



УДК 547.953 + 547.96

**ВОДНО-ЛЕЦИТИНОВЫЕ МИЦЕЛЛЫ В ГЕПТАНЕ
И ИХ МОДИФИКАЦИЯ ВАЛИНОМИЦИНОМ***Соколова А. Е., Шагина Л. В., Малев В. В.,
Грачева О. А.**Институт цитологии Академии наук СССР, Ленинград;
Ленинградский государственный университет им. А. А. Жданова*

Установлено, что при уравнивании гептановых растворов лецитина с водой (или водными растворами пикратов и хлоридов щелочных металлов) в неполярной фазе происходит образование водно-лецитиновых мицелл. Проведен теоретический анализ кинетики входа воды в мицеллы. Полученные уравнения позволяют найти размеры водно-лецитиновых мицелл. Расчеты показывают, что радиус водного ядра мицеллы равен 156 Å, а ее оболочка образована $3 \cdot 10^4$ молекулами лецитина, упакованными в три последовательных слоя (одна бислой, один монослой). Введение валиномицина в исследуемые системы, не меняя содержания воды в мицеллах, значительно увеличивает вход электролита в их липидную оболочку. S-образный характер зависимости экстракции пикратов от концентрации валиномицина объясняется кооперативной перестройкой структуры лецитиновой оболочки мицелл. Для инициирования фазового перехода достаточно 30 молекул валиномицина на одну мицеллу.

Открытие высокоселективных комплексонов, таких, как валиномицин, в значительной степени стимулировало развитие исследований по выяснению механизма ионной проницаемости искусственных фосфолипидных мембран [1—3]. Наблюдавшиеся закономерности индуцированного комплексоном ионного транспорта обычно объяснялись с позиций теории подвижного переносчика, в основе которой лежит представление об образовании комплекса ион — ионофор, а специфическое взаимодействие комплекса с мембраной, как правило, не учитывается.

Нами было установлено, что введение валиномицина в систему, содержащую водно-лецитиновые мицеллы, приводит к изменению структуры их липидной оболочки [4]. Поэтому настоящая работа посвящена подробному изучению мицеллообразования в системе лецитин — гептан — вода и свойств водно-лецитиновых мицелл.

Процессы мицеллообразования лецитина в неполярных средах исследовались ранее [5, 6]. В частности, было установлено, что при концентрациях лецитина выше $0,73 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ в бензоле происходит образование мицелл, состоящих из 69—73 молекул лецитина. Можно было предположить, что аналогичные процессы агрегирования лецитина будут протекать и в гептане. Поскольку нами использовались двухфазные системы гептан — вода, можно было ожидать, кроме того, процесса сольубилизации воды мицеллами в органической фазе, приводящего к значительным изменениям критической концентрации мицеллообразования и размеров мицелл [7, 8].

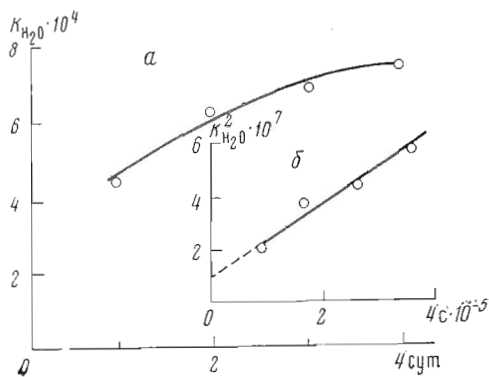


Рис. 1

Рис. 1. Кинетика накопления воды в гептановой фазе, содержащей лецитин ($c_{\text{Лес}}^* 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$): а — $K_{\text{H}_2\text{O}} = f(t)$, б — $K_{\text{H}_2\text{O}}^2 = f(t)$

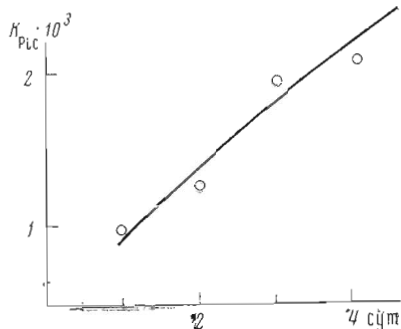


Рис. 2

Рис. 2. Зависимость коэффициента распределения пикрата калия от времени уравнивания фаз ($c_{\text{KPic}} 0,9 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $c_{\text{Лес}}^* 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$)

