

раствора гидроокиси калия при 50° [21]. 1,4-Диоксибензол (гидрохинон) имел т. пл. 171°.

Синтез олигомеров. 0,0125 моля исходного дифенола, 10 мл ДМСО и 25 мл хлорбензола нагревали в атмосфере сухого очищенного азота до 80°, а затем добавляли из микробюретки 1 г (0,025 моля) чистой гидроокиси натрия в виде 50%-ного водного раствора. Температуру системы постепенно повышали до 160° и после отгонки воды с хлорбензолом в течение 5 мин добавляли по каплям 3,5 г (0,0125 моля) 4,4'-дихлордибензоила в 45 мл горячего и сухого хлорбензола, который постепенно выводили из системы отгонкой. Затем реакционную смесь нагревали 3 час при 160°. Вязкость смеси постепенно возрастала до консистенции меда. После окончания процесса реакционную массу разбавляли 80 мл метанола, перемешивали несколько минут и оставляли отстаиваться в течение 5 час. Осадившийся олигомер отфильтровывали, промывали несколько раз водой до исчезновения в фильтрате ионов Cl⁻ и высушивали до постоянного веса под вакуумом.

Институт химии
Университета Николая Коперника,
Польша

Поступила в редакцию
2 IV 1979г

ЛИТЕРАТУРА

1. T. Lesiak, J. Nowakowski, J. prakt. Chem., 321, 921, 1979.
2. J. Rose, Polymer, 15, 456, 1974.
3. J. Miller, Rev. pure appl. Chem., I, 171, 1951.
4. J. Miller, J. Amer. Chem. Soc., 76, 448, 1954.
5. P. Sykes, The Search for Organic Reaction Pathways, London 1972.
6. R. L. Heppoletti, J. Miller, J. Chem. Soc., 1956, 2329.
7. B. E. Jennings, M. E. B. Jones, J. B. Rose, J. Polymer Sci., C 16, 715, 1967.
8. R. N. Johnson, A. G. Farnham, R. A. Clendinning, W. F. Hale, C. N. Merriam, J. Polymer Sci., 5, A-1, 2375, 1967.
9. R. Gabler, J. Studinka, Пат. ФРГ 1909441, 1969; Chem. Abstrs, 72, 32479, 1970.
10. J. Studinka, R. Gabler, Пат. ФРГ 2117820, 1971; Chem. Abstrs, 76, 113857, 1972.
11. J. B. Rose, Пат. ФРГ 2425166, 1974; Chem. Abstrs, 82, 112453, 1975.
12. A. J. Parker, Quart. Rev., 16, 163, 1962.
13. C. W. N. Cumper, A. P. Thurston, J. Chem. Soc., Perkin Trans. II, 1972, 106.
14. N. J. Leonard, R. T. Rapala, H. L. Herzog, E. R. Blout, J. Amer. Chem. Soc., 71, 2997, 1949.
15. B. Subrahmanyam, N. V. Subba Rao, Indian J. Chem., 8, 33, 1970.
16. J. F. Bunnett, R. E. Zahler, Chem. Revs, 49, 273, 1951.
17. H. L. Haller, P. D. Bartlett, N. L. Drake, M. S. Newman, S. J. Cristol, Ch. E. Eaker, R. A. Hayes, G. W. Kilmer, B. Magerlein, G. P. Mueller, A. Schneider, W. Wheatley, J. Amer. Chem. Soc., 67, 1591, 1945.
18. O. Grummitt, A. Buck, J. Stearns, J. Amer. Chem. Soc., 67, 155, 1945.
19. S. S. Tomar, N. K. Roy, S. K. Mukerjee, Agric. Biol. Chem., 38, 1067, 1974.
20. E. E. Reid, E. Wilson, J. Amer. Chem. Soc., 66, 967, 1944.
21. S. Porejko, Z. Wielgosz, Polimery, 13, 55, 1968.

