

## ЛИТЕРАТУРА

1. Zweifel H., Völker T. // Makromolek. Chem. 1973. B. 170. S. 141.
2. Zweifel H., Löliger Y., Völker T. // Makromolek. Chem. 1972. B. 153. S. 125.
3. Bhadani S. N., Prasad Y. // Makromolek. Chem. 1977. B. 178. № 6. S. 1651.
4. Trivedi B. C., Culbertson B. M. // Maleic anhydride. Dublin, 1982. P. 243.
5. Скворцов Э. П., Конн Е. Л., Миловская Е. Б. // Высокомолек. соед. А. 1977. Т. 19. № 8. С. 1736.
6. Конн Е. Л., Скворцов Э. П., Денисов В. М., Кольцов А. И., Миловская Е. Б. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1977. Т. 9. С. 2055.
7. Bacskai J. // J. Polymer Sci. Polymer Chem. Ed. 1976. V. 14. № 7. P. 1797.
8. Wurm H., Regel W., Hallensleben M. L. // Makromolek. Chem. 1979. B. 180. № 6. S. 1581, 1589.

Институт высокомолекулярных соединений  
АН СССР

Поступила в редакцию  
15.II.1988

УДК 541.64:539.2

## О СТРОЕНИИ СОПОЛИМЕРА АКРИЛАМИДА С СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ

Платэ Н. А., Валуев Л. И., Чупов В. В.,  
Синани В. А., Ноа О. В., Постников В. А.

В настоящее время укрупненные формы белков, получаемые либо сшиванием молекул белка между собой, либо иммобилизацией белков на макромолекулярных водорастворимых полимерах, рассматриваются как наиболее перспективные вещества для решения ряда биомедицинских задач, в том числе создания пролонгированных лекарственных препаратов и фармакологических систем направленного действия [1]. Совершенно очевидно, что необходимым условием успешного функционирования таких веществ является сохранение иммобилизованными белками присущей им физиологической активности. Последнее подразумевает, в частности, такое расположение молекул иммобилизованного белка, при котором расстояние между ними достаточно велико, и стericкие препятствия для взаимодействия белка с физиологическим субстратом отсутствуют. Поэтому основным путем создания укрупненных форм белков является не сшивание молекул белков между собой, а их иммобилизация на макромолекуле водорастворимого полимера [2]. Вместе с тем в случае гибкоцепных полимеров этот подход не всегда может быть оправдан из-за склонности молекул белков к ассоциации, вызывающей определенное искажение конформации цепи синтетического полимера. В этой связи цель настоящей работы – изучение строения сополимера акриламида с сывороточным альбумином, синтезированного радикальной сополимеризацией акриламида с макромономером сывороточного альбумина (MCA).

В работе использовали акриламид и сывороточный альбумин человека фирмы «Реанал» (Венгрия). MCA, содержащий одну двойную связь в молекуле, получали реакцией альбумина с хлорангидридом акриловой кислоты и очищали по методике [3]. Сополимеризацию акриламида с MCA проводили в водном растворе при 35°, используя в качестве инициатора окислительно-восстановительную систему персульфат аммония – N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамин [4]. Продукты сополимеризации разделяли гель-фильтрацией на сефарозе-4B, а сополимер дополнительно очищали аффинной хроматографией на фенилсепарозе. ММ сополимера определяли методом седиментации на приборе «Beckman» (США) при 50 000 об/мин, размеры молекул сополимера – методом светорассеяния на приборе «Chromatix» (ФРГ). Содержание белка в сополимере измеряли спектрофотометрически при  $\lambda=280$  нм.

На рис. 1 представлены гель-хроматограммы смеси акриламида с МСА, а также продукта сополимеризации этих соединений. Видно, что в условиях радикальной сополимеризации концентрация обоих соединений в исходной мономерной смеси уменьшается, а продуктом реакции является высокомолекулярный сополимер акриламида с МСА. ММ сополимера составляет  $\sim 10^6$ , а одна макромолекула его содержит 4–5 звеньев МСА. Необходимо отметить, что инкубирование только МСА в присутствии инициирующей системы в аналогичных условиях не приводит к образованию

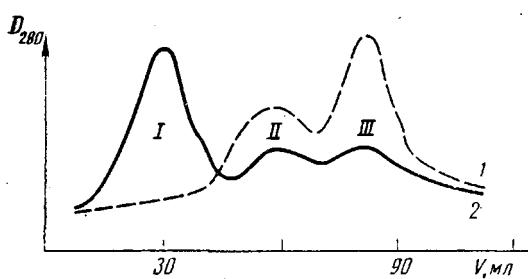


Рис. 1

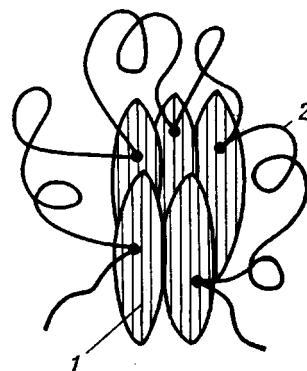


Рис. 2

Рис. 1. Гель-хроматограммы смеси акриламида с МСА (1) и продукта сополимеризации этой смеси (2) в течение 30 мин при 35°. Условия хроматографирования: объем колонки с сефарозой-4В 60 мл; скорость элюции 0,8 мл/мин; элюент – 0,05 н. Фосфатный буфер; pH 7,4. [МСА] =  $1,4 \cdot 10^{-3}$ , [акриламид] =  $4,2 \cdot 10^{-4}$  моль/л. I – сополимер, II – МСА, III – акриламид

Рис. 2. Схематическая модель строения сополимера акриламида с сывороточным альбумином: 1 – молекулы белка, 2 – полиакриламидные цепи

гомополимера МСА, по-видимому, из-за большого объема заместителя у двойной связи, которым является молекула альбумина с  $M=69\,000$ . Использование в реакции сополимеризации с акриламидом не МСА, а молекул неацилированного («нативного») сывороточного альбумина, не приводит к образованию сополимера акриламида с белком.

