

PROCES MICELIZACJI WYBRANYCH ZWIĄZKÓW BIOLOGICZNIE CZYNNYCH I JEGO IMPLIKACJE BIOFIZYCZNE

BOŻENNA RÓŻYCKA-ROSZAK

Katedra Fizyki i Biofizyki, Akademia Rolnicza, Norwida 25 50 375 Wrocław

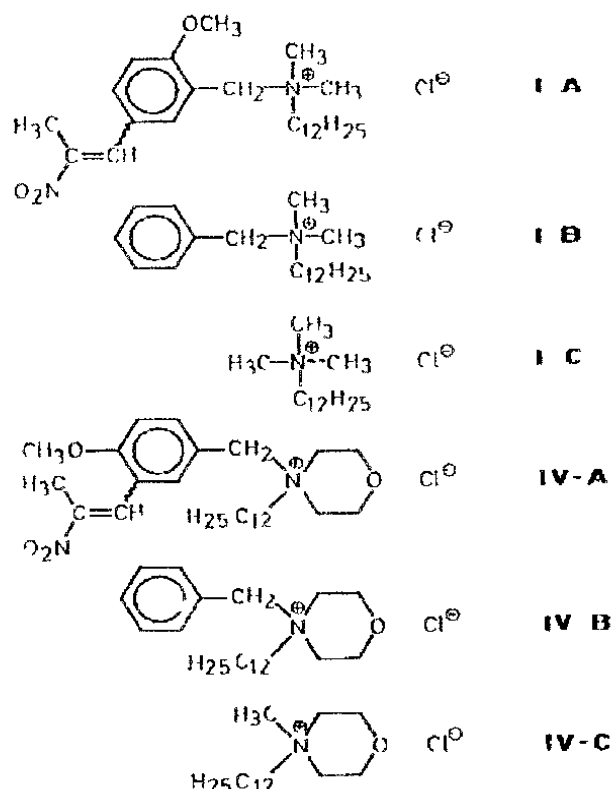
(Received 10 October 1990, Accepted 24 June 1991)

Micellization process of 15 surfactants, which are biologically active, is described. It was shown how the results of micellization studies contribute to the explanation of the mechanism of interaction of the compounds with model phospholipid membranes and, in particular, helped explain their varied influence on transport of sulphate and calcium ions through liposome membranes.

WPROWADZENIE

Poznanie procesu micelizacji związków powierzchniowo czynnych (surfaktantów [15]), a w szczególności surfaktantów wykazujących biologiczną aktywność wydaje się interesujące i ważne z biologicznego punktu widzenia, gdyż może się przyczynić do wyjaśnienia mechanizmu oddziaływania tych związków z błonami lipidowymi.

Celem tego opracowania jest omówienie procesu micelizacji pewnych substancji powierzchniowo czynnych, a mianowicie wybranych czwartorzędowych soli amoniowych przedstawionych na rysunkach 1 i 2. Sole te wykazują właściwości glono-, grzybo-, i bakteriobójcze [65, 73]. Właściwości te mogą wynikać z zaburzenia transportu substancji do i z komórek spowodowanego przez te związki. Stwierdzono bowiem, że związki te oddziałują z błonami fosfolipidowymi, modyfikując ich właściwości transportowe, elektryczne i mechaniczne [16, 35-39, 53-55, 66, 67]. Oddziaływanie związków amfifilowych z błonami



Rys 1 Wzory chemiczne omawianych związków chlorek N-dodecylo-N,N-dimetylo N [3 (β metylo β nitrowinylo) 6 metoksybenzylo]amoniowy (I A), chlorek N-dodecylo-N,N dimetylo N-benzyloamoniowy (I B), chlorek N dodecylo N,N,N trimetyloamoniowy (I C), chlorek N-dodecylo N [3 (β metylo β nitrowinylo)-4-metoksybenzylo]morfoliniowy (IV-A), chlorek N dodecylo N benzyloamoniowy (IV B), chlorek N-dodecylo-N metylomorfoliniowy (IV C)

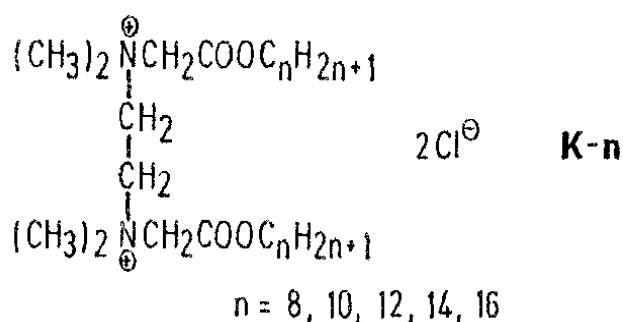
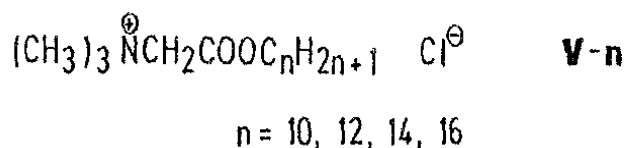
polega prawdopodobnie na wbudowywaniu się łańcuchów hydrofobowych w dwuwarstwę lipidową i elektrycznych oddziaływaniach między polarnymi częściami substancji powierzchniowo czynnych i lipidów oraz białek błony. Z tego względu istotne jest określenie rzeczywistej części polarnej i rzeczywistej części hydrofobowej związków amfifilowych. Podział na część hydrofobową i hydrofilową nie zawsze wynika w sposób jednoznaczny ze znajomości wzoru strukturalnego związku. Natomiast poznanie procesu micelizacji może się znacznie do tego przyczynić.

