

УДК 678.01 : 53 + 678.675

СЕДИМЕНТАЦИЯ, ДИФфуЗИЯ И ВЯЗКОСТЬ  
ПОЛИ- $\gamma$ -БЕНЗИЛ-*L*-ГЛУТАМАТА В РАСТВОРАХ

*В. Н. Цветков, Ю. В. Митин, И. Н. Штенникова,  
В. Р. Глушенкова, Г. В. Тарасова, В. С. Сказка,  
Н. А. Никитин*

## Введение

Строение и конформация молекул поли- $\gamma$ -бензил-*L*-глутамата (П- $\gamma$ -БГ) [1, 2] изучались рядом исследователей с применением гидродинамических, электрических, электрооптических и других методов. Эти исследования показали, что во многих органических растворителях цепные молекулы этого синтетического полипептида принимают конформацию жестких спиралей, близкую к  $\alpha$ -спирали Полинга — Кори [3], которая может быть нарушена при изменении полярности, состава и температуры растворителя [4—5]. В дальнейших работах, проведенных с образцами различного молекулярного веса, эти выводы уточнялись и были несколько изменены как в отношении возможного типа спиральной структуры молекул, так и в вопросе о ее жесткости. Так, оказалось, что гидродинамические и рентгеноструктурные характеристики молекул П- $\gamma$ -БГ лучше согласуются с моделью  $3_{10}$  спирали, для которой шаг на мономерное звено (проекция звена на ось спирали) составляет  $\sim 2$  Å, нежели с моделью  $\alpha$ -спирали (шаг 1,5 Å). Кроме того, изучение зависимости гидродинамических параметров от молекулярного веса  $M$  показало, что спиральные структуры не являются абсолютно жесткими и с ростом  $M$  конформация молекул заметно отклоняется от формы прямого стержня [6—8].

В предыдущей работе [9] было показано, что совместное применение методов электрического и динамического двойного лучепреломления к образцу П- $\gamma$ -БГ в растворе позволяет получить подробную информацию о морфологии его молекул. В настоящей работе эти же методы, дополненные седиментационными и диффузионными измерениями, используются для исследования ряда фракций и образцов П- $\gamma$ -БГ, различающихся по молекулярным весам. При этом основной целью работы является количественное изучение гибкости молекул П- $\gamma$ -БГ. Для этого, кроме полученных здесь экспериментальных данных, используются современные теории геометрических, гидродинамических и оптических свойств полужестких цепных молекул, моделируемых персистентной (червеобразной) цепью.

## Образцы и методика измерений

Как и в предыдущей работе [9], синтез П- $\gamma$ -БГ проводили по методу, описанному ранее [10]. Были получены три образца различного молекулярного веса, которые затем были расфракционированы на 14 фракций методом дробного осаждения из растворов в дихлорэтаноле (концентрация 1%) петролейным эфиром. Стандартные вискозиметрические исследования фракций производили при 21° в двух растворителях —

диметилформамиде (ДМФА) и дихлорэтано с 1%-ной примесью диметилформамида. Был использован капиллярный вискозиметр Оствальда, соответствующий области градиентов скорости  $\sim 600 \text{ сек}^{-1}$ . В растворах наиболее высокомолекулярных фракций (1, 2 и 3) была обнаружена зависимость вязкости от напряжения сдвига. Для этих фракций значения характеристической вязкости  $[\eta]$  определены экстраполяцией на нулевые градиенты скорости.

В диффузионных и седиментационных измерениях для всех фракций растворителем служил диметилформамид. Изучение диффузии растворов П-γ-БГ производили на поляризационном диффузиметре по описанной ранее методике [11, 12] при температуре  $21 \pm 0,01^\circ$ . Седиментационные опыты были проведены на ультрацентрифуге УЦА-1 с поляризационно-интерферометрической оптикой [13, 14] со скоростью вращения ротора  $42000 \text{ об/мин}$ , при температуре  $21 \pm 0,2^\circ$ . Специальное изучение концентрационной зависимости коэффициентов диффузии  $D$  и седиментации  $S$  наиболее высокомолекулярных фракций П-γ-БГ в ДМФА показало, что в области концентраций с менее 0,2% концентрационная зависимость весьма незначительна и практически может не учитываться. Поэтому все диффузионные измерения производили при концентрации 0,1%, седиментационные — при концентрации 0,05%.

