

УДК 541.64

## СТРОЕНИЕ И СТРУКТУРНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ МАКРОМОЛЕКУЛ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИМЕРОВ И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ МАГНИЕВОЙ СОЛИ 8-АНИЛИНОНАФТАЛИН-1-СУЛЬФОКИСЛОТЫ

© 1994 г. Е. В. Ануфриева, Т. Н. Некрасова, Т. В. Шевелева, М. Г. Краковяк

*Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук*

199004 Санкт-Петербург, Большой пр., 31

Поступила в редакцию 04.03.93 г.

Установлен молекулярный механизм влияния химического строения водорастворимых полимеров и структурных превращений макромолекул на люминесценцию магниевой соли 8-анилинонафталин-1-сульфокислоты (АНС) в водных растворах. Показано, что люминесценция АНС в растворе полимера определяется в основном взаимодействием АНС с протоноакцепторными группами макромолекул, не связанными с протонодонорными группами макромолекулярного окружения, или взаимодействием АНС с положительно заряженными группировками полимера. Люминесценция лишь в незначительной степени меняется при увеличении содержания в полимере неполярных группировок и только при условии осуществления указанных взаимодействий.

Известно, что соли 8-анилинонафталин-1-сульфокислоты широко используют в качестве индикаторов при исследовании структуры биологических мембран [1] или структурных превращений макромолекул белка [1 - 3]. Эти исследования основаны на чувствительности интенсивности люминесценции  $I_{\text{люм}}$  АНС к изменению структуры белков (биологических мембран). В большинстве работ АНС признается гидрофобным зондом [1 - 3], а увеличение  $I_{\text{люм}}$  ионов АНС при взаимодействии с белками в водных растворах связывают с представлениями о преимущественной посадке ионов АНС на неполярные участки белковых глобул [3]. При этом предполагают, что при различных воздействиях на белковые глобулы в водных растворах, например при добавлении гуанидингидрохlorida, увеличивается доступность неполярных участков молекул белка для ионов АНС. Однако в работах, связанных с использованием АНС в качестве гидрофобного зонда, не приведено никаких доказательств, подтверждающих молекулярный механизм функционирования АНС в качестве гидрофобного зонда. Утверждение, что АНС является зондом, чувствительным, главным образом, к наличию доступных для него гидрофобных участков макромолекул, не подтверждено какими-либо экспериментальными данными. Влияние других функциональных групп в макромолекулах белков на  $I_{\text{люм}}$  АНС не обсуждали [1 - 3].

Задача настоящей работы – изучение факторов, влияющих на интенсивность люминесценции  $I_{\text{люм}}$  АНС в водных растворах полимеров. Для решения поставленной задачи мы использовали водорастворимые синтетические полимеры направленно варьируемого химического и (или) стерео-

химического строения, макромолекулы которых имеют в водных средах различные конформации (клубок, клубок с элементами компактной структуры, компактная структура типа глобулярной). Строение исследуемых полимеров (таблица), их функциональных групп и структурных фрагментов подбирали таким образом, чтобы установить роль взаимодействий различных типов между ионами АНС и макромолекулами полимеров в водных растворах в изменении  $I_{\text{люм}}$  АНС.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

#### Полимеры

Поли-N-виниламиды – поли-N-метил-N-винилакетамид, поли-N-винилпирролидон, поли-N-винилкапrolактам синтезировали по методикам, описанным в работах [4, 5].

Поли-N-алкилметакриламиды (ПАМА-*n*) получали свободнорадикальной полимеризацией соответствующих мономеров в ДМФА при 60°C с использованием в качестве инициатора ДАК. Сополимеры винилового спирта с винилацетатом, П(ВС-ВА), микроблочного строения получали, как описано в работе [6].

Образцы ПМАК различной степени стереорегулярности синтезировали по методике [7].

Поликатионы – поливиниламин и полидиметиламиноэтилметакрилат, кватернизованный хлористым метилом (ПАЭМ), и сополимеры винилпирролидона с кротоновой кислотой были синтезированы авторами [8].

Полиметакрилоиллупинин (ПМЛ) с  $M = 1.5 \times 10^5$  получали способом, аналогичным описанному в работе [9].

