

УДК 541.128

КАТАЛИЗ ЦИКЛОАМИЛОЗАМИ *

Д. У. Гриффитс, М. Л. Бендер

Рассматриваются физические и химические свойства циклических олигосахаридов — циклоамилоз, наиболее интересным из которых является способность образовывать соединения включения с различными органическими субстратами. Обсуждена геометрия этих комплексов и силы взаимодействия, связывающие циклоамилозы с субстратами. Включение органических соединений в полость циклоамилозы оказывает значительное влияние на их реакционную способность. Предложены возможные механизмы катализа циклоамилозами. Отмечена стереоспецифичность влияния циклоамилоз на органические реакции. Характер каталитического действия циклоамилоз очень близок к энзиматическому катализу, что позволяет использовать их как модели ферментов. Библиография — 97 ссылок.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	1555
II. Физические свойства циклоамилоз	1557
III. Реакции, в которых циклоамилозы образуют ковалентные связи	1564
IV. Нековалентный катализ циклоамилозами	1578
V. Каталитические свойства модифицированных циклоамилоз	1589

I. ВВЕДЕНИЕ

Среди множества гетерогенных и гомогенных катализаторов, ускоряющих химические реакции, циклоамилозы занимают особое место. Катализ может осуществляться различными соединениями, например, ионами гидрония, гидроксил-ионами, общими кислотами, общими основаниями, нуклеофилами и электрофилами. Иногда более эффективный катализ наблюдается при сочетании нескольких видов катализаторов, как это имеет место в мультиплетном и внутримолекулярном катализе, или при катализе за счет комплексообразования. Только в последнем случае можно обнаружить качества действительно эффективной каталитической системы, а именно, быстроту и избирательность. По аналогии с молекулярными ситами, избирательность обусловлена стереоспецифичностью комплексообразования, а высокая скорость реакции обеспечивается правильной стереохимией внутри комплекса. Среди простых химических соединений циклоамилозы более всего удовлетворяют этим требованиям.

Катализ любого вида может быть обусловлен предварительной ассоциацией катализатора с субстратом¹. Отличительной особенностью катализа циклоамилозами, которая обеспечивает каталитическую избирательность, является комплексообразование с субстратом в определенном участке молекулы циклоамилозы. Таким образом, катализ циклоамилозами является результатом предварительного равновесного комплексообразования с субстратом в этом «активном центре» с последующим в некоторых случаях внутрикомплексным взаимодействием субстрата с функциональными группами молекулы циклоамилозы.

* *Advances in Catalysis*, 23, 209—261 (1973). Перев. с англ. Г. В. Рутковского.

II. ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЦИКЛОАМИЛОЗ

1. Получение и номенклатура

Циклоамилозы являются гомологическим рядом олигосахаридов, которые получают действием амилазы *Bacillus pascuans* на крахмал. Хотя первым их открыл Виллерс², детальное исследование получения, выделения и свойств этих соединений осуществлено Шардингером³⁻⁵. Метод, предложенный Шардингером, усовершенствован Френчем⁶, работы которого во многом расширили наши знания о циклоамилозах. Имеется несколько превосходных обзоров, посвященных этим необычным соединениям⁶⁻¹⁰, и поэтому здесь их структура и физические свойства будут рассмотрены кратко с упором на данные последних исследований.

Как следует из названия, циклоамилозы представляют собой макроциклические полимеры глюкозы. Они содержат не менее шести *D*-(+)-глюкопиранозных звеньев, соединенных α -(1,4)-связями. Хотя выделены циклоамилозы, содержащие до двенадцати остатков глюкозы^{11, 12}, детально исследованы лишь первые три члена ряда. Они называются циклогексаамилоза, циклогептаамилоза и циклооктаамилоза и содержат соответственно шесть, семь и восемь остатков глюкозы*. В отличие от нециклических аналогов, циклоамилозы не содержат ни восстанавливающих, ни невосстанавливающих концевых групп. Они устойчивы в щелочных растворах, и до некоторой степени устойчивы к кислотному гидролизу и гидролизу в присутствии α - и β -амилоз.

2. Структура

Структура и стереохимия циклогексаамилоз точно установлены рентгеноструктурным анализом¹³. Хотя рентгеноструктурные исследования циклогептаамилоз и циклооктаамилоз незавершены, имеющиеся данные¹⁴⁻¹⁷ позволяют предполагать, что и эти два члена гомологического ряда обладают структурными особенностями, характерными для циклогексаамилоз. Таким образом, они представляют собой молекулы в форме бублика, в которых все глюкозные фрагменты находятся в почти неискаженной *C1(D)*-конформации (кресло). В результате такого расположения внутренняя часть полости (отверстия бублика) как бы выстлана гликозидными атомами кислорода, каждый из которых окружен четырьмя C—H-группами (C(3) и C(5) в каждом остатке глюкозы). Открытые концы отверстия окружены с одной стороны первичными гидроксильными группами при атомах C(6) колец глюкозы, а с другой — вторичными гидроксильными группами при атомах C(2) и C(3). Вторичные гидроксильные группы связаны водородными связями между атомом водорода у C(3) одного фрагмента и атомом кислорода у C(2) другого. Описанная структура представлена схематически на рис. 1. Некоторые свойства циклоамилоз, в том числе и размеры полостей, приведены в табл. 1.

Поскольку кольчатое строение циклоамилоз накладывает конформационные ограничения, можно предполагать, что структурные особенности кристаллического состояния сохраняются и в растворе. Это было подтверждено в последние годы в работах, выполненных с помощью различных спектральных методов. Например, исследования спектров ЯМР²⁰⁻²⁵ и дисперсии оптического вращения^{26, 27} убедительно показали,

* Циклоамилозы называются также циклодекстринами, циклоглюканами или декстринами Шардингера, причем во всех случаях названию предшествует буква греческого алфавита для обозначения числа остатков глюкозы (α — для шести, β — для семи, γ — для восьми и т. д.) (Прим. авторов).

что все *D*-глюкопиранозные кольца в растворах в диметилсульфоксиде и в D_2O находятся в *C1* конформации. Отсюда следует, что расположение первичных и вторичных гидроксильных групп относительно полости должно быть таким, как установлено рентгеноструктурным анализом для кристаллического состояния, и что сохраняется возможность образования внутримолекулярных водородных связей между вторичными гидроксильными группами.

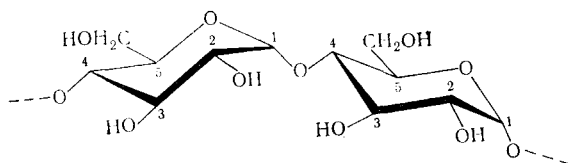


Рис. 1. Схематическое изображение двух глюкопиранозных звеньев молекулы циклоамилозы с α -(1,4)-гликозидной связью и системой нумерации атомов глюкопиранозных колец

Такие связи действительно обнаружены в апротонных растворителях (например, в диметилсульфоксиде) с помощью ЯМР- и ИК-спектроскопии^{22, 23}. Сохранение этих связей в растворе в диметилсульфоксиде, который обычно эффективно разрушает внутримолекулярные водородные связи, указывает на то, что они особенно прочны в циклоамилозах. Вероятно, внутримолекулярные водородные связи сохраняются и в воде. Однако они не оказывают, по-видимому, значительного влияния на макроциклическую структуру, поскольку полностью метилированные или ацилированные циклоамилозы, в которых внутримолекулярные водородные связи невозможны, вполне устойчивы, причем звенья глюкозы находятся в *C1* конформации^{23, 24}.

ТАБЛИЦА 1

Физические свойства циклоамилоз

Циклоамилоза	Растворимость в воде, г/100 мл ¹⁸	Специфическое вращение, ¹⁸ градусы	Размеры полости, Å	
			диаметр	длина
Циклогексаамилоза	14,5	$+150,5 \pm 0,5$	4,5 ¹⁹	6,7 ¹⁹
Циклогептаамилоза	1,85	$+162,5 \pm 0,5$	$\sim 7,0^9$	$\sim 7,0^9$
Циклооктаамилоза	23,2	$+177,4 \pm 0,5$	$\sim 8,5^9$	$\sim 7,0^9$

Изучение молекулярных моделей циклоамилоз позволяет предположить, что внутримолекулярные водородные связи должны ограничивать конформационную подвижность макроциклов. Для циклогексаамилозы это подтверждается теоретическими расчетами конформационных энергетических диаграмм, которые показывают, что внутримолекулярные водородные связи возможны лишь при наличии некоторого увеличения угловых напряжений. Это, в свою очередь, приводит к созданию довольно высокого и крутого энергетического барьера для конформационных переходов²⁸. Поэтому внутримолекулярные водородные связи в той степени, в какой они существуют в растворе, будут обеспечивать конформационную жесткость циклоамилоз.