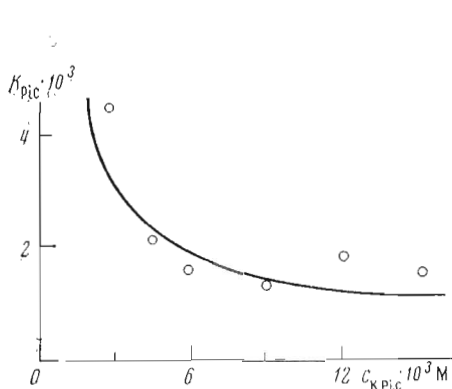


Рис. 3

Рис. 3. Зависимость коэффициента распределения пикрата калия от концентрации соли в водной фазе ($c_{\text{Лес}}^* 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, через 2 сут)

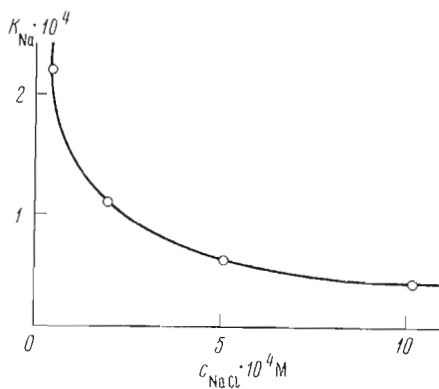


Рис. 4

Рис. 4. Коэффициент распределения NaCl как функция от концентрации соли в воде ($c_{\text{Лес}}^* 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, через 5 сут)

Наличие мицеллообразования в исследуемой нами системе было показано на основании измерения соотношения лецитин — вода в гептановой фазе. Из кинетических данных по накоплению воды в гептане, содержащем $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ лецитин (рис. 1), рассчитано, что в среднем на молекулу лецитина приходится 20 (и более с увеличением времени экстракции) молекул воды. Поскольку такая высокая степень гидратации лецитина представляется нереальной, естественно предположить образование в гептане водно-лецитиновых мицелл, состоящих из водного ядра и лецитиновой оболочки. Увеличение во времени содержания воды в гептане, наблюдающееся на опыте (рис. 1), связано с тем, что в результате соударений мицеллы могут слипаться или частично обмениваться липидным материалом. Если вход воды в мицеллы не лимитирует процесс их укрупнения, увеличение липидного запаса мицелл после соударения дает возможность увеличить и их водный объем. Как показано в теоретической части работы, подобный механизм экстракции воды согласуется с наблюдаемыми экспериментальными фактами, приведенными на рис. 1, б в координатах $K_{\text{H}_2\text{O}}^2 = f(t)$.

Установив наличие мицеллообразования в исследуемой системе, мы приступили к изучению свойств водно-лецитиновых мицелл, с тем чтобы оценить их размеры и выяснить их структуру. Была исследована зависимость экстракции пикратов и хлоридов щелочных металлов от времени уравнивания, концентрации электролита в воде и лецитина в гептане. На рис. 2 изображена типичная кривая зависимости коэффициента распределения аниона пикрата (K_{Pic}) от времени в системе, содержащей лецитин *. Введение электролита в систему практически не сказывается на кинетике накопления воды в гептановой фазе и, по-видимому, не меняет устойчивости формирующихся мицелл.

Из сопоставления результатов, представленных на рис. 1 и 2, следует, что экспериментальное значение величины K_{Pic}/K_{H_2O} (отношение мольной доли пикрата в мицеллах в расчете на содержащуюся в них воду к мольной доле пикрата в водной фазе) превышает единицу (до 5 раз). Это говорит о том, что электролит не только входит в водное ядро мицелл, но и в значительном количестве сорбируется их лецитиновой оболочкой.

Кривые зависимости коэффициентов распределения пикратов и хлоридов щелочных металлов от концентрации электролитов в воде (рис. 3 и 4) показывают, что характер зависимости $K_i = f(c_i)$ (i — сорт ионов) совпадает с найденным нами ранее при изучении индуцированной валиномицином экстракции хлоридов щелочных металлов в гептан [9]. Это позволяет предположить, что указанный вид концентрационной зависимости коэффициента распределения присущ мицеллярной экстракции. Вместе с тем экстракция пикрата калия в гептановую фазу прямо пропорциональна концентрации лецитина в гептане (рис. 5).

Исследование свойств водно-лецитиновых мицелл методом электропроводности [10] свидетельствует о том, что проводимость гептановой фазы, найденная из наклона начального участка вольт-амперной кривой (рис. 6), прямо пропорциональна толщине гептановой мембраны:

$$\lim_{U \rightarrow 0} I/U = g_V l,$$

(l — толщина гептановой мембраны, g_V — ее объемная проводимость). Это позволяет приписать проводимости омического участка кривой зависимости $I - U$ ее обычный смысл — меры концентрации носителей тока (мицелл) и их подвижности. Согласно данным работы [11], в случае мицеллярной природы носителей тока проводимость практически не зависит ни от концентрации электролита в водной фазе, ни от вида образующих его ионов. Аналогичные результаты были получены нами и для системы гептан — лецитин — вода.