Влияние химического строения полимера на интенсивность люминесценции АНС в водном растворе ( $c_{\text{пол}} = 0.2\%$ ,  $c_{\text{АНС}} = 2 \times 10^{-5}$  моль/л, 25°C)

Образец, №	Полимер	Составное повторяющееся звено	$I_{\text{люм}}$ АНС	Растворитель
Поли-N-виниламиды				
1	Поли-N-метил-N-ванилацетамид	$\text{--CH}_2\text{--CH--}$ $\text{N} \begin{cases} \text{CH}_3 \\ \text{CO--CH}_3 \end{cases}$	40	H <sub>2</sub> O
2	Поли-N-ванилпирролидон	$\text{--CH}_2\text{--CH--}$ $\text{N} \begin{cases} \text{CH}_2\text{--CH}_2 \\ \text{CO--CH}_2 \end{cases}$	50	H <sub>2</sub> O
3	Поли-N-ванилкапролактам	$\text{--CH}_2\text{--CH--}$ $\text{N} \begin{cases} \text{CH}_2\text{--CH}_2\text{--CH}_2 \\ \text{CO--CH}_2\text{--CH}_2 \end{cases}$	71	H <sub>2</sub> O
4	Сополимер ванилпирролидона с кротоновой кислотой	$\text{--(CH}_2\text{--CH)}_9\text{--(CH--CH)}_9$ $\text{N} \begin{cases} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_2\text{--CH}_2\text{--COOH} \\ \text{CO--CH}_2 \end{cases}$	44 7	H <sub>2</sub> O, pH 4 H <sub>2</sub> O, pH 9
Поли-N-алкилметакриламиды				
5	ПАМА- <i>n</i> <i>n</i> = 1, 2, 3	$\text{--CH--C--}$ $\text{CH}_3$ $\text{CO--NH}$ $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$	1	H <sub>2</sub> O
Поликатионы				
6	Поливиниламин	$\text{--CH}_2\text{--CH--}$ $\text{NH}_3^+$	14	H <sub>2</sub> O
7	Полидиметиламиноэтилметакрилат, кватеризованный хлористым метилом	$\text{--CH}_2\text{--C--}$ $\text{CH}_3$ $\text{COOCH}_2\text{CH}_2$ $\text{H}_3\text{C} \begin{cases} \text{N}^+ \\ \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{cases}$	75	H <sub>2</sub> O
8	Полиметакрилоиллупинин	$\text{--CH}_2\text{--C--}$ $\text{CH}_3$ $\text{COOCH}_2$ $\text{H}_2\text{C} \begin{cases} \text{CH} & \text{H} \\ \text{H}_2\text{C} & \text{C} \\ \text{H}_2\text{C} & \text{CH}_2 \\ \text{CH}_2 & \text{CH}_2 \end{cases} \begin{cases} \text{N}^+ \\ \text{CH}_2 \\ \text{CH}_2 \end{cases}$	150	H <sub>2</sub> O

Окончание

Образец, №	Полимер	Составное повторяющееся звено	$I_{\text{люм}}$ АHC	Растворитель
<b>Сополимер виниловый спирт–винацетат</b>				
9	ПВС	$-\text{CH}_2-\overset{\text{CH}}{\underset{\text{OH}}{ }}-$	1	H <sub>2</sub> O
10	П(ВС–18% ВА)-М, $n_{\text{мбл}} = 2$ [14]	$-(\text{CH}_2-\overset{\text{CH}}{\underset{\text{OH}}{ }}-\text{CH})_2-(\text{CH}_2-\overset{\text{CH}}{\underset{\text{OCOCH}_3}{ }}-\text{CH})_2$	3	H <sub>2</sub> O
11	П(ВС–18% ВА)-Э, $n_{\text{мбл}} = 3$ [14]	$-(\text{CH}_2-\overset{\text{CH}}{\underset{\text{OH}}{ }}-\text{CH})_3-(\text{CH}_2-\overset{\text{CH}}{\underset{\text{OCOCH}_3}{ }}-\text{CH})_3$	12	H <sub>2</sub> O
<b>Полиметакриловая кислота</b>				
12	ПМАК, $S = 50\%$	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ -\text{CH}_2-\overset{\text{C}}{\underset{\text{COOH}}{ }}-\end{array}$	1 9 25	H <sub>2</sub> O, pH 7 H <sub>2</sub> O, pH 4 H <sub>2</sub> O, pH 2
13	ПМАК, $S = 50\%$ ПМАК, $S = 70\%$		130 210	0.5 M NaCl pH 2.9
14	Полидиметоксиэтилен	$\begin{array}{c} \text{—CH}—\text{CH}— \\   \qquad   \\ \text{H}_3\text{CO} \qquad \text{OCH}_3 \end{array}$	Клубок 1 Глобула 1	H <sub>2</sub> O, 25°C H <sub>2</sub> O, 55°C [13]

Примечание.  $n_{\text{мбл}}$  – относительная длина винилацетатных последовательностей в сополимере П(ВС–ВА);  $S$  – доля синдиотриад в молекулах ПМАК.

