

УДК 541.64:539.199

© 1989 С. Е. Кудайбергенов, Е. А. Бектуров

## ВЛИЯНИЕ КОНФОРМАЦИОННОГО ПЕРЕХОДА КЛУБОК — ГЛОБУЛА В ПОЛИАМФОЛИТАХ НА СОРБЦИЮ И ДЕСОРБЦИЮ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ И СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ЧЕЛОВЕКА

Показано образование полиэлектролитных комплексов между синтетическим полiamфолитом и полиэлектролитами анионного, катионного и амфотерного характера. Определен состав, область существования поликомплексов и изучено влияние pH раствора на их стабильность. Обнаружено кооперативное разрушение поликомплексов, сопровождающееся появлением свободных макромолекул полиэлектролитов и разгрузкой полiamфолита. Предложен механизм разрушения полиэлектролитных комплексов в изозелектрической точке полiamфолита, аналогичный процессу макромолекулярного обмена и замещения в комплементарных макромолекулах.

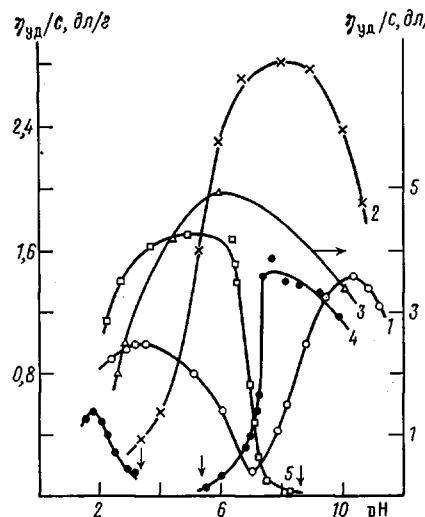
Благодаря бифункциональному характеру полiamфолиты (ПАМ) способны в широких пределах изменять гидродинамические и конформационные свойства, а также вступать во взаимодействие с различными высоко- и низкомолекулярными соединениями с образованием поликомплексов. В литературе [1–4] описаны интерполиэлектролитные реакции с участием синтетических и природных полiamфолитов с гомополиэлектролитами и белками. Показано [3, 4], что изменением состояния ионизации кислотных или основных звеньев можно регулировать глубину превращения реакции и в широких пределах варьировать состав, структуру и свойства полиэлектролитных комплексов (ПЭК). Ранее [5] исследована реакция образования ПЭК между синтетическими полiamфолитами и полиакриловой кислотой (ПАК). Определен состав образующихся поликомплексов и показано влияние порядка смешения полиэлектролитных компонентов, ионной силы раствора, температуры и добавок органического растворителя на состав и стабильность ПЭК.

В настоящей работе изучено влияние pH среды на комплексообразование между эквимольным ПАМ на основе 2,5-диметил-4-винилэтинилпиперидола-4 и акриловой кислоты (Д-АК) и анионным полиэлектролитом — ПАК, катионным полиэлектролитом — поли-N,N-диметилдиаллиламмоний хлоридом (ПД), а также белком — сывороточным альбумином человека (САЧ).

В качестве взаимодействующих полиэлектролитов выбраны Д-АК ( $45,2 \pm 54,8$ ) с  $M_w = 150 \cdot 10^3$ , ПАК ( $M_n = 98 \cdot 10^3$ ), ПД ( $M_n = 40 \cdot 10^3$ ) и САЧ ( $M = 70 \cdot 10^3$ ) фирмы «Reanal» (Венгрия). Вязкость растворов полиэлектролитов и ПЭК измеряли при  $298 \pm 0,1$  К в модифицированном вискозиметре Уббелоде, который позволяет одновременно контролировать изменение pH раствора с помощью комбинированного стеклянного электрода, встроенного в вискозиметр. pH раствора задавали добавлением KOH или HCl и регистрировали цифровым pH-метром pH-211/1 (Венгрия). Количество макромолекул  $m$  белка и полiamфолита ( $m_{САЧ}$  и  $m_{ПАМ}$ ) в единице объема рассчитывали, как указано в работе [2].

