

Выводы

Методом поликонденсации синтезированы 8-оксихинолинфурмальдегидные смолы, содержащие резорцин (ПОРФ) или фенол (ПОФФ). Смолы обладают слабокислотными свойствами и способны поглощать из растворов ионы металлов.

Харьковский государственный университет
им. А. М. Горького

Поступила в редакцию
29 III 1968

ЛИТЕРАТУРА

1. K. Nakamura, M. Yanagita, *Scient. Papers Inst. Phys. and Chem. Res.*, **54**, 146, 1960.
2. М. Е. Романкевич, В. Г. Синявский, М. И. Цыганкова, Укр. химич. ж., **28**, 1096, 1962.
3. Л. И. Аристов, Г. Г. Серебрянская, Доклады 2-й Межвузовской конференции по химии органических комплексных соединений, Изд-во Томского ун-та, 1963, стр. 5.
4. Н. П. Базилевский, Л. А. Марущак, Э. Б. Грекова, Л. П. Фини, М. Я. Романкевич, Укр. химич. ж., **32**, 722, 1966.
5. G. K. J. Gibson, D. I. Packham, *J. Appl. Chem.*, **16**, 50, 1966.
6. R. V. Davies, J. Kennedy, E. S. Lane, J. Z. Williams, *J. Appl. Chem.*, **9**, 368, 1959.
7. H. Lillien, *Angew. Chem.*, **66**, 649, 1954.
8. J. R. Parrish, *Chem. and Industry*, 1956, № 7, 137.
9. Z. Pennington, M. Williams, *Industr. and Engng Chem.*, **51**, 759, 1959.
10. N. Guivetchi, *J. rech. Centre nat. rech. scient.*, 1963, 62, 73.
11. R. C. Degeiso, Z. C. Donatuma, E. A. Tomic, *J. Appl. Polymer Sci.*, **9**, 411, 1965.
12. H. Bernhard, F. Grass, *Mikrochim. Acta*, 1966, 426.
13. R. H. Hogrocks, E. C. Winslow, *J. Polymer Sci.*, **A1**, 3655, 1963.
14. А. А. Ванштейндт, Р. И. Груз, Ж. прикл. химии, **21**, 502, 1948.
15. К. М. Салладзе, А. Б. Пашков, Б. С. Титов, Ионообменные высокомолекулярные соединения, Госхимиздат, 1960, стр. 89.
16. Теоретическое и практическое руководство к лабораторным работам по физической химии, под ред. Б. П. Никольского, изд-во ЛГУ, 1967.

УДК 541.64:661.728-13

СИНТЕЗ ПРИВИТЫХ СОПОЛИМЕРОВ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ И КАТАЛАЗЫ

Д. Л. Яглом, А. Д. Вирник, З. А. Роговин

Значительные успехи энзимологии и разработка совершенных методов очистки белков расширили практическое использование биологически активных белков в науке и промышленности.

За последние годы появилось большое количество работ [1], посвященных синтезу нерастворимых в воде производных белков, обладающих биологической активностью (в основном ферментов и антигенов), в которых белок связан с нерастворимым полимером-носителем (целлюлозой или синтетическим полимером) ковалентной связью.

Такие привитые сополимеры ферментов удобно использовать в качестве специфических катализаторов, которые в любой момент могут быть удалены из сферы реакции. Их можно применять в виде ферментных колюнок в промышленности для обработки больших количеств субстратов без загрязнения продуктов реакции самим ферментом, для получения лекарственных ферментных препаратов с пролонгированным действием. Кроме того, соединение ферментов с водонерастворимым носителем позволяет моделировать условия действия ферментов в клетке, где ферменты связаны с различными структурами или мембранами. Действие ферментов в этих случаях осуществляется на поверхности раздела фаз, в то время как кинетика действия большинства ферментов изучена в гомогенной среде.

Привитые сополимеры с антигенами, получившие название иммunoсорбентов, применяются для сорбции антител с целью их количественного определения и выделения для последующего изучения их состава, структуры, биосинтеза, что очень важно для иммunoологии, иммunoгенетики, микробиологии, онкологии [1, 2].

Для синтеза указанных привитых сополимеров наиболее целесообразно использовать целлюлозу, а не гидрофобные синтетические полимеры, в частности полистирол, в связи с тем, что неспецифическая адсорбция белка на целлюлозе значительно ниже, чем на синтетических полимерах [2]. Это, по-видимому, объясняется большей, по сравнению с синтетическими полимерами, гидрофильностью целлюлозы, которая препятствует денатурации белков, в то время как гидрофобный носитель способствует их денатурации [1].

Для присоединения ферментов и антигенов к макромолекулам целлюлозы использовали реакции азосочетания и ацилирования, при этом в качестве исходных продуктов применяли простые и сложные эфиры целлюлозы, содержащие ароматические аминогруппы [3–11], и карбоксиметилцеллюлозу [12–15].

Присоединение белков к полимеру-носителю должно осуществляться за счет функциональных групп белка, не отвечающих за его биологическую активность. Поэтому расширение числа производных целлюлозы, которые могут быть использованы для синтеза указанных привитых сополимеров, а также разработка более простых методов синтеза последних представляют большой научный и практический интерес.