Cząsteczki związków powierzchniowo czynnych zbudowane są z dwóch części: hydrofilowej i hydrofobowej. Przy niskich stężeniach związki te występują w roztworach wodnych w postaci monomerów. Przy pewnym stężeniu, czy raczej w pewnym przedziale stężeń, cząsteczki tych związków tworzą micelle. Stężenie, przy którym następuje przejście monomerów w micelle, określa się jako krytyczne stężenie micelarne (CMC). Krytyczne stężenie micelarne zależy głównie od

budowy części hydrofobowej i w mniejszym stopniu od budowy części hydrofilowej [68]. Ze wzrostem długości łańcucha hydrofobowego CMC maleje, zgodnie z równaniem podanym przez Klevensa [27, 28]

$$\log \text{CMC} = a - bn_{\text{CH}_2}, \quad (2)$$

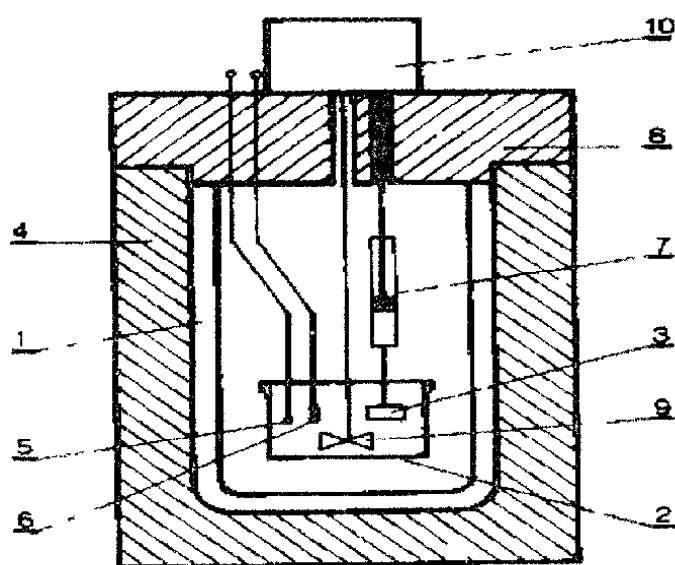
gdzie a i b oznaczają charakterystyczne stałe dla danego szeregu homologicznego surfaktantów, a n_{CH_2} oznacza liczbę grup metylenowych w łańcuchu węglowodorowym, przy czym końcowa grupa metylowa jest traktowana jako równowazna grupie metylenowej. Do badania procesu micelizacji i wyznaczania krytycznego stężenia micelnego można stosować różne metody, np. metodę opartą na pomiarze współczynnika załamania światła [9, 25, 27, 45], metodę rozpraszania światła [6, 49], metodę opartą na pomiarze napięcia powierzchniowego [2, 10, 14, 46, 72], metodę opartą na pomiarze przewodnictwa elektrycznego [1, 18, 21, 22, 51, 56, 58], metodę opartą na pomiarze gęstości [25, 60], metodę miareczkowania kalorymetrycznego [29, 62-64], a także różne metody magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H -NMR, ^{13}C -NMR, ^{31}P -NMR, ^{19}F -NMR) [19, 31, 42, 44, 48, 59, 61, 69] oraz elektronowego rezonansu paramagnetycznego [22, 55, 52]. Szczególnie przydatną metodą do badania procesu micelizacji wydaje się metoda miareczkowania kalorymetrycznego. Metoda ta nie tylko umożliwia wyznaczenie krytycznego stężenia micelnego, ale także standardową zmianę entalpii tworzenia miceli. Ponadto, w odróżnieniu od poprzednich metod, w metodzie miareczkowania kalorymetrycznego wiele interesujących informacji wynika z charakteru krzywej kalorymetrycznej.



Rys. 2. Wzory chemiczne omawianych związków amfifilowych pochodne estrów betaniny (V-n), amfifilowe pochodne N, N' bisdimetylo-1,2 etanodiaminy (K-n), n - liczba atomów węgla w łańcuchu

METODA MIARECZKOWANIA KALORYMETRYCZNEGO

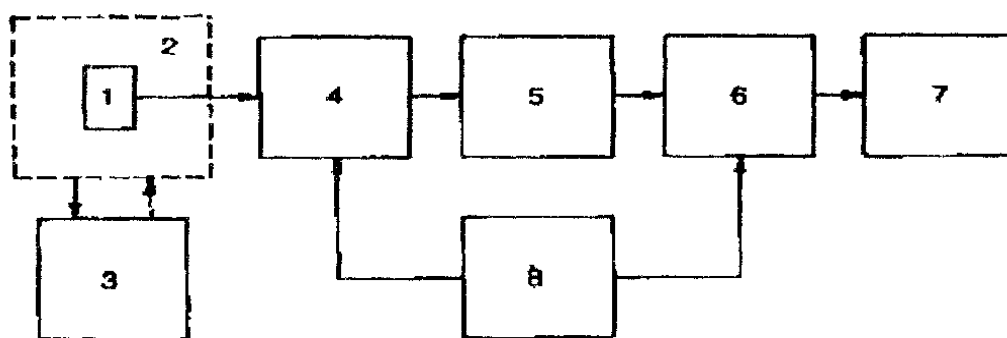
Miareczkowanie kalorymetryczne polega na pomiarze temperatury w funkcji objętości roztworu jednego z reagentów dodawanego do określonej objętości drugiego reagenta. Początki tej metody związane są z pracami Lindego i współ. [41] oraz Jordana i współ. [23], którzy zastosowali ją do prostych miareczkowań chemicznych, np. miareczkowania kwasu zasadą, miareczkowania redoks, miareczkowania strąceniowego. Metodą miareczkowania kalorymetrycznego można nie tylko wyznaczyć punkt równoważnikowy, ale także standardowe zmiany potencjału termodynamicznego (ΔG°), entropii (ΔS°) i entalpii (ΔH°) badanej reakcji [7, 20]. Metoda ta znalazła również zastosowanie do badania układów biologicznych, np. oddziaływania surfaktantów z białkami i lipidami oraz oddziaływania jonów metali i protonów z białkami [5, 13, 24, 29, 30, 34, 74]. Za pomocą tej metody można wyznaczyć także krytyczne stężenie micelarne



