

## ЛИТЕРАТУРА

1. Heitner-Wirguin C., Kendler J. J. Inorg. and Nucl. Chem., 1971, v. 33, № 9, p. 3119.
2. Мусеева Н. П., Синявский В. Г., Михайлов В. С., Романович М. Я. Журн. общ. химии, 1973, т. 43, № 6, с. 1393.
3. Matsuzuru H., Wadachi Y. Nippon Kagaku Kaishi, 1973, № 4, p. 643.
4. Varon A., Rieman W. J. Phys. Chem., 1964, v. 68, № 9, p. 2716.
5. Парамонова В. И., Акопов Г. А., Колеванова Л. А. Радиохимия, 1967, т. 9, № 6, с. 642.
6. Орлова Н. Н., Толмачев В. Н., Симоненко Е. А. Высокомолек. соед. Б, 1972, т. 14, № 5, с. 335.
7. Efendiev A. A., Shachtachinskaya A. T., Meares P. In: Proceedings of the International Conference «The Theory and Practice of Ion Exchange». Cambridge, 1976, p. 18.
8. Чернова И. А., Погодина Т. Е., Шатаева Л. К., Самсонов Г. В. Высокомолек. соед. А, 1980, т. 22, № 11, с. 2403.
9. Эфендиев А. А., Шахтахтинская А. Т. Высокомолек. соед. А, 1978, т. 20, № 2, с. 314.
10. Шахтахтинская А. Т., Эфендиев А. А., Николаев Н. И. Аэроб. хим. журн., 1977, № 4, с. 137.
11. Золотарев П. П., Дубинин М. М. Докл. АН СССР, 1973, т. 210, № 1, с. 136.
12. Эфендиев А. А., Ибрагимов Ч. Ш., Золотарев П. П., Карагедов С. С., Шахтахтинская А. Т., Угрозов В. В. Журн. физ. химии, 1982, т. 56, № 7, с. 1803.

Институт теоретических проблем  
химической технологии АН АзССР

Поступила в редакцию  
18.IV.1986

Научно-исследовательский  
физико-химический институт  
им. Л. Я. Карпова

УДК 541(64+183.12+49)

### СВЯЗЫВАНИЕ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА СИНТЕТИЧЕСКИМИ ГИДРОГЕЛЕВЫМИ БИОСПЕЦИФИЧЕСКИМИ СОРБЕНТАМИ С УГЛЕВОДОРОДНЫМИ ФРАГМЕНТАМИ В КАЧЕСТВЕ ЛИГАНДОВ

Платэ Н. А., Лисовцева Н. А., Ужинова Л. Д.

В работе [1] было показано, что высокоеффективные биоспецифические сорбенты на сывороточный альбумин (СА) можно синтезировать путем сополимеризации мономеров-лигандов, содержащих в качестве аффинной компоненты на этот белок углеводородные фрагменты  $C_{12}H_{25}$ ,  $C_{16}H_{33}$ ,  $C_{22}H_{45}$ , с гидрофильными мономерами и спивающим агентом, образующими полимерный синтетический гель.

Цель настоящей работы — оценить, по какому классу мест связывания на молекуле белка происходит его взаимодействие с иммобилизованными

#### Параметры сорбции альбумина на сорбентах с $C_{16}H_{33}$ углеводородными лигандами при 25°

Содержание лиганда в сорбенте, мол. %	$P_{Pi}$ , мл/г	$S$ , ммоль СА/г	$K \cdot 10^{-4}$ , моль $^{-1}$
0,203	270	1,160	22,0
0,326	350	1,450	22,0
0,405	400	1,812	22,0
1,340	510	3,986	13,0
1,600	350	3,692	8,6
2,640	175/85 *	2,319/2,819 *	7,8/8,3 *
7,520	190/105 *	2,030/3,043 *	9,2/9,9 *

\* В числителе — результаты по первой ступени изотермы сорбции,  
в знаменателе — по второй.

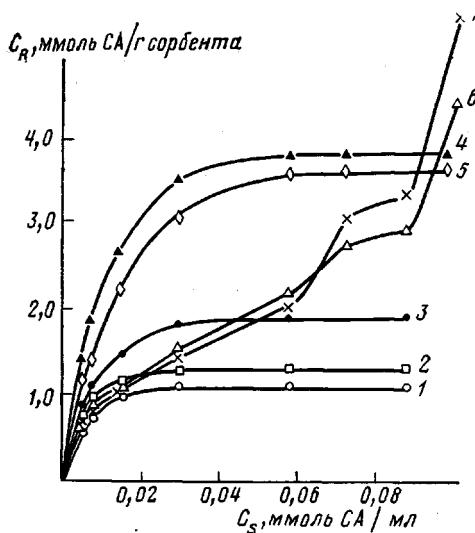


Рис. 1. Зависимость емкости  $C_R$  сорбентов по СА от концентрации  $C_s$  белка в супернатанте. Здесь и на рис. 2 содержание фрагментов  $C_{16}H_{33}$  в сорбенте: 0,203 (1); 0,326 (2); 0,405 (3); 1,340 (4); 1,600 (5); 2,640 (6) и 7,520 мол.% (7)

по белку от концентрации СА в супернатанте. При поддержании концентрации несвязанного СА в супернатанте постоянной для каждой серии сравнительных экспериментов различия в емкости сорбентов определяются только содержанием лиганда в сорбенте.