УДК 541(64+183)

ОСОБЕННОСТИ СОРБЦИИ ПЕПСИНА НА ПОРИСТОМ КАРБОКСИЛЬНОМ КАТИОНITE

Шатаева Л. К., Писарев О. А., Самсонов Г. В.

Уже отмечалось, что ионообменная сорбция диполярных ионов существенно отличается от традиционного ионного обмена не только структурной сложностью компонентов, участвующих в процессе, но и электрохимическими особенностями взаимодействия полизелектролитов с цвиттер-ионами [1, 2]. Исследование сорбции аминокислот на катионитах в водородной форме показало, что связывание дипольного иона сопровождается переносом иона водорода от полизелектролита к карбоксильной группе аминокислоты [3, 4]. Для цвиттер-ионов более сложного строения, таких как белки, изучение эквивалентности связывания и локальной перезарядки компонентов затруднено. Описание селективной сорбции сложных цвиттер-ионов на

карбоксильных катионитах может быть проведено с помощью электростатических моделей [2, 5]. Однако пригодность этих моделей ограничена идеальными условиями сорбции: низкими концентрациями белка в растворе и низкими степенями заполнения ионита сорбируемым белком.

Термодинамический подход к явлениям селективной сорбции белков на пористых ионитах требует изучения закономерностей связывания белка с полиэлектролитом в широком диапазоне концентраций и заполнений [6]. Особенно важно такое изучение для пористых карбоксильных катионитов, специально синтезированных для селективной сорбции белков из естественных источников [7].

В данной работе исследованы изотермы сорбции пепсина на гетеропористом катионите Биокарб и микрокалориметрически измерен тепловой эффект связывания пепсина в широком диапазоне заполнения сорбента белком.

В работе использовали пористый карбоксильный катионит Биокарб, структура и сорбционные свойства которого были изучены ранее [8, 9]. Сорбцию пепсина проводили на водородной форме катионита в статических условиях при различных рН равновесного раствора, разных температурах и в диапазоне начальных концентраций пепсина 0,2–10 мг/мл при ионной силе 0,01.

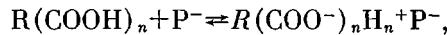
Для работы брали трехкратно перекристаллизованный пепсин. Концентрацию пепсина в растворе определяли по методу Лоури [10].

При 30° был измерен тепловой эффект сорбции на микрокалориметре ДАК-1-1. Микрокалориметр был снабжен специальным устройством для ввода навески смолы в реакционную ячейку, позволяющим определить тепловой эффект сорбции в реакционной ячейке по отношению к ячейке сравнения. Термовые эффекты сорбции пепсина измеряли в режиме с чувствительностью $7,0 \cdot 10^{-4}$ кал/мм. Калибровку производили с помощью системы нагревателей с мощностью $(0,79-3,54) \cdot 10^{-3}$ кал/с. Измерения проводили при постоянной навеске смолы и варьировали концентрацию пепсина. Для устранения тепловых эффектов набухания навеску смолы увлажняли до начала эксперимента.

На рис. 1 представлена рН-зависимость сорбции пепсина на карбоксильном катионите, которая показывает, что оптимальным условиям для связывания этого белка при всех температурах соответствует равновесное значение рН равное 2,4 – 2,5, т. е. соответствует та область рН, где катионит имеет полностью недиссоциированные карбоксильные группы.

Известно, что в этих условиях пепсин имеет избыточный отрицательный заряд и при электрофорезе движется к аноду [11]. Можно предположить, что в этих условиях сорбция белка происходит с установлением нескольких водородных связей белок – полимер. При этом возможен частичный перенос протонов от полиэлектролита к слабым протон-акцепторным группам пепсина, что соответствует увеличению числа положительных зарядов на макромолекуле белка, хотя суммарный отрицательный заряд цвиттер-иона может сохраняться.

Общая схема сорбции белка-аниона на нейонизированном карбоксильном катионите может быть представлена следующим образом:



где P^- – пепсин

Параметр n (функциональность связывания) зависит от стерического соответствия расположения ионогенных групп белка и полимера, а также от степени заполнения полиэлектролита белком.