Rys. 3 Schemat kalorymetru: 1 - naczynie Dewara, 2 - naczynko kalorymetryczne, 4 - polistyrenowa izolacja, 5 - 10 k Ω termistor, 6 - grzałka, 7 - strzykawka, 8 - pokrywa, 9 - mieszadło, 10 - urządzenie sterujące strzykawką i mieszadłem

i standardową zmianę entalpii powstawania miceli [29, 62, 64]. Pomiary wykonuje się w kalorymetrach produkowanych seryjnie bądź różnych kalorymetrach własnej konstrukcji. Schemat przykładowego kalorymetru własnej konstrukcji przedstawiono na rys. 3 [63]. W naczynku kalorymetrycznym znajduje się woda, do której dodaje się prawie nasycone wodne roztwory badanych związków, co powoduje zmianę temperatury. Temperaturę jako funkcję dodanej objętości mierzy się za pomocą termistora. Termistor jest włączony do mostka Wheatstone'a, co schematycznie przedstawiono na

rys. 4. Przedstawiony kalorymetr nie jest adiabatyczny. Dlatego otrzymane eksperymentalne krzywe kalorymetryczne należy korygować, aby uzyskać krzywe adiabatyczne. Korekcję, która polega na uwzględnieniu wartości niechemicznych efektów cieplnych, można przeprowadzić (zgodnie z koncepcją Eatough'a i współ. [8, 11, 12]) w sposób przedstawiony w pracy [63]. Po korekcji otrzymuje się krzywe przedstawiające zmianę entalpii rozcieńczania (ΔH_d)



Rys 4 Schemat aparatury do miareczkowania kalorymetrycznego 1 -kalorymetr, 2 -termostat powietrzny, 3 - urządzenie kontrolujące temperaturę, 4 - mostek Wheatstone'a, 5 - wzmacniacz, 6 - detektor, 7 - rejestrator, 8 - generator

w funkcji dodanej objętości odczynnika miareczkującego. Przykładowe krzywe kalorymetryczne otrzymane we własnych doświadczeniach przedstawiono na rysunkach 5-7. Początkowa część krzywej (do punktu przegięcia) odpowiada procesowi rozpadu micel. Proces ten może być endo- lub egzotermiczny. Wynika to z tego, że stężony roztwór, tj. roztwór o stężeniu wyższym od krytycznego stężenia micelnego, dodaje się do czystej wody znajdującej się w naczynku kalorymetrycznym. W miarę dodawania odczynnika miareczkującego stężenie surfaktantu w naczynku kalorymetrycznym rośnie i dopóki nie osiągnie wartości równej CMC dodawane micelle ulegają rozpadowi. Proces rozpadu micel może być endo- lub egzotermiczny. W przybliżeniu zależy to od tego, czy energia potrzebna do pokonania oddziaływań międzycząsteczkowych w miceli jest większa czy też mniejsza od energii, która uwalnia się wskutek hydratacji monomerów po rozpadzie miceli. Po przekroczeniu punktu CMC rozpoczyna się drugi proces, co uwidacznia się na krzywej punktem przegięcia. Drugi proces związany jest z rozcieńczaniem dodawanego roztworu micelnego, gdyż dodaje się roztwór micelarny bardziej stężony do mniej stężonego znajdującego się w naczynku kalorymetrycznym. Proces ten jest endotermiczny, co jest typowe dla rozcieńczania roztworów elektrolitów.

Punkt przegięcia na krzywej kalorymetrycznej odpowiada krytycznemu stężeniu micelnemu [29, 63]. Znając stężenie i objętość dodanego odczynnika odpowiadającą temu punktowi, można obliczyć liczbową wartość krytycznego stężenia micelnego.

Tangens kąta nachylenia stycznej do krzywej kalorymetrycznej w danym punkcie p w układzie współrzędnych „temperatura-objętość” jest dany wzorem [26, 63]

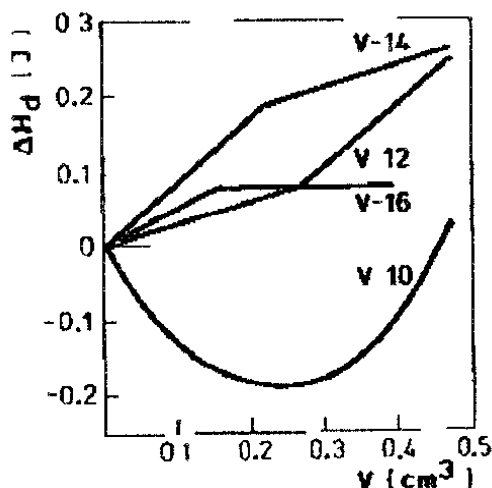
$$\left(\frac{\partial T}{\partial V}\right)_p = (H^* - H) \frac{M}{c_p} \quad (2)$$

gdzie T oznacza temperaturę, V -objętość dodanego odczynnika miareczkującego, H^* i H oznaczają odpowiednio cząstkowe entalpie molowe substancji rozpuszczonej w biurecie i w naczynku kalorymetrycznym przy danym stężeniu, M -molarność i c_p - pojemność cieplną kalorymetru. Analogicznie tangens kąta nachylenia stycznej do krzywej kalorymetrycznej w danym punkcie p w układzie współrzędnych „zmiana entalpii rozcieńczania (ΔH_d)-objętość” po prostych przekształceniach można przedstawić następująco

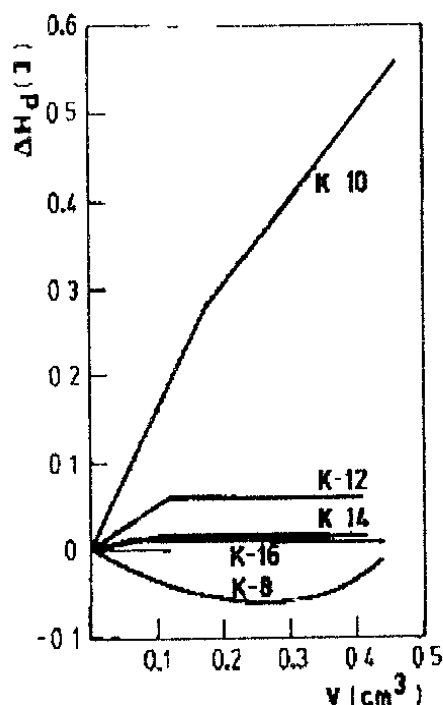
$$-\left(\frac{\partial \Delta H_d}{\partial V}\right)_p = (H^* - H) M \quad (3)$$

