

Выводы

- Показано, что в полимеризации *n*-дизопропенилбензола под влиянием *n*-бутиллития участвует только одна изопропенильная группа.
- Методом ИК-спектроскопии изучена структура полимера *n*-дизопропенилбензола.

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

Поступила в редакцию
21 III 1971

ЛИТЕРАТУРА

- Р. Г. Исмайлов, С. М. Алиев, Н. И. Гусейнов, Р. И. Гусейнов, Докл. АН АзербССР, 9, 11, 1968.
- Т. А. Апрова, Ю. Я. Бабушкин, Е. А. Гукасова, Е. В. Егоров, Г. В. Королев, С. В. Макарова, Б. Р. Смирнов, Т. М. Чернявская, Высокомолек. соед., A12, 1246, 1970.
- Ю. В. Митин, Н. А. Глухов, Докл. АН СССР, 115, 97, 1957; W. Cooper, J. Polymer Sci., 28, 118, 629, 1958.
- H. Gilman, W. Landham, E. Moore, J. Amer. Chem. Soc., 62, 2327, 1940.
- H. Gilman, F. K. Cartledge, S. X. Synn, J. Organ. Chem., 1, 8, 1963.

УДК 547(64+135)

РОЛЬ СТРУКТУРЫ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТА ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ИНСУЛИНОМ

Л. В. Дмитренко, Д. И. Островский, Г. В. Самсонов

Изучение взаимодействия синтетических спицых полиэлектролитов — ионообменных смол с физиологически активными веществами, в частности с белковым гормоном инсулином, представляет интерес для понимания механизма комплексообразования типа полиэлектролит — инсулин и выяснения физиологической роли и поведения этих комплексов в организме. Такого рода исследования требуют изучения условий получения обратимо диссоциирующих комплексов инсулина с синтетическими полиэлектролитами без нарушения нативной структуры белка.

За последние два десятилетия появилось много работ, касающихся взаимодействия инсулина с ионообменными смолами [1—9], откуда следует, что инсулин сорбируется в заметных количествах только на сильно набухающих ионитах, когда имеется возможность для диффузии инсулина внутрь зерна к сорбционным центрам. Для таких гелевых трехмерных полиэлектролитов проницаемость матрицы является определяющей при сорбции белковой макромолекулы, а сорбционное равновесие достигается очень медленно, учитывая относительно большой молекулярный вес белка. Незначительного увеличения емкости и улучшения кинетики сорбции инсулина можно достичь при сильном измельчении смолы за счет увеличения доступных сорбционных центров [6], однако эти изменения крайне малы и не решают проблему проницаемости. Поэтому основное усилие исследователей должно быть направлено на изучение роли физической и химической структуры синтетических спицых полиэлектролитов при взаимодействии с веществами белковой природы.

В данной работе рассматривается взаимодействие инсулина с различными типами гелевых ионитов, в том числе содержащими длиноцепные спивающие агенты, а также пористыми слабо набухающими сорбентами.

Ввиду того что существенную роль при образовании комплекса играет электростатическое взаимодействие между макромолекулой белка и матрицей сорбента, эксперименты по сорбции инсулина проводили при pH = 5,3 вдали от изоэлектрической точки инсулина. Инсулин сорбировали на карбоксильных и сульфокатионитах из растворов с pH = 2,5 и на анионитах при pH = 9,0.

Изучение сорбции инсулина проводили в статических условиях. Навески образцов смол по 20 мг и зернением $\leq 0,2 \text{ мм}$ помещали во флаконы и в каждый флакон добавляли по 10 мк раствор инсулина с концентрацией 0,5 мг/мл (использовали кристаллический инсулин, полученный на Ленинградском заводе медпрепаратов). Флаконы, закрытые полистиленовыми пробками, встряхивали в течение 16—18 час. и после отделения белковых растворов от ионитов инсулин в аналогичных условиях элюировали. Концентрацию инсулина в растворе определяли с помощью реактива Фолина [10].

В таблице представлены результаты сорбции и десорбции инсулина на карбоксильных смолах в водородной форме. Элюирование проводили 0,1 M фосфатным буфером с pH = 8,0. В качестве сорбентов использовали гелевые карбоксильные иониты как с короткоцепными, так и с длинноцепными спивающими агентами — гексаметилендиметакриламидом и *n*-фенилендиметакриламидом. Ранее было показано, что иониты с длинноцепным спивающим агентом — макросетчатые иониты, характеризуются хорошими кинетическими свойствами и высокой избирательностью сорбции органических ионов с молекулярным весом $M < 600$ [11–13]. Приведенные в таблице данные не обнаруживают принципиальной разницы между сорбционной способностью инсулина на обычных и макросетчатых смолах с различным количеством спивающего агента. Следовательно, увеличение длины цепи спивающего агента не улучшает проницаемость сетки гелевых ионитов для белковой макромолекулы. Значительная емкость сорбции наблюдается лишь на карбоксильном катионите КМТ, полученным сополимеризацией метакриловой кислоты и триазина. По-видимому, из-за большой нерегулярности структуры в сетке ионита имеются участки, легко доступные для диффузии больших макромолекул белковой природы. Специфическое строение сетки КМТ, вероятнее всего, определяется свойствами трехфункционального спивающего агента — триазина, так как использование в качестве «шивки» аналога триазина триметакриламина, не имеющего жесткого ароматического ядра, не вызывает большой адсорбции инсулина.

