

УДК 541.124/128+541.182+547:541.1

ХИМИЯ

А. К. ЯЦИМИРСКИЙ, К. МАРТИНЕК, И. В. БЕРЕЗИН
КАТАЛИЗ МИЦЕЛЛАМИ ДЕТЕРГЕНТОВ КАК МОДЕЛЬ
ФЕРМЕНТАТИВНОГО ПРОЦЕССА

(Представлено академиком Н. М. Эмануэлем 17 IV 1970)

Известны определенные аналогии между структурами мицеллы детергента и белковой глобулы (¹). Наиболее существенным здесь является наличие в мицелле гидрофобного ядра, экранированного от воды либо полярными, либо ионными группами, что приводит к возникновению на поверхности мицеллы двойного электрического слоя.

В настоящей работе была изучена природа эффекта ускорения реакции ацилирования оксимов сложными эфирами, наблюдаемого в присутствии мицелл детергентов. Эта реакция аналогична процессу ацилирования активного центра гидролитического фермента субстратом (²).

Скорость реакции ацилирования оксимов подчиняется уравнению второго порядка как в отсутствие, так и в присутствии детергента, $v = k_{\text{эксн}} C_1 C_2$, где C_1 , C_2 — концентрации оксима и, соответственно, сложного эфира. На рис. 1 приведены зависимости экспериментальных констант скоростей ацилирования салицилальдоксима *n*-нитрофениловыми эфирами уксусной (НФА) и триметилуксусной (НФТА) кислот от концентрации катионного детергента цетилтриметиламмоний бромида (ЦТАБ), определенные по начальным скоростям выделения *n*-нитрофенолятного иона. Измерения проводили на регистрирующем спектрофотометре «Hitachi Perkin — Elmer 124» при $\lambda \sim 400$ мк.

В отсутствие детергента $k_{\text{эксн}} = 30$ л/мол·мин для НФА и $k_{\text{эксн}} = 0,75$ л/мол·мин для НФТА (рН 7,2). Резкое возрастание скорости реакции вблизи критической концентрации мицеллообразования (к.к.м. $2,5 \cdot 10^{-4}$ М, определялась индикаторным методом по бромфеноловому синему (³)) указывает на то, что наблюдаемое ускорение до 250 раз для НФА и до 2000 для НФТА связано с образованием в растворе мицелл.

Определенный вклад в общую величину ускорения вносит изменение константы кислотности оксима при переходе его молекулы из воды (pK_a^0) в поверхностный слой мицеллы (pK_a^M). Этот эффект связан с тем, что в реакции ацилирования салицилальдоксима принимает участие только его анионная форма (⁴). Согласно Хартли (¹) $pK_a^M = pK_a^0 - \psi / 2,3 kT$, где ψ — поверхностный потенциал мицеллы. Таким образом, для катионного детергента (где $\psi > 0$) величина $pK_a^M < pK_a^0$. Из рН — зависимости $k_{\text{эксн}}$ было найдено $pK_a^0 = 9,2$ и $pK_a^M = 8,6$. Следовательно, в условиях эксперимента (рН 7,2) этот сдвиг pK_a обуславливает ускорение лишь в 4 раза.

Для выяснения основной причины наблюдаемого ускорения (рис. 1) рассмотрим взаимодействие реагентов с мицеллой детергента. Связывание молекул растворенного вещества мицеллой можно рассматривать (⁵) как процесс экстракции этих молекул из водной фазы в мицеллярную. Для описания этого процесса введем коэффициенты распределения для анионной формы оксима и сложного эфира соответственно