Tangensy kąta nachylenia stycznej do krzywej kalorymetrycznej w punkcie początkowym i i w punkcie końcowym f są odpowiednio równe

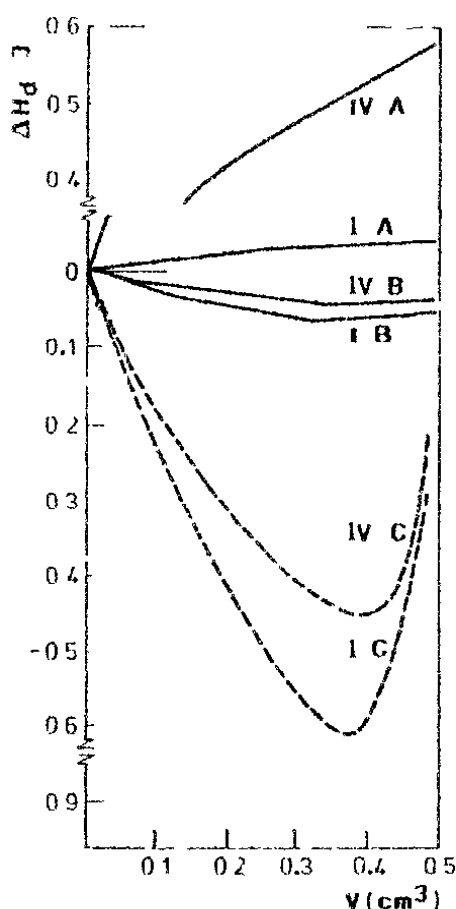
$$-\left(\frac{\partial \Delta H_d}{\partial V}\right)_i = (H^* - H^o) M \quad (4)$$



Rys 5 Entalpia rozcieńczania (ΔH_d) następujących roztworów 1,17 M V-10, 0,43 M V-12, 0,12 M V 14, 0,05 M V-16



Rys 6 Entalpia rozcieńczania (ΔH_d) następujących roztworów 0,51 M K-8, 0,18 K-10, 0,05 M K-12, 0,03 M K-14, 0,02 M K-16



Rys 7 Entalpia rozcieńczania (ΔH_d) następujących roztworów 0,017 M I-A, 0,31 M I-B, 1,14 M I-C, 0,24 M IV A, 0,24 M IV B, 1,14 M IV-C

i IV-C (rys 1 i 2) Wartości liczbowe zestawiono w tabeli I łącznie z wartościami krytycznych stężeń micelarnych.

$$-\left(\frac{\partial \Delta H_d}{\partial V}\right)_f = (H^* - H^f) M \quad (5)$$

gdzie H^* i H^f oznaczają odpowiednie cząstkowe entalpie molowe substancji rozpuszczonej w roztęczeniu nieskończenie wielkim i powyżej CMC

Standardowa molowa zmiana entalpii (ΔH^o) powstawania miceli jest równa [4, 63]

$$\Delta H^o = H_f - H^o \quad (6)$$

Łącząc równania (4) - (6) otrzymujemy

$$\Delta H^o = -\frac{1}{M} \left[\left(\frac{\partial \Delta H_d}{\partial V} \right)_i - \left(\frac{\partial \Delta H_d}{\partial V} \right)_f \right] \quad (7)$$

We własnych doświadczeniach - badano procesy micelizacji różnych czwartorzędowych chlorków amoniowych - powyższy wzór stosowano do obliczenia standardowych zmian entalpii tworzenia micel przez związki V-n K-n, związki I-A, I-B, I-C, IV-A, IV-B

PROCES MICELIZACJI AMFIFILOWYCH POCHODNYCH ESTRÓW BETAINY (V-n)

Krzywe rozcieńczania (rys 5) dla związków V-12, V-14 i V-16 (rys 1) są podobne, natomiast krzywa dla V-10 różni się od nich znacznie. Krzywa ta kształtem przypomina krzywe dla I-C i IV-C (rys 7), a więc krzywe dla związków o 12-węglowym łańcuchu alifatycznym. Również wartości CMC i standardowej zmiany entalpii powstawania micel (tab I) dla V-10 oraz I-C i IV-C są zbliżone. To może sugerować, że ugrupowanie CH_2COO zachowuje się tak, jakby wchodziło w skład łańcucha alifatycznego i w rezultacie go przedłużało. Oznacza

Tab. 1 Krytyczne stężenia (CMC) i standardowe zmiany entalpii tworzenia micel (ΔH°)

I p	Związek	CMC mM	ΔH° kJmol ⁻¹
1	V-10	18,0±2,5	2,3±0,3
2	V 12	5,5±0,5	1,4±0,1
3	V-14	1,9±0,1	2,9±0,2
4	V-16	0,33±0,02	-9,5±0,6
5	K 8	8,1±0,90	1,0±0,3
6	K-10	1,30±0,10	-3,7±0,1
7	K-12	0,30±0,04	-11,0±0,5
8	K 14	0,12±0,05	-
9	K-16	0,04±0,02	-
10	I-A	0,20±0,05	-11,3±0,6
11	I B	4,3±0,5	1,3±0,2
12	I C	21,0±2,5	2,7±0,3
13	IV-A	1,5±0,1	0,8±0,5
14	IV B	4,1±0,4	1,2±0,2
15	IV C	21,0±2,0	2,5±0,3

to, że związki V-n można traktować jako równoważne odpowiednim chlorkom n-alkylotrimetyloamoniowym z łańcuchem dłuższym o dwie grupy metylenowe. W celu porównania hydrofobowości standardowej serii związków z hydrofobowością innej serii ze zmodyfikowanym łańcuchem Beger i współ [3] wprowadził pojęcie równoważnej długości łańcucha. We własnych badaniach za standardową serię uznano chlorki n-alkylotrimetyloamoniowe, dla których równanie (1) przyjmuje postać

$$(\lg \text{CMC})_{st} = a_{st} - b_{st} n_{st} \quad (8)$$

Natomiast dla równoważnej długości łańcucha związków serii V-n równanie (1) przyjmuje postać