Цель данной работы — исследование возможности использования в качестве исходных продуктов для синтеза привитых сополимеров целлюлозы и ферментов цианурцеллюлозы [16] и 3-хлор-2-окси-пропилового эфира целлюлозы [17]. В качестве модельного ферmenta была использована каталаза, активность которой легко можно определить по разложению перекиси водорода. Параллельно для синтеза указанного привитого сополимера применяли также полученный ранее простой эфир целлюлозы и 4-β-оксиэтилсульфанил-2-аминоанизола [18]. Этот эфир, в отличие от других производных целлюлозы, содержащих ароматические аминогруппы, получают путем одностадийного синтеза в водной среде.

Представляет интерес выяснение влияния физической формы полимера-носителя на количество присоединяющегося белка. Поэтому мы считали необходимым исследовать возможность использования для синтеза привитых сополимеров целлюлозы и ферментов производных целлюлозы, полученных модификацией различных целлюлозных материалов, целлюлозного порошка, применяемого для хроматографии, хранившегося во влажном состоянии невытянутого вискозного волокна и суспензии, полученной пересаждением целлюлозы из медноаммиачного раствора по методике, разработанной Гурвичем [10].

Степень замещения гидроксильных групп целлюлозы в цианурцеллюлозе (ЦЦ) соответствовала значению $\gamma = 8\text{--}19$, в 3-хлор-2-окси-пропиловом эфире целлюлозы (ХЦ) — 19–31, в простом эфире целлюлозы и 4-β-оксиэтилсульфанил-2-аминоанизола (АЦ) — 12–19.

Для синтеза привитого сополимера целлюлозы и белка к 100 мг (по сухому весу) модифицированной целлюлозы добавляли 2 мл 2%-ного раствора каталазы в буферном растворе. Содержимое пробирок тщательно размешивали в течение 30 мин. и оставляли на 24 часа при комнатной температуре (для АЦ перемешивание реакционной массы проводили на холода и оставляли пробирки на 24 часа в холодильнике).

Реакцию ЦЦ с каталазой проводили при $\text{pH} = 8,6$ и $\text{pH} = 5$, с ХЦ и диазотированной АЦ — при $\text{pH} = 8,6$. Диазотирование АЦ проводили по методике, описанной в работе [11].

По окончании реакции полученные продукты отмывали 0,85%-ным раствором NaCl от химически несвязавшегося с целлюлозой белка при центрифугировании (5 мин., 3000 об/мин) до отсутствия следов белка в промывных водах [5].

Содержание химически связанного с модифицированной целлюлозой фермента в полученных привитых сополимерах анализировали по общепринятой методике путем определения количества красителя (кислотного сине-черного), связывающегося с белком [3].

Контрольными опытами было установлено, что с целлюлозы, не содержащей указанные выше реакционноспособные группы, в условиях промывки белок удаляется полностью.

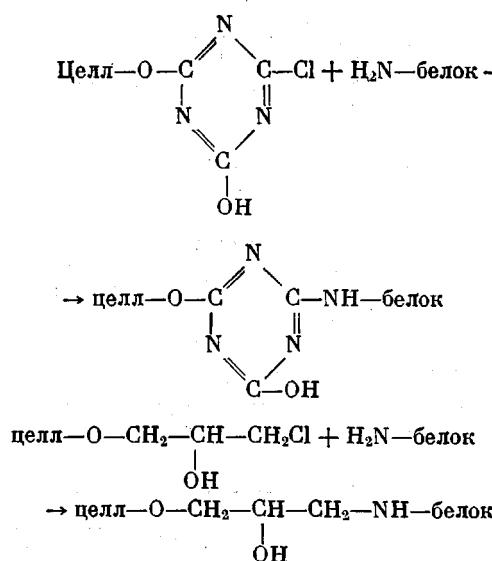
Проведенные опыты показали, что при использовании для синтеза привитого сополимера указанных выше производных целлюлозы в виде порошка или вискозного волокна содержание белка в привитом сополимере не превышало 0,1—0,2%.

Содержание белка в привитых сополимерах, полученных на основе модифицированной целлюлозы в виде суспензии, составляло: для ЦЦ 6,0 и 7,2% (реакцию проводили соответственно при $\text{pH} = 8,6$ и $\text{pH} = 5$), для ХЦ — 8,7 и для АЦ — 12,0%.

Необходимо отметить, что синтез привитого сополимера целлюлозы и каталазы на основе ЦЦ и ХЦ значительно более прост, чем на основе производных целлюлозы, содержащих ароматические аминогруппы.

По-видимому, ЦЦ и ХЦ, так же как и активные красители, содержащие различные реакционноспособные группы [19], в первую очередь реагируют с аминогруппами белка (ϵ -аминогруппы лизина и концевые аминогруппы полипептидных цепей) и иминогруппами гистидина.

Взаимодействие ЦЦ и ХЦ с белком может быть представлено следующими схемами:



Необходимо, однако, отметить, что реакционные группы макромолекулы модифицированной целлюлозы могут взаимодействовать с несколькими функциональными группами макромолекулы фермента. В этом случае в результате реакции могут образоваться не привитые сополимеры, а так называемые сэндвич-сополимеры.