В таблице приведены также результаты сорбции инсулина на сульфокатионитах в водородной форме. Условия сорбции те же, что и при сорбции на карбоксильных смолах.

Аналогичные рассуждения, как и для случая карбоксильных смол, приводят к выводу, что обычные гелевые сульфосмолы как простые, так и макросетчатые, сорбируют инсулин с меньшей емкостью, чем смола КУ-2П, имеющая макропористую структуру [14]. Повышенная емкость сорбции на этой смоле может иметь место, по-видимому, за счет взаимодействия инсулина с адсорбционными центрами, расположенными на сильно развитой поверхности макропор зерна ионита, так как трудно представить возможность диффузии макромолекулы инсулина ($M = 12\,000$) внутрь матрицы полизлектролита при «шивке» 20% дивинилбензола (ДВБ) и константе набухания $K_{\text{наб}} = 1,3$. Если при сорбции на сульфокатионитах типа Дауэкс-50 и КУ-2 емкость сорбции (m) инсулина резко падает с уменьшением коэффициента набухания и при $K_{\text{наб}} = 2,8$ — $3,0$ $m = 0$, то в случае сульфокатионита СДВ-Т при $K_{\text{наб}} = 3$ $m = 65 \text{ mg/g}$ сухой смолы. Дело в том, что синтез СДВ-Т проведен в присутствии тетиогена [15, 16], что ведет к образованию разупорядоченной матрицы и появлению в сетке трехмерного полизлектролита участков, доступных для диффузии органических ионов большого молекулярного веса.

Взаимодействие инсулина с анионитами в $[\text{OH}]^-$ -форме изучали в статических условиях при сорбции из раствора 0,05 молей буры и элюированием 0,1 н. соляной кислотой. Из таблицы следует, что аниониты одинаковой основности («Дауэкс-1», «Дауэкс-2» и ЕА-60 «Вофатит») могут иметь различную емкость сорбции инсулина и, наоборот, разной основности (ЭДЭ-10п и ЕА-60 «Вофатит») — одинаковую емкость. Не играет существенной роли также тип спивающего агента (ЭДЭ-10п и ЕА-60 «Вофатит» — разные шивки, но одинаковая емкость и «Дауэкс-1» и «Дауэкс-2» — один и тот же спивающий агент ДВБ, но разная емкость сорбции). Как и при сорбции инсулина на сульфокатионитах, исключением является макропористый анионит АК-40 «Вофатит», имеющий при малом коэффициенте набухания ($K_{\text{наб}} = 1,3$) $m = 50 \text{ mg/g}$. Следовательно, и в случае анионитов сорбция инсулина определяется, в первую очередь, не химическим строением, а физической, пространственной структурой матрицы трехмерного полимера.

Сорбция инсулина

Название ионита	Спивающий агент	Количество спивающего агента, %	<i>K</i> наб. ионита	Емкость сорбции, мг/г	Обратимость сорбции, %
На карбоксильных смолах					
КМТ	Виниламидо-сими-триазин	12	3	150	67
№ 60	Триметакриламин	—	3	28	0
КД-3	Формальдегид	—	2	48	0
КБ-4	ДВБ	2	2	40	0
«Вофатит» СВ	—	—	1,2	19	0
«Вофатит» СР	—	—	2,2	18	0
Макросетчатый	<i>n</i> -Дифенилвинил-октан	4,7	3,5	45	0
»	»	11	2,8	49	0
»	»	20	1,6	5	0
»	<i>n</i> -Фенилдиметакриламид	2,5	4,5	39	0
На сульфокатионитах					
«Дауэкс-50»	ДВБ	1	8	45	0
»	»	4	3	0	—
КУ-2	»	4	2,8	6	0
КУ-5	Формальдегид	—	2,5	23	0
Макросетчатый	<i>n</i> -Дифенилвинил-додекан	2	3,0	20	0
СДВ-Т	ДВБ	4	3,0	65	0*
КУ-2П	»	20	1,3	90	70
На анионитах					
«Дауэкс-1»	ДВБ	1	5	73	50
»	»	2	3	160	17
»	»	4	3	10	0
«Дауэкс-2»	»	8	2	14	0
»	»	2	3	0	0
»	»	8	2	4	0
ЭДЭ-10п	Формальдегид	—	3,5	23	0
АК-40	ДВБ	—	—	—	—
«Вофатит»	—	—	1,3	50	50
EA-60	»	—	2,5	20	0
«Вофатит»	—	—	—	—	—

* 60% при добавлении ацетона.