### Полученные результаты

На рис. 1 представлены значения величины  $1/K = 4Dt$  в зависимости от времени  $t$  для растворов ряда исследованных фракций. Величины коэффициентов диффузии  $D$ , определенные по наклону прямых рис. 1, приведены в 4-й графе таблицы. На рис. 2 в качестве примера представлена за-

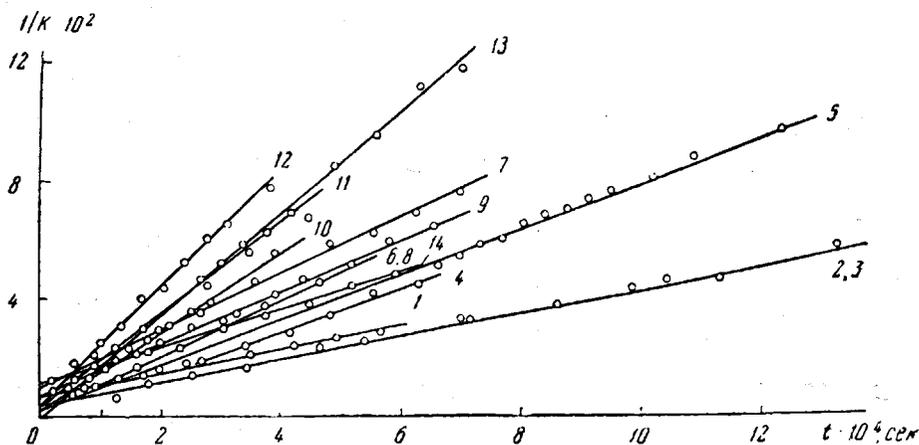


Рис. 1. Зависимость  $1/K = 4Dt$  от  $t$  для растворов фракций П-γ-БГ в ДМФА. Цифры на прямых соответствуют номерам фракций

висимость  $\lg x_m$  от  $t$  для растворов двух фракций ( $x_m$  — радиальная координата центра седиментационной границы в момент времени  $t$ ). Наклон полученной прямой определяет соответствующий коэффициент седиментации  $S$ . Значения  $S$  для всех фракций приведены в 5-й графе таблицы. Во 2-й и 3-й графах таблицы даны значения характеристической вязкости фракций в двух растворителях. Значения  $D$  и  $S$  были использованы для определения весов  $M$  фракций по формуле Сведберга [15]:

$$M = \frac{SRT}{D(1 - \bar{v}\rho)} \quad (1)$$

с использованием для парциального удельного объема П-γ-БГ величины  $\bar{v} = 0,786$  [6].

Полученные значения  $M$  приведены в 6-й графе таблицы. По данным таблицы на рис. 3 в логарифмическом масштабе построены зависимости  $[\eta]$ ,  $S$  и  $D$  от  $M$ . Точки, соответствующие значениям  $[\eta]$  в двух использо-

**Некоторые гидродинамические характеристики фракций П-γ-БГ  
в дихлорэтано и диметилформамиде**

Фракция, №	[η] · 10 <sup>-3</sup>		D · 10 <sup>9</sup>	S · 10 <sup>8</sup>	M · 10 <sup>-3</sup>	A · 10 <sup>10</sup>	ρ		H, A	
	ДМФА	ДХЭ					ДМФА	ДХЭ	ДМФА	ДХЭ
1	7,50	7,45	0,953	3,60	364	4,97	132	132	2520	2500
2	7,00	6,70	0,95	3,30	334	3,82	128	122	2400	2302
3	6,30	6,00	1,02	3,34	316	3,82	122	114	2280	2108
4	3,22	3,30	1,40	3,10	213	3,77	89	82	1620	1809
5	3,30	3,40	1,80	3,40	182	3,88	84	83	1480	1406
6	1,40	—	2,07	2,97	140	5,06	51	—	970	—
7	2,56	2,90	2,20	3,10	136	4,65	72	77	1180	1205
8	1,28	—	2,25	3,00	129	4,52	49	—	920	—
9	2,07	2,75	3,20	2,64	117	—	66	75	1010	1208
10	1,30	1,10	2,20	2,60	114	5,03	51	43	910	801
11	1,76	—	2,96	3,00	98	3,48	58	—	940	—
12	1,66	1,96	3,20	2,90	88	3,72	50	62	820	904
13	0,77	0,89	4,66	2,90	60	3,66	36	38	580	600
14	0,63	0,75	4,00	2,43	59	4,02	32	35	530	506