Совокупность приведенных выше данных позволяет найти параметры водно-лецитиновых мицелл (метод расчета изложен ниже): общий радиус мицеллы 220 Å; радиус ее водного ядра 156 Å; водное ядро образовано $5,3 \cdot 10^5$ молекулами воды; липидная оболочка содержит $3 \cdot 10^4$ молекул лецитина, которые образуют три последовательных монослоя, т. е. один бислой и один монослой.

Так как экстракция солей в гептановую фазу, содержащую лецитин, несколько зависит от вида аниона ($K_{Pic}/K_{Cl} \approx 2$), что, вероятно, связано с большей гидрофобностью аниона пикрата по сравнению с анионом хлора (рис. 3 и 4), можно было ожидать, что перевод катиона в гидрофобную форму с помощью жирорастворимого комплексона, например, валиномицина, значительно увеличит экстракцию электролита в гептановую фазу. На первый взгляд это предположение оправдывается, так как при введении в систему валиномицина наблюдается увеличение экстракции пикрата

* Экстракция воды и использованных нами солей в гептан, не содержащий лецитина, пренебрежимо мала.

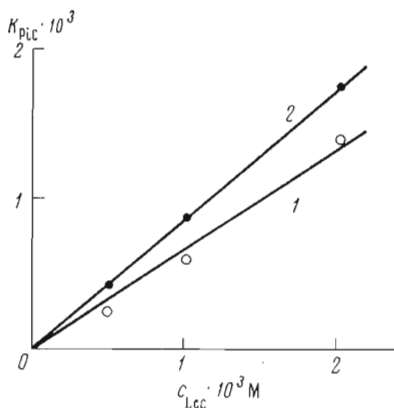


Рис. 5

Рис. 5. Зависимость коэффициента распределения пикрата калия от концентрации лецитина ($c_{\text{KPic}} 1,5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$) через 1 сут (1) и 2 сут (2)

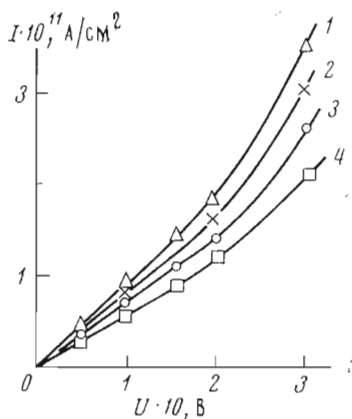


Рис. 6

Рис. 6. Вольт-амперные кривые гептановых мембран, содержащих $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ лецитина, при концентрации KCl 0,1 (1), 0,01 (2), 0,001 M (3) и концентрации NaCl 0,01 M (4)

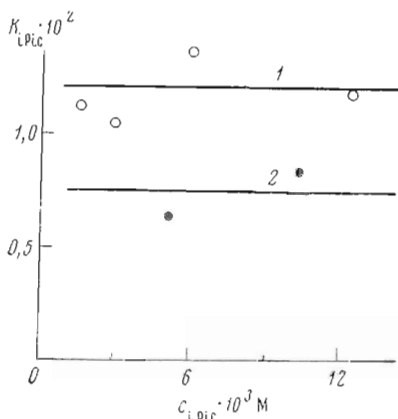


Рис. 7

Рис. 7. Экстракция пикратов калия (1) и натрия (2) из водных растворов, индуцированная валиномицином ($c_{\text{Vmi}} 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$)

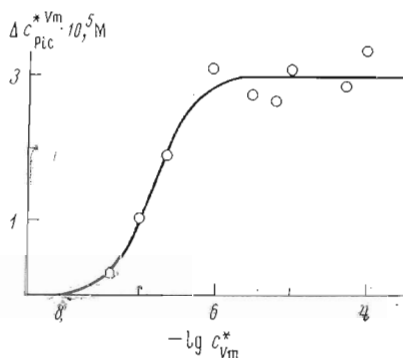


Рис. 8

Рис. 8. Зависимость индуцированного валиномицином входа пикрата калия в водно-лецитиновые мицеллы от концентрации антибиотика ($c_{\text{KPic}} 3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $c_{\text{Lec}}^* 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$)

калия (ср. рис. 7 и 3) *. Однако обнаруженное нами отсутствие калий-натриевой избирательности индуцированной валиномицином экстракции пикратов этих солей (рис. 7) не согласуется с данными об ионной селективности комплексообразования валиномицина [12]. Это обстоятельство заставило нас более детально изучить механизм действия валиномицина на водно-лецитиновые мицеллы в гептане.