### Спектральные измерения

Флуоресцирующие индикаторы – 8-анилинонафталин-1-сульфонат магния (АНС) и акридиновый оранжевый (АО) фирмы "Fluka" использовали без дополнительной очистки. Люминесценция возбуждалась линией 365 нм спектра испускания ртутной лампы СВД-120. Интенсивность люминесценции (в относительных единицах) раствора свободного АНС ( $I_{\text{люм}}^0$  АНС-1) и в присутствии полимера ( $I_{\text{люм}}$  АНС) определяли в максимуме полосы спектра люминесценции (520–480 нм). Концентрация АНС в растворе составляла  $2.5 \times 10^{-5}$  моль/л. Концентрацию полимера варьировали от 0.001 до 0.2%.

Долю  $\theta$  связанного полимером индикатора АО определяли из соотношения

$$\theta = \frac{P_{\text{изм}} - P_{\text{своб}}}{P_{\text{связ}} - P_{\text{своб}}},$$

где  $P_{\text{своб}}$  и  $P_{\text{связ}}$  – значения величины поляризации люминесценции свободного и полностью связанного полимером индикатора в растворе соответственно;  $P_{\text{изм}}$  – значения величины поляриза-

ции люминесценции раствора АО в присутствии исследуемого полимера. Установка для измерения поляризации люминесценции описана в работе [10].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из анализа данных, приведенных в таблице, следует, что  $I_{\text{люм}}$  АНС в водном растворе полимера (по сравнению с  $I_{\text{люм}}^0$  АНС-1 в водном растворе без полимера) возрастает, если выполняется хотя бы одно из перечисленных ниже условий.

1. Макромолекулы полимера содержат протоноакцепторные группы (например, карбонильные) и не содержат протонодонорных групп.

2. Макромолекулы полимера содержат как протоноакцепторные, так и протонодонорные группы, но протоноакцепторные группы не взаимодействуют или слабо взаимодействуют с протонодонорными группами макромолекулярного окружения.

3. Макромолекулы полимера содержат группировки, несущие положительный заряд.

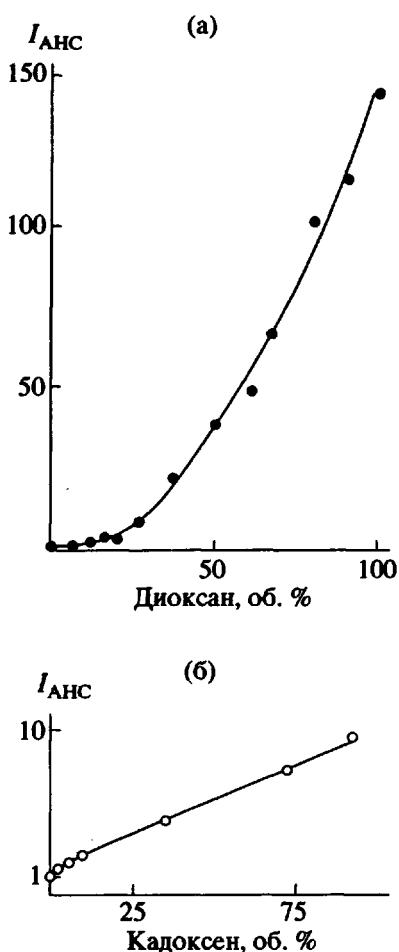


Рис. 1. Влияние содержания в воде диоксана (а) и кадоксена (б) на  $I_{\text{люм}}$  АНС,  $c_{\text{АНС}} = 2 \times 10^{-5}$  моль/л,  $T = 25^\circ\text{C}$ .

Примером полимерных структур, отвечающих условию 1, являются поли-N-виниламиды (таблица, образцы 1 - 4), в присутствии которых  $I_{\text{люм}}$  АНС увеличивается в 40 - 70 раз.

Макромолекулы полиметакриловой кислоты (ПМАК) (таблица, образцы 12, 13) содержат и протоноакцепторные ( $\text{C}=\text{O}$ ) и протонодонорные ( $\text{OH}$ ) группировки, которые, по данным работы [11], образуют водородные связи.  $I_{\text{люм}}$  АНС в присутствии недиссоциированных или слабо диссоциированных молекул ПМАК увеличивается слабее – в 9 - 25 раз (условие 2).

В отличие от ПМАК протоноакцепторные ( $\text{C}=\text{O}$ ) и протонодонорные ( $\text{NH}$ ) группы поли-N-алкилметакриламидов, ПАМА-*n* с *n* = 1 - 3 (таблица, образец 5) в воде при  $25^\circ\text{C}$  в клубообразной конформации образуют внутримолекулярные водородные связи, в том числе и Н-связи, включенные в специфическую циклическую структуру с участием гидроксильных групп молекул воды [12]. Поэтому присутствие клубообразных макромолекул ПАМА-*n* в водных растворах АНС не влияет на  $I_{\text{люм}}$  АНС.