При смешении водных растворов полиэлектролитных компонентов происходит заметное изменение pH раствора, сопровождаемое помутнением системы, что свидетельствует о протекании реакции образования ПЭК. Состав комплексов, определенный из перегиба потенциометрических и кондуктометрических кривых титрований, отвечает соотношению

Зависимость приведенной вязкости ПАМ (1), полиэлектролитов (2, 3) и ПЭК (4, 5) от pH среды в воде: 1 – Д-АК; 2 – ПАК; 3 – ПД; 4 –  $[\text{Д-АК}]:[\text{ПАК}] = 3:1$ ; 5 –  $[\text{Д-АК}]:[\text{ПД}] = 3:1$ . Вертикальной стрелкой указана область выпадения ПЭК в осадок

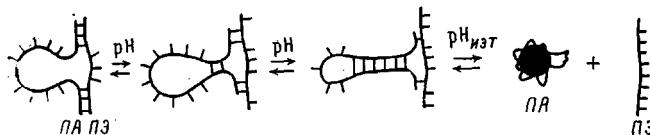


$[\text{ПАМ}]:[\text{ПАК}] = 3:1$ ,  $[\text{ПАМ}]:[\text{ПД}] = 3:1$  и  $m_{\text{САЧ}}:m_{\text{ПАМ}} = 3:2$ . На рисунке показано изменение приведенной вязкости полиэлектролитов и ПЭК в зависимости от pH среды. ПЭК, состоящий из ПАМ и ПАК, выпадает в осадок в интервале  $3,0 < \text{pH} < 5,5$  (кривая 4). Начало выделения продукта реакции в отдельную фазу соответствует началу ионизации аминогрупп ПАМ и частично ионизованному состоянию ПАК. Растворение ПЭК в сильнокислой области, по-видимому, связано с его разрушением вследствие подавления ионизации карбоксильных групп ПАК и образования ионной атмосферы вокруг положительно заряженных атомов азота, создаваемое избытком минеральной кислоты. Выпадение ПЭК, состоящего из ПАМ и ПД, в осадок имеет место при  $\text{pH} > 8,2$ , т. е. по мере увеличения степени ионизации карбоксильных групп ПАМ (кривая 5).

При добавлении САЧ к ПАМ  $\eta_{sp}/c$  раствора ПАМ постепенно уменьшается, достигая предельного значения при  $m_{\text{САЧ}}:m_{\text{ПАМ}} = 3:2$ . Но, несмотря на появление сильной опалесценции, фазового разделения в системе не происходит. Наибольшая степень связывания САЧ и ПАМ расположена в интервале  $5,0 < \text{pH} < 7,0$ , т. е. между их изоэлектрическими точками (ИЭТ). Указанная область pH является наиболее благоприятным условием образования ПЭК, так как при этих pH макромолекулы ПАМ и САЧ начинают заряжаться соответственно положительно и отрицательно. Образование ПЭК между ПАМ и САЧ, по-видимому, состоит в «прилипании» более или менее протяженных участков цепи ПАМ к поверхности отрицательно заряженной белковой глобулы [2]. Отмечалось [6], что при смешении водных растворов природных полипамфолитов –  $\beta$ -липопротеина и  $\gamma$ -глобулина также наблюдается образование ПЭК. Причем, как и в случае взаимодействия ПАМ с САЧ, максимальное солеобразование между  $\beta$ -липопротеином и  $\gamma$ -глобулином происходит между их ИЭТ. Таким образом, полученные результаты полностью подтверждают выводы работы [1] о том, что синтетические ПАМ обладают способностью к кооперативному связыванию как с анионогенными или катионогенными, так и с амфотерными макромолекулами и существенно отличаются от гомополимеров широтой спектра кооперативных взаимодействий.

Следует обратить внимание на одну из особенностей всех ПЭК, а именно на резкое увеличение вязкости, происходящее в ИЭТ полипамфолита ( $\text{pH}_{\text{изт}} = 7,0$ ). Это можно объяснить изменением конформации ПАМ. Известно [7], что в ИЭТ полипамфолитов образуются достаточно компактные частицы, гидродинамическое поведение которых близко к поведению эйнштейновского шарика. Часть мономерных звеньев вследствие кооперативных ионных контактов, водородных связей и гидрофобных взаимодействий, выжимая растворитель, конденсируется в компактную глобу-

лу, а часть гидрофильных звеньев на поверхности глобулы удерживает ее в растворе от осаждения. Такое состояние глобуллярных частиц хорошо описывается моделью «глобулы с опушкой», детальный теоретический анализ которой рассмотрен авторами работ [8–10]. Разрушение ПЭК в ИЭТ, по-видимому, обусловлено конкурирующим взаимодействием кислотных и основных звеньев между собой и ионогенными группами ПАМ и полиэлектролитов (ПАК, ПД, САЧ). По этой причине, вероятно, происходит распад ПЭК с последующим высвобождением сорбированных макромолекул полиэлектролитов и полная разгрузка ПАМ:



Количественное вытеснение адсорбированных полиэлектролитов из объема клубка макромолекул ПАМ возможно вследствие образования цвиттер-ионных пар между кислотными и основными звеньями ПАМ вблизи ИЭТ. Поскольку структура ПЭК полиамфолит – полиэлектролит представляет собой двутяжные последовательности пар, образованные единой кооперативной системой ионных и водородных связей, а также дефекты типа петель («опушка»), то при приближении к ИЭТ разобщенные гидрофильные звенья начинают кооперативно взаимодействовать между собой, и в конечном итоге происходит распад ПЭК на отдельные полиэлектролитные компоненты [11]. В этом смысле разрушение ПЭК, состоящих из ПАМ и полиэлектролитов, напоминает реакцию макромолекулярного обмена и замещения, которая является одним из важных свойств интерполиэлектролитных комплексов [11]:



Разница состоит лишь в том, что в случае интерполиэлектролитных комплексов процесс разрушения осуществляется в результате взаимодействия двух комплементарных макромолекул с последующим высвобождением третьего компонента. В случае же ПАМ разрушение ПЭК осуществляется в ИЭТ в результате образования единой кооперативной системы, состоящей из внутрицепных ионных контактов, водородных связей и гидрофобных взаимодействий между кислотными и основными звеньями амфотерных полиэлектролитов.

В отличие от гомополиэлектролитов процесс разрушения ПАМ – САЧ протекает в двух областях pH – при  $pH \geq 5,0$  и при  $pH \leq 7,0$ . Эти значения соответствуют ИЭТ белка и ПАМ.

Таким образом, обнаружено необычное свойство ПАМ, заключающееся в способности амфотерных полиэлектролитов связывать синтетические полиэлектролиты и белки и высвобождать их строго в ИЭТ полиамфолитов. Это свойство проявляется при изменении pH среды, индуцирующего конформационный переход клубок – глобула в ПАМ.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Савинова И. В., Федосеева Н. А., Евдаков В. П., Кабанов В. А. // Высокомолек. соед. А. 1976. Т. 18. № 9. С. 2050.
2. Мустафаев М. И., Кабанов В. А. // Высокомолек. соед. А. 1981. Т. 23. № 2. С. 271.
3. Зезин А. Б., Асонова Т. А., Разводовский Е. Ф. // Высокомолек. соед. Б. 1973. Т. 15. № 9. С. 648.
4. Скорикова Е. Е., Вихорева Г. А., Калюжная Р. И., Зезин А. Б., Кабанов В. А. // Высокомолек. соед. А. 1988. Т. 30. № 1. С. 44.
5. Кудайбергенов С. Е., Легкунец Р. Е., Джагипарова А. Т., Шаяхметов Ш. Ш., Бектурев Е. А. // Изв. АН КазССР. Сер. хим. 1982. № 6. С. 54.

6. Morawetz H., Hughes Jr. W. L. // J. Phys. Chem. 1952. V. 56. № 1. P. 64.
7. Кудайбергенов С. Е., Шахметов Ш. Ш., Бектюров Е. А., Рафиков С. Р. // Докл. АН СССР. 1979. Т. 246. № 1. С. 141.
8. Либшиц И. М., Гросберг А. Ю. // Журн. эксперим. и теорет. физики. 1973. Т. 65. № 6. С. 2399.
9. Либшиц И. М., Гросберг А. Ю., Хохлов А. Р. // Успехи физ. наук. 1979. Т. 127. № 3. С. 353.
10. Гросберг А. Ю., Панченко А. Н. // Высокомолек. соед. Б. 1987. Т. 29. № 5. С. 327.
11. Зезин А. Б., Кабанов В. А. // Успехи химии. 1982. Т. 52. № 9. С. 1447.

Институт химических наук  
АН КазССР

Поступила в редакцию  
13.07.88

**S. Ye. Kudaibergenov, Ye. A. Bekturov**

**INFLUENCE OF THE COIL — GLOBULE CONFORMATIONAL  
TRANSITION IN POLYAMPHOLYTES ON SORPTION  
AND DESORPTION OF POLYELECTROLYTES  
AND HUMAN SERUM ALBUMINE**

**S u m m a r y**

The formation of polyelectrolyte complexes between synthetic polyampholyte and polyelectrolytes of the anionic, cationic and amphoteric type has been shown. The composition and region of existence of polycomplexes were determined and the pH effect on their stability was studied. The cooperative fracture of polycomplexes accompanied by appearance of free polyelectrolytes macromolecules and unloading of polyampholyte was observed. The mechanism of decay of polyelectrolyte complexes in the isoelectrical point of the polyampholyte was proposed being analogous to the process of macromolecular exchange and substitution in complementar macromolecules.