Ранее было показано, что коэффициент распределения валиномицина между водой и гептаном примерно на порядок меньше его коэффициента распределения между водой и лецитином [13--15]. Поэтому практически весь введенный в систему валиномицин должен находиться в липидной

* Ретроэнантיוвалиномицин [12], использованный нами в качестве модификатора водно-лецитиновых мицелл, не вызвал аналогичного увеличения экстракции. По-видимому, это связано с конформационными особенностями данного аналога валиномицина.

оболочке мицелл и, следовательно, может изменять содержание электролита только в мицелле. Установлено, что присутствие валиномицина не приводит к изменению объема водной части мицелл (т. е. увеличение экстракции не связано с дополнительным входом электролита в водную часть мицеллы), поэтому естественно полагать, что увеличение экстракции происходит за счет внедрения ионов в липидные оболочки мицелл.

Для выяснения механизма индуцированной валиномицином экстракции пикратов мы исследовали ее зависимость от концентрации антибиотика. Оказалось, что она имеет S-образный характер, так что в диапазоне концентраций валиномицина от 10^{-6} до 10^{-4} М величина экстракции постоянна (рис. 8). С другой стороны, для тех же концентраций антибиотика наблюдается практически пропорциональная зависимость между увеличением экстракции пикрата и его концентрацией в водной фазе (рис. 7). Расчет молярного отношения пикрат — валиномицин ($\Delta c_{\text{Pic}}^{*V_m}/c_{V_m}^*$)*, который легко провести на основании данных, представленных на рис. 8, показывает, что отношение $\Delta c_{\text{Pic}}^{*V_m}/c_{V_m}^*$ больше единицы вплоть до концентраций валиномицина порядка $3 \cdot 10^{-5}$ М. С уменьшением концентрации антибиотика величина $\Delta c_{\text{Pic}}^{*V_m}/c_{V_m}^*$ растет, достигая значений 10 и 100 при $c_{V_m}^* \simeq 10^{-6}$ М и $c_{V_m}^* \simeq 10^{-7}$ М соответственно, т. е. увеличение экстракции пикрата не пропорционально количеству введенного в гептан валиномицина. Таким образом, из приведенных данных видно, что механизм индуцированного валиномицином входа пикратов в водно-лецитиновые мицеллы не связан с процессом комплексообразования ион — комплексон. Объяснить изложенные факты можно, допустив, что валиномицин вызывает изменение структуры лецитиновой оболочки мицелл, приводящее к внедрению в нее ионов. А именно, следует считать, что вход валиномицина в липидную оболочку мицелл вызывает переход структуры внутреннего лецитинового бислоя от ламеллярной к глобулярной (или смешанной), в результате которого в бислое образуются водные поры. Пикрат-анион может встраиваться в эти водные промежутки, вследствие чего резко увеличивается экстракция. Замена аниона пикрата на анион хлора приводит к исчезновению индуцированной валиномицином экстракции электролита. Вероятно, это связано с тем, что полярность возникающих водных пор мала для внедрения в них гидрофильных ионов (Cl^-).

Обнаруженный эффект индуцированной валиномицином перестройки лецитиновой оболочки мицелл позволяет независимым способом оценить размеры этих частиц. Естественно, что фазовый переход оболочки мицеллы не может вызываться одной молекулой антибиотика, для этого необходимо по крайней мере 10—100 молекул. Согласно рис. 8, фазовый переход завершается при молярном отношении валиномицин — лецитин, равном $1 : 10^3$. Поэтому вероятное содержание молекул лецитина в мицелле должно находиться в пределах 10^4 — 10^5 . Это значение хорошо согласуется с рассчитанным ($3 \cdot 10^4$) для мицелл, не содержащих валиномицина.

Изложенные результаты говорят о необходимости учета взаимодействия липидных структур с внедряющимися в них веществами. Аналогичный вывод может быть сделан и на основании приведенных в работе [16] данных об инициирующем фазовый переход лецитиновых структур эффекте бромтимолового синего. Не исключено, что установленное ранее [15] влияние валиномицина на калиевую проницаемость лецитиновых липосом при соотношении валиномицин — лецитин, равном $1 : 10^6$, обусловлено также фазовым переходом, индуцированным этим антибиотиком.

Экспериментальная часть

Гептан, содержащий лецитин (или лецитин и валиномицин), уравнивался с водой или водными растворами пикратов и хлоридов калия и

* V_m — валиномицин; индекс «*» приписывается компонентам в неполярной фазе.