Относительно сравнительной жесткости различных циклоамилоз пока можно сказать только то, что очевидно следует из их размеров, т. е. что по мере увеличения макроцикла возрастает и свобода конформаци-

онных переходов. Такой вывод подтверждается изменениями во вращении вокруг связей (измеряемыми по оптическому вращению в циклоамилозах), которое увеличивается в гомологической серии и для высших гомологов приближается к величинам, характерным для нециклических олигомеров²⁹.

В заключение следует отметить, что, хотя тонкие конформационные различия между циклоамилозами и влияние внутримолекулярных водородных связей на их конформацию в растворе требуют еще тщательного изучения, общие структурные особенности циклоамилоз вполне ясны.

3. Комплексы включения

Еще Виллерс² и Шардингер³ отметили способность циклоамилоз образовывать нерастворимые кристаллические комплексы со сравнительно простыми спиртами. С тех пор в литературе накопилось огромное количество информации о комплексах циклоамилоз. Способностью осаждать циклоамилозы обладают различные соединения от сильно полярных, таких как ацетат калия, алифатические и ароматические карбоновые кислоты или амины, до практически неполярных алифатических и ароматических углеводородов и даже благородных газов⁹.

В пределах одного ряда соединений способность образовывать комплексы с различными циклоамилозами можно качественно связать с размерами соединения. Например, все три вида циклоамилоз осаждаются из воды бензолом, но антрацен осаждает только циклооктаамилозу. Для циклогептаамилозы бромбензол более эффективный осадитель, чем бензол, в то время как для циклогексаамилозы справедливо обратное. Эти осадители использовали при разделении смесей циклогекса-, циклогепта- и циклооктаамилоз^{18, 30}.

Такая зависимость от размеров предполагает комплементарность между осадителем («гостем») и циклоамилозой («хозяином»). Следовательно, можно считать, что субстрат внедряется в полость циклоамилозы. Хотя во многих случаях это действительно так, было бы чрезмерным упрощением рассматривать образование кристаллических комплексов исключительно как явление включения. При сравнении самых разнообразных соединений оказывается, что с точки зрения относительных размеров нельзя однозначно предсказать их способности к комплексообразованию. Кроме того, соотношение молекул «гостя» и циклоамилозы в комплексе обычно не соответствует стехиометрии и нередко превышает 1:1 для кристаллических комплексов. Поскольку чаще всего по стерическим причинам невозможно одновременное включение более одной молекулы «гостя» в полость циклоамилозы, в кристаллическом состоянии должны осуществляться иные виды взаимодействия.

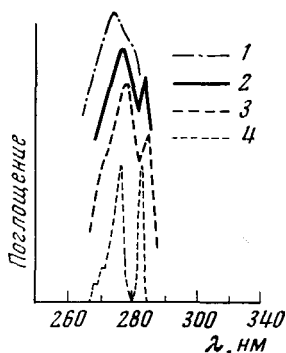
Рентгеноструктурные исследования комплексов ацетата калия с циклогексаамилозой показывают, что молекулы циклоамилозы соединены друг с другом, образуя канал¹³. Аналогичное расположение характерно, по предварительным данным¹⁷, и для комплексов циклогепта- и циклооктаамилоз. При таком расположении молекул возможно включение внутрь канала в среднем более одной молекулы «гостя» на молекулу циклоамилозы. С другой стороны, полярные субстраты могут взаимодействовать с циклоамилозами за счет межмолекулярных водородных связей вне полости или канала. Для более точного определения пространственных соотношений в кристаллических комплексах и, в частности, подбора «гостя» и «хозяина», необходимы исследования трехмерных структур.

Особенно интересным свойством циклоамилоз является их способность к стереоспецифическому осаждению. Впервые это было установле-

но при частичном разделении ряда хиральных эфиров карбоновых кислот путем соосаждения с циклогептаамилозой³¹. Оптическая чистота разделенных соединений составляла 2—12%. Этот метод был использован для разделения хиральных сульфоксидов³² и фосфинатов³³. В этих случаях максимальная оптическая чистота (после повторных осаждений с циклогептаамилозой с последующей фракционной кристаллизацией) достигала соответственно 71,5 и 84%.

В рассмотренных случаях подчеркивалось, что добавление некоторых соединений к водным растворам циклоамилоз уменьшает растворимость последних. С другой стороны, было изучено влияние циклоамилоз на растворимость добавляемых соединений. Растворимость ряда алифати-

Рис. 2. УФ-спектры *p*-трет-бутилфенола в различных растворителях: 1 — вода; 2 — водный раствор циклогексаамилозы; 3 — диоксан; 4 — циклогексан⁴¹ (для удобства сравнения величины оптических плотностей сдвинуты по вертикали)



ческих кислот в присутствии циклоамилоз³⁴ возрастает в 1,2—30 раз при переходе от гексановой к додекановой по сравнению с растворимостью в чистой воде. Циклоамилозы увеличивают также растворимость в воде бензойной и орто-, мета- и пара-иодбензойных кислот. С другой стороны, циклоамилозы практически не влияют на растворимость кислот с объемистым радикалом, например, 2,3,5,6-тетраметилбензойной кислоты. Эти данные в сопоставлении с тем, что глюкозы, метил- α -D-глюкозид и мальтоза не влияют на растворимость кислот, указывают на то, что комплексы включения образуются *и в растворе*.

Подобный метод применен для оценки влияния циклоамилоз на растворимость лекарственных препаратов^{35–40}. Графики зависимости растворимости препаратов от концентрации добавленной циклоамилозы обычно линейны и имеют наклон в пределах 0—2,25. Зная стехиометрию комплексов, по этим наклонам можно оценить их константы диссоциации⁹. Этот метод, однако, дает менее надежные результаты, чем спектрофотометрический метод, который будет обсуждаться ниже.

В отличие от кристаллических комплексов, в растворе соотношение «гость»: «хозяин» обычно равно 1 : 1. Исключение составляют лишь комплексы циклоамилоз с высшими жирными кислотами. Зависимости растворимости этих кислот от концентрации циклоамилозы указывают, что с одной молекулой додекановой кислоты могут взаимодействовать четыре молекулы циклогептаамилозы³⁴. По аналогии с кристаллическим состоянием, циклоамилозы могут, вероятно, образовывать каналы и в растворе для включения длинноцепочечных соединений.

Более удобным методом обнаружения ассоциации в растворе является спектрофотометрический метод. Добавление циклоамилоз вызывает возмущения в спектрах поглощения ряда органических соединений. Поскольку глюкоза и метил- α -D-глюкозид практически не влияют на спектры, эти возмущения обусловлены ассоциацией молекулы с циклоамилозой. На рис. 2 в качестве примера спектральных изменений, наблюдае-

Константы диссоциации комплексов циклогексаамилозы^а

ТАБЛИЦА 2

Субстрат	$K_{\text{дисс.}}$ M	Условия
Фенол	$5,3 \cdot 10^{-2}$	б
<i>p</i> -Нитрофенол	$2,6 \cdot 10^{-3}$	в
<i>p</i> -Нитрофенолят-ион	$2,7 \cdot 10^{-4}$	в
<i>m</i> -Трет-бутилфенол	$3,4 \cdot 10^{-2}$	б
<i>p</i> -Трет-бутилфенол	$1,2 \cdot 10^{-2}$	б
2-Нафтол	$3,1 \cdot 10^{-2}$	б
3,5-Диметилфенол	$1,6 \cdot 10^{-2}$	б
3,5-Диметилфенилацетат	$1,3 \cdot 10^{-2}$	б
<i>m</i> -Хлорфенилацетат	$4,7 \cdot 10^{-3}$	б
<i>p</i> -Хлорфенилацетат	$1,6 \cdot 10^{-2}$	б
Метилоранж	$2,2 \cdot 10^{-4}$	б
Метилоранж	$1,1 \cdot 10^{-4}$	г
Бензойная кислота	$9,6 \cdot 10^{-4}$	д
<i>p</i> -Метилбензойная кислота	$6,3 \cdot 10^{-4}$	д
<i>m</i> -Метилбензойная кислота	$1,5 \cdot 10^{-3}$	д
<i>o</i> -Метилбензойная кислота	$2,4 \cdot 10^{-3}$	д
<i>p</i> -Нитробензойная кислота	$6,5 \cdot 10^{-3}$	д
<i>m</i> -Нитробензойная кислота	$6,5 \cdot 10^{-3}$	д
<i>o</i> -Нитробензойная кислота	$1,2 \cdot 10^{-2}$	д

а) Определены спектрофотометрическим методом; б) при pH 2,2 н 25°⁴¹; в) при pH 3,5 (фенол) или pH 11 (фенолят-ион) и 14°⁴³; г) при 20°⁴¹; д) в 0,08 *N* HCl, при 25°⁴³.