ванных растворителях, хотя и с большим разбросом, группируются около одной прямой. Полученные зависимости могут быть выражены формулами:

$$[\eta] = 1,3 \cdot 10^{-5} M^{1,4}, \quad (2)$$

$$D = 2,8 \cdot 10^{-3} M^{-0,8}, \quad (3)$$

$$S = 2,8 \cdot 10^{-14} M^{0,2}. \quad (4)$$

В 7-й графе таблицы приведены значения параметра  $A_0 = D\eta_0(M[\eta])^{1/3}T^{-1}$  для исследованных фракций ( $\eta_0$  — вязкость рас-

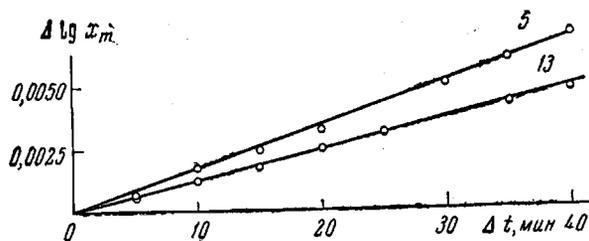


Рис. 2. Зависимость  $\Delta \lg x_m$  от  $\Delta t$  для растворов 5-й и 13-й фракций П-γ-БГ в ДМФА

творителя). В пределах погрешности опыта величины  $A_0$  совпадают для различных образцов. Среднее значение  $A_0 = 4,1 \cdot 10^{10}$  лишь незначительно превышает величину, обычно получаемую для гибких цепных клубковых молекул [12]. Этот факт является иллюстрацией нечувствительности параметра  $A_0$  к структурным и конформационным характеристикам молекул.

### Обсуждение результатов

Численные значения показателей степени в формулах (2) и (3) несколько меньше величин, полученных другими авторами [2, 7], что может быть связано как с различием в методах определения молекулярных весов, так и со спецификой исследуемых образцов. Однако величины показателей в (2) и (3) значительно больше значений, получаемых обычно для гибких цепных молекул, имеющих форму статистического клубка (для которых величина показателя в уравнении (2) лежит в пределах от 0,5 до 0,8). Этот факт указывает на значительную жесткость молекулярных цепей П-γ-БГ и отличие их конформации от формы статистического клубка. В то же время величина показателя 1,4 в уравнении для вязкости намно-

меньше значения 1,7, которого можно было бы ожидать для абсолютно жестких спиральных структур соответствующего молекулярного веса, если моделировать их жесткими сплошными эллипсоидами [16—17] или стержнями [18]. Это значит, что молекулярные спирали не являются абсолютно жесткими, и в исследованной области молекулярных весов форма молекул П-γ-БГ отклоняется от стержневидной. Наличие некоторой гибкости у молекул П-γ-БГ может быть качественно продемонстрировано, если моделировать их гидродинамические свойства жесткими сплошными эллипсоидами равного объема и массы, не сольватирующими растворитель. Характеристическая вязкость раствора сплошных эллипсоидальных частиц равна:

$$[\eta] = N_A \cdot \frac{v}{M} \cdot \nu(p), \quad (5)$$

где  $v$  — объем эллипсоида,  $M$  — его молекулярный вес, а  $\nu(p)$  — функция отношения  $p = H/d$  его длины  $H$  к поперечнику  $d$ . Функция  $\nu(p)$  табулирована Симха [16—17]. В отсутствие сольватации объем  $v$  может быть определен по парциальному удельному объему  $\bar{v}$  вещества в растворе

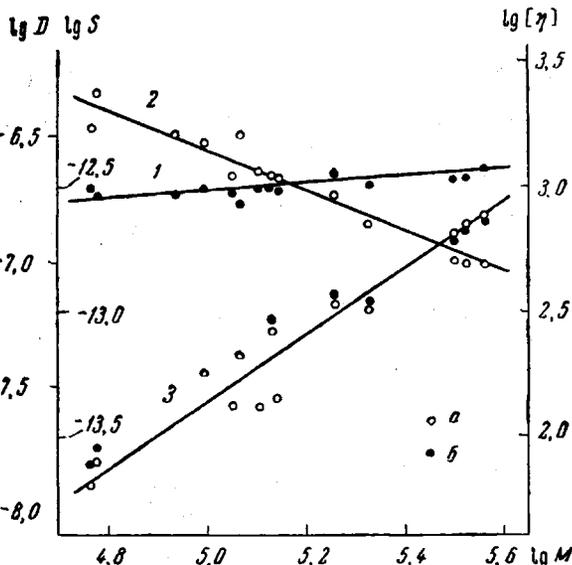


Рис. 3. Зависимость  $\lg S$ ,  $\lg D$  и  $\lg [\eta]$  от  $\lg M$  для фракций П-γ-БГ.  
1 —  $\lg S = f(\lg M)$  ДМФА, 2 —  $\lg D = f(\lg M)$  ДМФА,  
3 —  $\lg [\eta] = f(\lg M)$  а — в ДМФА и б — в ДХЭ