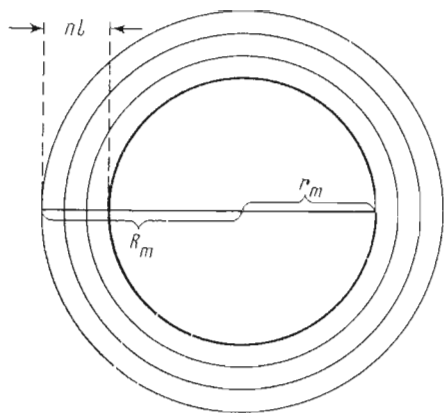


Рис. 9. Модель водно-лецитиновой мицеллы ($n = 3$)

γ -спектрометре с многоканальным анализатором. Проводимость гептановой фазы измерялась по описанной ранее методике [10].

В работе использовались соли: хлористый калий и натрий о. ч., пикраты калия и натрия, приготовленные из гидратов окисей соответствующих металлов и пикриновой кислоты; растворители: вода дистиллированная, *n*-гептан эталонный; препараты: лецитин яичный хроматографически чистый, валиномицин, ретроэнантיוвалиномицин (Институт биоорганической химии АН СССР им. М. М. Шемякина), $^3\text{H}_2\text{O}$, $^{22}\text{NaCl}$ конторы «Изотоп».

Обработка экспериментальных данных основывалась на теоретических представлениях, краткое изложение которых приведено ниже.

Предположим существование в неполярной фазе некоторого числа, $N_m(t)$, мицелл, размеры которых, ради простоты рассмотрения, будем считать одинаковыми, но зависящими от времени уравнивания фаз, t . Полагая мицеллу сферической (рис. 9), можем записать для ее внешнего радиуса, $R_m(t)$:

$$R_m(t) = r_m(t) + nl, \quad (1)$$

где $r_m(t)$ — радиус водного ядра мицеллы; $n = 2v + 1$ ($v = 0, 1, 2, \dots$) — нечетное число последовательных слоев лецитина в оболочке мицеллы; l — эффективная толщина монослоя.

Выражение для суммарного объема воды в неполярной фазе (т. е. в мицеллах), $V_{\text{H}_2\text{O}}^*(t)$, может быть просто связано с параметрами мицелл (r_m, N_m):

$$V_{\text{H}_2\text{O}}^*(t) = n_{\text{H}_2\text{O}}^m v_{\text{H}_2\text{O}} N_m(t) = \frac{4\pi}{3} r_m^3(t) N_m(t), \quad (2)$$

если пренебречь наличием водных прослоек между бислоями лифида. Вместе с тем для суммарного объема мицелл, V_m , справедливо

$$V_m(t) = V_{\text{H}_2\text{O}}^*(t) + n_{\text{Lec}}^m v_{\text{Lec}} N_m(t) = \frac{4\pi}{3} R_m^3(t) N_m(t). \quad (3)$$

В уравнениях 2 и 3 $n_{\text{H}_2\text{O}}^m, n_{\text{Lec}}^m$ — число молей воды и лецитина в мицелле соответственно; $v_{\text{H}_2\text{O}}, v_{\text{Lec}}$ — парциальные молярные объемы воды и лецитина*.

Если считать, что в ходе процесса укрупнения мицелл химические потенциалы всех компонентов системы (воды, лецитина и гептана) остаются

* Парциальные молярные объемы компонентов полагаются постоянными для водной и органической фаз.

натрия в течение 1—4 сут при 25° без предварительного встряхивания системы. Концентрацию воды в гептановой фазе устанавливали путем измерения β -излучения трития ($^3\text{H}_2\text{O}$) на установке «Mark II» (США). Коэффициенты распределения пикратов между органической и водной фазами рассчитывали, исходя из концентрации пикрата в гептановой фазе (c_{Pic}^g), определенной по величине оптической плотности при 356 нм и коэффициенту молярной экстинкции 14 200. УФ-спектры регистрировались на приборе «Specord UVVis» (ГДР). Концентрацию хлорида натрия в гептановой фазе определяли путем измерения γ -излучения изотопа ^{22}Na на

постоянными, то суммарная работа двухфазной системы должна быть равна нулю:

$$d \left[\sum_{i=1}^3 P_i^* V_i^* + \sum_{i=1}^3 P_i^w V_i^w + N_m \sigma 4\pi r_h^2 \right] = 0, \quad (4)$$