мых в присутствии циклоамилозы, приведены спектры *p*-трет-бутилфенола в различных растворителях⁴¹. Следует отметить, что УФ-спектр комплекса *p*-трет-бутилфенола с циклогексаамилозой совершенно отличается от спектра этого фенола в воде или циклогексане, но практически совпадает со спектром в диоксане. Это сходство подтверждает вывод о том, что ароматический хромофор включается в эфироподобную полость циклоамилозы. Сопоставляя наблюдаемые изменения спектров с концентрацией добавленной циклоамилозы, можно рассчитать константы диссоциации комплексов циклоамилоза — субстрат⁴². В табл. 2 представлены полученные таким способом константы диссоциации ряда комплексов.

В большинстве случаев показано, что имеются четкие изобестические точки при спектрофотометрическом титровании, и следовательно, комплексы имеют состав 1:1. В некоторых случаях, однако, при увеличении концентрации циклоамилозы наблюдаются дополнительные спектральные изменения, что указывает на более сложный вид ассоциации. Например, метилоранж, по-видимому, соединяется с двумя молекулами циклогексаамилозы^{41, 43}. Это обусловлено наличием двух ароматических колец в метилоранже, каждое из которых может ассоциировать с одной молекулой циклоамилозы.

Для ассоциации *p*-нитрофенола и ряда азокрасителей с циклогексаамилозой измерены константы скорости и константы равновесия (рис. 3)⁴³. Константы скорости образования комплексов *p*-нитрофенола и *p*-нитрофенолят-иона с циклоамилозой составляют около $10^8 M^{-1} \text{сек}^{-1}$, т. е. лежат в области диффузионного контроля. Однако в ряду красителей эти скорости уменьшаются более чем на семь порядков по мере увеличения размеров молекулы красителя. С другой стороны, константы равновесия практически не зависят от стерической природы субстрата. Следовательно, влияние стерических факторов на скорости ассоциации и диссоциации одинаковы. Эти факты можно объяснить лишь включением субстратов внутрь полости циклогексаамилозы.

Прямые доказательства образования комплексов включения в растворе дают спектры ЯМР^{46, 47}. Если ароматическая молекула внедряется в полость циклоамилозы, то атомы водорода СН-групп на внутренней поверхности полости у С(3), С(5) и С(6) должны быть сильно экранированы ароматическим кольцом. Это было подтверждено на примере замещенных бензойных кислот и фенолов, для которых наблюдалась корреляция между величинами изменений химических сдвигов, вызванных субстратом, и константами диссоциации комплексов.

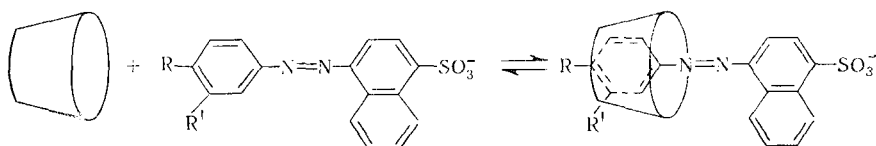


Рис. 3. Схема включения азокрасителя в полость циклоамилозы, из которой ясно видно, что по мере увеличения размеров R и R' затрудняется как процесс включения, так и выход молекулы красителя из полости циклоамилозы

Наконец, еще одно подтверждение образования комплексов включения в растворе получено при кинетических измерениях. Ускорение реакций, обусловленное циклоамилозами, конкурентно ингибируется добавлением небольших количеств инертных реагентов, например, циклогексанола⁴⁴. Конкурентное ингибирование — явление, часто наблюдаемое в ферментативном катализе, обусловлено конкуренцией субстрата и ингибитора за определенный участок связывания. Таким определенным участком в циклоамилозах может быть только их полость.

Таким образом, образование комплексов включения в кристаллическом состоянии и в растворах убедительно доказано спектральными и кинетическими методами. Хотя внутреннюю геометрию комплексов точно установить невозможно, можно полагать, что органический субстрат внедряется таким образом, чтобы обеспечить максимальный контакт гидрофобной части субстрата с неполярной полостью циклоамилозы. В свою очередь, гидрофильная часть субстрата располагается, вероятно, вблизи поверхности комплекса, обеспечивая максимальный контакт с растворителем и гидроксильными группами циклоамилозы.

4. Силы, участвующие в комплексообразовании

Общеизвестно, что циклоамилозы образуют комплексы с различными субстратами. Однако относительно природы сил связывания в комплексе нет единого мнения. Для объяснения явления инклюзии часто привлекают дисперсионные силы, водородное связывание, гидрофобные взаимодействия. Несмотря на то, что для идентификации этих сил нет четких критериев, можно качественно оценить их вклад в общее взаимодействие в комплексе.

Слабые дисперсионные силы притяжения между молекулами обусловлены обычно диполь-дипольным взаимодействием. Энергия таких взаимодействий пропорциональна поляризуемости молекул, которая, в свою очередь, определяется молярной рефракцией. Для ряда структурно подобных субстратов наблюдается почти линейная корреляция между молярной рефракцией и константами диссоциации комплексов субстрат—циклоамилоза⁴⁴. Кроме того, константы диссоциации комплексов ряда пара-замещенных бензойных кислот коррелируют с σ -константами Гаммета, которые также определяются поляризуемостью⁴⁵. Хотя из этого следует, что дисперсионные силы играют существенную роль в ассоциа-

ТАБЛИЦА 3

Термодинамические параметры образования комплексов циклогексаамилозы при 25°

Субстрат	ΔF° , ккал/моль	ΔH° , ккал/моль	ΔS° , э. ед.
<i>p</i> -Нитрофенол ^а	—3,4	—4,2	—2,8
<i>p</i> -Нитрофенолят-ион ^а	—4,6	—7,2	—8,7
<i>m</i> -Хлорфенилацетат ^б	—3,4	—1±1	8±3
<i>m</i> -Этилфенилацетат ^б	—3,7	—4,6±0,7	—3±2
3,4,5-Триметилфенилацетат ^б	—3,1	—2,5±0,7	2±3
Бензоилуксусная кислота ^в	—3,1	—5,7±1,3	—8,6±3,8
<i>p</i> -Метилбензоилуксусная кислота ^в	—3,7	—6,6±0,4	—9,8±1,2
<i>m</i> -Хлорбензоилуксусная кислота ^в	—3,4	—5,2±1,1	—6,0±3,3

а) Определены спектрофотометрическим методом ⁴²; б) определены кинетическим методом ⁴¹; в) определены кинетическим методом ⁴⁸.

ции циклоамилоз с субстратами, есть причины полагать, что их вклад в стабилизацию комплексов не является основным.

Поскольку вода — превосходный растворитель для дипольных молекул, различия в энергиях взаимодействия молекул растворенных веществ между собой и между молекулами растворенного вещества и растворителя, по-видимому, малы. Поэтому трудно представить себе, чтобы водородные связи играли существенную роль в стабилизации аддуктов циклоамилоз с субстратами. Водородные связи внутри комплекса вряд ли настолько прочнее водородных связей между водой и отдельными компонентами комплекса, чтобы объяснить энергию взаимодействия в —4 ккал/моль (см. табл. 3). Далее, стабильные комплексы образуются и с такими субстратами, как бензол, для которых водородное связывание невозможно. Более того, добавление к воде сравнительно неполярных соединений, которые должны были бы усиливать взаимодействие между растворенными веществами, в действительности уменьшает устойчивость комплексов. Например, константа диссоциации комплекса циклогептаамилозы с *p*-трет-бутилфенилацетатом увеличивается с $1,3 \cdot 10^{-4}$ ⁴¹ до $2,3 \cdot 10^{-3}$ М⁴⁸ при возрастании количества ацетонитрила в воде с 0,5 до 20,5%.

