

УДК 541.64:547.96

© 1991 г. Д. Х. Халиков, З. Б. Шарифова, Ф. Х. Сафиуллина

**ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СЫВОРОТОЧНОГО
АЛЬБУМИНА С СЕТЧАТЫМИ ПОЛИМЕРАМИ
ПРОИЗВОДНЫХ ЭТИНИЛПИПЕРИДОЛА**

Изучена сорбция сывороточного альбумина человека с сетчатыми винилэтинилтриметилпиперидолом. На основании данных равновесного распределения альбумина в фазе полимера и внешнего раствора, набухаемости и активности воды в полимере при различной степени альбуминизации проведена количественная оценка интегрального изменения свободной энергии системы и пяти ее составляющих. Сорбция сывороточного альбумина человека сетчатыми полимерами определяется главным образом изменением слагаемых, обусловленных гипотетическим ионным обменом, кооперативностью взаимодействия и изменением концентрации соответствующих резинатов. Вклад слагаемых, обусловленных переносом растворителя из фазы полимера во внешний раствор и различием в энергияхmonoионных форм полимера, незначителен и направлен против протекания процесса сорбции. Сетчатый полимер этинилпиперидола характеризуется высокой емкостью по альбумину и проявляет заметную избирательность.

Взаимодействие низко- и высокомолекулярных соединений с высоконабухшими сетчатыми полимерами (СТП) представляет собой сложный процесс, включающий реакции ионного обмена и перенос растворителя между фазами, приводящими к изменению концентрации и активности составляющих системы [1].

Количественный учет этих процессов — важная задача, ибо каждый из них вносит определенный вклад в изменение свободной энергии системы ΔG^0 , представляющей собой сумму составляющих, обусловленных гипотетическим ионным обменом ΔG_o^0 , изменением концентрации резинатов ΔG_m^0 , кооперативностью взаимодействия ΔG_n^0 , переносом растворителя ΔG_w^0 и различием в энергиях monoионных форм СТП ΔG_ϕ^0 :

$$\Delta G^0 = \Delta G_o^0 + \Delta G_m^0 + \Delta G_n^0 + \Delta G_w^0 + \Delta G_\phi^0 \quad (1)$$

Экспериментальными данными для оценки этих величин служат распределение ионов между фазами системы, количество и активность воды в фазе СТП. Методы расчета отдельных слагаемых по этим данным приведены в работах [1—4]. Нами такой подход был использован при изучении процесса взаимодействия кватернизованных СТП этинилпиперидола с ионами трийодида [4].

Цель настоящей работы — изучение взаимодействия СТП этинилпиперидола с сывороточным альбумином человека (САЧ) путем количественной оценки отдельных слагаемых ΔG^0 . Выбор СТП этинилпиперидола обусловлен тем, что эти полимеры обладают достаточно высокой сорбционной активностью по отношению к ряду компонентов биологической жидкости [5]. Поскольку последние обогащены различными белками, установление закономерности их взаимодействия с СТП этинилпиперидола может дать ценные сведения о путях повышения избирательного удаления соединений белковой природы из многокомпонентных систем.

Использовали двойные СТП винилэтинилтриметилпиперидола (ВЭТП) и метилен-бис-акриламида (БИС) с содержанием первого 95 и 96 вес.% и кватернизованных с помощью HCl и CH_2ClCOOH (B96-HCl, B95-HCl, B95- CH_2ClCOOH), а также тройные сополимеры на основе ВЭТП, БИС и N-винилпирролидона (ВП), звенья ВЭТП в кото-

Таблица 1

Двойные и тройные сетчатые полимеры этинилпиперидола

Сетчатый полимер	ВЭТП, мол. %	БИС, мол. %	\bar{n}_c , ммоль/г	E , мэв/г в Cl ⁻ -форме
B96·HCl	95,80	4,20	0,779	3,942
B95·HCl	94,65	5,35	1,038	3,898
B95·CH ₂ ClCOOH	94,65	5,35	—	—
COB79-2·HCl	79,43 *	2,29 *	0,259	3,52
COB61-3·CH ₃ I	61,23 *	3,31 *	0,407	2,98

* Остальное до 100% — содержание ВП.

