

М. Д. КУРСЬКИЙ, Т. П. КОНДРАТЮК,  
Л. Т. ЛИТВИНЕНКО і С. О. КОСТЕРІН

# ТЕРМОДИНАМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕАКЦІЇ РОЗЩЕПЛЕННЯ ФРУКТОЗО-1,6-ДИФОСФАТУ ТА ФРУКТОЗО-1-МОНОФОСФАТУ АЛЬДОЛАЗОЮ М'ЯЗІВ НОРМАЛЬНИХ ТА ДИСТРОФІЧНИХ КРОЛІВ

(Представлено академіком АН УРСР М. Ф. Гулим)

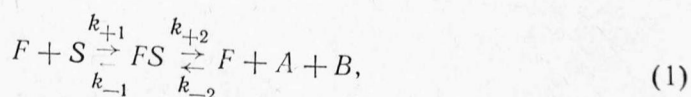
Вивчення константи рівноваги ( $K_{\text{рівн}}$ ) реакції розщеплення фруктозо-1,6-дифосфату (ФДФ) і фруктозо-1-монофосфату (ФІФ) альдолазою м'язів при експериментальній дистрофії показало, що рівновага розщеплення ФДФ зсунута порівняно з нормою в бік синтезу субстрату, а розщеплення ФІФ — в бік утворення продуктів реакції [1]. Якщо брати до уваги збільшений біосинтез ліпідів при м'язевій дистрофії, то не виключено, що зсув рівноваги реакції розщеплення ФІФ при патології в бік утворення діоксиацетонфосфату дає змогу більш інтенсивно його використовувати в синтезі складних ліпідів м'язових мембран.

Вивчався вплив температури на  $K_{\text{рівн}}$  розщеплення ФДФ альдолазою м'язів нормальних кролів [2], термодинамічні параметри цієї реакції [3, 4].

Мета нашої роботи — вивчення впливу температури на  $K_{\text{рівн}}$  реакції розщеплення ФДФ та ФІФ, а також визначення змін стандартних вільної енергії  $\Delta F^0$ , ентальпії  $\Delta H^0$ , ентропії  $\Delta S^0$ .

Експериментальну Е-авітамінозну м'язеву дистрофію викликали дієтою, яка не вміщувала вітаміну Е [5]. Альдолазу виділяли за методом [6].  $K_{\text{рівн}}$  визначали хімічним методом [7] з трис-оцтовим буфером рН 8,8 при таких концентраціях субстратів: ФДФ— $5 \times 10^{-3}$  М, а ФІФ—0,5 М. Концентрація альдолази для розщеплення ФДФ дорівнювала  $3,3 \cdot 10^{-7}$  М, для ФІФ відповідно  $6,6 \cdot 10^{-7}$  М. Суміш інкубували в суворо температурних умовах.

Кінетичну схему даної реакції зобразимо у вигляді:



де  $F$  — м'язова альдолаза,  $S$  — ФДФ або ФІФ,  $B$  — діоксиацетонфосфат та Д-гліцеральдегід-3-фосфат.

Константа рівноваги реакції (1)  $K_{\text{рівн}} = \frac{[A][B]}{[S]}$ , згідно з рівнянням

Холдейна [8] пов'язана з константами швидкості так:  $K_{\text{рівн}} = \frac{k_{+1}}{k_{-1}} \cdot \frac{k_{+2}}{k_{-2}} = K_1 K_2$ , де  $K_1$  — константа рівноваги для реакції утворення фермент-субстратного комплексу, а  $K_2$  — константа рівноваги розпаду цього комплексу.

В табл. 1 наведено значення  $K_{\text{рівн}}$  для двох субстратів при різних температурах. Як у нормі, так і при дистрофії з підвищенням температури спостерігається збільшення цього параметру. В даному діапазоні температур  $K_{\text{рівн}}$  розщеплення ФІФ при дистрофії більше, ніж у нормі, тобто при патології зберігається тенденція збільшення розщеплення ФІФ.

На основі цих даних за допомогою рівняння  $\Delta F^0 = -RT \ln K_{\text{рівн}}$  обчислювали зміни стандартної вільної енергії реакції (табл. 2). Як бачимо, при вказаних температурах для ФДФ і ФІФ як у нормі, так і при

патології процес є ендергонічним, тобто реакція відбувається при відсутності зовнішньої «рушійної сили» до певної межі. Рівновага ж реакції при  $\Delta F^0 > 0$  буде зсунута в бік утворення субстрату. Крім того, зміна вільної енергії мало залежить від температури, укладаючись в інтервалі 4,43—7,51 ккал/моль.

