

УДК 577.15.3

БИОХИМИЯ

Л. С. ЯГУЖИНСКИЙ, Г. М. КОЛЕСОВА, Б. Т. ЛОЖКИН

**ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ПОВЕРХНОСТНОАКТИВНЫМИ
СВОЙСТВАМИ АРОМАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ
И ИХ СПОСОБНОСТЬЮ ИНГИБИРОВАТЬ ЭЛЕКТРОННЫЙ
ТРАНСПОРТ В МИТОХОНДРИЯХ**

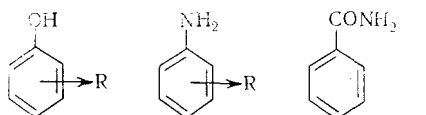
(Представлено академиком А. Н. Белозерским 2 XI 1971)

В начальном участке дыхательной цепи митохондрий была обнаружена гидрофобная площадка, локализованная между НАД-Н и цитохромом *b* (¹). При добавлении в среду инкубации митохондрий химически инертных ароматических соединений ряда фенолов, анилинов, спиртов и т. д., последние взаимодействуют с гидрофобной площадкой фермента, нарушая транспорт электронов. Это торможение снимается при добавлении витамина *K*₃, который шунтирует участок дыхательной цепи между НАД-Н и цитохромом *b*.

В принципе возможны два механизма действия гидрофобных ингибиторов. Либо эффект ингибирования обусловлен растворением ингибитора в гидрофобной фазе, при этом молекула вещества целиком погружается в углеводородный «карман» фермента, либо эффект обусловлен адсорбцией молекул ингибитора на границе раздела фаз гидрофобной площадки фермента с полярной средой.

Исследование неполярных ароматических соединений (*o*-метилловый эфир 2-метил-4-хлорфенола, метиловый эфир α -нафтола), способность которых адсорбироваться на границе раздела резко снижена, показало, что такие вещества, как ингибиторы электронного транспорта, малоэффективны. Это наблюдение послужило основанием для предположения о том, что гидрофобный участок обладает свойствами границы раздела фаз.

В настоящей работе обнаружена корреляция между способностью соединений адсорбироваться на границе раздела фаз и ингибирующей активностью. С этой целью было исследовано влияние ароматических ингибиторов (1—7) начального участка дыхательной цепи на межфазное натяжение системы двух несмешивающихся жидкостей — воды и гептана



Фенол (5) Анилин (3) Бензамид (6)
2,4-Дихлорфенол (4) 4-Бромани-
2-Метил-4-хлорфенол (1) лин (7)
4-Хлорфенол (2)

Межфазное натяжение (σ) определялось методом измерения веса и объема капли. Более тяжелая жидкость — вода выдавливалась через тефлоновый капилляр в более легкую — гептан. Время жизни капли составляло не менее 2 мин. для достижения адсорбционного равновесия (²). Конечное значение σ вычислялось с учетом поправок на форму капли (³). Все растворы готовились на бидистиллате из очищенных перекристаллизацией или перегонкой веществ. До начала измерений система вода —