рых кватернизованы с помощью HCl или CH₃I (COB79-2·HCl, COB61-3·CH₃I). Характеристики этих полимеров приведены в табл. 1.

Условия синтеза СТП описаны в работе [4]. Степень сшивания \bar{n}_c и набухаемость S_0 СТП в воде определяли аналогично методике [6]. Обменную емкость E оценивали потенциометрически. Определение количества воды w и ее активности a_w в СТП при различных степенях его альбуминизации, а также сорбцию САЧ проводили согласно работе [4].

Для термодинамического анализа процесса взаимодействия СТП с различными компонентами необходимо экспериментальное определение величины адсорбции Q и ее предельного значения Q_m . В отличие от низкомолекулярного иона [4] при сорбции сывороточного альбумина человека СТП этинилпиперидола при малой сшивке (<4%) зависимость Q от равновесной концентрации c_p имеет довольно сложный вид с максимумом при определенных величинах c_p (рис. 1). Кривые $Q=f(c_p)$ с максимумом были обнаружены также при взаимодействии инсулина с полизелектролитом макропористой структуры [7], что объясняется наличием нескольких центров адсорбции. Такая особенность изотермы при взаимодействии белков с синтетическими полимерами может быть следствием димеризации САЧ в растворе. Не останавливаясь подробно на этом вопросе, отметим, что в данной работе за величину Q_m принимали максимальное значение функции $Q=f(c_p)$. Поэтому все количественные данные относятся к области равновесной концентрации САЧ ниже, чем c_p , для которой получены величины Q_m . По этим данным можно оценить величину кажущейся константы адсорбционного взаимодействия K_s и первое слагаемое изменения свободной энергии системы ΔG^0 . Этот подход был использован при анализе сорбции белков на сульфокатионитах и карбоксильных катионитах, максимальная емкость которых обнаруживается в области изоэлектрической точки белков [8].

Известно, что САЧ в нейтральной области pH имеет суммарный заряд, равный -18 [9]. Исходя из этого, взаимодействие СТП этинилпиперидола с САЧ можно представить как реакцию катионогенных (СТП ВЭТП) и анионогенных макромолекул (САЧ), приводящую к образованию интерполимерных солей. Такое представление позволяет оценить теоретическое значение максимальной емкости Q_m^* СП и определить глубину превращения φ , представляющую собой долю образовавшихся межмакромолекулярных солевых связей от максимально возможного числа [10]. Величину φ рассчитывали по формуле

$$\varphi = Q_m / Q_m^* = (Q_m E_{\text{САЧ}}) / E_{\text{стп}}, \quad (2)$$

где $E_{\text{САЧ}}$ и $E_{\text{стп}}$ — обменная емкость САЧ и СТП соответственно.

В табл. 2 представлены экспериментальные величины Q_m и φ . Видно, что данное отношение φ во всех случаях <1. При высокой степени сшивания (B95·HCl) малая величина φ обусловлена ситовым эффектом, т. е. низкой проницаемостью СТП. Для СТП малой степени сшивания и высокой плотности зарядов (B96·HCl) небольшое значение величины φ можно объяснить пространственным несоответствием зарядов СТП и САЧ, а также, по-видимому, высокой жесткостью цепей между узлами.

При включении третьего сомономера ВП в состав СТП оба условия становятся более благоприятными и максимальная величина φ характерна для СТП COB61-3·CH₃I.

Таким образом, в отличие от низкомолекулярных ионов [4] проницаемость САЧ в СТП этинилпиперидола ограничена в небольшой области степени сшивания. При постоянной сетчатости емкость СТП к САЧ возрастает с увеличением расстояния между ионогенными группами в макромолекуле.