Следует отметить, что комплексы включения образуются, вероятно, лишь в водных растворах. Попытки осадить аддукты циклоамилоз из органических растворителей оказались безуспешными^{34, 37}. Это позволяет предполагать, что вода непосредственно участвует в ассоциации, точнее, что в воде сольватация аддукта циклоамилозы с субстратом энергетически более выгодна, чем сольватация индивидуальных компонентов. Взаимодействия такого типа называются гидрофобными; они обусловлены не взаимным притяжением молекул внутри комплекса, а большой внутренней когезией воды⁵⁰.

Рассмотрим в отдельности сольватацию органического субстрата и циклоамилозы. Процесс растворения как полярных, так и неполярных соединений начинается с образования полости в растворителе. В воде этот процесс связан с неблагоприятными изменениями энтальпии, показывающими, что необходимо затратить энергию для разделения сильно взаимодействующих молекул воды. После внедрения растворяемых молекул молекулы воды переориентируются так, чтобы обеспечить максимальное взаимодействие с растворенным веществом. В случае сравнительно неполярных соединений (какими являются многие из органиче-

ских субстратов, образующих комплексы с циклоамилозами), такая переориентация увеличивает структурированность растворителя в непосредственной близости от субстрата, что дает максимальное количество водородных связей внутри полости растворителя и максимум дисперсионных взаимодействий между растворителем и растворенным веществом. Возросшее число водородных связей в этом сильно структурированном слое обычно нивелирует неблагоприятные изменения энтальпии при образовании полости в растворителе. Таким образом, общая свободная энергия раствора определяется неблагоприятным изменением энтропии, связанным с увеличением упорядоченности растворителя⁵¹.

Процесс растворения циклоамилоз несколько сложнее. Поскольку молекулы воды могут образовывать водородные связи с гидроксильными группами, расположенными снаружи молекулы циклоамилозы, структура сольватационной воды не будет существенно отличаться от структуры остальной массы воды. Тем не менее, циклоамилозы являются гидрофобными в том смысле, что их растворимость увеличивается при добавлении малых количеств сравнительно неполярных растворителей, например, этанола⁵². Это указывает на вид сольватации полости циклоамилозы. Как отмечалось выше, внутренняя поверхность полости выстлана атомами гликозидных кислородов, каждый из которых окружен четырьмя СН-группами в виде квадрата, т. е. полость по сравнению с водой относительно гидрофобна. Кроме того, молекулярные модели указывают на то, что сольватация гидрофобной полости, по крайней мере для небольших циклоамилоз, будет далека от идеальной. Это означает, что молекулы воды внутри полости не могут образовывать всех водородных связей с соседними молекулами воды. Поэтому, в отличие от «типичной» неполярной молекулы, изменения энтальпии, обусловленные образованием в растворителе полости для молекулы циклоамилозы, не могут быть полностью компенсированы за счет взаимодействия молекул растворителя. В этом смысле можно рассматривать полость циклоамилозы как «обогащенную» энтальпией.

Таким образом, процесс включения можно представить как взаимно благоприятную ассоциацию относительно неполярного субстрата и недостаточно сольватированной гидрофобной полости. В табл. 3 приведены термодинамические параметры ассоциации некоторых субстратов с циклогексаамилозой. В отличие от классического гидрофобного взаимодействия, которое характеризуется благоприятным изменением энтропии при ассоциации, силы, управляющие процессом включения, обусловлены в основном благоприятным изменением энтальпии. Такое объяснение непосредственно следует из свойств индивидуальных молекул в воде, описанных выше. Процесс включения можно рассматривать, как перенос относительно неполярного субстрата из воды в полость циклоамилозы. Основной вклад в изменение энтропии при этом обусловлен высвобождением сильно структурированных молекул воды, окружавших малополярный субстрат, а также потерей поступательных и вращательных степеней свободы при ассоциации двух молекул. Поскольку это противоположные эффекты, то наблюдаются лишь малые изменения энтропии системы. Основные вклады в энтальпию ассоциации: 1) неблагоприятное изменение энтальпии при освобождении сильно структурированных молекул воды от органического субстрата, отражающее уменьшение числа водородных связей в системе; 2) это увеличение энергии в значительной мере компенсируется благоприятным изменением энтальпии по мере того, как молекулы воды вновь приобретают структуру обычной воды раствора в областях, занимаемых ранее субстратом; 3) наконец, включение субстрата освободит молекулы воды с высокой энергией из

полости циклоамилозы, что приведет к общему увеличению числа водородных связей в растворителе и, следовательно, к благоприятному изменению энтальпии ассоциации.

Следовательно, взаимодействие циклоамилоз с органическими субстратами более выгодно, чем взаимодействие отдельных молекул с водой. Поскольку движущая сила процесса включения проявляется как благоприятное изменение энтальпии ассоциации, можно говорить о «нетипичном» гидрофобном взаимодействии.

III. РЕАКЦИИ, В КОТОРЫХ ЦИКЛОАМИЛОЗЫ ОБРАЗУЮТ КОВАЛЕНТНЫЕ СВЯЗИ

Так как циклоамилозы образуют устойчивые мономолекулярные комплексы включения в растворах, можно полагать, что процесс включения будет влиять на реакционную способность органических субстратов. Эта

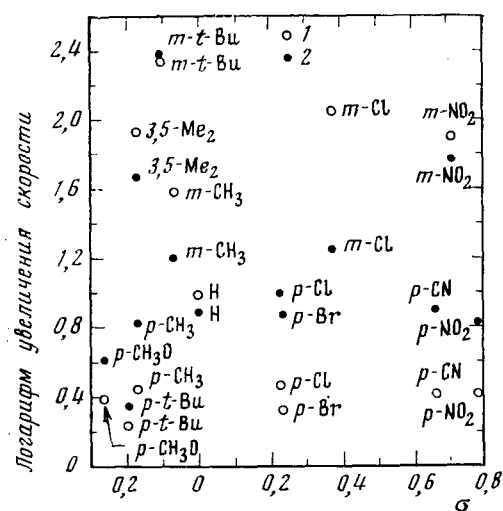


Рис. 4. Зависимость логарифма увеличения скорости выделения фенола при гидролизе фенилацетатов в присутствии 0,01 М циклоамилозы от σ -констант Гаммета для заместителей: 1 — циклогексаамилоза; 2 — циклогептаамилоза⁴¹

циклогекса- или циклогептаамилоз константы скорости выделения фенола (или фенолят-иона) псевдопервого порядка очень сильно и по-разному возрастают, но эти изменения не подчиняются уравнению Гаммета (рис. 4), т. е. не зависят от электронных эффектов. Однако, в хаотическом распределении точек на рис. 4 можно различить определенный порядок: циклоамилозы всегда оказывают большее ускоряющее влияние на скорость гидролиза мета-замещенных эфиров по сравнению с соответствующими пара-замещенными эфирами.

Это различие между мета- и пара-замещенными эфирами, не зависящее от электронных эффектов, демонстрирует стерические особенности взаимодействия эфиров с циклоамилозами, в частности, то, что включение эфира в полость циклоамилозы осуществляется до реакции гидролиза. Это подтверждается тем, что увеличение скорости непропорционально концентрации добавляемой циклоамилозы при ее избытке. По мере увеличения концентрации циклоамилозы, наблюдаемая константа

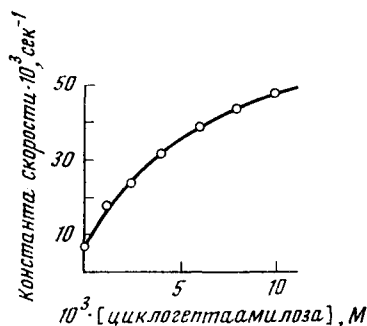
мысль принадлежит Крамеру и Дитче⁵², которые обнаружили, что циклоамилозы увеличивают скорости гидролиза некоторых эфиров миндальной кислоты. Позже было показано, что включение может не только увеличивать, но и уменьшать скорости различных органических реакций.

