

## UMA ACELERAÇÃO NOTÁVEL NA VELOCIDADE DE TIÓLISE DE ÉSTERES PRODUZIDA POR VESÍCULAS DE ANFIFÍLICOS SINTÉTICOS

Iolanda M. Cuccovia\*, Frank H. Quina\*\* e Hernan Chaimovich\*

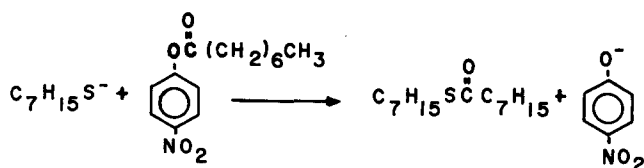
*Departamentos de Bioquímica\* e Química Fundamental\*\* do  
Instituto de Química da Universidade de São Paulo,  
São Paulo, S. P., BRASIL*

(Recebido em 28/10/82)

As propriedades de agregados formados por anfifílicos sintéticos de fórmula geral  $\frac{R_1}{R_2} > Y$  ( $R_1 = R_2 = C_{12-18}$ ;  $H_{25-37}$  e  $Y$  tipicamente =  $PO_4^-$  ou  $-N^+CH_3$ ) vem atraindo interesse crescente nos últimos anos<sup>1,2</sup>. A estrutura dos agregados formados por estes anfifílicos é comparável às formadas por fosfolipídeos em solução aquosa, destacando-se vesículas uni- e multilamelares<sup>3-5</sup> bem como outros tipos de estruturas em bicamada<sup>6</sup>. Estes sistemas estão sendo utilizados para investigar:

i. a relação entre a estrutura do monômero e as propriedades dos agregados<sup>7,8</sup>; ii, transferência de energia em sistemas dimensionalmente restritos<sup>9,10</sup>; iii, reatividade química em ambientes como os encontrados em sítio ativo de enzimas e membranas biológicas<sup>11,12</sup>.

Num trabalho recente descrevemos que a reação de tiólise de octanoato de p-nitrofenila (NPO) por *n*-heptil mercaptana (HM) (Reação I) é acelerada mais de um milhão de vezes por vesículas de cloreto de di-(*n*-octadecil) dimetilamônio (DODAC)<sup>13</sup>



Vesículas de DODAC preparadas<sup>12</sup> em tampão acetato foram aplicadas em colunas contendo peneira molecular (Sephadex G-25) e eluídas com o mesmo tampão. As vesículas eluem no volume vazio da coluna e o cloreto (contra-íon do DODAC) é detectado no volume interno. O acetato substitui completamente o cloreto no processo de preparação e filtração das vesículas.

A forma das curvas que relacionam  $pK_{ap}$  da HM com DODAC é dependente da natureza e da concentração dos íons presentes (Fig. 1). Estas curvas são descritas adequadamente pelo formalismo de troca iônica em micelas<sup>14</sup> que considera a associação da forma neutra da HM com as vesículas e as trocas iônicas ( $OH^-/Cl^-$ ;  $OH^-/Acetato$  e  $^-OH/mercapteto$ ) na superfície da vesícula. A análise do efeito de DODAC na constante de pseudo primeira ordem para a Reação I foi também feita utilizando o formalismo de troca iônica<sup>14</sup> que leva em conta os parâmetros utilizados na análise do  $pK_{ap}$  e as constantes de segunda ordem na água e na vesícula ( $k_2^0$  e  $k_2^v$ ). Da Figura 2 obtivemos, diretamente, o

valor máximo de  $k_{\psi}$  em presença de vesículas de DODAC ( $k_{\psi}^{MAX}$ ) a cada pH. A relação entre  $k_{\psi}^{MAX}$  e o valor da constante de pseudo-primeira ordem ( $k_{\psi}^0$ ) calculada para a fase aquosa, fornece o valor da aceleração em cada pH (Tabela I).