Таблица 2

Емкость СТП этинилпиперидола по САЧ и величины изменения интегральных составляющих свободной энергии процесса сорбции

Сетчатый полимер	Q_m , г/г	Φ	$-\Delta G_0^{\circ}$, кДж/моль	$-\Delta G_n^{\circ}$, кДж/моль	$\tilde{K}_\theta \cdot 10^{-4}$, моль $^{-1}$
B95·HCl	1,092	0,071	26,93	17,96	6,33
B96·HCl	4,830	0,318	25,55	—	3,59
COB79-2·HCl	6,680	0,488	23,19	11,15	1,36
COB61-3·CH ₃ I	10,060	0,868	22,56	15,74	1,05
в 0,15 м. NaCl	2,362	—	22,28	11,42	0,939
в 0,2 м. NaCl	0,867	—	20,08	5,43	0,370
B96·CH ₂ ClCOOH	0,660	—	15,67	12,08	0,062

На основании экспериментальных значений Q , Q_m и равновесной концентрации c_p САЧ во внешнем растворе построены зависимости величины $\theta = Q/Q_m$ от c_p , пример которой представлен на рис. 1, б. Эти изотермы имеют S-образную форму и с ростом ионной силы смещаются в область более высоких значений c_p . Как правило, S-образная форма изотермы характерна для кооперативных процессов [3].

Для оценки интегральной величины первого слагаемого изменения свободной энергии ΔG_0° можно исходить из представления адсорбционного взаимодействия [4]. Тогда величина ΔG_0° определяется интегрированием величины кажущейся константы адсорбционного равновесия \tilde{K}_θ в области значений θ от нуля до единицы. При этом дифференциальные величины \tilde{K}_θ можно рассчитать по уравнению

$$\tilde{K}_\theta = \frac{\theta}{c_p(1-\theta)}, \quad (3)$$

где θ — степень заполнения. Если при взаимодействии САЧ с СТП происходит обмен ионов, то возникновение каждой интерполимерной солевой связи сопровождается выделением во внешний раствор пары низкомолекулярных ионов. При постоянной ионной силе и при динамическом режиме сорбции для определенных величин кажущейся мольной константы ионообменного равновесия \tilde{K}_m и величины ΔG_0° достаточным является определение ионного состава фазы СТП. При проведении процесса в водной среде и в условиях изменяющейся ионной силы количественный анализ низкомолекулярных ионов во внешнем растворе является достаточно трудной задачей. Однако на основании закона эквивалентного ионного обмена и экспериментальной величины θ можно рассчитать мольную концентрацию m_i этих ионов во внешнем растворе по формуле

$$m_i = \frac{q\theta E}{q_p}, \quad (4)$$

где q — навеска сухого СТП, q_p — масса растворителя во внешнем объеме раствора. Тогда связь между \tilde{K}_θ и \tilde{K}_m можно записать в виде

$$\tilde{K}_m = \tilde{K}_\theta m_i \quad (5)$$

В табл. 3 представлены уравнения, связывающие дифференциальные величины \tilde{K}_θ и \tilde{K}_m с θ для различных СТП этинилпиперидола. Интегральные величины \tilde{K}_θ и рассчитанные по этим данным величины ΔG_0° приведены в табл. 2.

Для некоторых из синтезированных СТП как дифференциальные, так и интегральные величины \tilde{K}_θ достигают предела, превышающего $1 \cdot 10^4$ моль, что характеризует их высокую сорбционную активность по отношению к САЧ и свидетельствует о проявлении ими избирательности [11]. Интегральные величины \tilde{K}_θ уменьшаются со снижением густоты сшивания, а для тройных СТП с возрастанием содержания ВП в составе мономерных звеньев цепочек макромолекул. В этих условиях аналогич-