1. Гидролиз фениловых эфиров

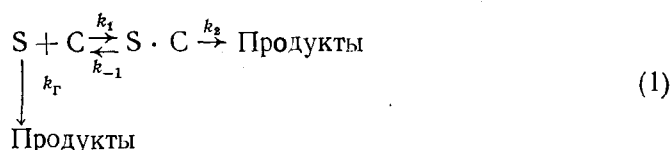
Наиболее подробно каталитические свойства циклоамилоз изучены в реакциях гидролиза замещенных фенилацетатов. Константы скорости гидролиза этих эфиров в отсутствие циклоамилоз подчиняются обычному соотношению Гаммета^{41, 53}. Такая же линейная зависимость наблюдается и при проведении реакций в присутствии метил- α -D-глюкозида, мономолекулярного аналога циклоамилоз. Однако, в присутствии

скорости псевдопервого порядка ($k_{\text{набл.}}$) асимптотически приближается к максимальной величине (рис. 5). Явление насыщения характерно для реакций, в которых образование комплекса предшествует определяющей скорости стадии. Простейший механизм таких реакций представлен на схеме 1, где С — циклоамилоза; S — субстрат; S·С — комплекс включения; k_r — константа скорости первого порядка некатализируемого про-

Рис. 5. Зависимость константы скорости первого порядка для гидролиза *p*-нитрофенилацетата от концентрации добавляемой циклогептаамилозы при pH 10,6⁴¹



цесса образования фенола, охватывающая все процессы, которые протекают в отсутствие циклоамилозы.



Как отмечалось ранее, ускоряющее влияние циклоамилоз может быть конкурентно ингибировано добавлением в реакционную среду инертных реагентов. Ингибитор, конкурируя с субстратом за полость циклоамилозы, удаляет часть катализатора из сферы реакции. Это еще раз подтверждает механизм, представленный схемой (1).

На основании схемы (1), а также наблюдаемой зависимости первого порядка от общей концентрации эфира, можно получить уравнение (А). Для применения этого уравнения необходимо, чтобы концентрация циклоамилозы по крайней мере в 10 раз превышала начальную концентрацию субстрата, чтобы обеспечить условия реакции первого порядка. Уравнение (А) можно преобразовать двумя способами в линейные уравнения (Б)⁵⁴ и (В)⁵⁵, которые позволяют графически найти величину k_2 (максимальной константы скорости освобождения фенола из эфира, полностью связанного в комплекс) и K_d — константу диссоциации комплекса циклоамилоза—субстрат, обозначенную на схеме (1) в виде k_1/k_{-1}

$$k_{\text{набл.}} - k_r = \frac{(k_2 - k_r) [\text{C}]}{K_d + [\text{C}]} \quad (\text{А})$$

$$\frac{1}{k_{\text{набл.}} - k_r} = \frac{K_d}{(k_2 - k_r) [\text{C}]} + \frac{1}{k_2 - k_r} \quad (\text{Б})$$

$$k_{\text{набл.}} - k_r = \frac{K_d (k_{\text{набл.}} - k_r)}{[\text{C}]} + (k_2 - k_r) \quad (\text{В})$$

Хотя оба уравнения теоретически должны давать одинаковые результаты, уравнение (В), предложенное Иди, статистически предпочтительней⁵⁶.

ТАБЛИЦА 4

Максимальные константы скорости гидролиза фенилацетатов и константы диссоциации комплексов циклоамилоз с фенилацетатами (pH 10,60; 25°)⁴¹

Ацетат	$k_r \cdot 10^4$ сек ⁻¹	$k_2 \cdot 10^4$ сек ⁻¹	k_2/k_r	$K_d \cdot 10^2$, М
Циклогексаамилоза				
<i>p</i> -Трет-бутилфенил-	6,07	6,7	1,1	0,65±0,39
<i>p</i> -Толил-	6,64	22	3,3	1,1±0,7
<i>p</i> -Нитрофенил-	69,4	243	3,5	1,2±0,4
<i>p</i> -Карбоксифенил-	12,5	67	5,4	15±9
<i>o</i> -Толил-	3,84	72	19	1,9±0,5
Фенил-	8,04	219	27	2,2±0,7
<i>m</i> -Карбоксифенил-	8,15	555	68	10,5±3,1
<i>m</i> -Толил-	6,96	658	95	1,7±0,5
<i>m</i> -Хлорфенил-*	5,05	789	156	0,56±0,03
3,5-Диметилфенил-	5,80	1150	200	1,5±0,4
<i>m</i> -Этилфенил-	5,49	1330	240	1,07±0,14
<i>m</i> -Трет-бутилфенил-	4,90	1290	260	0,20±0,08
<i>m</i> -Нитрофенил-*	14,0	4250	300	1,9±0,4
Циклогептаамилоза				
<i>p</i> -Нитрофенил-	69,4	634	9,1	0,61±0,13
<i>m</i> -Хлорфенил-	19,1	450	24	0,35±0,09
3,5-Диметилфенил-	5,80	486	84	0,88±0,14
<i>m</i> -Этилфенил-*	1,42	126	89	0,22±0,04
<i>m</i> -Нитрофенил-	46,4	4440	96	0,80±0,18
<i>m</i> -Тетра-бутилфенил-	4,90	1220	250	0,013±0,003

* pH 10,01.

ТАБЛИЦА 5

Зависимость мета- — пара-специфичности от размера полости циклоамилоз (pH 10, 60; 25°)⁴¹

Ацетат	$k_{набл}/k_r$		
	Циклогекса-амилоза	Циклогепта-амилоза	Циклоокта-амилоза
<i>m</i> -Трет-бутилфенил-	226	250	54 (87)**
<i>p</i> -Трет-бутилфенил-	1,7	2,2	41 (55)**
<i>m</i> -Хлорфенил-	113	18	7,8
<i>p</i> -Хлорфенил-	3,0	10	8,8
<i>m</i> -Нитрофенил-	103	54	10,0
<i>p</i> -Нитрофенил-	2,6	6,7	6,2

* $k_{набл}$ — константа скорости псевдопервого порядка, соответствующая скорости выделения фенола в присутствии 0,01 М циклоамилозы.

** В скобках приведены величины максимального ускорения k_2/k_r .

Иногда эти уравнения используют не совсем верно. Например, в то время как по уравнению (3) отрезок, отсекаемый на оси ординат на графике зависимости $(k_{набл} - k_r)$ от $(k_{набл} - k_r)/[C]$ соответствует величине $(k_2 - k_r)$, некоторые авторы приравнивают его величине k_2 . Ошибка при этом может быть велика, если величины k_2 и k_r близки. Однако, в большинстве случаев k_2 значительно больше k_r , и ошибка, связанная с таким допущением, мала. Поскольку зачастую трудно определить, по какому уравнению рассчитаны максимальные константы скорости, а указанные ошибки не изменяют интерпретации результатов, в этом обзоре не делается попыток исправлять кинетические параметры, полученные другими авторами. Детальное рассмотрение уравнений (Б) и (В) приведено в работе⁵⁷.

В табл. 4 приведены величины k_2 и K_d для реакций циклоамилоз с различными фенилацетатами. Увеличение скорости, обусловленное циклоамилозами, изменяется от 10%-ного для *p*-трет-бутилфенилацетата до 260-кратного для *m*-трет-бутилфенилацетата, что еще раз подтверждает специфичность циклоамилоз к мета-замещенным эфирам. Кроме того, данные табл. 4 показывают, что ускорение реакций и специфичность не коррелируют с силой связывания в комплексе. Например, *p*-нитрофенилацетат образует более устойчивый комплекс с циклоамилозой, чем мета-изомер, но максимальное ускорение (k_2/k_r) значительно больше для последнего.

Данные табл. 5 позволяют непосредственно сравнить влияния циклогекса-, циклопента- и циклооктаамилоз на одни и те же субстраты. Величины констант скорости в этой таблице не являются максимальными константами k_2 , а представляют наблюдаемые константы скорости псевдопервого порядка в присутствии 0,01 М циклоамилоз. Тем не менее, они указывают на определенную тенденцию — мета — пара-специфичность уменьшается по мере роста размера полости циклоамилозы. Действительно, для циклооктаамилозы увеличение скорости гидролиза почти не зависит от положения заместителя.