Поэтому, если известно значение  $M$ , вискозиметрические данные позволяют по (5) определить осевое отношение  $p$  эквивалентного эллипсоида.

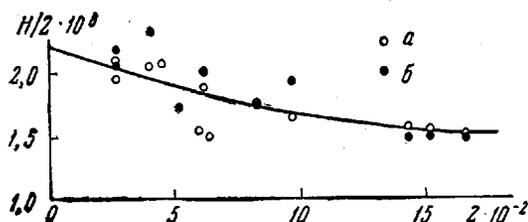


Рис. 4. Зависимость  $H/z$  от  $z$  для фракций П-γ-БГ: а — в ДМФА, б — в ДХЭ

Соответствующие результаты для фракций П-γ-БГ приведены в 8-й и 9-й графах таблицы. Учитывая, что для эллипсоида вращения

$$H^3 = 6p^2 \cdot v / \pi, \quad (7)$$

по (6) и (7) с использованием найденных значений  $p$  можно вычислить длинную ось  $H$  эквивалентного эллипсоида. Значения  $H$ , полученные для всех фракций, приведены в 10-й и 11-й графах таблицы. На рис. 4 представлена зависимость  $H/z$  от  $z$  для всех исследованных фракций, где степень полимеризации  $z = M/M_0$  (для П-γ-БГ  $M_0 = 249$ ). Величина  $H/z$ , характеризующая возрастание длины эквивалентного эллипсоида на одно мономерное звено цепи, для абсолютно жесткой палочкообразной молекулы должна оставаться постоянной в ряду молекулярных весов. То обстоятельство, что она убывает с возрастанием  $z$ , указывает на заметную гибкость цепи и отклонение ее формы от палочкообразной. Следует иметь в виду, что хотя для молекул П-γ-БГ конечного

молекулярного веса значения  $H$  отличаются от истинной контурной длины  $L$  (длина оси полностью выпрямленной спирали), при экстраполяции на область  $z \rightarrow 0$  отношение  $H/z$  эквивалентно величине  $L/z$  (шаг спирали на мономерное звено), поскольку в этих условиях форма молекулы стержневидна. Как следует из хода кривой рис. 4, шаг спирали, получаемый из вискозиметрических данных, составляет  $\sim 2,2 \text{ \AA}$ , т. е. заметно превышает величину, соответствующую шагу  $\alpha$ -спирали ( $1,5 \text{ \AA}$ ). К сожалению, полученный результат не может считаться абсолютно бесспорным при решении вопроса о типе спиральной структуры молекул П- $\gamma$ -БГ, поскольку значение  $L/z \approx 2,2 \text{ \AA}$  получено с использованием формулы (6), предполагающей полное отсутствие сольватации. При наличии сольватной оболочки из молекул растворителя вокруг молекулы П- $\gamma$ -БГ гидродинамические методы, в принципе, не могут претендовать на количественное решение вопроса о структуре спирали и должны быть заменены более прямыми методами структурного анализа, такими, как, например, рассеяние рентгеновых лучей под малыми углами [6]. Впрочем, величина  $L/z \approx 2,2$ , полученная здесь из вискозиметрии, согласуется с результатами метода рентгеновского рассеяния. Для количественной оценки гибкости спиральных молекул по их гидродинамическим свойствам может быть использована червеобразная (персистентная) модель [19], кривизна которой характеризуется персистентной длиной  $a = A/2$ , где  $A$  — длина статистического сегмента Куна [20]. Теория поступательного трения (диффузии и седиментации) персистентной цепи была рассмотрена в некоторых работах [21, 22], результаты которых могут быть резюмированы в следующей форме [22]. Если экспериментальные данные представить в форме зависимости  $MD/RT$  от  $M^{1/2}$  или эквивалентной ей зависимости  $S/(1-\bar{v}\rho)$  от  $M^{1/2}$ , то для статистически изогнутых цепных молекул точки должны ложиться на прямую, наклон которой равен