В первом приближении можно было предположить, что получаемый сополимер акриламида с МСА является статистическим сополимером, в макромолекуле которого звенья МСА разделены длинными полиакриламидными цепями с  $M \approx 150\,000$ . Среднеквадратичное расстояние между концами цепи для такой макромолекулы  $\bar{V}h^2$ , рассчитанное для модели гауссовых субцепей с учетом эффекта набухания [5] в предположении, что статистический сегмент полиакриламида содержит 4–5 звеньев (имеет длину 10–12 Å) [6], а молекула МСА имеет одинаковую с альбумином форму эллипсоида вращения с осями 40 и 140 Å [7], составляет 1400 Å. Это значение существенно отличается от экспериментального определенного значения  $\bar{V}h^2$ , равного 600–700 Å, т. е. истинная конформация сополимера в значительной степени отлична от предполагаемого статистического клубка с равномерным распределением звеньев МСА по полиакриламидной цепи.

С учетом известного факта о склонности молекул белков к ассоциации [8] мы предположили, что все звенья МСА (4–5, как было установлено экспериментально) в макромолекуле сополимера агрегированы в одно образование, которое по форме близко к сферическому с диаметром  $\sim 100$  Å. Для того чтобы отрезки цепей полиакриламида могли подстроиться к этому образованию, их концы должны быть сближены настолько, чтобы образовались циклы (рис. 2). Как известно [9], среднеквадратичные размеры циклических макромолекул в  $\sqrt{2}$  раз меньше размеров линейных це-

пей, содержащих одинаковое количество сегментов. Расчет показывает, что в этом случае среднеквадратичное расстояние между концами цепи для изучаемого сополимера должно составлять величину  $\sim 700$  Å, что удовлетворительно совпадает с экспериментально найденным значением.

Если предложенная модель верна, и ответственными за поджатие клубка являются белок-белковые взаимодействия, то нарушение этих взаимодействий должно приводить к разворачиванию полимерной цепи. Действительно, среднеквадратичное расстояние между концами цепи макромолекул, полученных в результате ферментативного гидролиза сополимера МСА с акриламидом трипсином в условиях полного отщепления альбумина от полимерной цепи, имеет экспериментально определенную величину 1450–1500 Å.

Таким образом, при радикальной сополимеризации МСА с акриламидом образуется сополимер, строение которого, по-видимому, близко к строению привитых или блок-сополимеров, построенных из химически связанных компонентов, слабо взаимодействующих между собой. В сополимерах такого типа характер распределения белка по цепи полимера носит статистический характер, однако молекулы белка агрегируют между собой, что является одной из причин часто наблюдаемого снижения функциональной активности иммобилизованных на водорастворимых полимерах белков по отношению к высокомолекулярным субстратам [2, 8].

#### ЛИТЕРАТУРА

- Чазов Е. И., Смирнов В. Н., Мазаев А. В., Торчилин В. П. // ЖВХО им. Д. И. Менделеева. 1985. Т. 30. № 4. С. 365.
- Иммобилизированные ферменты. Т. 1/Под ред. Березина И. В., Антонова В. К., Мартинека К. М., 1976. 201 с.
- Платэ Н. А., Постников В. А., Лукин Н. Ю., Эйсмонт М. Ю., Грудкова Г. // Высокомолек. соед. А. 1982. Т. 24. № 11. С. 2326.
- Postnikov V. A., Dobrovolskaya N. V., Volkov A. V., Platé N. A. // Polymer Bull. 1985. V. 13. P. 425.
- Цветков В. Н., Эскин В. Е., Френкель С. Я. Структура макромолекул в растворах. М., 1964. 137 с.
- Ogston A. G. // Trans. Faraday Soc. 1958. V. 54. P. 1754.
- Peters T., jr. // Advances Clin. Chem. 1970. V. 13. P. 37.
- Платэ Н. А., Валуев Л. И., Синани В. А., Чупов В. В. // Биотехнология. 1987. Т. 3. № 2. С. 173.
- Zimm B. H., Stockmeyer W. H. // J. Chem. Phys. 1949. V. 17. P. 1301.

Московский государственный университет  
им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию  
22.II.1988

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

УДК 541.64:547.538.141

#### АЗОТСОДЕРЖАЩИЕ ПЕРОКСИДЫ КАК ИНИЦИATORЫ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ СТИРОЛА

Похмурская М. В., Носан В. Н., Клим Н. И.

В настоящем сообщении приведены сведения об инициирующей активности ряда пероксидов при полимеризации стирола. Объектами исследования служили: (метилфениламино)метил-*трет*-бутилпероксид,  $C_6H_5$  —