Наблюдаемые увеличения скоростей гидролиза можно объяснить специфическим взаимодействием вторичных гидроксильных групп циклоамилозы с карбонильной группой включенного эфира. Такое объяснение становится более очевидным при рассмотрении молекулярных моделей комплексов циклогексаамилозы с *m*- и *p*-трет-бутилфенилацетатами (рис. 6). На этих моделях неполярная трет-бутильная группа введена в полость циклогексаамилозы со стороны вторичных гидроксильных групп. В обоих случаях относительно малые размеры полости накладывают некоторые ограничения на поступательные и вращательные степени свободы включенных субстратов. Для *m*-трет-бутилфенилацетата это приводит к тому, что эфирная группировка фиксируется вблизи вторичных гидроксильных групп циклогексаамилозы. В комплексе с *p*-трет-бутилфенилацетатом, обладающем той же жесткостью, наблюдается существенное отличие — эфирная группа здесь вытянута в сторону свободного раствора и удалена от вторичных гидроксильных групп. Сближение карбонильной группы и гидроксильных групп циклоамилозы можно осуществить лишь при внесении значительных напряжений в модели. Однако при увеличении полости циклоамилозы при

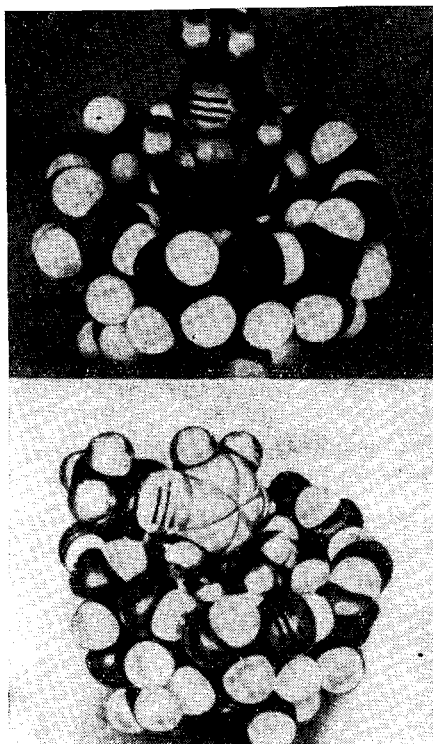


Рис. 6. Молекулярные модели комплексов циклогексаамилозы с *p*-трет-бутилфенилацетатом (вверху) и с *m*-трет-бутилфенилацетатом (внизу)

переходе от циклогекса- к циклооктаамилозе стерические ограничения степеней свободы включенного субстрата почти полностью снимаются. В этом случае карбонильные группы мета- и пара-замещенных эфиров с одинаковым успехом могут приближаться ко вторичным гидроксильным группам циклоамилозы.

Таким образом, циклоамилозы меньшего размера связывают субстраты более *плотно*, чем циклоамилозы больших размеров, что приводит к фиксации эфиров или в активной (мета-изомеры), или в менее активной (пара-изомеры) конфигурации относительно вторичных гидроксильных групп. Эту плотность связывания не следует путать со степенью связывания, т. е. с устойчивостью комплексов включения. В действительности, между этими величинами существует, по-видимому, обратная зависимость. Как видно из табл. 4, менее «плотные» комплексы включения циклогептаамилозы во всех случаях более устойчивы, чем соответствующие более «плотные» комплексы циклогексаамилозы. Это можно объяснить, поскольку более «плотное» связывание предполагает более неблагоприятное изменение энтропии ассоциации, чем менее плотное связывание. Таким образом, при равных вкладах энтальпии ассоциации более плотное связывание приводит к кажущемуся уменьшению свободной энергии ассоциации; создается впечатление, что некоторое количество свободной энергии связывания жертвуется на обеспечение специфичности каталитической реакции. Для проверки этого предположения были бы желательны измерения термодинамических параметров ассоциации некоторых субстратов с циклогекса- и циклогептаамилозами.

Модели на рис. 6 до некоторой степени произвольны, поскольку каталитическая активность приписывается вторичным, а не первичным гидроксильным группам. Образование комплекса вполне может происходить и с другой стороны молекулы циклоамилозы. Однако оказалось, что замена всех первичных гидроксильных групп на метокси-группы не изменяет каталитической эффективности циклогептаамилозы⁴¹. Таким образом, предлагаемые модели можно считать соответствующими действительности.

Установлению механизма взаимодействия вторичных гидроксильных групп циклоамилозы с карбонильным углеродом включенного эфира способствовали исследования влияния циклоамилоз на гидролиз ряда замещенных фенилбензоатов⁵⁸. Как и в случае фенилацетатов, скорость образования фенола из мета-замещенных фенилбензоатов заметно увеличивается в присутствии циклоамилоз. Однако за этой быстрой стадией реакции следует более медленная стадия образования бензоат-иона. Кажущиеся константы скорости этих двух стадий гидролиза некоторых замещенных фенилбензоатов приведены в табл. 6. Следует отметить, что,

ТАБЛИЦА 6
Константы скорости двух стадий реакции циклогексаамилозы с арилбензоатами (pH 10, 60; 25°)⁵⁸

Бензоат	$k_T \cdot 10^4, \text{сек}^{-1}$	$k_{\text{вабл.}} \cdot 10^{4*}, \text{сек}^{-1}$	$k_2 \cdot 10^4, ** \text{сек}^{-1}$
<i>m</i> -Нитрофенил-	15,4	1400	4,6
<i>m</i> -Хлорфенил-	5,5	390	4,6
<i>m</i> -Трет-бутилфенил-	1,2	140	4,6

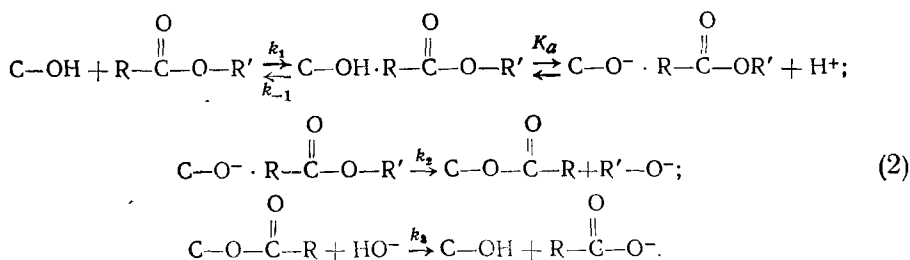
* Константы скорости псевдопервого порядка освобождения фенолат-иона в присутствии 0,01 М циклогексаамилозы.

** Константы скорости первого порядка освобождения бензоат-иона.

хотя скорости освобождения фенола отличаются друг от друга на порядок, скорости второй стадии одинаковы в пределах ошибки опыта. Это можно объяснить, предположив образование общего промежуточного соединения, распад которого является стадией, определяющей скорость. Этим общим промежуточным соединением должна быть бензоилциклогексаамилоза, которая и была в действительности выделена. Более того, константа скорости гидролиза этого соединения оказалась равной $4,6 \cdot 10^{-4} \text{ сек}^{-1}$, т. е. идентична величине k_3 (табл. 3), соответствующей стадии разложения промежуточного соединения при гидролизе фенилбензоатов в присутствии циклогексаамилозы.

Величина pK_a каталитически активной вторичной гидроксильной группы, определенная по зависимости от pH скорости гидролиза *m*-толилацетата в присутствии циклогексаамилозы, составляет 12,1⁵⁸. Хотя на первый взгляд это довольно низкая величина для ионизации алифатического спирта, она соответствует значению pK_a 12,35 ионизации вторичных гидроксильных групп рибозного остатка аденозина, определенному термодинамически^{59,60}, а также pK_a 12,2 ионизации циклогептаамилозы⁶¹. Повышенная кислотность этих гидроксильных групп обусловлена, вероятно, объединенным индуктивным влиянием соседних гидроксильных групп и стабилизацией алкоксид-иона внутримолекулярными водородными связями. Выше уже отмечались внутримолекулярные водородные связи между гидроксильными группами при С(2) и С(3). Можно, по-видимому, полагать, что именно гидроксильная группа при С(2) глюкозного кольца ответственна за ускорение отщепления фенола. Это согласуется с тем, что гидроксил при С(2) легче метилируется, чем гидроксил при С(3)²³. Кроме того, додекаметилциклогексаамилоза, у которой все гидроксильные группы, кроме гидроксидов при С(3), метилированы, не проявляет каталитической активности⁵⁸.

Все отмеченные выше факты могут быть обобщены в виде механизма, представленного на схеме (2)



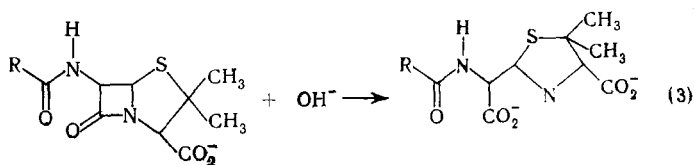
Эфир быстро и обратимо ассоциируется с циклоамилозой (C—OH). После этого алкоксильный ион, образующийся из вторичной гидроксильной группы циклоамилозы, может реагировать с молекулой включенного эфира с освобождением фенолят-иона и образованием ацилированной циклоамилозы. Эта реакция характеризуется константой скорости k_2 , максимальной константой скорости образования фенолят-иона из полностью связанного в комплекс эфира в области pH, в которой циклоамилоза полностью ионизирована. Однако предельная скорость достигается редко из-за высокой величины pK_a циклоамилозы.