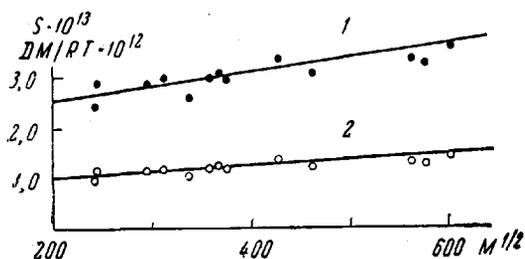


Рис. 5. Зависимость  $S$  (1) и  $DM/RT$  (2) от  $M^{1/2}$  для фракций П- $\gamma$ -БГ в ДМФА

ватной оболочки из молекул растворителя вокруг молекулы П- $\gamma$ -БГ гидродинамические методы, в принципе, не могут претендовать на количественное решение вопроса о структуре спирали и должны быть заменены более прямыми методами структурного анализа, такими, как, например, рассеяние рентгеновых лучей под малыми углами [6]. Впрочем, величина  $L/z \approx 2,2$ , полученная здесь из вискозиметрии, согласуется с результатами метода рентгеновского рассеяния. Для количественной оценки гибкости спиральных молекул по их гидродинамическим свойствам может быть использована червеобразная (персистентная) модель [19], кривизна которой характеризуется персистентной длиной  $a = A/2$ , где  $A$  — длина статистического сегмента Куна [20]. Теория поступательного трения (диффузии и седиментации) персистентной цепи была рассмотрена в некоторых работах [21, 22], результаты которых могут быть резюмированы в следующей форме [22]. Если экспериментальные данные представить в форме зависимости  $MD/RT$  от  $M^{1/2}$  или эквивалентной ей зависимости  $S/(1-\bar{v}\rho)$  от  $M^{1/2}$ , то для статистически изогнутых цепных молекул точки должны ложиться на прямую, наклон которой равен

$$3,24 \cdot 10^{-4} \left( \frac{M}{L} \cdot \frac{1}{2a} \right)^{1/2} / \eta_0, \quad (8)$$

где длины  $a$  и  $L$  выражены в ангстремах, а  $S$  и  $MD/RT$  — в единицах  $10^{-13} \text{ cgse}$ . Подобное построение с использованием экспериментальных значений  $D, S$  и  $M$  (таблица) для фракций П- $\gamma$ -БГ в диметилформамиде выполнено на рис. 5. Наклон полученных прямых  $MD/RT \cdot 10^{12} \text{ cgse} = f(M^{1/2})$  и  $S \cdot 10^{13} \text{ cgse} / (1-\bar{v}\rho) = f(M^{1/2})$  оказывается равным  $(1 \pm 0,2) \cdot 10^{-2}$ , что дает  $(M/L)^{1/2} a = (5 \pm 1) \cdot 10^{-2}$ . Для нахождения персистентной длины  $a$  молекулярной цепи необходимо знать молекулярный вес единицы ее длины  $M/L$  (линейную плотность). Если в соответствии с вискозиметрическими данными в качестве наиболее вероятного значения шага спирали принять величину  $L/z = 2 \text{ \AA}$ , то для линейной плотности (на  $1 \text{ \AA}$  длины) получим  $(M/L) = M_0(z/L) = 109$ , а для персистентной длины  $a = (1100 \pm 100) \text{ \AA}$ , что соответствует 1100 мономерным звеньям в статистическом сегменте Куна. Полученное значение  $a$  близко к величине, найденной Бенуа с сотрудниками [7] тем же методом. Найденное значение персистентной длины (на порядок превосходящее персистентную длину молекул нитроцеллюлозы [23]) указывает на весьма большую скелетную жесткость спиральных цепей П- $\gamma$ -БГ.

## Выводы

1. С использованием поляризационно-интерферометрической методики исследована седиментация и диффузия 14 фракций П-γ-БГ в диметилформамиде и измерены характеристические вязкости тех же образцов в ДМФА и в смешанном растворителе (ДХЭ + 1% ДМФА). На основании экспериментальных данных вычислены молекулярные веса  $M$  и получены формулы зависимости  $S$ ,  $D$  и  $(\eta)$  от  $M$ . Вид этих зависимостей свидетельствует о большой жесткости молекулярных цепей П-γ-БГ.

