

## КООПЕРАТИВНЫЙ И СТАТИСТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕМОГЛОБИНА С МАКРОСЕТЧАТЫМИ КАРБОКСИЛЬНЫМИ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТАМИ

*Писарев О. А., Кузнецова Н. П., Мишаева Р. Н.,  
Самсонов Г. В.*

Ранее было показано [1, 2], что фрагменты полиметакриловой кислоты в сшитом полиэлектrolите (СПЭ), полученном полимеризацией метакриловой кислоты и этилендиметакриламида (ЭДМА), аналогично растворимой поликислоте претерпевают при увеличении степени ионизации кооперативный конформационный переход, заключающийся в разрушении исходной вторичной структуры, образованной гидрофобным взаимодействием метильных групп и водородными связями между неионизованными карбоксильными группами. Наличие сшивки приводит к некоторому сдвигу и расширению области перехода. Однако влияние исходной конформации полиэлектrolита на характер связывания белков изучено недостаточно. Полезную информацию в этом смысле можно получить при исследовании дифференциальных калориметрических теплот взаимодействия, позволяющих проследить за изменением дифференциальной энтальпии по мере внедрения органического иона в матрицу ионита.

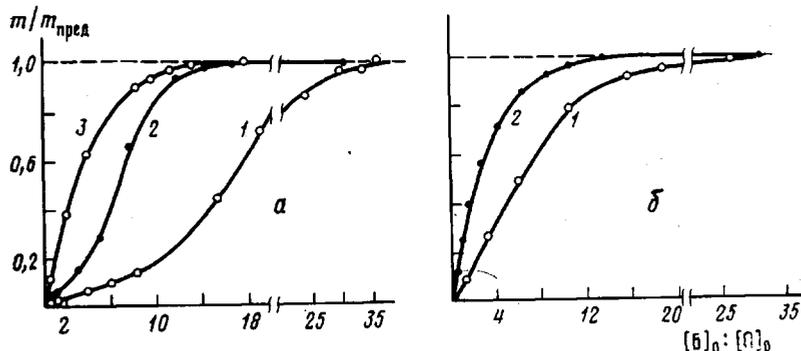
Цель данной работы — исследование методами изотерм равновесия сорбции и дифференциальной микрокалориметрии связывания гемоглобина с суспензиями макросетчатых карбоксильных полиэлектrolитов в зависимости от степени ионизации, а следовательно, от различного конформационного состояния полиэлектrolитных цепей матрицы сорбента.

Использовали иониты на основе акриловых кислот: сополимер метакриловой кислоты и ЭДМА (2,5%), синтезированный двумя способами — полимеризацией в массе (ПМАК-С) и суспензионной полимеризацией (ПМАК-МГ-С), а также сополимер акриловой кислоты и ЭДМА (2,5%) (ПАК-С), полученный полимеризацией в массе. Суспензии СПЭ получали механическим измельчением с последующим фракционированием. Размер частиц исследуемых суспензий составлял  $10^{-5}$  м. Требуемая степень ионизации достигалась добавлением 0,1 н. NaOH с использованием кривых потенциометрического титрования. Гемоглобин получали из крови человека по известному методу [3]. Определение дифференциальных теплот взаимодействия гемоглобина с СПЭ проводили в микрокалориметре ДАК-1-1 при 30°. Устройство смешения реагентов в реакционной зоне микрокалориметра описано ранее [4]. Чтобы исключить тепловые эффекты, связанные с набуханием СПЭ, в ячейку микрокалориметра добавляли необходимое для полного увлажнения количество раствора щелочи или воды.

На рисунке представлены изотермы сорбции гемоглобина на различных макросетчатых карбоксильных полиэлектrolитах в  $H^+$ -форме ( $\alpha=0$ ). Характерной особенностью является уменьшение степени кооперативности по мере увеличения жесткости структуры СПЭ. Наибольшая степень кооперативности наблюдается для СПЭ, имеющего максимально высокий диапазон «разворачивания» структуры макромолекулы (ПМАК-С). Для ПМАК-МГ-С, обладающего поверхностным слоем повышенной жесткости, изотерма связывания носит статистический характер. Промежуточную степень кооперативности взаимодействия имеет ионит на основе акриловой кислоты, структура которого стабилизирована только водородными связями [5]. Низкая степень связывания гемоглобина при малых равновесных концентрациях во внешнем растворе обусловлена, по всей видимости, небольшим количеством центров взаимодействия на поверхности СПЭ и недоступностью для макромолекул белка функциональных групп ионитов, расположенных внутри гранул, из-за структурирования цепей ПМАК в ПМАК-С и межцепных взаимодействий в ПАК-С. Аналогичные

эффекты были обнаружены при изучении взаимодействия низкомолекулярных органических ионов, а также полипептидного биорегулятора иммуниитета тималина, сывороточного альбумина, химотрипсиногена с рядом карбоксильных катионитов [4, 6, 7].