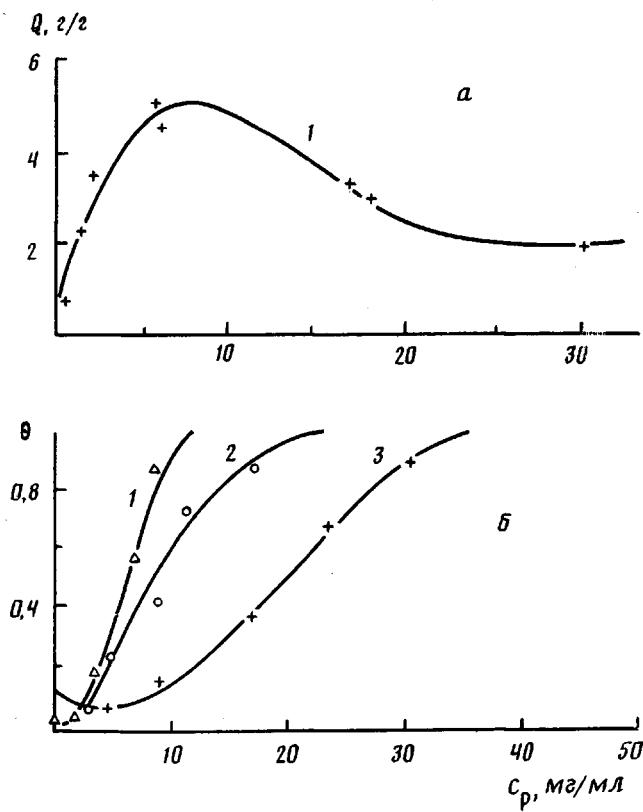


Рис. 1. Изотерма сорбции САЧ сетчатыми полимерами B96-HCl (а) и COB79-2-CH₃I (б) в координатах $Q - c_p$ (а) и $\theta - c_p$ (б) в воде (1), физиологическом растворе (2) и в растворе 0,2 м. NaCl (3)

ные изменения происходят с \tilde{K}_m , численные значения которых в зависимости от природы СТП изменяются в пределах нескольких сотен.

Дифференциальные величины \tilde{K}_θ и \tilde{K}_m , как правило, возрастают с ростом θ (табл. 3), что может свидетельствовать о проявлении эффекта кооперативности. Для выявления данного эффекта и оценки численного значения ΔG_n° соответствующие экспериментальные данные были обработаны на основании уравнения Хилла [3]

$$\frac{\theta}{1-\theta} = \tilde{K}_\theta c_p^n \quad (6)$$

Таблица 3

Уравнения, связывающие дифференциальные значения \tilde{K}_θ и \tilde{K}_m со степенью заполнения θ СТП этинилпиперидола с САЧ при 26°

Сетчатый полимер	Вид уравнения	Дисперсия
B96-HCl	$\ln \tilde{K}_\theta = 8,449 + 5,822\theta - 2,611\theta^2$ $\ln \tilde{K}_m = -0,0249 + 2,380\theta + 4,701\theta^2$	0,123 0,0195
COB79-2-HCl	$\ln \tilde{K}_\theta = 11,492 + 2,515\theta - 1,440\theta^2$ $\ln \tilde{K}_m = 2,40 + 11,840\theta - 10,410\theta^2$	0,125 0,249
COB61-3-CH ₃ I	$\ln \tilde{K}_\theta = 11,834 - 6,071\theta + 2,942\theta^2$ $\ln \tilde{K}_m = 2,092 + 17,850\theta - 40,59\theta^2 + 22,29\theta^3$	0,806 0,720
COB61-3-CH ₃ I в 0,2 м. NaCl	$\ln \tilde{K}_\theta = 6,801 + 2,881\theta$	0,0593

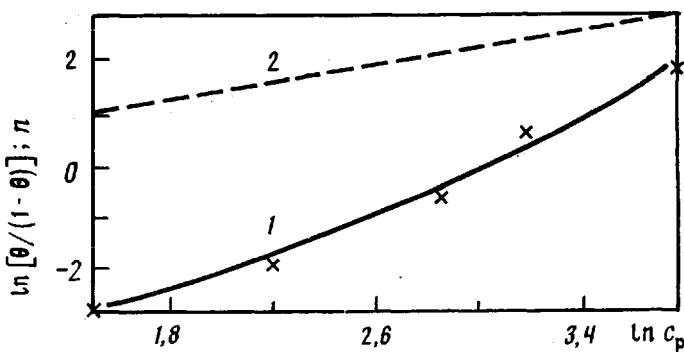


Рис. 2. Зависимости величин $\ln [\theta/(1-\theta)]$ (1) и n (2) от равновесной концентрации САЧ для СТП СОВ61-3-CH₃I в 0,2 м. растворе NaCl