На рис. 2 представлены изотермы сорбции пепсина при рН 2,5 и различных температурах. Полученные данные позволяют различить по крайней мере два различных участка изотерм: начальный участок до емкости сорбции 100 мг/г и второй участок, на котором емкость сорбции проходит через максимум. Статистический анализ для изотерм такой формы не может быть применен, так как в изученном диапазоне концентраций наблюдается и положительная и отрицательная кооперативность связывания [6]. Физический механизм, ответственный за изменение кооперативности

связывания в системе, может быть связан как с изменением средней энергии связывания белка с сорбционным центром, так и с уменьшением числа таких связей макромолекулы белка с полиэлектролитом n .

На первом участке изотермы коэффициент распределения пепсина непрерывно возрастает с ростом температуры. Энталпия сорбции пепсина на этом участке может быть оценена по уравнению Вант-Гоффа и равняется (5500 ± 1000) кал/моль.

Для объяснения существования максимума на концентрационной изотерме сорбции можно предложить два различных механизма. Первый свя-

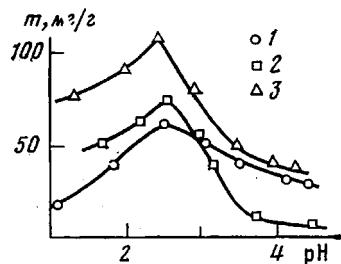


Рис. 1

Рис. 1. Зависимость емкости сорбции пепсина на Биокарбе от pH равновесного раствора: 1 – 9, 2 – 25, 3 – 37°

Рис. 2. Концентрационные изотермы сорбции пепсина при pH 2,2 и температурах 9 (1), 25 (2), 30 (3), 37 (4), 45° (5)

Рис. 3. Тепловой эффект сорбции пепсина на Биокарбе при различных концентрациях белка c_b в растворе (pH 2,2; 30°)

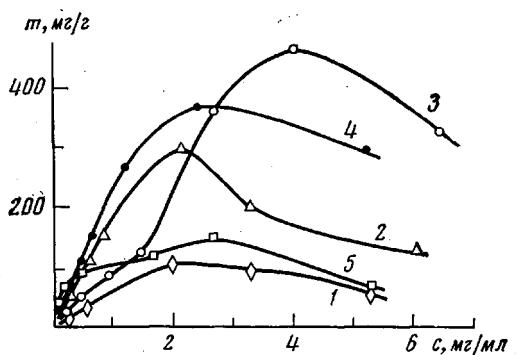


Рис. 2

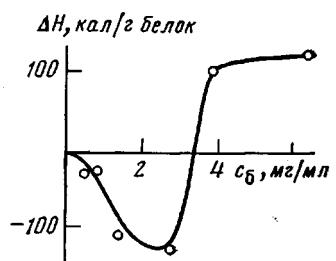


Рис. 3

зан с ассоциацией пепсина в равновесном растворе при более высоких концентрациях. Ранее при исследовании концентрационной зависимости тепловой денатурации пепсина была предложена модель, согласно которой в диапазоне концентраций от 0,4 до 10 мг/мл пепсин в растворе образует димеры и тетramerы [12]. Существование ассоциатов в растворе может отчасти объяснить уменьшение емкости сорбции пепсина при более высоких равновесных концентрациях, так как для ассоциатов белка стерическая доступность сорбционных центров микропористого катионита значительно ниже, чем для индивидуальных макромолекул.

Другой молекулярный механизм, вызывающий понижение избирательности сорбции при больших заполнениях сорбента белком, может быть связан с тем, что только первый монослой белковых макромолекул сорбируется с достаточно высокой функциональностью связывания n и с соответствующей высокой селективностью. Последующая полимолекулярная сорбция проходит по энергетически невыгодному механизму с установлением меньшего числа связей с полимером и соответственно с пониженной селективностью. Возможность полимолекулярной сорбции белков на пористых катионитах уже отмечалась при изучении систем с инсулином [13].