Ионизация СПЭ приводит к резкому изменению характера взаимодействия (рисунок, б). «Развернутая» форма СПЭ сорбирует гемоглобин ста-



Изотермы связывания гемоглобина суспензиями СПЭ при  $\alpha=0$  (а) и в ионизованном состоянии (б). а: 1 – ПМАК-С, 2 – ПАК-С, 3 – ПМАК-МГ-С; б: 1 – ПМАК-С,  $\alpha=0,45$ ; 2 – ПАК-С,  $\alpha=0,2$ .  $[B]_0 : [\Pi]_0$  – отношение вес. долей белка и полимера в исходном растворе

тистически, и характер связывания не зависит от условий синтеза и начальной конформации полиэлектролитных цепей.

Различие в характере связывания находит свое проявление и в изменении дифференциальных тепловых эффектов (табл. 1, 2). Для неиони-

Таблица 1  
Изменение дифференциальной энтальпии в случае связывания гемоглобина суспензиями СПЭ при  $\alpha = 0$

СПЭ	$[B]_0 : [\Pi]_0$	$\Delta H^\circ$ , кДж/моль
ПМАК-С	0,4	$-14,2 \pm 1,2$
	0,9	$-16,4 \pm 1,3$
	8,0	$-20,3 \pm 1,4$
	15,0	$-34,0 \pm 2,1$
	29,0	$+57,1 \pm 3,2$
	35,0	$+62,3 \pm 3,2$
ПАК-С	0,4	$-17,1 \pm 1,3$
	0,9	$-26,0 \pm 1,5$
	16,0	$+14,6 \pm 1,2$
	30,0	$+27,3 \pm 1,5$
ПМАК-МГ-С	0,7	0
	16,0	$-22,1 \pm 1,2$
	35,0	$-38,2 \pm 1,4$

зованных ионитов, взаимодействующих с гемоглобином по кооперативному механизму (ПМАК-С и ПАК-С) избирательность сорбции при малых степенях заполнения ионита органическим ионом определяется термодинамически выгодным изменением дифференциальной энтальпии. Однако по мере увеличения количества белка во внешнем растворе дифференциальная энтальпия становится положительной и причину избирательности следует искать в изменении дифференциальной энтропии (энтропийный эффект избирательности). Данные рисунка и табл. 1 заставляют

предположить, что в случае неионизованных форм СПЭ связывание гемоглобина, определяемое экзотермическим эффектом избирательности, происходит по наиболее доступным центрам взаимодействия без заметной деформации цепей полиэлектролита. Дальнейшее внедрение молекул гемоглобина в матрицу СПЭ сопровождается положительным тепловым эффектом и связано с «разрыхлением» структуры СПЭ и с некоторым нарушением упорядоченности его матрицы. Кроме того, рост дифференциальной энтропии процесса может быть обусловлен ассоциацией сорбируемых ионов и увеличением числа микросостояний сорбируемого белка [6].

Разрушение вторичной структуры полиметакриловой кислоты в СПЭ при возрастании степени ионизации приводит к экзотермическому эффекту связывания. При этом абсолютная величина дифференциальной энталь-

Таблица 2

Изменение дифференциальной энтальпии при связывании гемоглобина суспензиями СПЭ в ионизированном состоянии

СПЭ	Исходная степень ионизации	[Б] <sub>0</sub> : [Ш] <sub>0</sub>	$\Delta H^\circ$ , кДж/моль
ПМАК-С	0,3	30,0	-23,1±1,6
	0,45	30,0	-62,0±3,1
ПАК-С	0,2	0,5	-19,1±1,1
	0,2	8,0	-32,0±2,2
	0,2	32,0	-41,1±2,8

пии процесса возрастает с увеличением степени развернутости полиэлектролитных цепей матрицы ионита, а также с возрастанием количества сорбируемого белка (табл. 2).

Таким образом, в зависимости от конформации поликислот гемоглобин взаимодействует с СПЭ статистически (при этом избирательность взаимодействия определяется энтальпийным членом изменения свободной энергии) или кооперативно с энтропийным характером связывания.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кузнецова Н. П., Мишаева Р. Н., Гудкин Л. Р., Ануфриева Е. В., Паутов В. Д., Самсонов Г. В. Высокомолек. соед. А, 1977, т. 19, № 1, с. 107.
2. Кузнецова Н. П., Мишаева Р. Н., Гудкин Л. Р., Кузнецова Н. Н., Муравьева Т. Д., Папукова К. П., Рожецкая К. М., Самсонов Г. В. Высокомолек. соед. А, 1978, т. 20, № 3, с. 629.
3. Rabiner S. F. J. Exptl Med., 1967, v. 126, № 6, p. 1127.
4. Писарев О. А., Шатаева Л. К., Самсонов Г. В. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1980, № 1, с. 34.
5. Ануфриева Е. В. Дис. на соискание уч. ст. докт. физ.-мат. наук. Л.: ИВС АН СССР, 1974. 195 с.
6. Писарев О. А., Шатаева Л. К., Самсонов Г. В. Ж. физ. химии, 1980, т. 54, № 9, с. 2391.
7. Кузнецова Н. П., Мишаева Р. Н., Гудкин Л. Р., Самсонов Г. В. Высокомолек. соед. А, 1983, т. 25, № 12, с. 2580.

Институт высокомолекулярных соединений АН СССР

Поступила в редакцию  
21.XII.1983