Если емкость сорбции характеризует пористость или проницаемость «сетки» полиэлектролита для белковых молекул, то характеристикой прочности комплекса белка с полиэлектролитом может служить обратимость сорбции (значения обратимости сорбции приведены в таблице). Условия десорбции выбирали таким образом, чтобы инсулин и полиэлектролит имели одноименный заряд и, если комплекс стабилизирован только электростатическими силами, то должна наблюдаваться полная обратимость сорбции инсулина. Такие условия достигались тем, что рН элюирующих растворов был выше (для катионитов) и ниже (для анионитов) изоэлектрической точки инсулина. Из таблицы следует, что десорбция практически наблюдается для ионитов «Дауэкс-1×1» (50%), КМТ (67%) и макропористых КУ-2П (70%) и АК-40 (50%). Очевидно, в этих случаях комплекс полиэлектролит — инсулин стабилизирован электростатическими силами. В остальных случаях имеет место более сложное взаимодействие с участием некулоновских сил — водородных связей или

гидрофобных взаимодействий [15]. При ослаблении дополнительного взаимодействия, например добавлением органического растворителя (20% ацетона для СДВ-Т), десорбция усиливается от 0 до 60%.

Выводы

1. Рассмотрены особенности взаимодействия белка инсулина с синтетическими полиэлектролитами различной химической и физической структуры. Показано, что проницаемость белковой молекулы в матрицу полимера (емкость сорбции) в первую очередь определяется физической структурой зерна ионита, наличием микро- или макропор, по которым осуществляется диффузия инсулина к сорбционным центрам.

2. При взаимодействии инсулина с гелевыми (набухающими) трехмерными полиэлектролитами, как правило, образуется более прочный комплекс, чем с макропористыми. Прочность (стабильность) такого комплекса обусловлена электростатическим взаимодействием с наложением непулоновских, вероятно, гидрофобных связей.

Институт высокомолекулярных
соединений АН СССР

Поступила в редакцию
23 III 1971

ЛИТЕРАТУРА

1. N. K. Boardman, J. Biol. Chem., 18, 290, 1955.
2. N. K. Boardman, S. W. Partige, Biochem. J., 59, 543, 1955.
3. R. D. Cole, J. Biol. Chem., 235, 2294, 1960.
4. Г. В. Самсонов, Р. Б. Пономарева, Биохимия, 24, 63, 1959.
5. H. N. Antoniages, A. S. Renold, Proc. Soc. Exptl. Biol. med., 103, 667, 1960.
6. Г. В. Самсонов, М. Д. Фадеева, Биохимия, 21, 403, 1956.
7. Л. А. Либерман, Л. В. Дмитренко, Ю. А. Ярошевский, Вопросы мед. химии, 1962, № 4, 420.
8. H. N. Antoniages, K. Gundersen, Endocrinology, 70, 95, 1962.
9. Авт. свид. 213256, 1965; Бюлл. изобретений, 1968, № 10.
10. O. H. Lowry, Y. RoseBrough, a Lewis Farr, R. J. Randall, J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
11. К. Б. Мусабеков, В. А. Динабург, Г. В. Самсонов, Ж. прикл. химии, 42, 82, 1969.
12. Г. В. Самсонов, Б. В. Москвичев, В. С. Юрченко, А. Ш. Генеди, Б. Ш. Чокина, Сб. Ионный обмен и иониты, изд-во «Наука», 1970, стр. 142.
13. Г. В. Самсонов, А. Ш. Генеди, К. Б. Мусабеков, Г. Э. Елькин, Ж. прикл. химии, 41, 1450, 1968.
14. Е. И. Люстгартен, А. Б. Пашков, Т. И. Давидова, Н. Б. Скальская, Сб. Химически активные полимеры и их применение, изд-во «Химия», 1969, стр. 28.
15. Г. В. Самсонов, Л. В. Дмитренко, Сб. Термодинамика ионного обмена, изд-во «Наука и техника», 1968, стр. 184.
16. А. С. Тевлина, Г. С. Колесников, Г. В. Самсонов, Л. В. Дмитренко, А. Е. Чучин, Сб. Химически активные полимеры и их применение, изд-во «Химия», 1969, стр. 24.

УДК 541.64:532.77

О МЕХАНИЗМЕ ОБРАЗОВАНИЯ ВОЛОКНИСТО-ПЛЕНОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ ИЗ РАСТВОРОВ ПОЛИМЕРОВ

*М. М. Иовлева, О. И. Начинкин, С. П. Папков,
Э. Б. Дьяконова, С. И. Бандурян, И. Г. Рубан*

Известно, что добавление «осадителя» (нерасторовителя) к однофазному гомогенному раствору полимера приводит к распаду раствора на две фазы: высококонцентрированную по полимеру (условно обозначаемую как полимерная фаза) и низкоконцентрированную. Последняя представляет собой раствор с очень малым содержанием полимера.

Форма выделения полимерной фазы в существенной степени определяет особенности свойств материалов, в основе получения которых лежит