Именно на этой стадии (k_2) проявляется специфичность по отношению к положению заместителя в фенильном кольце, а также увеличение скорости образования фенола. Однако стадией, определяющей скорость всей реакции, является гидролиз ацилированной циклоамилозы. Поэтому общую реакцию можно назвать каталитической лишь в том случае, если k_3 превышает константу скорости гидролиза эфира в отсутствие

циклоамилозы. Это осуществляется только для трудно гидролизуемых эфиров. Следовательно, для использования циклоамилоз в качестве катализаторов гидролиза эфиров необходимо, во-первых, увеличить скорость стадии деацилирования и, во-вторых, уменьшить значение pH, при котором осуществляется каталитическая реакция.

2. Гидролиз производных пенициллина

В качестве простой модели пенициллиназы было исследовано влияние циклогептаамилозы на гидролиз некоторых пенициллинов^{62, 63}. Щелочной гидролиз пенициллинов имеет первый порядок по субстрату и гидроксил-иону, причем разрушается β -лактамное кольцо и образуется пенициллиновая кислота:



По мере увеличения избытка циклогептаамилозы скорость расщепления пенициллина достигает максимальной величины, т. е. наступает насыщение. По аналогии с гидролизом фенилацетатов, такое поведение можно объяснить включением боковой цепи пенициллина (группа R) в полость циклогептаамилозы перед нуклеофильной атакой алкоксид-ионом циклоамилозы карбонила β -лактамного кольца. Подтверждением образования ковалентного промежуточного соединения в процессе реакции (хотя оно и не было выделено) является тот факт, что скорость исчезновения пенициллина всегда больше скорости появления свободной пенициллиновой кислоты.

Величины максимальных констант скорости исчезновения пенициллина (k_2), и константы диссоциации комплексов циклогептаамилозы с пенициллинами (K_d) приведены в табл. 7. Следует отметить две особенности этих данных. Во-первых, отсутствует корреляция между величиной ускорения реакции в присутствии циклогептаамилозы и степенью связывания; на скорость реакции влияет специфичность взаимодействия, а не устойчивость комплексов включения. Во-вторых, избирательность циклогептаамилозы по отношению к различным пенициллинам несколько меньше избирательности циклоамилоз к фениловым эфирам — в исследованной серии увеличения скорости различаются не более чем в 5 раз. Избирательность, как оказалось, коррелирует с расстоянием реакционного центра от неполярной боковой цепи⁶³. В то время как карбонильная группа в фенилацетатах удалена от фенильного кольца на два атома, реакционным центром в пенициллинах является четвертый атом от неполярной боковой цепи. Поэтому ориентация β -лактамного карбонила относительно каталитически активных гидроксильных групп циклоамилозы более произвольна, чем в комплексах включения фениловых эфиров.

3. Гидролиз других производных карбоновых кислот

Одно из первых исследований влияния циклоамилоз на органические реакции было связано с гидролизом этиловых эфиров некоторых замещенных миндальных кислот⁵². Хотя механизм этих реакций не был полностью выяснен и ускорения в присутствии циклоамилоз были невелики (самое большое в 1,38 раза быстрее некаталитической реакции), это исследование заслуживает внимания, поскольку оно представляет первый

ТАБЛИЦА 7

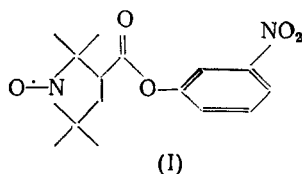
Максимальные константы скорости разрушения пенициллина и константы диссоциации комплексов циклогептаамилозы с пенициллином

(рН 10,24; 31,5°)⁶³

R (схема III)	$k_1 \cdot 10^5, \text{сек}^{-1}$	$k_2 \cdot 10^5, \text{сек}^{-1}$	k_2/k_1	$K_d \cdot 10^3$
CH ₃ —	6,8	252	37	33±3
CH ₃ (CH ₂) ₄ —	5,8	383	66	41±8
CH ₃ (CH ₂) ₈ —	6,3	298	47	21±3
C ₆ H ₅ CH ₂ —	7,0	540	77	43±4
(C ₆ H ₅) ₂ CH—	7,8	268	34	4,7±0,2
(C ₆ H ₅) ₃ C—	27	1040	39	3,85±0,91
	5,8	123	21	12,8±0,08
	5,8	182	31	16±6
	8,0	712	89	75±19
	8,2	438	54	38±6
	5,3	333	63	13,2±0,1

пример энантиомерной специфичности циклоамилоз. Так, при гидролизе рацемического этилового эфира 4-хлорминдальной кислоты в присутствии циклогептаамилозы после 50% превращения образовывалась смесь, содержащая частично разделенный продукт ($[\alpha]_D^{25} = +0,38^\circ$) и частично разделенное исходное соединение ($[\alpha]_D^{25} = -0,17^\circ$).

Еще одним примером энантиомерной специфичности является реакция циклогексаамилозы с *m*-нитрофениловым эфиром 1-окси-3-карбокси-2,2,5,5-тетраметилпирролидина (I), в которой для регистрации взаимодействия с субстратом использовалась спиновая метка ⁶⁴.



Механизм этой реакции аналогичен схеме, приведенной для реакции циклоамилозы с фенилацетатами. Выделено ковалентное промежуточное соединение—ацилированная циклогексаамилоза. Максимальные константы скорости образования *m*-нитрофенола при рН 8,62 (k_2), константы скорости гидролиза промежуточного соединения (k_3) и константы диссоциации комплексов K_d для обоих энантиомеров приведены в табл. 8.

ТАБЛИЦА 8

Энантиомерная специфичность при реакции циклогексаамилозы с соединением (I) (pH 8,62; 25°)⁶⁴

Энантиомер	$k_2 \cdot 10^3, \text{сек}^{-1}$	$k_3 \cdot 10^3, \text{сек}^{-1}$	$K_D \cdot 10^2, M$
(+)-1	25	0,11	$1,9 \pm 0,2$
(-)-1	3,2	0,11	$1,3 \pm 0,2$

ТАБЛИЦА 9

Максимальные константы скорости гидролиза и константы диссоциации комплексов циклогексаамилозы с пара-карбоксифениловыми эфирами при 25°⁴¹

пара-Карбоксифениловый эфир	$k_2 \cdot 10^3, \text{сек}^{-1}$	k_2/k_T	$k_g \cdot 10^3, M$
Ацетат (pH 10,60)	6,7	5,3	150 ± 90
2-Метилпропионат (pH 11,22)	0,44	0,68	12 ± 4
3,3-Диметилбутират (pH 11,22)	0,089	0,19	$1,1 \pm 0,2$

Следует отметить, что специфичность проявляется лишь на стадии ацилирования (k_2), но не на стадии деацилирования и не в силе связывания.

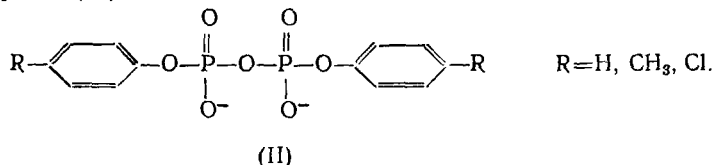
Однако при реакции (I) с циклогептаамилозой энантиомерная специфичность не проявляется⁶⁵. Поскольку потеря специфичности связана с увеличением размера полости циклоамилозы, можно полагать, что специфичность возникает при плотном связывании.

В некоторых случаях циклоамилозы замедляют органические реакции, например, гидролиз этилового эфира *p*-аминобензойной кислоты^{38, 61}. По-видимому, в комплексе эфир теряет реакционную способность, и гидролиз осуществляется только в растворе, вне комплекса. Замедление наблюдается и при гидролизе метил- и этилбензоатов, этилциннамата и метил-*m*-хлорбензоата⁵⁸. Такой эффект может быть обусловлен образованием непродуктивных комплексов. Например, если при включении эфира карбонильная группа размещается в полости циклоамилозы, то она будет экранирована от атаки алкоксильного иона циклоамилозы и гидроксил-иона. В итоге эфир будет стабилизирован непродуктивным связыванием. Другой причиной снижения реакционной способности бензоатов может быть неблагоприятный путь распада тетраэдрического промежуточного соединения. Присоединение алкоксильного иона циклоамилозы к карбонильной группе метилбензоата должно приводить к тетраэдрическому промежуточному соединению, в котором потенциальной уходящей группой может быть алкоксильный ион циклоамилозы или метанола. Поскольку циклоамилоза имеет более кислый характер, чем метанол, тетраэдрическое промежуточное соединение должно превращаться преимущественно в исходные реагенты.