$$P_1 = C_1^M / C_1^0, \quad (1)$$

$$P_2 = C_2^M / C_2^0. \quad (2)$$

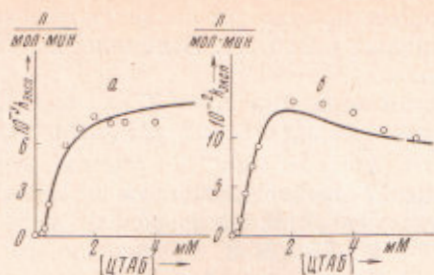


Рис. 1

Рис. 1. Зависимость эффективной константы скорости ацилирования салицилальдоксима *n*-нитрофениловыми эфирами уксусной (а) и триметилуксусной (б) кислот от концентрации цетилтриметиламмоний бромид, ЦТАБ (Сhemapol). Условия опыта: 20° С; рН 7–10; буфер фосфатный (0,1М КН₂РO₄ + Na₂НРO₄) и боратный (0,005М Н₃ВO₃ + Na₂В₄O₇); 3 об.% ацетонитрила; [НФА]₀ = 1,5 · 10⁻⁴ мол/л; [НФТА]₀ = 2,1 · 10⁻⁴ мол/л; начальную концентрацию салицилальдоксима варьировали от 2 · 10⁻⁵ до 10⁻³ мол/л. Величина $k_{\text{экс}}$ приведена для рН 7,2. Кривые проведены согласно уравнению (6)

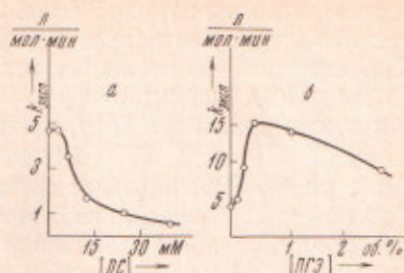


Рис. 2

Рис. 2. Зависимость эффективной константы скорости ацилирования салицилальдоксима *n*-нитрофениловым эфиром триметилуксусной кислоты от концентрации додецилсульфата натрия, ДС (Schuchardt) и неионогенного детергента (б), щелочно-фенольного полигликолевого эфира, ПГЭ (Berol Lanco). Условия опыта: 20° С; рН 8,0; боратный буфер (0,005М Н₃ВO₃ + Na₂В₄O₇); 3 об.% ацетонитрила; [НФТА]₀ = 2,1 · 10⁻⁴ мол/л; начальная концентрация салицилальдоксима 10⁻³ мол/л

Здесь C_1^m и C_2^m — концентрации нуклеофила и субстрата в мицеллярной, а C_1^v и C_2^v — в водной фазах. В этом случае скорость реакции v , отнесенная к единице общего объема системы, определяется выражением

$$v = C_d \bar{V} k^m C_1^m C_2^m + (1 - C_d \bar{V}) k^v C_1^v C_2^v, \quad (3)$$

где k^v , k^m — константы скорости реакции второго порядка в водной и мицеллярной фазах, C_d — общая концентрация детергента минус к.к.м., \bar{V} — эффективное значение мольного объема детергента. Скорость реакции при концентрациях детергента меньших к.к.м. определяется выражением

$$v = k^v C_1 C_2. \quad (4)$$

С использованием уравнений материального баланса из (1) — (3) для экспериментальной константы скорости второго порядка следует:

$$k_{\text{экс}} = \frac{C_d \bar{V} k^m P_1 P_2}{[1 + (P_1 - 1) C_d \bar{V}] [1 + (P_2 - 1) C_d \bar{V}]} + \frac{(1 - C_d \bar{V}) k^v}{[1 + (P_1 - 1) C_d \bar{V}] [1 + (P_2 - 1) C_d \bar{V}]}, \quad (5)$$

справедливое при рН > рК₂^а. Однако экспериментальному определению (5) поддаются не величины P , а константы $K = (P - 1) \bar{V}$. Существенное влияние на скорость реакции детергент оказывает только при $p \geq 10$, таким образом, в выражении (5) единицей по сравнению с P можно пренебречь. Напротив, при концентрациях детергентов, использованных в нашей работе, $C_d \bar{V} \ll 1$. Приняв эти допущения, уравнение (5) можно заменить приближенным уравнением:

$$k_{\text{экс}} = \bar{k}^m \frac{K_1 K_2 C_d}{(1 + K_1 C_d)(1 + K_2 C_d)} + k^v \frac{1}{(1 + K_1 C_d)(1 + K_2 C_d)}, \quad (6)$$

где $\bar{k}^m = k^m / \bar{V}$ — «экспериментальная» константа скорости реакции в мицеллярной фазе, аналогичная константа $k_{\text{экс}}$ в ферментативных реакциях.

Множитель при \bar{k}^n в уравнении (6) отражает эффект концентрирования реагентов в мицеллярной фазе. Этот процесс моделирует стадию образования комплекса Михаэлиса в ферментативных реакциях. Величины же K_1 , K_2 являются аналогами констант Михаэлиса.