Таблиця 1

Вплив температури на  $K_{\text{рівн}}$  реакції розщеплення ФДФ і ФІФ в нормі та при патології

t, °C	$K_{\text{рівн}}$ ФДФ		$K_{\text{рівн}}$ ФІФ	
	норма	дистрофія	норма	дистрофія
9	$(0,064 \pm 0,13)10^{-3}$	$(0,067 \pm 0,023)10^{-4}$	$(0,021 \pm 0,006)10^{-4}$	$(0,043 \pm 0,015)10^{-4}$
23	$(0,390 \pm 0,034)10^{-3}$	$(0,300 \pm 0,037)10^{-4}$	$(0,041 \pm 0,004)10^{-4}$	$(0,070 \pm 0,004)10^{-4}$
30	$(0,610 \pm 0,076)10^{-3}$	$(0,520 \pm 0,102)10^{-4}$	$(0,062 \pm 0,007)10^{-4}$	$(0,075 \pm 0,016)10^{-4}$
40	$0,520 \pm 0,021)10^{-3}$	$(0,620 \pm 0,023)10^{-4}$	$(0,280 \pm 0,018)10^{-4}$	$(0,680 \pm 0,048)10^{-4}$

Таблиця 2

Вплив температури на зміни стандартної вільної енергії реакції розщеплення ФДФ і ФІФ в нормі та при дистрофії реакції ( $\Delta F$  в ккал/моль)

t, °C	ФДФ		ФІФ	
	норма	дистрофія	норма	дистрофія
9	5,72	6,00	7,31	5,94
23	4,60	6,10	7,25	6,95
30	4,43	5,91	7,51	7,42
40	4,68	6,00	6,49	5,94

Зміну стандартної ентальпії обчислювали за рівнянням Вант-Гоффа

$$\Delta H^0 = -R \frac{d \ln K_{\text{рівн}}}{d \left( \frac{1}{T} \right)}. \quad (2)$$

За даними табл. 1 будували графіки залежності  $\ln K_{\text{рівн}}$  від оберненої температури, і, використовуючи графічне диференціювання, обчислювали за рівнянням (2) значення  $\frac{d \ln K_{\text{рівн}}}{d \left( \frac{1}{T} \right)}$ . З рис. 1 видно, що зі

збільшенням температури для ФДФ як в нормі, так і при патології спостерігається перехід процесу від ендотермічного до екзотермічного. Для ФІФ при дистрофії має місце перехід від ендотермічного процесу до екзотермічного і знову до ендотермічного. В нормі ж для ФІФ зміна ентальпії падає до нуля з наступним збільшенням, тобто тепловий ефект не змінює свого знаку.

Зміну ентропії  $\Delta S^0$  обчислювали за рівнянням  $\Delta S^0 = \frac{\Delta H^0 - \Delta F^0}{T}$ . З підвищенням температури величина зміни ентропії для ФДФ зменшується до нуля, а потім змінює свій знак в нормі і патології (рис. 2). Для ФІФ знак ентропійного ефекту змінюється від  $\Delta S^0 > 0$  до  $\Delta S^0 < 0$  і знову до  $\Delta S^0 > 0$ .

Одержана нами  $K_{\text{рівн}} = K_1 K_2$ , тому енергетичні параметри реакції треба розуміти як результуючу двох реакцій. В зв'язку з цим цікаво дослідити вплив температури на I та II стадії реакції окремо. Це дало б можливість вивчити особливості механізму реакції при даній патології.

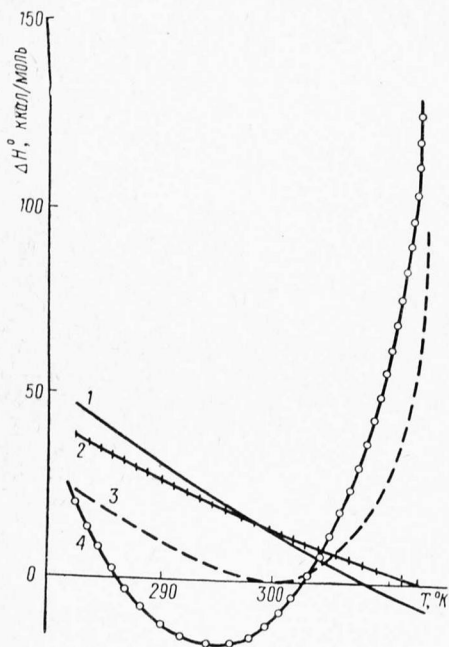


Рис. 1. Вплив температури на зміни стандартної ентальпії:  
1— ФДФ, норма; 2— ФДФ, дистрофія; 3— ФІФ, норма; 4— ФІФ, дистрофія.