$$\lg \text{CMC} = a - b n_r \quad (9)$$

Równoważna długość łańcucha n_r jest to taka długość, dla której

$$(\lg \text{CMC})_{st} = \lg \text{CMC} \quad (10)$$

Z równań (8) - (10) otrzymujemy

$$n_r = \frac{a - a_{st} + b_{st}n_{st}}{b} \quad (11)$$

W przypadku rozważanej serii $b \approx b_{st}$ [62] i wobec tego wzór (11) przyjmuje postać

$$n_{st} - n_r = \frac{a - a_{st}}{b} \quad (12)$$

Różnica ta wyniosła -1,7. Wynik ten potwierdza przypuszczenie, że związki V-n są równoważne odpowiednim chlorkom n-alkylotrimetyloamoniowym o łańcuchu dłuższym o prawie dwie grupy metylenowe. To z kolei oznacza, że ugrupowanie CH_2COO zachowuje się tak jakby było grupą CH_2CH_2 . Nieco podobny efekt był również obserwowany przez Klewensa [28], który zauważył, że atom tlenu grupy siarczanowej OSO_3 związany z atomem węgla podczas procesu micelizacji zachowuje się tak, jakby był grupą metylenową. Tanford [71] wyjaśnił ten efekt jako skutek tego, że początkowa część łańcucha hydrofobowego, sąsiadująca z grupą polarną, pozostaje w fazie wodnej (wskutek hydratacji miceli) i dlatego zastąpienie atomu tlenu przez grupę metylenową nie powinno wpływać na wartość CMC. Hydratacja micel jest powszechnie uznawana [15, 71]. Wątpliwości budzi jedynie głębokość, do której woda wnika w głąb miceli i związana z tym liczba hydratowanych grup metylenowych [19, 42]. W przypadku związku I-C i związków V-n hydratację micel badano metodą magnetycznego rezonansu jądrowego $^1\text{H-NMR}$ [61]. Stwierdzono, że hydratowane są dwie pierwsze grupy metylenowe związku I-C oraz ugrupowanie CH_2COO związków V-n. Dlatego podczas micelizacji ugrupowanie CH_2COO zachowuje się tak jakby było ugrupowaniem CH_2CH_2 i związki V-n pod względem hydrofobowości można traktować jako równoważne odpowiednim chlorkom n-alkylotrimetyloamoniowym. Wskutek tego za $\frac{p}{n}$ (stosunek liczby przeciwjonów do liczby jonów długołańcuchowych w miceli) można przyjąć taką samą wartość jak dla chlorków n-alkylotrimetyloamoniowych i standardową zmianę potencjału termodynamicznego obliczyć ze wzoru dla surfaktantów jonowych [70]

$$\Delta G^\circ = \left(1 + \frac{p}{n}\right) RT \ln x_{CMC}, \quad (13)$$

gdzie x_{CMC} oznacza krytyczne stężenie micelarne wyrażone w ułamkach molowych

Tab 2 Krytyczne stężenia micelarne i charakterystyka termodynamiczna procesu tworzenia micel przez związki V-n

Lp	Związek	CMC mM	ΔH^* kJ mol ⁻¹	ΔG^* kJ mol ⁻¹	ΔS^* J mol ⁻¹ K ⁻¹
1	V-10	18,0 ± 2,0	2,3 ± 0,3	35,0	125,1
2	V-12	5,5 ± 0,5	1,4 ± 0,1	-40,2	139,7
3	V-14	1,9 ± 0,1	2,9 ± 0,2	-44,8	140,8
4	V-16	0,33 ± 0,02	-9,5 ± 0,6	-52,5	144,1

Standardową zmianę entropii powstawania miceli można obliczyć ze wzoru

$$\Delta S^0 = \frac{-\Delta G^0 + \Delta H^0}{T} \quad (14)$$

W tabeli 2 podano charakterystykę termodynamiczną procesu tworzenia micel przez związki V-n

PROCES MICELIZACJI AMFIFILOWYCH POCHODNYCH N,N'-BISDIMETYLO-1,2-ETANODIAMINY (K-n)

Cząsteczki związków K-n posiadają łańcuchy hydrofobowe i dwie grupy polarne i dlatego mogą być rozpatrywane jako podwójne cząsteczki V-n. Z porównania odpowiednich wartości CMC i standardowych zmian entalpii powstawania micel (tab 1) dla związków V-n i K-n można przypuszczać, że związki K-n są równoważne odpowiednim związkom V-n z łańcuchem dłuższym o cztery grupy metylenowe. W celu sprawdzenia tego wniosku zastosowano pojęcie równoważnej długości łańcucha do serii K-n, traktując serię V-n jako standardową. Dla różnicy $n_{st} - n_r$ (12) uzyskano wartość -4. Wynik ten potwierdza przypuszczenie, że pod względem właściwości micelarnych związki K-n są równoważne odpowiednim związkom V-n z łańcuchem hydrofobowym dłuższym o cztery grupy metylenowe. Wobec tego również i w przypadku związków K-n standardowe zmiany potencjału termodynamicznego można było obliczyć ze wzoru (13), przyjmując (na podstawie [51]) dla $\frac{p}{n}$ taką samą wartość co dla odpowiednich związków jednołańcuchowych, tzn. związków V-n. Uzyskane

wartości liczbowe łącznie z wartościami entropii obliczonymi ze wzoru (14) zestawiono w tabeli 3

Tab 3 Krytyczne stężenia micelarne i charakterystyka termodynamiczna procesu tworzenia micel przez związki K-n

Lp	Związek	CMC mM	ΔH° kJ mol ⁻¹	ΔG° kJ mol ⁻¹	ΔS° J mol ⁻¹ K ⁻¹
1	K-8	8,1±0,9	1,0±0,3	-38,7	133,2
2	K-10	1,3±0,1	3,7±0,1	-46,5	143,6
3	K-12	0,30±0,04	-11,0±0,5	-52,9	140,6
4	K-16	0,04±0,02		-61,7	

PROCES MICELIZACJI AMFIFILOWYCH CHLORKÓW AMONIO- WYCH (I-A, I-B, I-C) ORAZ AMFIFILOWYCH CHLORKÓW MORFO- LINIOWYCH 9IV-A, IV-B, IV-C)