При определении активности каталазы, присоединенной к целлюлозе, т. е. при проведении реакции в гетерогенной среде, нельзя было воспользоваться методикой, применяющейся для определения активности нативной каталазы [20].

Активность каталазы, химически связанной с целлюлозой, определяли по количеству перекиси водорода, разложившейся за 30 мин. при 20° . В реакцию с привитым сополимером (приблизительно 2—3 мг) вводили 10 мк 5%-ного раствора H_2O_2 в 0,3 M фосфатном буфере ($\text{pH} = 6,8$). В контролль-

ных опытах в реакцию с перекисью водорода вводили различное количество нативной каталазы.

Проведенные опыты показали, что активность каталазы при присоединении к исследуемым производным целлюлозы не изменяется.

Выводы

1. Синтезированы привитые сополимеры целлюлозы и фермента каталазы на основе цианурцеллюлозы, 3-хлор-2-оксиэтилового эфира целлюлозы и простого эфира целлюлозы и 4-β-оксиэтилсульфанил-2-аминоанизола, содержащие до 12% каталазы.

2. Установлено, что при присоединении к модифицированной целлюлозе ферментативная активность каталазы не уменьшается.

Московский текстильный институт

Поступила в редакцию
29 III 1968

ЛИТЕРАТУРА

1. J. H. Silman, E. Katchalski, Ann. Rev. Biochem., **35**, P2, 873, 1966.
2. А. Е. Гурвич, в кн. «Актуальные вопросы иммунологии», Медгиз, 1964, стр. 71.
3. А. Е. Гурвич, Биохимия, **22**, 1026, 1957.
4. А. Е. Гурвич, Р. Б. Капнер, Р. С. Незлий, Биохимия, **24**, 144, 1959.
5. А. Е. Гурвич, О. Б. Кузовлева, А. Е. Туманова, Биохимия, **27**, 246, 1962.
6. D. H. Campbell, E. Luechnege, L. S. Lerman, Proc. Nat. Acad. Sci, **37**, 537, 1951.
7. Р. С. Незлий, Биохимия, **24**, 486, 1959.
8. T. Webb, C. Lapresle, Biochem. J., **91**, 24, 1964.
9. A. Malley, D. H. Campbell, J. Amer. Chem. Soc., **85**, 487, 1963.
10. А. Е. Гурвич, О. Б. Кузовлева, А. Е. Туманова, Биохимия, **26**, 934, 1961.
11. О. Б. Кузовлева, А. Е. Гурвич, З. А. Роговин, А. Д. Вирник, Вопросы медицинской химии, **12**, 106, 1966.
12. M. A. Mitz, L. J. Summagaia, Nature, **189**, 576, 1961.
13. M. Lilly, C. Maney, W. Hornby, E. M. Crook, Biochem. J., **95**, 45, 1965.
14. H. H. Weetall, N. Weliky, Nature, **204**, 896, 1964.
15. H. H. Weetall, R. V. Gilden, D. H. Campbell, Immunochemistry, **1**, 219, 1964.
16. Л. С. Гальбрайх, В. А. Деревицкая, З. А. Роговин, М. А. Чекалин, Высокомолек. соед., **4**, 409, 1962.
17. Е. Ф. Шаркова, А. Д. Вирник, З. А. Роговин, Высокомолек. соед., **8**, 1450, 1966.
18. З. А. Роговин, Сунь Тун, А. Д. Вирник, Н. М. Хвостенко, Высокомолек. соед., **4**, 571, 1962.
19. А. Д. Вирник, М. А. Чекалин, Ж. прикл. химии, **35**, 588, 1962.
20. Дж. Б. Самнер, Г. Ф. Сомерс, Химия ферментов и методы их исследования, Изд-во иностр. лит., 1948, стр. 24, 250.

УДК 66.095.26:678.(76+744)-13

ИЗУЧЕНИЕ СОВМЕСТНОЙ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ 2,3,4,5-ТЕТРАХЛОРГЕКСАТРИЕНА-1,3,5 С АКРИЛОВОЙ И МЕТАКАРИЛОВОЙ КИСЛОТАМИ

Г. Е. Крбекян, А. А. Сафарян, А. Н. Акопян

2,3,4,5-Тетрахлоргексатриена-1,3,5 (TXGT), синтезированный в нашей лаборатории дегидрохлорированием гексахлорида дивинилацетилена [1], является сравнительно активным мономером. Изучение реакции и продуктов его полимеризации [1] и сополимеризации с десятью промышленными винильными и диеновыми мономерами [2] показало, что как гомополимер и сополимеры, так и продукты их хлорирования отличаются хорошими пленкообразующими и антикоррозийными свойствами. Одновременно хлорированный политетрахлоргексатриен оказался непревзойденным средством крепления резин к металлам [3]. В исследованных нами сополимерах отсутствовали сополимеры с карбоксильной группой, наличие которой, по данным литературы, повышает адгезионные свойства полимеров [4].