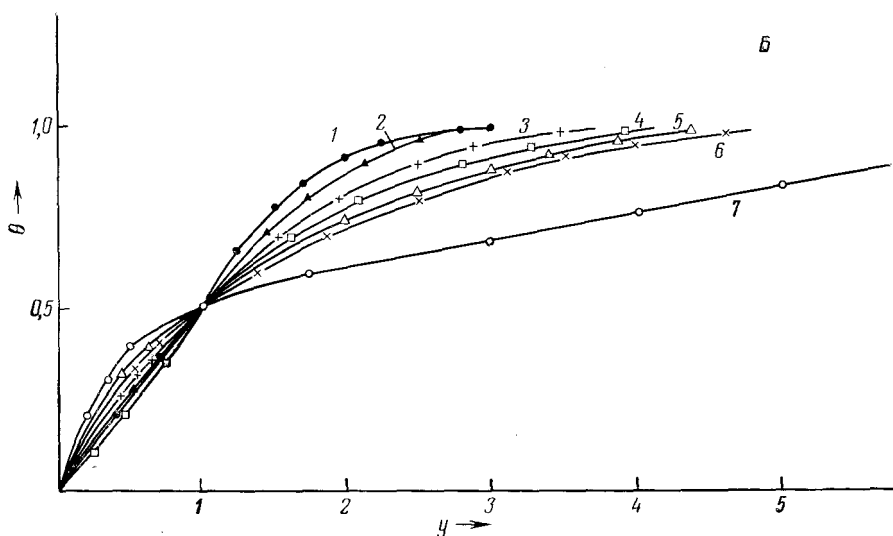
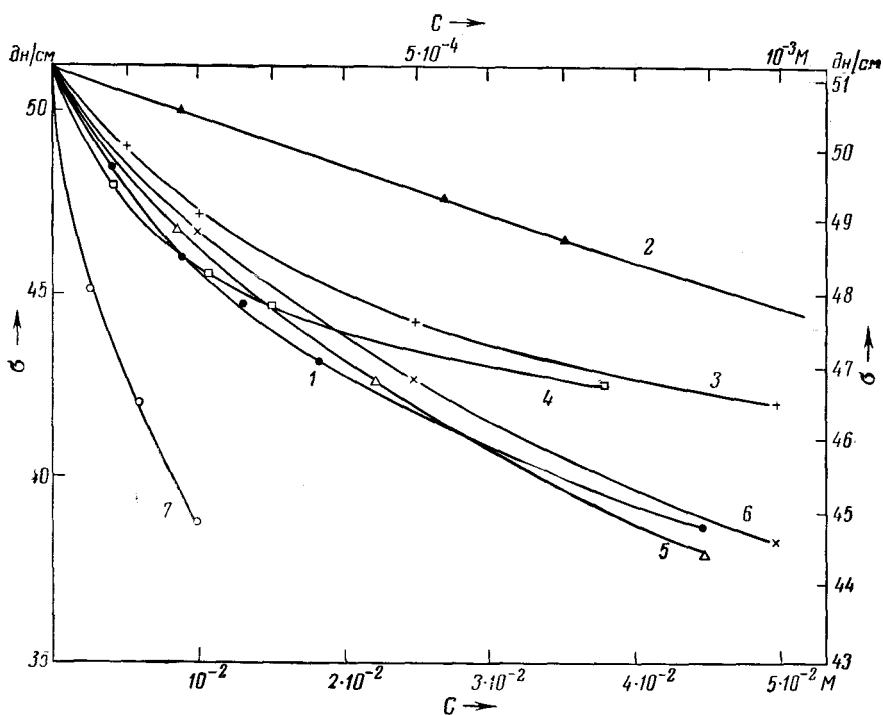


Рис. 1. А — зависимость межфазного натяжения ароматических соединений от концентрации в водной фазе. Внутренние координаты: фенол (5), анилин (3), 4-бром-анилин (7), бензамид (6); внешние координаты: 4-хлорфенол (2), 2-метил-4-хлорфенол (1), 2,4-дихлорфенол (4). Б — изотермы адсорбции ароматических соединений на границе раздела вода — гептан

гептан выдерживалась не менее суток для установления равновесия. Точность измерения составляла 0,5 длины. На рис. 1 А приведены кривые, показывающие зависимость межфазного натяжения от концентрации веществ.

Расчет изотерм проводился из кривых $\sigma = f(c)$. По уравнению Гиббса определялась поверхностная концентрация (Γ). На рис. 1Б приведены изотермы адсорбции изученных веществ в относительных координатах

Поверхностноактивные свойства ароматических ингибиторов и их биологическая активность

№ п. п.	Вещество	$\Gamma_{0,5}$, 10^{-10} -мол/см	$C_{\theta} = 0,5$	$C_{0,5}$ биол (торможение дыхания глутамат — малат)	Аттрак- ционная постоян- ная	B	Δg , ккал/мол
1	2-Метил-4-хлор- фенол	0,44	$7 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-4}$	1,3	3980	-6,64
2	4-Хлорфенол	0,4	$3,4 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	0,8	1300	-6,08
3	Анилин	0,8	$4 \cdot 10^{-3}$	$2,8 \cdot 10^{-3}$	0,7	124	-4,77
4	2,4-Дихлорфенол	0,23	$2,4 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-5}$	0,95	16910	-7,4
5	Фенол	1,6	$9 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	0,5	65	-4,5
6	Бензамид	1,6	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	0,5	62	-4,4
7	4-Броманилин	1,15	$1 \cdot 10^{-3}$	$1,4 \cdot 10^{-3}$	0,01	915	-5,82

$\theta = \Gamma / \Gamma_{\infty}$, $Y = C / C_{\theta=0,5}$, где $C_{\theta=0,5}$ — концентрация вещества в водной фазе, при которой граница раздела заполнена наполовину.

Все изотермы описываются в удовлетворительном приближении адсорбционным уравнением Фрумкина:

$$BC = \frac{1 - \theta}{\theta} \exp(-2a\theta),$$

где B — константа адсорбционного равновесия, характеризующая адсорбционную способность частиц, взаимодействующих с поверхностью; a — аттракционная постоянная, учитывающая взаимодействие адсорбированных молекул друг с другом. Для всех веществ были определены константы B и a , которые приведены в табл. 1. Свободную энергию адсорбции рассчитывали из уравнения

$$\Delta g = -RT \ln 55,5 \cdot B.$$

Степень приближения, с которой полученные изотермы описываются адсорбционным уравнением Фрумкина, показана на рис. 2.