Наконец, третье условие иллюстрируется полимерами 6 - 8 (таблица), макромолекулы которых содержат катионогенные группы  $\text{NH}_2$  или группы, несущие положительный заряд. В их присутствии  $I_{\text{люм}}$  АНС возрастает в 14 - 150 раз.

Влияние полимера на  $I_{\text{люм}}$  АНС в водном растворе уменьшается (или не проявляется совсем) при увеличении содержания в макромолекулах отрицательно заряженных группировок (таблица, образцы 4 и 12).

Важно отметить, что наличие гидрофобных углеводородных фрагментов в макромолекулах водорастворимых полимеров не является фактором, который способен самостоятельно, без взаимодействия с факторами 1 - 3 повлиять на величину  $I_{\text{люм}}$  АНС. Так, увеличение длины N-алкильных заместителей в звеньях макромолекул ПАМА-*n* от  $C_1$  (ПАМА-1) до  $C_3$  (ПАМА-3) не приводит к заметному изменению  $I_{\text{люм}}$  АНС при  $25^\circ\text{C}$ , т.е. пока макромолекула не только ПАМА-1, но и ПАМА-3 имеет клубообразную конформацию, в которой протоноакцепторные группы образуют внутримолекулярные водородные связи [12]. Не увеличивается  $I_{\text{люм}}$  АНС и при введении в раствор полидиметоксиэтилена (ПДМЭ) (таблица, образец 14), в макромолекулах которого количество гидрофобных метильных групп соответствует числу углеродных атомов в основной цепи, но нет группировок, отвечающих условиям 1 - 3. Более того,  $I_{\text{люм}}$  АНС не увеличивается в водном растворе ПДМЭ даже при  $55^\circ\text{C}$ , когда макромолекулы ПДМЭ приобретают глобулярную структуру с высокой локальной концентрацией гидрофобных углеводородных фрагментов [13]. Однако, если структура полимера, введенного в водный раствор АНС, отвечает хотя бы одному из условий 1 - 3, то увеличение содержания неполярных углеводородных группировок в полимере способно усилить  $I_{\text{люм}}$  АНС. Этот эффект прослеживается, например, при сопоставлении примеров 1 - 3 или 6 - 8 (таблица).

Для интерпретации полученных данных необходимы представления о молекулярном механизме возникновения люминесцентного свечения АНС в растворе полимера. Оказывается, наибольших значений  $I_{\text{люм}}$  АНС достигает при переходе от воды к органическому растворителю (рис. 1а) –  $I_{\text{люм}}$  АНС возрастает при этом на 2 порядка. Это значит, что в воде какие-то факторы вызывают тушение люминесценции АНС (уменьшается не только  $I_{\text{люм}}$  АНС, но и длительность люминесценции АНС – от 10 нс в органическом растворителе до 0.6 нс в воде). Такими факторами могут быть межмолекулярные взаимодействия, вызывающие формирование надмолекулярных образований, например типа димеров. Димеры АНС могут возникать в водных растворах в первую очередь из-за гидрофобных контактов между ароматическими ядрами АНС. Наряду с гидро-

фобными контактами в таком димере возникают водородные связи NH–OS, которые играют существенную роль в стабилизации димера АНС. На это указывает увеличение  $I_{\text{люм}}$  АНС при добавлении к водному раствору АНС кадоксена – растворителя, разрушающего Н-связи (рис. 1б).

Не только добавление органического растворителя к водному раствору АНС может вызывать разрушение димера АНС или изменение его структурной организации (нарушение взаимной пространственной подстройки нафталиновых ядер димера), сопровождающееся увеличением  $I_{\text{люм}}$  АНС. К такому же результату в водных растворах полимера могут приводить взаимодействия структурных фрагментов, составляющих димер АНС, с группировками макромолекул. Судя по данным, приведенным в таблице, определяющую роль в изменении структурной организации димера АНС в растворе полимера играет замена внутридимерной водородной связи NH–OS на водородную связь NH димера АНС с группами C=O макромолекул или взаимодействие отрицательно заряженных сульфогрупп АНС с положительно заряженными группами макромолекул. Образование только гидрофобных контактов ароматических ядер АНС с неполярными группами не нарушает структурную организацию димера и не приводит к изменению  $I_{\text{люм}}$  АНС в водном растворе полимера. Это значит, что АНС не является гидрофобным зондом. Не исключается и возможность взаимодействия и связывания димеров АНС с неполярными участками макромолекул (клубков, глобул). Но при отсутствии контактов с группами C=O или с положительно заряженными группами макромолекулярного окружения структурная организация димера АНС остается неизменной, а следовательно, остается неизменной и  $I_{\text{люм}}$  АНС. Таким образом, увеличение  $I_{\text{люм}}$  АНС не может однозначно трактоваться как увеличение гидрофобности макромолекулярного окружения.