где P_i , V_i — давление и объем для i -го компонента; σ — межфазное натяжение в мицелле; r_h — радиус гиббсовской разделяющей поверхности для мицеллы; индексы «*» и «w» приписаны неполярной и водной фазе соответственно; нижние индексы «1», «2», «3» — воде, гептану и лецитину. Поскольку справедливы условия

$$dV_i^* = -dV_i^w, P_1^w = P_2^w = P_2^* \quad (4a)$$

и выражение для давления внутри мицеллы с учетом поправки на кривизну мицеллы имеет вид

$$P_1^* = \frac{2\sigma}{r_h} + P_2^*, \quad (4b)$$

уравнение 4 может быть переписано следующим образом:

$$\frac{dN_m}{N_m} = -\frac{2}{R} Q(R) dR, \quad (5)$$

где

$$Q(R) = \left[\frac{5R^3 - 3R^2 + 1}{5R^3 - 6R^2 + 6R - 2} \right], \quad R = \frac{r_h}{r_h - r_m} = \frac{r_h}{a}.$$

Функция $Q(R)$ при $R \geq 1$ практически не отличается от единицы, поэтому решением уравнения 5 в этой области значений R является

$$N_m R^2 \simeq A/a^2 \quad (6)$$

(A — постоянная интегрирования, $a = \text{const}$). Этот результат говорит о постоянстве суммарной разделяющей поверхности мицелл, т. е. неизменности поверхностной энергии, $\sigma N_m 4\pi r_h^2$, в ходе укрупнения мицелл. Существенным для получения этого важного следствия является сделанное при выводе уравнения 5 допущение о закреплённости положения разделяющей поверхности относительно водного ядра мицеллы, т. е. $r_h - r_m = a = \text{const}$. Из уравнения 6 для суммарного водного объема следует приближенное выражение

$$\frac{4\pi}{3} N_m r_m^3 \simeq \frac{A}{3} r_m \left[1 - \frac{2a}{r_m + 2a} \right], \quad (6a)$$

справедливое при $r_m > 3a$. Необходимо отметить, что соотношения 6 и 6a могут быть получены лишь на основании уравнений 1–3 при $r_m > > 6$ ($R_m - r_m$). В этом случае a в уравнении 6a следует считать практически равным нулю. Вместе с тем из выражения 6a следует, что отклонения зависимости содержания воды в неполярной фазе от пропорциональной радиусу мицелл могут оказаться незначительными даже при соизмеримости внешнего (R_m) и водного (r_m) радиусов мицеллы. Установленное соотношение между количеством мицеллярной воды и водным радиусом мицелл (уравнение 6a) позволяет перейти к рассмотрению кинетики укрупнения мицелл. Для этого можно использовать хорошо известные представления о коагуляции коллоидов [17]. В частности, предполагая, что медленной стадией процесса укрупнения является столкновение между мицеллами, кинетику изменения их числа можно описать уравнением Смо-

луховского:

$$\frac{dN_m}{dt} = -8\pi D_m R_m p N_m^2, \quad (7)$$

при написании которого учитываются только бинарные соударения мицелл и их слипание считается необратимым процессом. Множитель $8\pi D_m R_m$ в уравнении 7 дает вероятность встречи двух мицелл (D_m — коэффициент диффузии мицеллы) и в указанное уравнение введен фактор p — вероятность акта слипания после столкновения. Используя для D_m уравнение Стокса, можем переписать уравнение 7 в виде

$$\frac{dN_m}{dt} = -\frac{4kT}{3\eta} p N_m^2, \quad (7a)$$

где η — вязкость растворителя (гептана).
В качестве начального условия положим

$$N_m(0) = N_m^{0*} \quad \text{при } t = 0. \quad (7б)$$

Решением уравнения 7 при допущении о независимости p от размера мицеллы служит

$$N_m(t) = N_m^0 \left/ \left[1 + \frac{4kT}{3\eta} p N_m^0 t \right] \right.$$

Для коэффициента распределения воды между гептановой и водной фазами с учетом выражения 6а получаем

$$[K_{\text{H}_2\text{O}}(t)^2] = K_{\text{H}_2\text{O}}^{0^2} \left(1 + \frac{4kT}{3\eta} p N_m^0 t \right). \quad (8)$$

Уравнение 8 справедливо для не слишком малых времен от начала уравновешивания [17] и при наличии неравенства $r_m > 3a$ (см. уравнение 6а).

Экспериментальные данные по кинетике накопления воды в гептане (рис. 1, а) были обработаны согласно уравнению 8 и представлены на рис. 1, б. На основании приведенных на этом рисунке данных можно говорить о соответствии эксперимента изложенной теории.