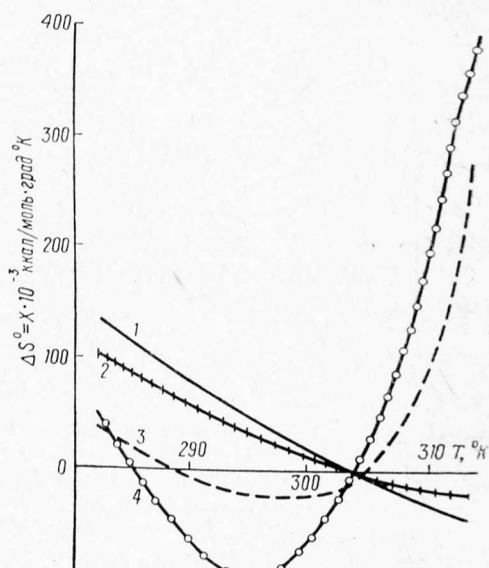


Рис. 2. Вплив температури на зміни стандартної ентропії:  
1— ФДФ, норма; 2— ФДФ, дистрофія; 3— ФІФ, норма; 4— ФІФ, дистрофія.

Отже, при дистрофії в дослідженому діапазоні температур рівновага реакції розщеплення ФІФ порівняно з нормою зсунута в бік розщеплення субстрату; процес розщеплення двох субстратів є ендергонічним як у нормі, так і при патології; для двох субстратів спостерігається різниця в зміні стандартної ентальпії та ентропії залежно від температури та фізіологічного стану тварин. Ці зміни вказують на те, що при Е-авітамінозній м'язевій дистрофії альдолаза на рівні утворення фермент-субстратного комплексу змінює свої каталітичні властивості.

### Література

1. Т. П. Кондратюк, М. Д. Курський, Л. Т. Литвиненко, Укр. біохім. ж., **46**, 411 (1974).
2. G. M. Lehrer, R. Barker, Biochemistry, **9**, 1536 (1970).
3. O. C. Richards, W. J. Rutter, J. Biol. Chem., **236**, 3185 (1961).
4. A. L. Lehninger, J. Sice, E. V. Jensen, Biochim. Biophys. Acta, **17**, 285 (1955).
5. E. L. Howe, P. L. Harris, J. Nutrition, **33**, 95 (1947).
6. М. Ф. Гулий, П. Д. Дворникова, О. Я. Попадюк, Укр. біохім. ж., **26**, 251 (1954).
7. O. Meyerhof, K. Lohman, Biochem. Z., **271**, 89 (1934).
8. Keith J. Leidler, The chemical kinetics of enzyme action, Oxford, 1958.

Інститут біохімії  
АН УРСР

Надійшло  
9.VII 1974 р.

M. D. KURSKY, T. P. KONDRATYUK,  
L. T. LITVINENKO and S. A. KOSTERIN

THERMODYNAMIC CHARACTERISTICS FOR REACTION  
OF FRUCTOSE-1,6-DIPHOSPHATE AND  
FRUCTOSE-1-MONOPHOSPHATE SPLITTING BY THE MUSCLE  
ALDOLASE OF NORMAL AND DYSTROPHIC RABBITS

(Presented by M. F. Guly, Member Academy of Sciences, Ukrainian SSR)

S u m m a r y

The paper deals with the effect of temperature on  $K_{eq}$  reactions of FIP and FDP splitting by the muscle aldolase of rabbits in norm and with dystrophy.

It is shown that within the studied temperature range the equilibrium of the FIP splitting reaction is shifted towards the side of the substrate splitting in comparison with the standard.

Splitting of two substrates is an endergonic process both in norm and with pathology.

For two substrates a difference is observed in changes of standard enthalpy and entropy, depending on temperature and physiological state of the animal.

These changes indicate that with E-avitaminous muscle dystrophy at the level of enzyme-substrate complexing, both with FDP and FIP, aldolase changes its catalytic properties.

---