и рассчитаны величины параметра кооперативности n . Типичный пример взаимосвязи величины $\theta/(1-\theta)$ с n при различных равновесных концентрациях САЧ во внешнем растворе c_p представлен на рис. 2. Видно, что экспериментальные данные достаточно хорошо описываются уравнением Хилла, а параметр $n > 1$, что действительно свидетельствует о проявлении кооперативности при взаимодействии САЧ с СТП этинилпиперидола. Используя эти данные, на основании уравнения Уаймена [2, 3] были рассчитаны величины ΔG_n^0 , которые приведены в табл. 2. Видно, что величина ΔG_n^0 вносит существенный вклад в общее изменение ΔG^0 , а его численное значение составляет более половины от ΔG_0^0 .

Однако если для расчета ΔG_0^0 использовать величины \tilde{K}_m вместо \tilde{K}_θ , то вклад ΔG_0^0 становится ниже, чем ΔG_n^0 . В частности, для двух сетчатых полимеров B96·HCl и СОВ79-2·HCl величина ΔG_0^0 при этом снижается соответственно до $-6,72$ и $-11,81$ кДж/моль.

На величину ΔG_n^0 наиболее сильное влияние оказывает изменение ионной силы раствора. Как видно из табл. 2, при возрастании концентрации NaCl до 0,2 м величина ΔG_n^0 уменьшается в 3 раза. Эти изменения могут свидетельствовать об электростатическом характере кооперативного взаимодействия.

Вклад последних трех слагаемых ΔG^0 был оценен на примере двух гидрогелей — B96·HCl и СОВ79-2·HCl. Для этого при каждой степени альбуминизации θ СТП измеряли количество воды, поглощенной ими при различных величинах относительной влажности p_w/p_w^0 и экстраполировали его к $p_w/p_w^0 = 1$. Найденное таким способом количество воды (при ошибке определения 3–5%) принимали за гидратную w_r . Для этих же полимеров при тех же величинах θ определяли степень набухания S_θ' в воде и, используя величины обменной емкости E СТП, определяли общее содержание воды w в соответствующих полимерах. Мольную долю воды, найденную по разности w и w_r , по аналогии с рассуждением, приведенным в работе [4], принимали за активность воды a_w в фазе СТП.

На рис. 3 представлены зависимости w и θ для СТП B96·HCl и СОВ79-2·HCl. Видно, что для обоих полимеров при малых величинах θ наблюдается резкое уменьшение содержания воды. В отличие от сорбции иода [4] при взаимодействии САЧ с СТП функция $w=f(\theta)$ проходит через минимум, положение которого зависит от состава сополимера. Возрастание содержания воды при высоких величинах θ , по-видимому, обусловлено переносом воды, находящейся в связанном состоянии с молекулой САЧ в гидратной форме, в фазу гидрогеля.

Величины w служили исходными данными для расчета концентраций резинатов САЧ, связанных в комплекс с СТП \bar{m}_1 и резината исходной соли \bar{m}_2 , на основе которых было оценено слагаемое свободной энергии, обусловленное изменением концентрации компонентов в СТП при их