Температурные зависимости позволяют оценить только интегральные термодинамические функции сорбции белков. Для детального изучения физико-химических механизмов связывания белка с полиэлектролитом требуется исследование дифференциальных термодинамических функций.,

которые можно получить из результатов микрокалориметрических измерений. На рис. 3 представлена зависимость величины теплового эффекта сорбции пепсина на катионите Биокарб от разных равновесных концентраций белка в растворе. Эти результаты показывают, что механизмы сорбции пепсина на первом (до концентрации 2 мг/мл в равновесном растворе) и на втором участке изотермы сорбции различаются по своему тепловому эффекту. При малых заполнениях сорбента пепсином сорбция проходит с уменьшением энталпии системы. При заполнении смолы белком до концентрации 200 мг/г дальнейшая сорбция пепсина проходит с увеличением энталпии системы.

С точки зрения электростатической модели при малых заполнениях ионита белком сорбция пепсина проходит за счет диполь-дипольного притяжения глобулы белка к поверхности сорбента, на которой дипольные моменты неионизированных карбоксильных групп ориентированы своим положительным направлением от поверхности. По-видимому, энергетический выигрыш связывания пепсина с поверхностью полизелектролита определяется установлением водородных связей сорбент — сорбат с последующим переносом протона от сорбента на протон-акцепторные группы белка согласно приведенной выше схеме. Процесс переноса протона и переход водородной связи в ион-ионную связь обычно сопровождается уменьшением энталпии [14]. Например, для комплекса *n*-нитрофенола с триэтиламином изменение энталпии составляет —4,3 ккал/моль [15].

Полученные нами экспериментальные данные не позволяют рассчитать энталпию связывания на одну водородную связь, так как число этих связей на одну макромолекулу может быть очень большим, а их относительная прочность различной. Для пепсина суммарное число амино- и амидогрупп, способных вступать в водородные связи, достигает 54, хотя участие всех этих групп в связывании с полизелектролитом вызывает сомнение по стерическим причинам.

Когда вся доступная для сорбции поверхность сорбента заполнена макромолекулами пепсина, дальнейшая сорбция белка происходит за счет взаимодействия белок — белок. При этом макромолекулы из раствора взаимодействуют своими положительно заряженными группами с макромолекулами, ранее сорбированными на поверхности и ориентированными своими отрицательными (кислыми) группами от поверхности катионита. В некоторой степени этот процесс подобен мицеллообразованию в растворе. По-видимому, установление в системе взаимодействий типа белок — белок может приводить к ослаблению взаимодействия белок — полизелектролит и к соответствующей частичной десорбции пепсина из первого сорбированного мономолекулярного слоя с последующим включением этих молекул в надмолекулярные ассоциаты белка.

Предложенная модель вполне согласуется с формой изотермы сорбции пепсина, на которой можно выделить по крайней мере два участка, различающиеся избирательностью и кооперативностью.

Изменение знака парциальной энталпии связывания является косвенным признаком фазового перехода в системе. Возникновение полимолекулярных ассоциатов белка на базе мономолекулярного слоя на поверхности сетчатого полизелектролита может рассматриваться как фазовый переход второго рода, обусловленный изменением упаковки белка в сорбированном состоянии. Термодинамические и морфологические аспекты таких переходов требуют дополнительных исследований.

Институт высокомолекулярных
соединений АН СССР

Поступила в редакцию
11 IV 1979

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. В. Самсонов, В сб. Физико-химические методы изучения, анализа и фракционирования биополимеров, «Наука», 1966, стр. 187.
2. Л. К. Шатаева, И. И. Чернова, Г. В. Самсонов, Изв. АН СССР, серия химич.. 1977, 359.