Для НФА из литературы (6) известна величина $K_2 = 27$ л/мол. На основании уравнения (6) из данных, приведенных на рис. 1а, нами были найдены величины $K_1 = 1,5 \cdot 10^3$ л/мол и $\bar{k}^n = 80$ мин⁻¹ (с учетом величины pK_a^n). Для определения величины k^n необходимо знать эффективный объем \bar{V} . Если принять, что молекулы реагентов распределены по всему объему мицеллы, то можно оценить $\bar{V} = 0,35$ л/мол, приняв плотность вещества детергента близкой к единице. В этом случае $k^n = 31$ л/мол·мин и практическая совпадает с константой скорости ацилирования в воде. Однако маловероятно, чтобы анионы оксима могли проникать внутрь гидрофобного ядра мицеллы, хотя там и содержится определенное количество воды (7). По-видимому, реакция протекает лишь в поверхностном слое мицеллы, на что указывает также наблюдаемый сдвиг pK_a^n оксима, и тогда $\bar{V} < 0,35$ л/мол, т. е. $k^n < k^n$. Последнее соотношение обусловлено, вероятно, пониженной диэлектрической проницаемостью в поверхностном слое мицеллы.

Проверка кинетического механизма с участием мицеллы, приводящего к уравнениям (5) и (6), была проведена для реакции с НФТА. Как видно из рис. 1б, экспериментальные результаты можно удовлетворительно описать теоретической кривой, вычисленной (с учетом величины pK_a^n) по уравнению (6), полагая $K_1 = 1,5 \cdot 10^3$ л/мол и считая отношение констант \bar{k}^n и k^n для НФТА таким же, как и для НФА, т. е. $\bar{k}^n/k^n = 2,5$ мол/л. Величина $K_2 = 270$ л/мол для НФТА была оценена из соображений аналогии между процессом переноса молекулы субстрата из воды в мицеллярную фазу и в органический растворитель (8).

В случае анионного детергента из-за электростатического отталкивания величина $K_1 \approx 0$ и, следовательно, уравнение (6) принимает вид:

$$k_{\text{эсп}} = k^n / (1 + K_2 C_d). \quad (7)$$

Поэтому должно иметь место ингибирование реакции ацилирования анионным детергентом, что и наблюдается на опыте (рис. 2а). Неионогенный детергент оказывает лишь слабое влияние на скорость реакции ацилирования (рис. 2б), по-видимому, из-за небольшой величины K_1 .

Таким образом, в присутствии мицелл катионного детергента общая скорость реакции ацилирования возрастает на 2—3 порядка и эффект ускорения увеличивается с ростом объема углеводородного скелета молекулы субстрата. Это согласуется с результатами исследований реакции ацилирования в смешанных мицеллах ЦТАБ с N-додеканоил-L, D-цистеином (4) и с N-миристоил-L-гистидином (9). Аналогичные эффекты ускорения имеют место и при катализе реакции гидролиза *n*-нитрофениловых эфиров частично алкилированным поли-4-винилпиридином (10). По-видимому, движущей силой концентрирования реагентов в мицеллярной фазе (или в среде полимера) является гидрофобное взаимодействие и поэтому эти системы можно рассматривать как модели функционирования сорбционной области активного центра протеолитического фермента α -химотрипсина (8).

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
16 IV 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ P. Heitmann, *Europ. J. Biochem.*, 5, 305 (1968). ² L. Cunningham, *Compreh. Biochem.*, 16, 85 (1965). ³ C. A. Buntun, L. Robinson, *J. Am. Chem. Soc.*, 90, 5972 (1968). ⁴ W. P. Jencks, J. Carrinolo, *J. Am. Chem. Soc.*, 82, 1778 (1960). ⁵ D. G. Herries, W. Bishop, F. M. Richards, *J. Phys. Chem.*, 68, 1842 (1964). ⁶ L. R. Romsted, E. H. Cordes, *J. Am. Chem. Soc.*, 90, 4404 (1968). ⁷ N. Muller, R. H. Birkhahn, *J. Phys. Chem.*, 71, 957 (1967). ⁸ К. Мартинек, А. В. Левашов, И. В. Березин, *Мол. биол.*, 4, № 4, 517 (1970). ⁹ C. Gitter, A. Oscho-Solano, *J. Am. Chem. Soc.*, 5004 (1968). ¹⁰ Ю. Э. Кирш, В. А. Кабанов, В. А. Каргин, *ДАН*, 177, 112 (1968).