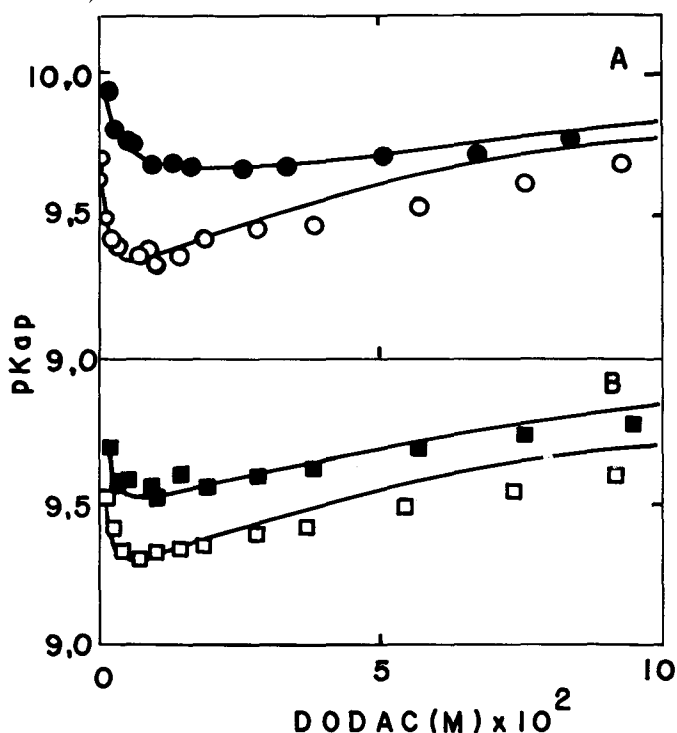


Figura 1. Efeito de vesículas de DODAC sobre o  $pK_{ap}$  de heptil mercaptana. A. Vesículas preparadas em Tampão Tris. HCl 0.02 M pH 9.1 (●); borato 0.01 M pH 9.3 (○); B. Tris acetato 0.02 M pH 9.05 (□) e Tris acetato 0.04 M pH 9.05 (■). As linhas são calculadas.

A simples demonstração de um aumento de um milhão de vezes na constante de velocidade de uma reação num modelo não-enzimático é pouco esclarecedora com relação a origem desta aceleração ou a sua relação com as velocidades obtidas na catálise por enzimas. Neste caso a aceleração é de tal magnitude que se faz essencial compreender a origem dos fatores que contribuem para a aceleração observada.

A velocidade da reação de tiólise de NPO por HM na presença de vesículas é a soma das velocidades de reação na fase aquosa (determinada pela constante de velocidade na fase aquosa e a concentração dos reagentes nessa fase) e a velocidade na "fase" vesicular (determinada pela constante

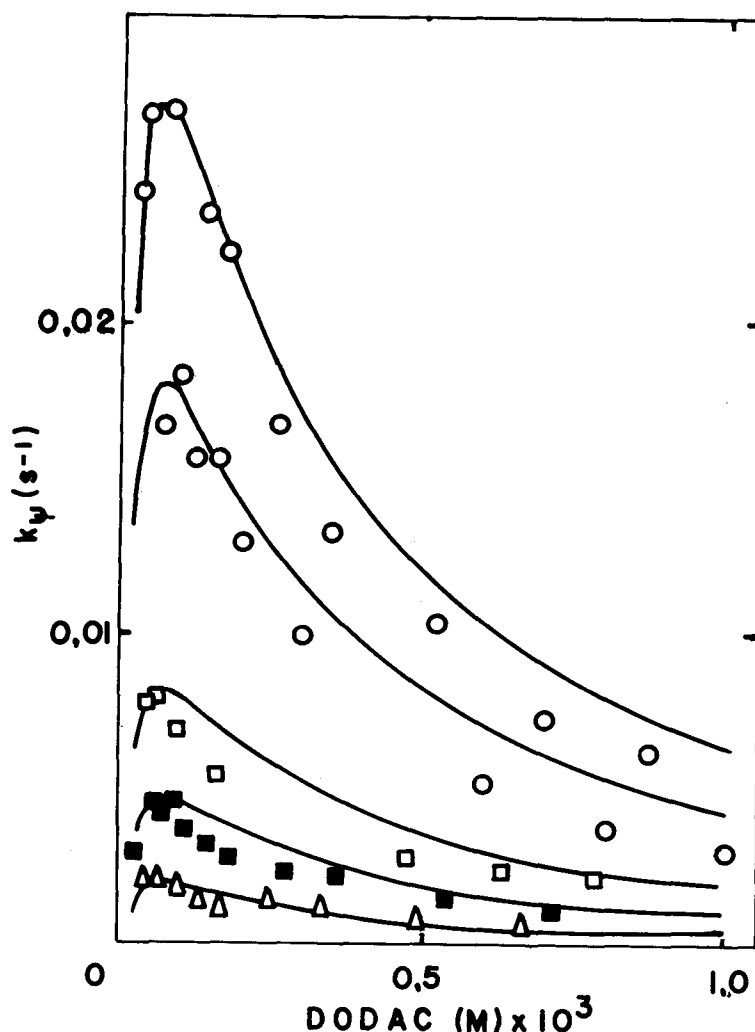


Figura 2. Efeito de vesículas de DODAC na tiólise de octanoato de p-nitrofenila ( $5 \times 10^{-6}$  M) por heptil mercaptana ( $5 \times 10^{-5}$  M). Tampão acetato 0,01 M pH's 4,0 ( $\Delta$ ); 4,6 ( $\blacksquare$ ); 5,0 ( $\square$ ); 5,35 ( $\bullet$ ) e 5,6 ( $\nabla$ ). Todas as curvas são calculadas.

e a concentração *local* dos reagentes na fase). Desde que a fração de volume ocupado pelas vesículas é pequena<sup>15</sup> e o NPO e HM devem se solubilizar preferencialmente na bicamada da vesícula<sup>16</sup>, a concentração *local* de reagentes na vesícula pode ser ordens de magnitude maior que na fase aquosa. Assim, para uma reação bimolecular em que o coeficiente de partição dos dois substratos seja da ordem de  $10^3$ , a velocidade da reação será  $\sim 10^6$  vezes maior na presença de  $10^{-4}$  M DODAC simplesmente devido a concentração dos substratos na vesícula.