Чтобы рассчитать параметры мицеллы, необходимо привлечь данные по проводимости гептановых мембран с лецитином. Выражение для сопротивления (R_l) таких мембран, имеющих поверхность контакта с водной фазой 1 см^2 , дается уравнением

$$R_l = \frac{kT}{e^2} \frac{l_m}{D_m \sum_i z_i^2 N_i},$$

где N_i — количество мицелл, обладающих зарядом ez_i ($\sum_i N_i = N_m$). Полагая в качестве нулевого приближения все $|z_i|$ одинаковыми и равными z_m , получаем

$$R_l = \frac{kT}{e^2} \frac{l_m}{D_m z_m^2 N_m} = \frac{6\pi\eta l_m R_m}{e^2 z_m^2 N_m}. \quad (9)$$

В приведенном уравнении R_m можно положить равным R_m^0 и $N_m - N_m^0$, что с учетом оценочного характера подобных вычислений не является существенным. Подстановка в уравнения 8 и 9 экспериментальных значений $K_{\text{H}_2\text{O}}(t)$ и R_l позволяет после несложных выкладок получить следующие выражения:

* Далее верхний индекс «0» приписывается начальным значениям переменных (при $t = 0$).

1) для исходного количества мицелл в гептене

$$N_m^0 = 3\pi^{1/2} \left[\frac{\eta l_m}{e^2 z_m^2 R_l} \right]^{3/4} [2n_{\text{Lec}}^m \nu_{\text{Lec}} N_m^0]^{1/4} \left[1 + \frac{V_{\text{H}_2\text{O}}^0}{N_m^0 n_{\text{Lec}}^m \nu_{\text{Lec}}} \right]^{1/4}, \quad (10a)$$

2) для внешнего и внутреннего радиусов мицеллы

$$R_m^0 = 2^{3/4} \pi^{-1/2} \left[\frac{e^2 z_m^2 R_l n_{\text{Lec}}^m \nu_{\text{Lec}} N_m^0}{\eta l_m} \right]^{1/4} \left[1 + \frac{V_{\text{H}_2\text{O}}^0}{N_m^0 n_{\text{Lec}}^m \nu_{\text{Lec}}} \right]^{1/4}, \quad (10б)$$

$$r_m^0 = \left[\frac{3V_{\text{H}_2\text{O}}^0}{4\pi N_m^0} \right]^{1/3},$$

3) для количества молей воды и лецитина в мицелле

$$n_{\text{H}_2\text{O}}^m = \frac{V_{\text{H}_2\text{O}}^0}{\nu_{\text{H}_2\text{O}} N_m^0}, \quad n_{\text{Lec}}^m = \frac{n_{\text{Lec}}^m N_m^0}{N_m^0} = \frac{c_{\text{Lec}}^*}{N_m^0}, \quad (10в)$$

4) для числа ионов в расчете на мицеллу

$$N_A n_{\text{Pic}}^m = \frac{K_{\text{Pic}}}{K_{\text{H}_2\text{O}}} n_{\text{H}_2\text{O}}^m N_A, \quad (10г)$$

где N_A — число Авогадро.

Оценку параметров системы проведем с точностью до z_m . Положим, $|z_m| = 1$, что дает $N_m^0 \simeq 2 \cdot 10^{13}$ мицелл/см³; $R_m^0 \simeq 220$ Å; $n_{\text{H}_2\text{O}}^m \simeq 9 \cdot 10^{-19}$ М; $n_{\text{Lec}}^m \simeq 5 \cdot 10^{-20}$ М; $r_m^0 = 156$ Å и $N_A n_{\text{Pic}}^m \simeq 3 \cdot 10^2$ ионов.

Для расчета приведенных значений параметров использовались следующие экспериментальные данные: $c_{\text{Lec}}^* = 10^{-3}$ М; $V_{\text{H}_2\text{O}}^0 = 3,16 \cdot 10^{-4}$ см³; $l_m = 0,3$ см; $\nu_{\text{Lec}} = 6,02 \cdot 10^2$ см³/М*; $R_l = 1,1 \cdot 10^{10} \Omega \cdot \text{см}^2$; $K_{\text{Pic}} = 1 \cdot 10^{-3}$ (при $C_{K_{\text{Pic}}} = 9 \cdot 10^{-3}$ М); табличные значения заряда электрона, e , и вязкости гептана, η .