Представление о молекулярном механизме связи между  $I_{\text{люм}}$  АНС и природой взаимодействий в системе вода–АНС–полимер в сочетании с высокой чувствительностью  $I_{\text{люм}}$  АНС к изменению взаимодействий позволяет применять АНС при изучении тонких особенностей химического строения водорастворимых (ко)полимеров и структурной организации макромолекул в растворе.

В качестве примеров ниже приведены данные, показывающие высокую чувствительность  $I_{\text{люм}}$  АНС к различным особенностям химического строения полимеров, к взаимодействию полимеров с низкомолекулярными соединениями, к конформационным превращениям макромолекул.

Известно, что водорастворимые сополимеры виниловый спирт–винилацетат, П(ВС–ВА), полученные омылением одного и того же образца по-

ливинилацетата в этаноле, П(ВС–ВА)-Э, или в метаноле, П(ВС–ВА)-М, при одинаковом составе имеют различные свойства [14]. С помощью ряда экспериментальных методов получены данные, на основании которых сделан вывод о том, что полимерные цепи П(ВС–ВА)-Э по сравнению с П(ВС–ВА)-М содержат более длинные последовательности (микроблоки) винилацетатных звеньев [14]. Исследование этих сополимеров с помощью АНС показало (таблица, образцы 10, 11), что  $I_{\text{люм}}$  АНС в водных растворах П(ВС–ВА)-Э в несколько раз выше, чем в водных растворах П(ВС–ВА)-М. Это означает, что в сополимере П(ВС–ВА)-Э существенно выше доля винилацетатных звеньев, группы C=O которых не связаны водородными связями с группами OH соседних гидроксилсодержащих звеньев, т.е. выше доля срединных групп C=O в винилацетатных микроблоках. Таким образом, полученные с помощью АНС данные согласуются с данными других методов, указывающими на большую длину последовательностей винилацетатных звеньев в П(ВС–ВА)-Э.

Ранее было показано, что макромолекулы неионизованных или слабо ионизованных молекул ПМАК в водных растворах имеют компактную структуру [15]. Вопрос о том, влияет ли содержание *синдио*-триад в полимерных цепях ПМАК на их конформацию в водных растворах, до настоящего времени остается открытым. Исследование неионизованной ПМАК различной стереорегулярности в водных растворах с помощью АНС (таблица, образец 13) дает основание полагать, что с увеличением содержания синдиотактических триад в молекулах ПМАК формируется несколько иная внутридимерная структура, характеризующаяся, как следует из работы [15], более высокой плотностью неполярных звеньев и более высокой долей групп C=O, не взаимодействующих или слабо взаимодействующих с макромолекулярным окружением. С увеличением доли таких групп C=O в макромолекулах ПМАК ( $S = 70\%$ ) связано и более значительное изменение  $I_{\text{люм}}$  АНС при добавлении в раствор ПМАК гуанидингидрохлорида.

Так как связывание АНС макромолекулами с группами C=O, включенными в структурированные участки (ПМАК в H<sub>2</sub>O и в HCl), определяется конкуренцией двух процессов (один из которых – образование водородных связей NH-групп АНС с группами C=O макромолекулярного окружения, другой – разрыв и восстановление внутридимерных NH–SO водородных связей), связывание является процессом, развивающимся во времени (рис. 2). Это было обнаружено при изучении связывания АНС макромолекулами белка [3].

В последние годы большое внимание привлекают исследования, связанные с изучением струк-

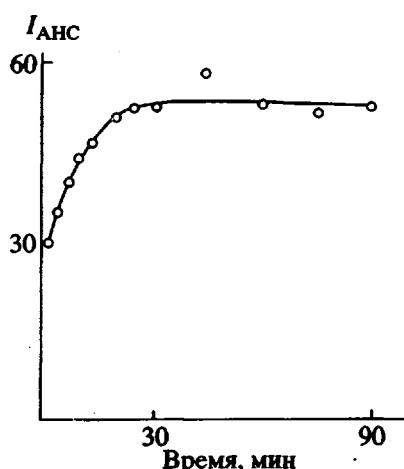


Рис. 2. Зависимость  $I_{\text{люм}}$  АНС в водном растворе ПМАК от времени.  $c_{\text{пол}} = 0.2\%$ ,  $c_{\text{АНС}} = 2 \times 10^{-5}$  моль/л,  $\text{рН} 2.9$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ .

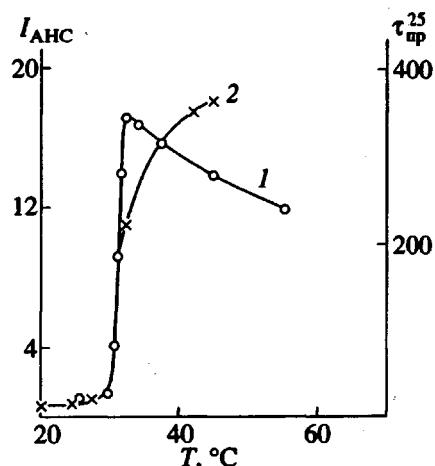


Рис. 3. 1 – Температурная зависимость  $I_{\text{люм}}$  АНС в водном растворе поли-N-пропилметакриламида при  $c_{\text{пол}} = 0.02$  и  $c_{\text{АНС}} = 2 \times 10^{-5}$  моль/л. 2 – Зависимость  $\tau$  от температуры из работы [15], указывающая на формирование структуры типа глобуллярной ( $\tau$  – времена, характеризующие внутримакромолекулярную подвижность полимера ( $T < 32^\circ\text{C}$ ) и подвижность глобулы как целого ( $T > 33^\circ\text{C}$ )).

турных превращений макромолекул природных и синтетических полимеров. К числу полимеров, в макромолекулах которых при нагревании в водном растворе наблюдается переход клубок–глобула, относятся поли-N-алкилметакриламиды [16], например ПАМА-3 (таблица, образец 5). Так, при  $25^\circ\text{C}$  добавление ПАМА-3 к водному раствору АНС, в котором макромолекулы ПАМА-3 имеют клубообразную конформацию, не влияет на  $I_{\text{люм}}$  АНС. Но при  $33^\circ\text{C}$ , когда в макромолекулах ПАМА-3 формируется новая струк-

тура [16], взаимодействие ПАМА-3–АНС увеличивает  $I_{\text{люм}}$  АНС в 3–7 раз даже при такой низкой концентрации полимера в растворах, как 0.001–0.02% (рис. 3).

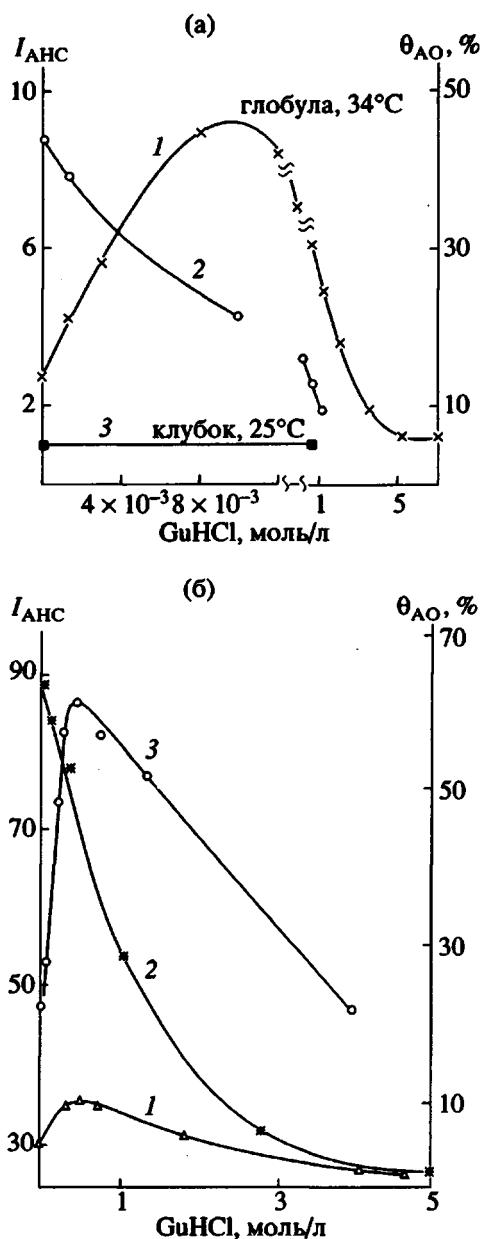
Напротив, макромолекулярный переход клубок–глобула, происходящий при нагревании водного раствора ПДМЭ (таблица, образец 14), не сопровождается увеличением  $I_{\text{люм}}$  АНС. В макромолекулах ПАМА-1 и ПАМА-2 в воде при нагревании от 25 до  $80^\circ\text{C}$  компактная структура не образуется [16] и  $I_{\text{люм}}$  АНС не изменяется (равна единице) во всем указанном температурном интервале.

Эти результаты могут означать, что в макромолекулах ПАМА-3 в воде при  $25^\circ\text{C}$  группы С=О взаимодействуют с протонодонорными группами макромолекулярного окружения и не влияют на  $I_{\text{люм}}$  АНС в отличие от свободных групп С=О поли-N-виниламидов (таблица, образцы 1–3 и 5). Действительно, на включение групп С=О в Н-связи при  $25^\circ\text{C}$  с образованием специфической Н-связанной циклической структуры с участием молекул воды указывают данные работы [12].