Для характеристики взаимодействия СА с иммобилизованными лигандами воспользуемся выражением (1) для константы равновесия  $K$  применительно к сорбционным процессам [4]

$$K = \frac{C_R}{(S - C_R) C_s}, \quad (1)$$

где  $C_R$  — равновесная емкость сорбента по СА, ммоль/г;  $C_s$  — равновесная концентрация СА в супернатанте, ммоль/мл;  $S$  — предельная емкость сорбента по СА, ммоль/г.

Вводя коэффициент распределения  $P = C_R/C_s$  и перегруппировывая, получаем формулу

$$C_R = S - P/K \quad (2)$$

Экстраполяция экспериментальной зависимости (2) к нулевому значению  $P$  дает величину  $S$ , а к нулевому значению  $C_R$  — величину предельного коэффициента распределения  $P_u$ , характеризующего максимально возможную концентрирующую способность сорбента в мл/г.

Как видно из рис. 2, экспериментальные зависимости  $C_R = f(P)$ , полученные из данных, представленных на рис. 1, имеют линейный характер до содержания лиганда 2 мол.%, а для сорбентов с содержанием лиганда 2,64 мол.% и более изотермы сорбции отражают двуступенчатый механизм взаимодействия радикалов  $C_{16}H_{33}$  с альбумином. В этом случае ступень изотермы, лежащая в области высоких концентраций СА в супернатанте, является аддитивной.

Количественные характеристики изотерм сорбции альбумина на сор-

бенте в полимерный гидрогель  $C_{16}H_{33}$  углеводородными фрагментами, которые, как известно [2], максимально стерически соответствуют адсорбционным центрам на молекуле альбумина.

Емкость по СА синтезированных биоспецифических сорбентов оценивали по изменению концентрации физиологических растворов СА после инкубирования в них определенных навесок сорбентов, содержащих различное количество химически иммобилизованных фрагментов  $C_{16}H_{33}$  (от 0,203 до 7,520 мол.%). Весовое соотношение сорбент : раствор составляло 1 : 85, время установления равновесия для физиологического раствора (0,15 м. раствор NaCl в фосфатном буфере с pH 7,4) при комнатной температуре равнялось 16 ч.

Концентрации белковых растворов определяли по поглощению в УФ-области спектра при 278 нм, используя калибровочные зависимости для СА («Reanal», ВНР,  $\epsilon^{1\%}_{278} = 5,3$  [3]) на спектрофотометре («Рус Unicam SP8-100», Англия).

На рис. 1 приведены зависимости емкости сорбентов с различным содержанием фрагментов

и на рис. 2 содержание фрагментов  $C_{16}H_{33}$  в сорбенте: 0,203 (1); 0,326 (2); 0,405 (3); 1,340 (4); 1,600 (5); 2,640 (6) и 7,520 мол.% (7)

бентах, содержащих  $C_{16}H_{33}$  углеводородные фрагменты, приведены в таблице. Как видно, предельная емкость сорбентов по СА в расчете на 1 г сухого сорбента проходит через максимум при увеличении содержания в сорбенте биоспецифического к белку лиганда; то же можно сказать и об эффективности использования ( $P_n$ ) синтезированных сорбентов при низких содержаниях белка в супернатанте, меньших  $0,058 \cdot 10^{-3}$  моль. Этот факт можно объяснить блокировкой части радикалов  $C_{16}H_{33}$  с увеличением их содержания в сорбенте объемными молекулами СА, что в целом понижает количество лигандов, участвующего в связывании альбумина. Для сорбентов с наибольшим содержанием лигандов

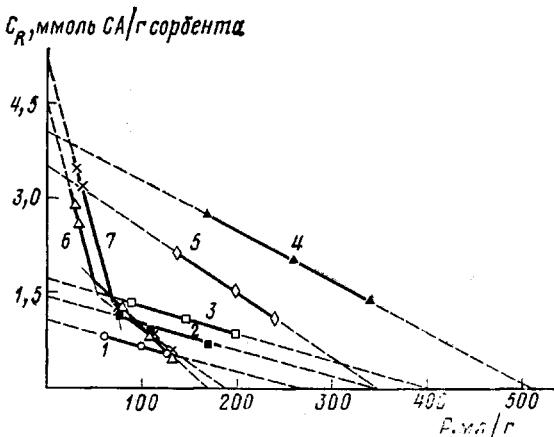


Рис. 2. Изотермы сорбции СА из физиологического раствора сорбентами с различным содержанием фрагментов  $C_{16}H_{33}$

(2,64 и 7,52 мол.%) истинное значение емкости по второй ступени изотермы сорбции СА равно разности между суммарной емкостью и емкостью по первой ступени (рис. 2, таблица). Возникновение второй ступени изотермы сорбции для этих сорбентов можно объяснить тем, что ассоциация углеводородных радикалов лигандов при набухании сорбентов в водных средах подавляется конкурентной реакцией взаимодействия радикалов  $C_{16}H_{33}$  с молекулами альбумина, что и приводит к существенному возрастанию емкости сорбентов по СА при увеличении концентрации белка в инкубирующем растворе.

