. М., 1986. 246 с.
3. Метод спиновых меток и зондов. Проблемы и перспективы./Под ред. Эмануэля Н. М., Жданова Р. И. М., 1986. 272 с.
4. Шапиро А. Б., Иванов В. П., Хвостач О. М., Розанцев Э. Г. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1973. № 7. С. 1688.
5. Кокорин А. И., Кирш Ю. Э., Замараев К. И. // Высокомолек. соед. А. 1975. Т. 17. № 7. С. 1618.
6. Шаулов А. Ю., Харитонов А. С., Кокорин А. И. // Высокомолек. соед. А. 1977. Т. 19. № 8. С. 1813.

7. Кокорин А. И., Формазюк В. Е. // Молекулярная биология. 1981. Т. 15. № 4. С. 930.
8. Taylor J. S., Leigh J. S., Cohn M. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1969. V. 64. № 1. Р. 219.
9. Leigh J. S. // J. Chem. Phys. 1970. V. 52. № 11. Р. 2608.
10. Лебедев Я. С., Муромцев В. И. ЭПР и релаксация стабилизированных радикалов. М., 1971. 256 с.

Институт химической физики
АН СССР

Поступила в редакцию:
18.VIII.1987

Институт нефтехимического синтеза
им. А. В. Топчиева АН СССР

STUDY OF INTERACTION OF TRANSITIONAL METAL IONS WITH LINEAR POLYETHYLENEIMINE USING SPIN-LABEL METHOD

Kokorin A. I., Molochnikov L. S., Yakovleva I. V., Shapiro A. B.,
Gembitskii P. A.

Summary

The three-dimensional organization of the linear PEI macromolecules in glassy water-alcohol solutions in the course of complex formation with transitional metals ions has been studied using spin labels method. The average local density of PEI chain units, the volume of a polymer coil, the average distance between spin labels were measured. For complex formation between spin-labeled PEI and Cu(II), Ni(II), Co(II) ions the average distances between a label and the nearest paramagnetic complexes were experimentally determined. The average local concentrations of metal complexes in the PEI coil volume calculated from the data on their interaction with labels were shown to be underestimated.