Do tej pory uważano, że związki I-A i I-B oraz IV-A i IV-B posiadają takie same części hydrofobowe i różnią się jedynie rozmiarami części polarnych [37]. Ponieważ ze znacznym wzrostem rozmiarów części polarnej CMC także rośnie [47], zatem CMC w obu seriach powinno zmieniać się w następujący sposób $(CMC)_A > (CMC)_B > (CMC)_C$, gdzie A, B, i C oznaczają odpowiednio związki I-A, I-B i I-C oraz IV-A, IV-B i IV-C. Jednak, jak to wynika z tabeli 1, CMC dla związków w obu seriach maleje w przeciwnym kierunku. To zdaje się sugerować, że grupy benzyłowa oraz nitrowinylobenzyłowa zachowują się jak ugrupowania hydrofobowe, a więc należy je traktować jak dodatkowe łańcuchy a nie części grupy polarnej, jak sądzono dotychczas [37]. Dodanie drugiego łańcucha do cząsteczki już posiadającej łańcuch powoduje obniżenie CMC [56] i, jak wskazują wyniki badań związków V-n i K-n, im dłuższy jest łańcuch, tym bardziej dodatnie jest początkowe nachylenie krzywej i bardziej ujemna standardowa zmiana entalpii micelizacji. Dla związków należących do serii I i IV początkowe nachylenie krzywych (rys. 7) najmniejsze jest dla związków C (I-C i IV-C), większe dla związków B (I-B i IV-B) i największe dla związków A (I-A i IV-A). Natomiast standardowa zmiana entalpii powstawania micel największa jest dla związków C, mniejsza dla związków B i najmniejsza dla związków A. To zdaje się potwierdzać przypuszczenie, że grupa benzyłowa i nitrowinyloben-

zylowa zachowują się jak ugrupowania hydrofobowe podczas micelizacji

PORÓWNANIE WYNIKÓW BADAN PROCESU MICELIZACJI Z WYNIKAMI BADAN TRANSPORTOWYCH

Porównując wartości krytycznych stężeń micelarnych z wynikami badań transportowych [16, 35, 36], można zauważyć, że

1 związki V-n oprócz V-16 [35] oraz związki z grupy I i IV [16] ułatwiają transport jonów siarczanowych przez błony fosfolipidowe przy stężeniach niższych od krytycznych stężeń micelarnych. Natomiast związek V-16 ułatwia transport przy stężeniach wyższych od CMC,

2 związki grupy I i IV [16, 35] ułatwiają desorpcję jonów wapnia przy stężeniach niższych niż CMC,

3 związki V-n oraz K-n ułatwiają desorpcję jonów wapnia przy stężeniach wyższych niż CMC [36]. Dla związku V-12 wpływ ten zaznacza się przy wartości nieco niższej niż wartość podana w tabeli 1. Może to być spowodowane tym, że w tabeli 1 zestawiono wartości CMC zmierzone w wodzie, a pomiary transportowe wykonano w roztworach buforowych. Wartości CMC w roztworach soli, a więc i w roztworze buforowym, są niższe niż w wodzie [68]. To pozwala sądzić, że i związek V-12 wywiera wpływ na desorpcję jonów wapnia przy stężeniach wyższych niż CMC.

Podczas procesu micelizacji ugrupowanie CH_2COO^- w związkach V-n zachowuje się tak, jakby było ugrupowaniem CH_2CH_2 . Zatem można się było spodziewać, że związek I-C, który różni się od V-10 tylko obecnością ugrupowania CH_2COO^- zamiast CH_2CH_2 , powinien wywierać taki sam wpływ na transport jonów przez liposomy, jak związek V-10. Tak jednak nie jest. Związek I-C wywiera znacznie większy wpływ na transport jonów siarczanowych, a także na desorpcję jonów wapnia, niż związek V-10 [16, 35, 36]. Wynika to zapewne z faktu, że ugrupowanie CH_2COO^- związków V-n i ugrupowanie CH_2CH_2 związku I-C po wbudowaniu się tych związków do liposomów, znajdują się w błonie. Ze względu na swój elekroujemny charakter ugrupowanie CH_2COO^- utrudnia przechodzenie jonów SO_4^{2-} przez błonę. Dlatego związek V-10 wywiera mniejszy wpływ na transport jonów SO_4^{2-} przez błonę niż związek I-C, który zamiast elekroujemnego ugrupowania CH_2COO^- posiada elekroobojętne ugrupowanie CH_2CH_2 .

Jony wapnia nie znajdują się wewnątrz liposomu, jak to ma miejsce w przypadku jonów siarczanowych, ale w błonie liposomu [17,40]. Dlatego obecność w błonie związku V-n, posiadającego elekroujemne ugrupowanie CH_2COO^- , przyczynia się do silniejszego wiązania jonów wapnia z błoną i tym samym utrudnia ich proces desorpcji z błony. Z tego względu jony wapnia są

uwalniane przez związki V-n a także K-n (związki K-n także zawierają grupę karboksylową) przy stężeniach wyższych od CMC, kiedy to ma miejsce niszczenie struktury liposomu (drugi etap solubilizacji). Natomiast związki grupy I i IV, które nie posiadają elekroujemnej grupy karboksylowej, uwalniają jony wapnia przy stężeniach niższych niż CMC, tj. w pierwszym etapie solubilizacji. Przy pewnej długości łańcucha związków K-n i V-n obserwuje się maksymalny wpływ tych związków na proces desorpcji jonów wapnia. Może to być spowodowane tym, że mechanizm drugiego etapu procesu solubilizacji zależy od długości łańcucha, co wykazano na przykładzie związków V-n. Również przy pewnej długości łańcucha związków V-n obserwuje się maksymalny wpływ na transport jonów siarczanowych. Wydaje się, że można przyjąć, że im większa zawartość związków V-n w błonie, tym większy będzie wywierany wpływ ten związek na transport. Stężenie związków w błonie można wyrazić za pomocą wyrażenia [43]