Формирование глобуллярной структуры в макромолекулах ПАМА-3 в воде при нагревании [16] сопровождается появлением свободных групп С=О в этих макромолекулах и регистрируется по увеличению  $I_{\text{люм}}$  АНС (рис. 3). На появление свободных групп С=О в макромолекулах ПАМА-3 глобуллярной конформации указывает также влияние гуанидингидрохлорида на взаимодействие ПАМА-АО и  $I_{\text{люм}}$  АНС (рис. 4а).

Метод, основанный на измерении  $I_{\text{люм}}$  АНС, может быть также использован при изучении взаимодействия макромолекул полимеров с низкомолекулярными соединениями, влияющими на состояние протоноакцепторных групп или на содержание заряженных групп в полимерных цепях.

При введении гуанидингидрохлорида, GuHCl, в водные растворы белков или синтетических полимеров, содержащих амидные или карбоксильные группы, группы NH<sub>2</sub> катионов GuH<sup>+</sup> образуют водородные связи с группами С=О макромолекул. С ростом числа ионов GuH<sup>+</sup>, связанных полимером (белком), повышается количество положительно заряженных групп в полимерной системе. На увеличение числа положительно заряженных групп на полимерных цепях при связывании GuH<sup>+</sup> макромолекулами указывают данные, характеризующие изменение (уменьшение) доли положительно заряженных ионов акридинового оранжевого, взаимодействующих с системой полимер–GuH<sup>+</sup> (рис. 4). С увеличением количества положительных зарядов GuH<sup>+</sup> на полимерных цепях повышается доля ионов АНС, взаимодействующих с положительно заряженными участками макромолекул, и  $I_{\text{люм}}$  АНС растет, пока взаимо-



**Рис. 4.** Зависимость  $I_{\text{люм}}$  АНС и доли связанныго иона акридинового оранжевого  $\theta$  от содержания гуанидингидрохлорида в водном растворе полимера.  $c_{\text{АНС}} = 2 \times 10^{-5}$  моль/л,  $c_{\text{АО}} = 2 \times 10^{-6}$  моль/л. а – для поли-*N*-пропилметакриламида: 1, 3 –  $I_{\text{люм}}$  АНС,  $T = 34$  и  $25^{\circ}\text{C}$  соответственно,  $c_{\text{пол.}} = 0.001\%$ ; 2 –  $\theta_{\text{АО}}$ ,  $c_{\text{пол.}} = 0.02\%$ ; б – для ПМАК разного стереохимического строения: 1, 3 –  $I_{\text{люм}}$  АНС для ПМАК с долей синдиотриад  $S = 50$  и  $70\%$  соответственно; 2 –  $\theta_{\text{АО}}$  для ПМАК,  $S = 50\%$ ,  $c_{\text{пол.}} = 0.2\%$ ,  $T = 25^{\circ}\text{C}$ .

действие связанных макромолекулой ионов АНС не приведет к тушению люминесценции (для макромолекул в глобулярной или компактной конформациях). Рост  $I_{\text{люм}}$  АНС наблюдается, например, при увеличении содержания GuHCl в растворах ПМАК, ПАМА-3 ( $34^{\circ}\text{C}$ ), поли-*N*-изо-

пропилметакриламида ( $46^{\circ}\text{C}$ ) и поли-*N*-изопропилакриламида ( $40^{\circ}\text{C}$ ). Для всех исследованных макромолекул в глобулярной или компактной конформации зависимости  $I_{\text{люм}}$  АНС от содержания GuHCl в водном растворе имеют максимум, восходящую и ниспадающую ветви (рис. 4). Содержание GuHCl, при котором зависимости  $I_{\text{люм}}$  АНС имеют максимум, зависит от компактности макромолекул и способности полимера связывать GuHCl. Аналогичные кривые были получены для белков авторами работ [2, 3], которые связывают экстремальный характер зависимости  $I_{\text{люм}}$  АНС от содержания GuHCl в растворе с образованием расплавленной белковой глобулы.

Из совокупности представленных данных следует, что только учет всех факторов, влияющих на  $I_{\text{люм}}$  АНС в водном растворе полимера, и установление молекулярного механизма изменения  $I_{\text{люм}}$  АНС, основу которого составляет взаимодействие АНС с протоноакцепторными или с положительно заряженными группами полимера, позволяют использовать АНС для решения широкого круга задач, связанных с анализом особенностей строения и структурных превращений макромолекул синтетических полимеров и белков. К числу таких задач относятся установление особенностей химического и стереохимического строения водорастворимых (ко)полимеров, перехода клубок–компактная структура (глобула), изучение взаимодействия водорастворимых полимеров с низкомолекулярными соединениями, в том числе с ионами поверхностно активных веществ. Важной особенностью методов, основанных на изучении люминесценции АНС, является возможность исследования очень разбавленных растворов при концентрации полимера 0.001%.