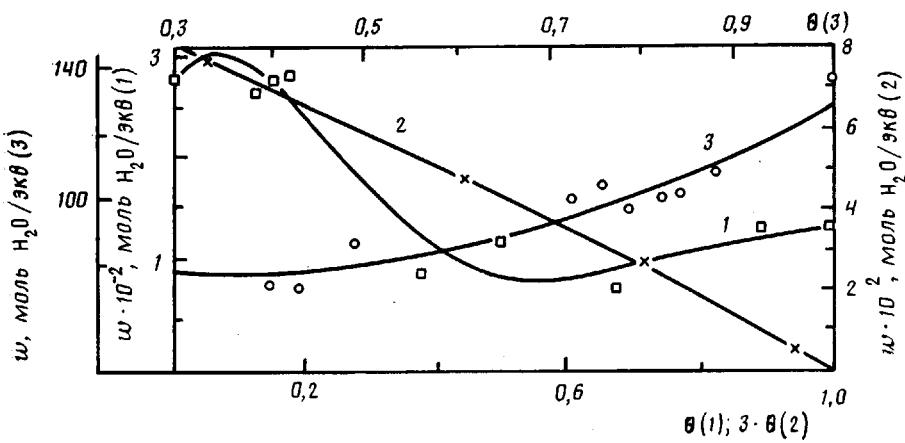


Рис. 3. Поглощение воды w в зависимости от степени заполнения альбумином сетчатыми полимерами B96-HCl (1) и B79-2-HCl в начальной (2) и конечной (3) областях

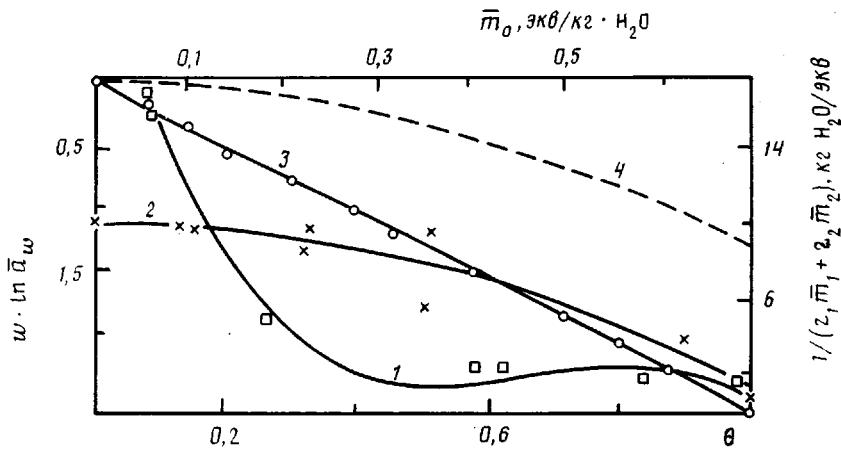


Рис. 4. Зависимость $1/(z_1\bar{m}_1 + z_2\bar{m}_2)$ от \bar{m}_0 (1) и $w \ln \bar{a}_w$ от θ (2); 3 – дифференциальная и 4 – интегральная кривая функции $w \ln \bar{a}_w - f(\theta)$ для сетчатого полимера B96-HCl

взаимодействии с САЧ ΔG_m^0

$$\Delta G_m^0 = -RT \int_{\bar{m}_0(\theta=0)}^{\bar{m}_0(\theta=1)} d\bar{m}_0 / (z_1\bar{m}_1 + z_2\bar{m}_2), \quad (7)$$

где z – валентность обменивающихся ионов и \bar{m}_0 – суммарная концентрация резинатов.

На рис. 4 в качестве примера представлена зависимость $1/(z_1\bar{m}_1 + z_2\bar{m}_2)$ от \bar{m}_0 для СП B96-HCl в области от нуля до единицы. На основании этих данных были рассчитаны интеграл уравнения (4) и величина ΔG_m^0 , которые для СП B96-HCl и СОВ79-2-HCl были равны соответственно $-6,326$ и $-7,960$ кДж/моль. Видно, что эти величины при сорбции САЧ полимерами этинилпиперидола, как и в случае сорбции иода [4], изменяются в сторону выгодного протекания процесса.

Оценку следующего слагаемого свободной энергии ΔG_v^0 проводили по формуле [1]

$$\Delta G_v^0 = -RT \int_0^1 \frac{d(w \ln \bar{a}_w)}{d\theta} d\theta \quad (8)$$

На рис. 4 приведена зависимость величины $w \ln \bar{a}_w$ от θ , а также соответствующие дифференциальные и интегральные кривые, рассчитанные на основе данной зависимости. Видно, что величина интеграла уравнения (8) во всей области значений θ отрицательна, вследствие чего дифферен-

циальные величины ΔG_w^0 приобретают положительный знак. Интегральные величины ΔG_ϕ^0 для СП В96·HCl и СОВ79-2·HCl имеют небольшие положительные (3,145 и 2,047 кДж/моль) значения. Из этого следует, что гидратация САЧ, комплексно связанного с СТП, или меньшая степень дегидратации звеньев макромолекул уменьшает сорбционную активность соответствующих сорбентов.