$$D_b = K L D_w \quad (15)$$

gdzie D_b oznacza stężenie surfaktantu w błonie, D_w - stężenie surfaktantu w wodzie, K - współczynnik podziału danego surfaktantu między fazą lipidową i wodną a L - całkowite stężenie lipidu. Zgodnie z teorią solubilizacji wbudowywanie się związku do liposomu odbywa się dopóty, dopóki stężenie związku w fazie wodnej jest niższe niż CMC, a więc $D_w < \text{CMC}$. Zatem im wyższa wartość CMC, tym wyższa wartość D_w i w konsekwencji D_b . Jednak z drugiej strony, gdy krytyczne stężenie micelarne rośnie, to współczynnik podziału prawdopodobnie maleje [43], co powoduje, że zawartość związku w błonie maleje. Ponieważ zmiana krytycznego stężenia micelnego wywołuje zmiany wartości D_w i K w przeciwnych kierunkach, istnieje pewna wartość CMC (a tym samym i długość łańcucha), dla której wartość D_b osiąga wartość maksymalną. Dlatego przy pewnej długości łańcucha obserwuje się maksymalny wpływ związków V-n na transport jonów siarczanowych przez błony.

W obrębie grupy I i IV wpływ związków na transport maleje od związków A do C, tzn. że związki I-A i IV-A wywierają największy wpływ na transport, związki I-B i IV-b odpowiednio mniejszy, a I-C i IV-C najmniejszy. W czasie badania micelizacji okazało się, że grupy benzytowe związków zachowują się jak łańcuchy a nie części grupy polarnej, jak sądzono poprzednio [37]. Zatem można się spodziewać, że również podczas oddziaływania tych związków z liposomami grupy benzytowe i nitrowinylobenzytowe będą zachowywać się podobnie, tzn. jak łańcuchy i wbudowywać w głąb liposomu. Dlatego związki I-A i IV-A oraz I-B i IV-B powinny wywoływać większe zmiany w strukturze liposomów i przez to w większym stopniu wpływać na transport jonów przez liposomy niż związki I-C i IV-C bez dodatkowych łańcuchów. Ponadto związki I-A i IV-A z dłuższymi łańcuchami powinny wywoływać większe zmiany w strukturze liposomu i przez

co bardziej wpływać na transport niż związki I-B i IV-B. Z tego względu wpływ związków na transport maleje w obu seriach następująco: I-A > I-B > I-C oraz IV-A > IV-B > IV-C.

Z powyższej dyskusji wynika, że poznanie procesu micelizacji wspomnianych związków biologicznie czynnych przyczynia się do wyjaśnienia mechanizmu ich oddziaływania z błonami lipidowymi.

LITERATURA

- [1] Adderson, J E , Taylor, H , *J Colloid Sci* , **19**, 495 (1964)
- [2] Bedo, Z , Berecz, E , Lakatos, I , *Colloid Polymer Sci* , **264**, 264 (1986)
- [3] Beger, J , Jacobi, R , Köhler, R , *Tenside Deterg* , **20**, 169 (1983)
- [4] Benjamin L , *J Colloid Sci* , **22**, 386 (1966)
- [5] Binford, J S , Wadsö, J , *J Biochem Biophys Methods*, **9**, 121 (1984)
- [6] Chevalier , Y , Germanaud, L , Le Perchec, P , *Colloid Polym Sci* , **266**, 441 (1988)
- [7] Christensen, J J , Izatt, R M , Hansen, L D , Partidge, J A , *J Phys Chem* , **70**, 2003 (1966)
- [8] Christensen, J J , Ruckman, J , Eatough, D J , Izatt, R M , *Thermochim Acta*, **3**, 202 (1982)
- [9] Kohen, T , Vassiliades, T , *J Phys Chem* , **65**, 1781 (1961)
- [10] Devinsky, F , Masarowa, L , Lacko, I , *J Colloid Interface Sci* , **105**, 235 (1985)
- [11] Eatough, D J , Christensen, J J , Izatt , *Thermochim Acta*, **3**, 219 (1972)
- [12] Eatough, D J , Izatt, R M , Christensen, J J., *Thermochim Acta*, **3**, 233 (1972)
- [13] Eatough, D. J , Rehfeld, S J , Izatt, R M , Christensen, J J [in] "Biochemical and Clinical Application of Thermometric and Thermal Analysis" (ed N Jespersen), Elsevier Press, New York, 1982, p 112
- [14] Elworthy, H , Mysels, K J , *J Colloid Interface Sci* , **21**, 331 (1966)
- [15] Fisher, L R , Oakenfull, D C , *Chem Soc Rev.*, **6**, 25 (1977)
- [16] Gabrielska, J , Grobelny, D , Kuczera, J , Przestalski, S , Witek, S , Zylka, R , *Studia Biophisica*, **77**, 193 (1979)
- [17] Grasdalen, H , Eriksson, L E G , Westman, J , Ehrenberg, A , *Biochim Biophys Acta*, **469**, 151 (1977)
- [18] Grieger, P F , Kraus, C H A , *J Am Chem Soc* , **70**, 3803 (1948)
- [19] Halle, B , Carlström, G , *J Phys Chem* , **85**, 2142 (1981)
- [20] Hansen, L D , Christensen, J J , Izatt, R M , *J Chem Soc Chem Commun* , **36** (1967)
- [21] Hoyer, H W , Marmo A , *J Phys Chem* , **65**, 1807 (1961)
- [22] Inoue, T , Ikeuchi, M , Kuroda, T , Shismozawa, R , *Bull Chem Soc Jpn* , **54**, 2613 (1981)
- [23] Jordan, J , Alleman, T G , *Anal Chem* , **29**, 9 (1957)