Авторы благодарят Е.Ф. Панарина и В.А. Кузнецова за предоставленные полимеры.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. М., 1980.
2. Родионова Н.А., Семисотнов Г.В., Кутышевко В.П., Уверский В.Н., Болотина И.А., Бычкова В.Е., Птицын О.Б. // Молек. биология. 1989. V. 23. № 3. С. 683.
3. Semisotnov G.V., Rodionova N.A., Razgulyaev O.I., Uversky V.N., Gripaš A.F., Gilmanish R.I. // Biopolymers. 1991. V. 31. № 1. P. 119.
4. Кириш Ю.Э., Сусь Т.А., Карапутадзе Т.М., Кобяков В.В., Синицына Л.А., Островский С.А. // Высокомолек. соед. А. 1979. Т. 21. № 12. С. 2734.
5. Ануфриева Е.В., Рамазанова М.Р., Луцк В.Б., Некрасова Т.Н., Карапутадзе Т.М., Кириш Ю.Э., Краковяк М.Г., Шевелева Т.В. // Высокомолек. соед. Б. 1986. Т. 28. № 8. С. 573.
6. Сорокин А.Я., Кузнецова В.А., Домничева Н.А., Брайтман А.Я., Будтов В.П. // Высокомолек. соед. Б. 1978. Т. 20. № 2. С. 104.

7. Krakovjak M.G., Sycheva E.A., Shveleva T.B., Denisov B.M., Anufrieva E.B. // Высокомолек. соед. А. 1989. Т. 31. № 1. С. 117.
8. Panarin E.F., Ushakov B.N. Полимеры медицинского назначения. М., 1988. С. 66.
9. Anufrieva E.B., Pautov V.D., Lushchik B.B., Mirzakhidov X.A., Musaev Y.H., Krakovjak M.G. // Высокомолек. соед. А. 1989. Т. 31. № 10. С. 772.
10. Anufrieva E.V., Gotlib Ju.Ja. // Adv. Polym. Sci. 1981. V. 40. Р. 1.
11. Volchek B.Z., Kolyazov A.I., Nekrasova T.N., Purnikina A.B. // Высокомолек. соед. Б. 1970. Т. 12. № 10. С. 754.
12. Lebedeva T.L., Malychugova O.I., Valuiev L.I., Platonov N.A. // Высокомолек. соед. А. 1992. Т. 34. № 9. С. 113.
13. Anufrieva E.B., Volkenshteyn M.B., Gotlib Ю.Я., Krakovjak M.G., Pautov V.D., Stepanov B.B., Skorohodov C.C. // Докл. АН СССР. 1972. Т. 207. № 6. С. 1379.
14. Anufrieva E.B., Grromova R.A., Krakovjak M.G., Kuznetsova В.А., Lushchik B.B., Nekrasova T.N., Sopronin A.Y., Shveleva T.B. // Высокомолек. соед. А. 1984. Т. 26. № 6. С. 1276.
15. Anufrieva E.V., Birstein T.M., Nekrasova T.N., Ptitsyn O.B., Sheveleva T.V. // J. Polym. Sci. C. 1968. V. 16. Р. 3519.
16. Anufrieva E.B., Krakovjak M.G., Grromova R.A., Lushchik B.B., Anan'eva T.D., Shveleva T.B. // Докл. АН СССР. 1991. Т. 319. № 4. С. 895.

## Structure and Structural Transformations of Macromolecules Water-Soluble Polymers and Luminescence of Magnesium Salt of 8-Anilinenaphthalene-1-Sulfonic Acid

E. V. Anufrieva, T. N. Nekrasova, T. V. Sheveleva, and M. G. Krakovyak

Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, Bol'shoi pr. 31, St. Petersburg, 199004 Russia

**Abstract** – We established the molecular mechanism for influence of the chemical structure of water-soluble polymers and structural transformations of macromolecules on luminescence of the magnesium salt of 8-anilinenaphthalene-1-sulfonic acid (ANS) in aqueous solutions. It is shown, that luminescence of ANS in polymer solution is mainly determined by ANS interaction with proton-accepting groups, that are not bound to proton-donating groups of macromolecular environment, or by ANS interaction with positively charged polymer groups. The variation of luminescence with increasing content of non-polar groups in polymer is insignificant, and takes place only in the presence of aforementioned interactions.