Как следует из табл. 1, концентрации ингибиторов, подавляющие на 50% электронный транспорт, близки к концентрациям в модельной системе, когда граница раздела фаз заполнена наполовину ($\theta = 0,5$).

При этом биологическая эффективность хорошо коррелирует с изменением свободной энергии адсорбции при переходе из воды на границу раздела фаз в системе вода — гептан (рис. 4А).

С другой стороны, оказалось, что биологическая эффективность изученных веществ не связана с величиной изменения свободной энергии перехода веществ из воды в объем гексана (рис. 4Б). Свободную энергию рассчитывали по формуле: $\Delta g = -RT \ln P$, где P — коэффициент распределения. Величины P взяты из работы (5).

Совокупность полученных данных указывает на то, что свойства гидрофобной площадки фермента должны быть очень близки к свойствам границы раздела фаз вода — гептан.

Ранее (1) была найдена хорошая корреляция ингибирующего эффекта ароматических соединений и величины их коэффициента распределения в другой модельной системе вода — октанол:

$$-\lg C_{0,5} = 1,1 \lg P + 0,6, \quad (1)$$

где $C_{0,5}$ — концентрация ингибитора, тормозящая дыхание на 50%, P — коэффициент распределения (4).

Сопоставление величин свободной энергии адсорбции и свободной энергии перехода из воды в объем октанола показало, что между этими двумя

величинами, в свою очередь, существует удовлетворительная линейная зависимость (рис. 3). Изменение природы полярной группировки ароматической молекулы приблизительно в одинаковой степени сказывается на величине Δg перехода вещества из воды на границу раздела фаз в системе вода — гептан и Δg перехода из воды в объем октанола (рис. 3). Как

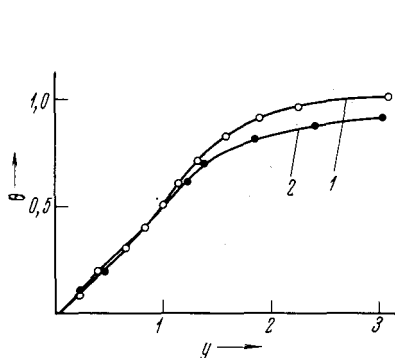


Рис. 2. Экспериментальная изотерма (1) 2-метил-4-хлорфенола и теоретическая изотерма (2), построенная по вычисленным значениям a и B

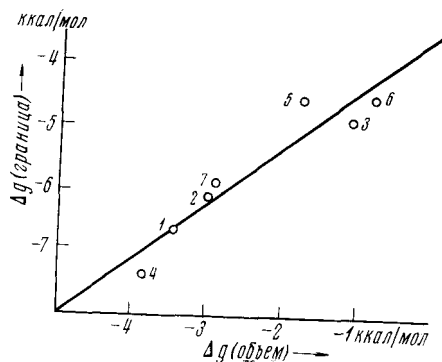


Рис. 3. Зависимость между свободной энергией перехода веществ (1—7) из воды на границу раздела вода — гептан и свободной энергией перехода из воды в объем октанола

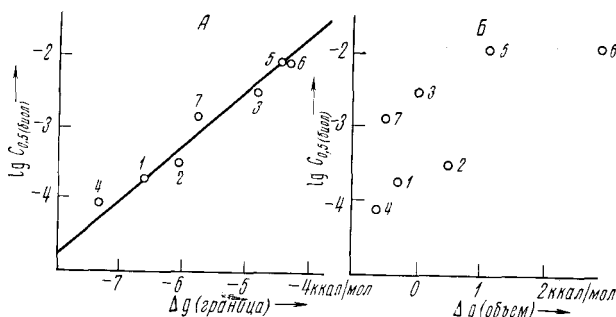


Рис. 4. Зависимость биологической эффективности веществ (1—7) от изменения свободной энергии при переходе из воды на границу раздела фаз вода — гептан (А) и из воды — в объем гексана (Б)

следует из сопоставления рис. 3 и 4Б, в отличие от октанола гексан не моделирует свойств границы раздела фаз.

Таким образом, результаты проведенной работы позволяют считать, что эффект торможения дыхания митохондрий обусловлен адсорбцией изученных ароматических ингибиторов в точке соприкосновения гидрофобной площадки фермента с полярной средой.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Институт электрохимии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
30 VIII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Л. С. Ягужинский, Е. Г. Смирнова и др., ДАН, 205, № 3 (1972). ² И. К. Гетманский, Л. И. Бавика, Методы испытаний водных растворов поверхностно-активных веществ, в. 1, 1965. ³ А. Вайсбергер, Физические методы органической химии, 1, ИЛ, 1950. ⁴ Л. А. Ратникова, Л. С. Ягужинский, Сборн. тр. VI Всесоюз. симпозиума по биохимии митохондрий, М., 1970, стр. 86. ⁵ D. J. Currie, C. E. Lough, R. F. Silver, J. Chem., 44, 1035 (1966).