Из результатов, изложенных в работе [4], можно с большой уверенностью предположить, что величина последнего слагаемого ΔG_ϕ^0 свободной энергии для рассматриваемого процесса не вносит существенного вклада в величину ΔG^0 . Это следует из того факта, что с ростом степени альбуминизации дегидратации звеньев макромолекул в определенной степени компенсируется гидратацией молекул САЧ и в результате содержание и активность воды в соответствующем комплексе претерпевает небольшое изменение. Это означает, что вклад величины коэффициента активности резината САЧ с СТП ($\ln \varphi_{01m}$) в значение ΔG_ϕ^0 незначителен или равен нулю.

Что касается величины коэффициента активности исходной соли СТП ($\ln \varphi_{02m}$), как уже показано в работе [4], при малых степенях сшивания она не вносит существенного вклада в величину ΔG_ϕ^0 . В результате последнее слагаемое свободной энергии, хотя и положительное по знаку, остается малым по величине.

Таким образом, при изучении сорбционных процессов с участием высоконабухших гидрогелевых систем проведение термодинамического анализа на основании распределения ионов между фазами не является достаточным, но и необходим учет переноса растворителя и изменение его активности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Солдатов В. С. Простые ионообменные равновесия. Минск, 1972. С. 5.
2. Волькенштейн М. В. Биофизика. 2-е изд. М., 1988. С. 214.
3. Кузнецова Н. П., Самсонов Г. В., Мишаева Р. Н. // Высокомолек. соед. Б. 1989. Т. 31. № 10. С. 723.
4. Халиков Д. Х., Маджлисова Г. А. // Высокомолек. соед. А. 1991. Т. 33. № 9. С. 1841.
5. Халиков Д. Х., Сафиуллина Ф. Х., Шарифова З. Б., Мухиддинов З. К., Шурдуколова Н. И., Колонтаров И. Я. // VII Всесоюз. симпоз. «Синтетические полимеры медицинского назначения». Минск, 1985. С. 31.
6. Халиков Д. Х., Шарифова З. Б., Сафиуллина Ф. Х., Санюкович Г. С. // Высокомолек. соед. А. 1989. Т. 31. № 10. С. 2044.
7. Островский Д. И., Дмитриенко Л. В., Самсонов Г. В. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1970. № 5. С. 1145.
8. Шатаева Л. Р., Чернова И. А., Самсонов Г. В. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1977. № 2. С. 358.
9. Buzzell J. G., Tanford G. // J. Phys. Chem. 1956. В. 12. Р. 287.
10. Кабанов В. А., Зезин А. Б. // Успехи химии. 1982. Т. 51. № 9. С. 1447.
11. Луяк А. И., Лукьянчиков В. Д. Сывороточный альбумин и биотранспорт ядов. М., 1984. С. 224.

Институт химии им. В. И. Никитина
АН ТаджССР

Поступила в редакцию
29.11.90

D. Kh. Khalikov, Z. B. Sharifova, F. Kh. Safiullina

FEATURES OF INTERACTION OF SERUM ALBUMINE WITH NETWORK POLYMERS OF ETHYNYLPIPERIDOLE DERIVATIVES

Summary

Sorption of human serum albumine (HSA) by network vinylmethylnyltrimethylpiperidole polymers has been studied. From the data on the equilibrium distribution of HSA in the polymer phase and external solution, swelling capacity and water activity in the polymer for various HSA contents the integral change of the free energy of a system and five its components have been quantitatively evaluated. HSA sorption by network polymers depends mainly on the change of components related with hypotetic ion exchange, cooperative character of interaction and the change of concentration of corresponding resinate. The contribution of components related with solvent transfer from the polymer phase into the external solution and with a difference in energies of monoionic forms of a polymer is small and prevents the sorption. Network polymer of ethynylpiperidole has the high sorption capacity towards HSA and essential selectivity.