Значения констант равновесия, полученные для данного сорбционного процесса, находятся в интервале  $10^4$ – $10^5$  (таблица), что хорошо согласуется с величиной константы связывания альбумина с радикалами  $C_{16}H_{33}$  в растворе ( $8,06 \cdot 10^4$  моль $^{-1}$ ) [5], определенной методом флуоресцентного зонда. Порядок величины этих констант позволяет предположить, что связывание лигандов с альбумином происходит по второму классу мест связывания по Гудмену [2] на молекуле СА, общих для физиологических жирных кислот, билирубина, красителей и др. Это предположение экспериментально подтверждено нами при определении емкости полученных биоспецифических сорбентов СА в зависимости от мольного соотношения пальмитиновой кислоты : СА в растворе белка, пред назначенного для сорбции. Для насыщения СА пальмитиновой кислотой пользовались методикой [2].

Как видно из рис. 3, емкость сорбентов по СА сохраняется практически неизменной до того момента, пока число молекул пальмитиновой кислоты на молекулу белка остается меньше трех. Как известно [2], при этом соотношении пальмитиновой кислоты к СА жирная кислота занимает первые места связывания на молекуле альбумина, обладающие наибольшим сродством к пальмитиновой кислоте и не доступные взаимо-

действию с другими гидрофобными лигандами ( $K=10^6-10^7$  моль $^{-1}$ ), в результате чего присутствие пальмитиновой кислоты не препятствует одновременному взаимодействию СА с иммобилизованными  $C_{16}H_{33}$  лигандами. Дальнейшее увеличение мольного соотношения пальмитиновой кислоты и СА (>3) приводит к значительному падению емкости сорбента (рис. 3), что, вероятно, обусловлено занятием более конкурентоспособной пальмитиновой кислотой вторых мест связывания на молекуле альбумина ( $K=10^4-10^5$  моль $^{-1}$ ), способных взаимодействовать с иммобилизованными углеводородными радикалами. Емкость сорбентов по СА, со-

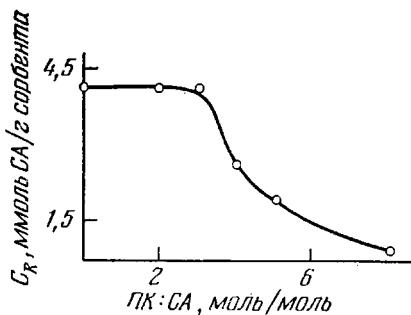


Рис. 3. Зависимость емкости  $C_r$  сорбента по СА от насыщения белка пальмитиновой кислотой. Сорбент содержит 1,340 мол.% фрагментов  $C_{16}H_{33}$ .  $C_s=0,0584$  ммоль СА/мл

держащих фрагменты  $C_{16}H_{33}$ , характеризуется постоянной величиной вплоть до мольного соотношения жирная кислота:альбумин = 2. Именно такое количество жирных кислот содержит препарат СА («Reanal», ВНР) и альбумин в нормальной человеческой плазме [2].

Таким образом, полученные биоспецифические сорбенты способны селективно связывать СА из таких биологических жидкостей, как плазма, сыворотка и др., в которых его присутствие мешает анализу других белков. Центры связывания молекулы СА с иммобилизованными в полимерной матрице сорбента углеводородными радикалами  $C_{16}H_{33}$  не перекрываются с центрами связывания других лигандов, переносимых альбумином в физиологических растворах.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Платэ Н. А., Матросович М. Н. // Докл. АН СССР. 1976. Т. 229. № 2. С. 496.
2. Goodman D. S. // J. Amer. Chem. Soc. 1958. V. 80. № 15. P. 3892.
3. Peters T., jr. // Advance Clin. Chem. 1970. V. 13. № 1. P. 37.
4. Горчаков В. Д., Елинек А. Ф., Лейкин Ю. А. // Журн. прикл. химии. 1985. Т. 58. № 3. С. 581.
5. Ужинова Л. Д., Грачева Н. А., Платэ Н. А. // Биоорган. химия. 1979. Т. 5. № 8. С. 1171.

Московский государственный  
университет им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию  
23.IV.1986

УДК 541.64:547.455

#### ПОЛИМЕРИЗАЦИЯ 1,6:2,3-ДИАНГИДРО-4-О-АЛЛИЛ- $\beta$ -D-МАННОПИРАНОЗЫ

Горковенко А. А., Берман Е. Л., Пономаренко В. А.

Высокомолекулярные соединения на основе углеводных мономеров помимо полисахаридов представлены двумя группами синтетических полимеров. В первую группу входят полимерные углеводы, основная цепь которых построена из углеводных фрагментов, связанных между собой иными связями, чем гликозидная (например, эфирами [1-4]). Вторая