Utilizando os parâmetros derivados da análise quantitativa do efeito de vesículas de DODAC sobre o  $pK_{ap}$ , e a teoria de troca iônica<sup>14</sup> demonstramos que os valores calculados para a constante intrínseca de velocidade de tiólise na fase vesicular são somente 15 vezes maiores que a constante de velocidade na fase aquosa (Tabela I). Portanto, o fator de aceleração mais importante é, de fato, um efeito de concentração local de reagentes.

Se bem que a relação entre acelerações de velocidade obtida em agregados de anfifílicos e os dados cinéticos para enzimas não seja simples nem direta os resultados deste trabalho têm relevância para a compreensão do papel dos fatores entrópicos na catálise enzimática. Assim, a análise dos

dados cinéticos para o modelo apresentado demonstra que ainda no caso de ligação pouco específica de substrato, aumentos de velocidade consideráveis podem provir da concentração dos componentes de uma reação bimolecular num ambiente dimensionalmente restrito.

TABELA 1. Efeito de vesículas de DODAC sobre a velocidade de tiólise de octanoato de p-nitrofenila por heptil mercaptana.

pH	$k_{\psi}^{\max}$ ( $s^{-1}$ ) $\times 10^3$	$k_{\psi}^{\circ}$ ( $s^{-1}$ ) $\times 10^9$	Aceleração ( $k_{\psi}^{\max}/k_{\psi}^{\circ}$ )
4,0	2,3	0,3	$7,7 \times 10^6$
4,35	3,9	0,67	$5,8 \times 10^6$
4,60	4,7	1,20	$3,9 \times 10^6$
5,0	8,0	3,0	$2,7 \times 10^6$
5,35	18,4	6,70	$2,7 \times 10^6$
5,60	27,0	11,9	$2,3 \times 10^6$

#### AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado, em parte pelo CNPq e a FAPESP. IMC é bolsista de pós-doutoramento da FAPESP e FHQ pesquisador do CNPq. Os autores agradecem a excelente ajuda secretarial da Sra. Urânia M. I. Ávila.

#### REFERÊNCIAS:

- J. H. Fendler, *Acc. Chem. Res.* 13, 7 (1980).
- R. MC Neil e J. K. Thomas, *J. Coll. Interface Sci.*, 73, 522 (1980).
- R. A. Mortara, F. H. Quina e H. Chaimovich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 81, 1080 (1978).
- T. Kunitake e Y. Okahata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 51, 1877 (1978).
- T. Kunitake e Y. Okahata, *J. Am. Chem. Soc.* 99, 3860 (1977).
- T. Kunitake, Y. Okahata, K. Tamaki, F. Kumamaru e M. Takayanagi, *Cyem. Lett.*, 387 (1977).
- T. Kunitake e Y. Okahata, *Chem. Lett.*, 1337 (1977).
- T. Kunitake e Y. Okahata, *J. Amer. Chem. Soc.*, 99, 3860 (1977).
- Nomura, Kunitake, J. R. Escabi-Peres, J. Sunamoto, e J. H. Fendler, *J. Amer. Chem. Soc.*, 102, 1484 (1980).
- P. P. Infelta, M. Grätzel, J. H. Fendler, *J. Amer. Chem. Soc.*, 102, 1479 (1980).
- Y. Y. Lim e J. H. Fendler, *J. Am. Chem. Soc.*, 101 4023 (1980).
- I. M. Cuccovia, R. M. V. Aleixo, R. A. Mortara, P. Berci, J. B. S. Bonilha, F. H. Quina e H. Chaimovich, *Tetrahedron Lett.*, 3065 (1979).
- I. M. Cuccovia, F. H. Quina e H. Chaimovich, *Tetrahedron*, 38, 917 (1982).
- F. H. Quina e H. Chaimovich, *J. Phys. Chem.*, 83, 1844 (1979).
- Y. Y. Lim e J. H. Fendler, *J. Am. Chem. Soc.*, 101, 4023 (1975).
- H. Chaimovich, R. M. V. Aleixo, I. M. Cuccovia, D. Zanette e F. H. Quina, *Solution Behavior of Surfactants Theoretical and Applied Aspects* (Editado por E. J. Fendler e K. C. Mittal), Plenum Press (1982).