3. Н. П. Кузнецова, Г. В. Самсонов, Докл. АН СССР, 115, 351, 1957.
4. К. К. Каининьш, Б. В. Москвичев, Л. В. Дмитренко, Б. Г. Беленький, Г. В. Самсонов, Изв. АН СССР, серия химич., 1965, 1897.
5. N. K. Boardman, S. M. Partridge, Biochem. J., 59, 543, 1955.
6. T. Sturgill, R. L. Biltonen, Biopolymers, 15, 337, 1976.
7. Л. К. Шатаева, Г. В. Самсонов, Хим. фарм. ж., 1977, № 4, 1978.
8. Л. К. Шатаева, О. В. Орлиевская, Ц. И. Джмухадзе, Г. В. Самсонов, Высокомолек. соед., B17, 735, 1975.
9. Ю. С. Надежин, Л. К. Шатаева, Н. Н. Кузнецова, А. В. Сидорович, Г. В. Самсонов, Высокомолек. соед., A17, 448, 1975.
10. O. H. Lowry et al., J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
11. T. G. Rajagopalan, S. Moor, W. H. Stein, J. Biol. Chem., 241, 4295, 1966.
12. E. J. Casey, K. J. Laidler, J. Amer. Chem. Soc., 73, 1455, 1951.
13. Д. И. Островский, Л. В. Дмитренко, Г. В. Самсонов, Г. А. Лебедев, Изв. АН СССР, серия химич., 1976, № 3, 547.
14. А. Л. Мошковский, С. Е. Одиноков, Докл. АН СССР, 204, 1165, 1972.
15. C. N. Vinogradov, R. A. Hudson, R. M. Scott, Biophys. Biochem. Acta, 214, 6, 1970.

УДК 541.64:546.41

К ВОПРОСУ О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ В СИСТЕМЕ МОЧЕВИНОФОРМАЛЬДЕГИДНАЯ СМОЛА – ДИГИДРАТ СУЛЬФАТА КАЛЬЦИЯ

*Симеонов Й. Т., Захариеев Г. З., Чешков В. М.,
Цветков В. Л.*

В одной из наших работ [1] было показано, что при отверждении мочевиноформальдегидной смолы (МФС) в присутствии дигидрата сульфата кальция исчезает ее хорошо известная тенденция к быстрому трещинообразованию в отверженном состоянии. В связи с этим было высказано предположение о том, что при наполнении МФС дигидратом сульфата кальция (ДСК) не только создаются чисто стерические препятствия к распространению трещин в отверженном полимере, как это наблюдается при использовании других наполнителей в сочетании с этой смолой, но и уменьшается возможность возникновения трещин.

Цель настоящей работы – изучение специфического влияния ДСК как наполнителя на поведение отверженной МФС.

В качестве МФС использовали водорастворимый олигомер клеевого предназначения, полученный при мольном соотношении мочевина : формальдегид = 1 : 2. Содержание сухого остатка в нем составляло 70 вес. %, а содержание свободного формальдегида – 1 %. В качестве наполнителей сравнения использовали порошкообразные кварц, цеолиты, каолин и слюды, отличающиеся как по кристаллохимической структуре, так и по природе поверхности, но лишь замедляющие, даже при высоком наполнении, процессы трещинообразования в отверженной МФС. Весовое соотношение смолы и наполнителей изменяли в пределах от 1 : 1 до 1 : 4. Отверждение проводили при комнатной температуре и атмосферном давлении с использованием в качестве отвердителя фосфорной кислоты.

Отверженные композиции на основе МФС изучали с помощью ИК-спектроскопии, термогравиметрии и растровой электронной микроскопии.

ИК-спектры снимали на спектрометре UR-10. На рис. 1 приведены характерные для аминопластов участки спектров отверженной МФС – ненаполненной (кривой 1) и наполненной ДСК (кривая 2). Укажем, что полосы поглощения отдельных компонентов композиции МФС – ДСК в данной области спектра в значительной мере перекрываются, поэтому для выделения спектра самого полимера, заключенного между частичками наполнителя, использовали метод компенсации. Полученному таким образом спектру отвечает кривая 2 на рис. 1. Сопоставление этих