Полагая мицеллу практически электронейтральной ($|z_m| \ll N_A n_{\text{Pic}}^m$) [19], получаем на основании найденного содержания ионов в мицелле оценку ее заряда: $|z_m| < 30$, что оправдывает сделанное выше предположение о малости $|z_m|$. Как следует из уравнения 10б, отличие $|z_m|$ от единицы при $|z_m| < 10$ не будет вносить существенных изменений в величину эффективного радиуса мицелл, R_m^0 . Оценка минимальных размеров мицелл, которая была проведена при допущении о монослойности лецитиновой оболочки мицелл, приводит к величине радиуса их водного ядра 40 Å. Эта величина лишь в четыре раза меньше приведенной выше (156 Å). Поскольку число мицелл обратно пропорционально квадрату их водного радиуса (см. уравнение 6), то минимально возможным значением $|z_m|$ является 0,125. Таким образом, область изменения эффективного заряда мицелл $0,125 < |z_m| < 30$ содержит использовавшееся в расчетах значение $|z_m| = 1$. Вместе с тем установленная узость области возможных значений $|z_m|$ обеспечивает удовлетворительную точность определения параметров мицелл. Зная величину n_{Lec}^m , можно найти и число монослоев лецитина в оболочке мицеллы, n : $n = \frac{R_m^0 - r_m^0}{l} \simeq 3$ при $l = 25$ Å.

Авторы признательны А. А. Лёву за обсуждение результатов работы.

* За неимением данных о размерах молекулы лецитина в расчете использовались значения парциального молярного объема для дипальмитоиллецитина [16], что с учетом площади, занимаемой молекулой лецитина в монослой (40 Å²) [18], дает $l = 25$ Å.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лев А. А., Бужинский Э. П. (1968) Цитология, 9, 102—106.
2. Mueller P., Rudin D. O. (1967) Biophys. Biochem. Res. Commun., 26, 398—404.
3. Tosteson D. C., Andreoli T. E., Tieffenberg M., Cook P. (1968) J. Gen. Physiol., 31, 373—384.
4. Соколова А. Е., Щагина Л. В., Малев В. В. (1976) Цитология, 18, № 6, 710—713.
5. Elworthy P. H. (1959) J. Chem. Soc., 813—818.
6. Elworthy P. H. (1959) J. Chem. Soc., 1955—1956.
7. Singletery C. R. (1955) J. Amer. Oil Chemists Soc., 32, 466—489.
8. Шикода К., Накагава Т., Тамамуси Б., Исемура Т. (1966) Коллоидные и поверхностно-активные вещества, «Мир», М.
9. Соколова А. Е., Щагина Л. В., Малев В. В., Лев А. А. (1976) Биоорган. химия, 2, 498—505.
10. Lev A. A., Malcev V. V., Osipov V. V. (1973) in Membranes a series of advances (Eisenman G., ed.), v. 2, pp. 479—529, Dekker M., N. Y.
11. Лев А. А., Соколова А. Е., Осипов В. В., Махлина Е. Е. (1972) в сб. Биофизика мембран, т. II, с. 259—271, Каунас.
12. Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Шкроб А. М. (1974) Мембрано-активные комплексоны, с. 22, «Наука», М.
13. Готлиб В. А. (1973) в сб. Структура, функция и реактивность клеток, с. 72—73, «Наука», Л.
14. Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Шкроб А. М. (1974) Мембрано-активные комплексоны, с. 11, «Наука», М.
15. Johnson S. M., Bangham A. D. (1969) Biochim. et biophys. acta, 193, 82—91.
16. Träuble H. (1972) in Biomembranes (Manson L. A., ed.), v. 3, pp. 197—227.
17. Левич В. Г. (1959) Физико-химическая термодинамика, с. 212—216, Физматиздат, М.
18. Финнеан Дж. (1970) Биологические ультраструктуры, с. 237—240, «Мир», М.
19. Соколова А. Е., Малев В. В., Лев А. А. (1973) в сб. Биофизика мембран, с. 581—586, Каунас.

Поступила в редакцию
11.VIII.1975

После переработки
18.XII.1975

WATER-LECITHIN MICELLES IN HEPTANE AND THEIR MODIFICATION CAUSED BY VALINOMYCIN

SOKOLOVA A. E., SUCHAGINA L. V., MALEV V. V.,
GRACHEVA O. A.

*Institute of Cytology, Academy of Sciences of the USSR,
Leningrad and A. A. Zhdanov State University, Leningrad*

It has been established that water-lecithin micelles in heptane are formed at equilibration of heptane solutions of lecithin with water phase (or with aqueous solutions of the alkali metal chlorides and picrates). The theoretical analysis of kinetics of water extraction allows to evaluate the size of water-lecithin micelles. The radius of water nucleus of micelle is 156 Å, lecithin shell being formed by $3 \cdot 10^4$ lecithin molecules packed up in three successive layers (one monolayer and one bilayer). The addition of valinomycin to these systems does not alter the water content in micelles, but considerably increases the salt content in the lipid shell of micelles. The characteristic S-shape dependence of picrate extraction on the valinomycin concentration is explained in terms of cooperative change in the structure of lecithin shell of micelles. The phase transition is initiated by thirty valinomycin molecules per one micelle.