- [24] Kale, K , Kresheck, G C., Vanderkooi, G , *Biochim Biophys. Acta*, **535**, 334 (1978),
- [25] Kamenka, N , Hauche, G , Faucompre, B , Brun, B , Lindman, B , *J Colloid Interface Sci* , **108**, 451 (1985)
- [26] Keily, H J , *J Phys. Colloid Chem* , **52**, 130 (1948)
- [27] Klevens, H B , *J Phys Colloid Chem* , **52**, 130 (1948)
- [28] Klevens, H B , *J Am Oil Chem Soc* , **30**, 74 (1953)
- [29] Kresheck, G. C , Hargraves, W A , *J Colloid Interface Sci* , **48**, 481 (1974)
- [30] Kresheck, G C , Hargraves, W A , Mann, D C , *J Phys Chem* , **81**, 532 (1977)
- [31] Kresheck, G. C , Jones, C , *J Colloid Interface Sci* , **77**, 278 (1980)
- [32] Kresheck, G C , Kale, K , Vallone, M , *J Colloid Interface Sci.*, **73**, 460 (1980),
- [33] Kresheck, G C , Long, H B , *Colloid and Surfaces*, **30**, 133 (1988)
- [34] Kresheck, G C., Ninsgern, R A , *Chem Phys Lipids*, **33**, 55 (1983)
- [35] Kuczera, J , [in:] "Biophysics of Membrane Transport", (eds J Kuczera J Gabrielska, S Przestalski), Agricultural University, Wrocław, 1979, p 313
- [36] Kuczera, J , Fogt, A , Witek, S , *Studia Biophysica*, **128**, 169 (1988)
- [37] Kuczera, J , Gabrielska, J , Żyłka, R , Przestalski, S , Witek, S , Grobelny, D , *Studia Biophysica*, **96**, 203 (1983)
- [38] Kuczera, J., Janas, T , Przestalski, S , Witek, S , Oświęcimska, M , *Studia Biophysica* **105**, 167 (1985)
- [39] Kuczera, J , Kleszczyńska, H , Przestalski, S , Witek, S , *ESNA News Letter WG7*, 21 (1982)
- [40] Kuczera, J , Żyłka, R , *Studia Biophysica*, **75**, 79 (1979)
- [41] Linde, H W , Rogers, L B , Hume, D N , *Anal Chem* , **25**, 404 (1953)
- [42] Lindman, B., Puyal, M C , Kamenka, N , Brun, B , Gunnarsson, G , *J Phys. Chem* **86**, 1702 (1982)
- [43] Lichtenberg, D , *Biochim Biophys. Acta*, **821**, 470 (1985)
- [44] Marchelli, R , Dradi, E , Casnati, G , *Tetrahedron*, **38**, 2061 (1982)
- [45] McBain, J. W., McHan, H , *J Am Chem Soc* , **70**, 3838 (1948)
- [46] Miyagishi, S , Ishibai, Y , Asakawa, T , Nishida, M , *J. Colloid Interface Sci* , **103**, 164 (1985)
- [47] Mukerjee, P., *Adv. Colloid Interface Sci.*, **1**, 241 (1967)
- [48] Muller, N , Platko, F. E , *J Phys Chem* , **75**, 547 (1971)
- [49] Mysels, K J , Princen L H , *J Phys Chem* , **63**, 1696 (1959)
- [50] Ottaviani M F , Baglloni, P , Martini, G., *J. Phys Chem* , **87**, 3146 (1983)
- [51] Parreira, H. C , Lukenbach, E R , Lindemann, M K O , *J Am Oil Chem. Soc.*, **56** 1015 (1979)
- [52] Podolak, M., Pawluk, M , Różycka-Roszak, B , Witek, S , Przestalski, S., *Studia Biophysica*, **128**, 63 (1988)
- [53] Przestalski, S , Kuczera, J , Gabrielska, J , Schara, M , Witek, S , Żyłka, P *Periodicum Biologorum*, **85**, 116 (1983)
- [54] Przestalski, S , Kuczera, J , Hładyszowski, J , Różycka-Roszak, B , [in] "Biophysics of Membrane Transport", (ed J. Kuczera, S. Przestalski), Agricultural University

Wrocław 1988, p 87

- [55] Przestalski, S , Hendrich, A , Witek, S , *Studia Biophysica*, **116**,19 (1986)
- [56] Ralston, A W , Eggenberger, D N , Du Brow, P L , *J Am Chem Soc* , **70**, 997 (1948)
- [57] Ralston, A W , Eggenberger, D N , Harwood, H J , Du Brow, P L , *J Am Chem Soc* , **69**, 2095 (1947)
- [58] Ralston, A W , Eggeberger, D N , Harwood, H J , *J Am Chem Soc* , **71**, 672 (1949)
- [59] Rao U R K , Manohar, C , Valaulikar, B S , Iyer, R M , *J Phys Chem* **91**, 3286 (1987)
- [60] Rosenholm, J B , *Colloid Polym Sci* , **259**,1116, (1981)
- [62] Rózycka-Roszak, B , Walkowiak, U , Witek, S , Przestalski, S , *Colloid Interface Sci* , 131, 181 (1989)
- [63] Rózycka-Roszak, B , Przestalski, S , Witek, S , *J Colloid Interface Sci.*, **125**, 80 (1988)
- [64] Rozycka-Roszak, B , *J Colloid Interface Sci* , (in press)
- [65] Rucka, M , Osiewiczimska, M., Witek, S , *Environ Prot Eng* , **9**, 25 (1983)
- [66] Sarapuk, J , Przestalski, S , Witek, S , Vucelic, D , *Studia Biophysica*, **100**, 113 (1984)
- [67] Sarapuk, J , Oświęcimska, M , Witek, S , *Studia Biophysica* **84**, 167 (1981)
- [68] Shinoda, K , Nakagawa, T , Tamamushi, B , Isemura, T , "Colloid Surfactants", Academic Press, New York, 1963
- [69] Soderman, O , Guering, P , *Colloid Polymer Sci.*, **265**, 76 (1987)
- [70] Stenius, P , Backlund, S , Ewall, P , [in:] "Thermodynamic and Transport Properties of Organic Salts", IUPAC, Chemical data series No 28, Pergamon Press, Oxford, (1980) p 295
- [71] Tanford, C H , "The hydrophobic effect formation of micelles and biological membranes", Wiley-Interscience, New York, 1980
- [72] Weil, J K , Stirton, A J , *J Phys Chem* , **60**, 899 (1956)
- [73] Witek, S , Grobelny, D , Ptaszkowska, J , Bielecki, A , Bakuniak, E , Fulde, S , Gorska-Poczopko, J , *Belg Pay No 864782* (1978)
- [74] Yamada, K , Kometani, K , *J Biochem* , **92**, 1505 (1982)