2. Вискозиметрические данные с применением формул для жестких эллипсоидов (Симха) были использованы для определения шага молекулярной спирали (проекция мономерного звена на ось спирали). Полученное значение шага  $\sim 2 \text{ \AA}$  превышает теоретическую величину, соответствующую  $\alpha$ -спирали (1,5  $\text{ \AA}$ ).

3. Экспериментальная зависимость коэффициентов диффузии и седиментации фракций от молекулярного веса с применением соответствующей теории для персистентной (червеобразной) модели (Хирст и Штокмайер) была использована для вычисления персистентной длины  $a$  молекулярных цепей П-γ-БГ. Полученное значение  $a = (1100 \pm 100) \text{ \AA}$  является характеристикой большой скелетной жесткости молекул П-γ-БГ.

Институт высокомолекулярных  
соединений АН СССР

Поступила в редакцию  
7 VIII 1964

## ЛИТЕРАТУРА

1. I. Blout, R. Karlson, P. Doty, B. Hargity, J. Amer. Chem. Soc., **76**, 4492, 1954.
2. P. Doty, J. Brauthurg, A. Holtzer, J. Amer. Chem. Soc., **78**, 947, 1956.
3. L. Pauling, R. Corey, H. Branson, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., **37**, 205, 1951.
4. P. Doty, J. T. Yong, J. Amer. Chem. Soc., **78**, 498, 1956; **79**, 761, 1957.
5. B. H. Zimm, P. Doty, K. Iso, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., **45**, 1601, 1959.
6. V. Luzzati, M. Cesari, G. Spach, F. Masson, J. M. Vincent, J. Mol. Biol., **3**, 566, 1961.
7. J. Spach, L. Freund, M. Daune, H. Benoit, J. Mol. Biol., **7**, 468, 1963.
8. Ж. Маршаль, Е. Маршаль, Высокомолек. соед., **6**, 561, 1964.
9. В. Н. Цветков, Ю. В. Митин, В. Р. Глушенкова, А. Е. Грищенко, Н. Н. Бойцова, С. Я. Любина, Высокомолек. соед., **5**, 453, 1963.
10. F. Blout, R. Karlson, J. Amer. Chem. Soc., **78**, 941, 1956.
11. В. Н. Цветков, Ж. эксперим. и теор. физ., **21**, 701, 1951.
12. В. Н. Цветков, С. И. Кленин, Ж. техн. физ., **28**, 1019, 1958.
13. В. Н. Цветков, Высокомолек. соед., **4**, 1575, 1962.
14. В. Н. Цветков, В. С. Сказка, Н. А. Никитин, Оптика и спектроскопия, **17**, 119, 1964.
15. T. Svedberg, K. O. Pedersen. The Ultracentrifuge, Oxford, 1940.
16. R. Simha, J. Phys. Chem., **44**, 25, 1940.
17. R. Simha, J. Chem. Phys., **13**, 188, 1945.
18. J. Kirkwood, J. Chem. Phys., **19**, 281, 1951.
19. O. Kratky, J. Porod, Rec. trav. chim., **68**, 1106, 1949.
20. W. Kuhn, Kolloid-Z., **68**, 2, 1934.
21. О. Б. Птицын, Ю. Е. Эйзнер, Высокомолек. соед., **3**, 1863, 1961.
22. J. E. Hearst, W. H. Stockmayer, J. Chem. Phys., **37**, 1425, 1962.
23. G. Meyerhoff, J. Polymer Sci., **29**, 399, 1958.

## SEDIMENTATION, DIFFUSION AND VISCOSITY {OF POLY- $\gamma$ -BENZYL-L-GLUTAMATE IN SOLUTION

V. N. Tsvetkov, Yu. V. Mitin, I. N. Shtennikova,  
V. R. Glushenkova, G. V. Tarasova, V. S. Skazka, N. A. Nikitin

## Summary

The coefficients of diffusion, sedimentation and intrinsic viscosity of a number of poly- $\gamma$ -benzyl-L-glutamate (P- $\gamma$ -BG) fractions in dimethylformamide and dichloroethane have been determined. The experimental data have been utilized to calculate on the basis of the rigid ellipsoid and worm-like chain theories the structural parameters of the P- $\gamma$ -BG chains. A value close to 2  $\text{ \AA}$  has been obtained for the projection of the monomer unit on the helical axis and a value  $a = 1100 \pm 100$  for the persistent length.