Наиболее характерным примером непродуктивного связывания с циклоамилозой, приводящего к снижению скорости реакции, является гидролиз ряда пара-карбоксифениловых эфиров в присутствии циклогексаамилозы (табл. 9). По мере возрастания гидрофобности эфиров (увеличение алкильного заместителя), гидролиз подавляется. С другой стороны, устойчивость комплексов включения при этом возрастает. Ингибирование может быть обусловлено включением эфирной группировки, а не относительно полярной пара-карбоксифенильной группы в полость циклоамилозы с образованием непродуктивного комплекса.

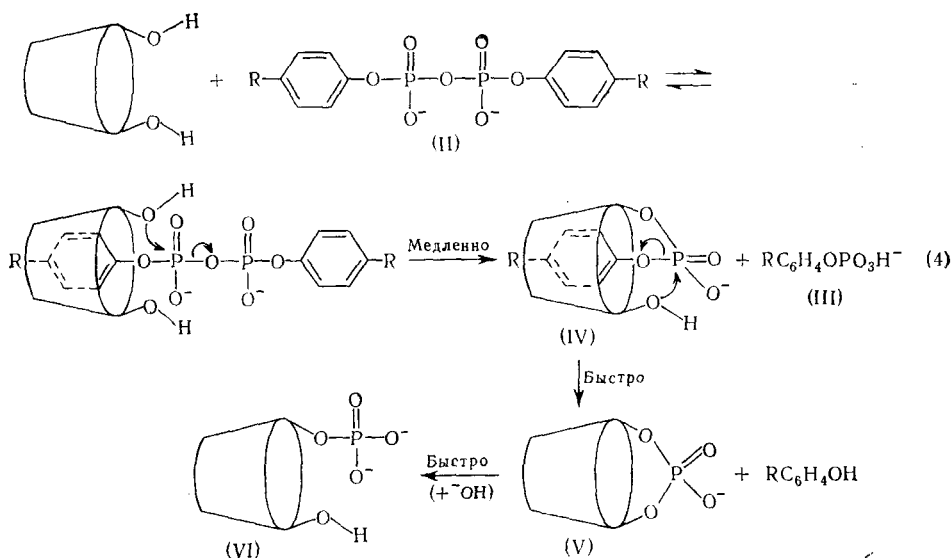
4. Гидролиз фосфорорганических субстратов

Циклоамилозы ускоряют гидролиз не только производных карбоновых кислот. Действительно, одно из первых наблюдений специфичности относительно структуры субстрата и размера полости циклоамилозы было сделано в исследовании⁶⁶ влияния циклоамилоз на гидролиз диарилфосфатов (II)



Циклогептаамилоза увеличивала скорость гидролиза дифенил-, ди-*p*-толил- и ди-*p*-хлорфенил-пирофосфатов (40°; pH 12,0) в присутствии ионов Ca^{2+} в качестве сокатализатора соответственно в 4,4; 9,2 и 200 раз*. Циклогекса- и циклооктаамилозы оказывают меньшее каталитическое действие. По мере образования продуктов реакции наблюдалось снижение скорости реакции. Как отмечалось выше, добавленные инертные соединения и продукты реакции конкурентно ингибируют реакцию, что указывает на равновесное образование комплекса циклоамилозы с субстратом до реакции гидролиза. К сожалению, ограничения, налагаемые исследуемой системой, не позволяют сопоставить устойчивость и реакционную способность комплексов включения.

Для реакции циклогептаамилозы с дифенилпирофосфатом был предложен нуклеофильный механизм (схема 4)⁶⁶, так как при этом образуются равные количества фенола, монофенилфосфата и фосфорилированной циклогептаамилозы.

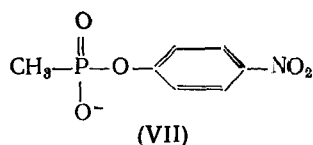


* При уменьшении концентрации ионов Ca^{2+} скорость некатализируемого гидролиза уменьшается более быстро, чем скорость каталитического процесса. Поэтому при изменении соотношения концентраций ионов Ca^{2+} и циклогептаамилозы от 1:1 до 0,33:1 ускорение гидролиза дифенилпирофосфата увеличивается с 4,4 до 27 раз. При низких концентрациях ионов Ca^{2+} катализ циклоамилозами называют «абсолютным» катализом, поскольку не удастся измерить скорость спонтанного гидролиза. Этот термин, однако, ошибочен, так как некатализируемый процесс, как бы он ни был медлен, все же осуществляется (Прим. авторов).

Согласно этому механизму, за быстрой обратимой ассоциацией пирофосфата с циклогептаамилозой следует нуклеофильное расщепление пирофосфата с образованием монофенилфосфата (III) и диэфира — циклогептаамилоза — фенилфосфат (IV).

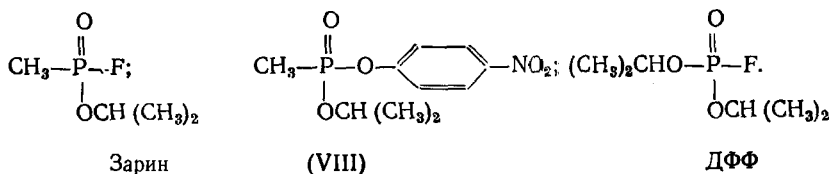
Ускорение реакции проявляется именно на этой стадии фосфорилирования. Затем на быстрых стадиях из диэфира (IV) фенол вытесняется гидроксильной группой циклоамилозы, а образующийся циклический фосфат (V) тут же гидролизуется при pH 12 с образованием нециклического фосфорного эфира циклогептаамилозы (VI). Процесс внутримолекулярного замещения в ковалентном промежуточном соединении аналогичен образованию циклических фосфатов из диэфиров нуклеозидофосфатов.

Скорость появления *p*-нитрофенолят-иона при гидролизе анионного субстрата — *p*-нитрофенилметилфосфоната (VII) —



умеренно возрастает в присутствии циклогептаамилозы⁶⁷. Кинетика реакции и зависимость ее скорости от pH согласуются с нуклеофильным замещением *p*-нитрофенолят-иона алкоксильным ионом циклогептаамилозы. При 60,9° и pH 10 наблюдается примерно пятикратное увеличение скорости реакции. Интересно отметить, что циклогептаамилоза не влияет на скорость гидролиза мета-изомера. Таким образом, специфичность циклогептаамилозы в случае фосфонатов противоположна специфичности в ряду эфиров карбоновых кислот. Полагают⁶⁷, что низкая реакционная способность мета-изомера в данном случае обусловлена неблагоприятным расположением отрицательно заряженного центра этого субстрата вблизи потенциально анионных вторичных гидроксильных групп циклогептаамилозы.

Реакции циклогексаамилозы с хиральными фосфорорганическими субстратами — изопропилметилфторфосфонатом (зарин) и изопропил-*p*-нитрофенилметилфосфонатом (VIII) — являются примерами чрезвычайно высокой энантиомерной специфичности циклоамилоз. Установлено, что механизм этих реакций включает внутрикомплексную нуклеофильную атаку на атом фосфора ионизированной гидроксильной группы циклоамилозы ($pK_a = 12,6$)^{68, 69}. При этом образуются ион фтора или *p*-нитрофенолят-ион и в обоих случаях метилфосфонилциклогексаамилоза. В табл. 10 приведены максимальные константы скорости освобождения фторид- или *p*-нитрофенолят-иона и константы диссоциации комплексов включения. Здесь же представлены данные для ахирального аналога, диизопропилфторфосфата (ДФФ).



На примере зарина особенно хорошо видно, что специфичность циклогексаамилозы проявляется в константе скорости, а не в константе диссоциации. Хотя комплекс (*S*)-(+)-зарина с циклогексаамилозой почти в 7 раз устойчивее комплекса с (*R*)-(—)-заринем, максимальное увеличение скорости значительно больше для (—)-энантиомера. Отчетливо

ТАБЛИЦА 10

Энантиомерная специфичность при реакциях циклогексаамилозы с хиральными фосфорорганическими субстратами

Субстрат	Энантиомер	$k_T \cdot 10^4, \text{сек}^{-1}$	$k_S \cdot 10^4, \text{сек}^{-1}$	k^2/k_T	$K_d \cdot 10^2, M$
Зарин ^а	(R)-(—)	3,3	517	157	$4,0 \pm 0,6$
	(S)-(+)	3,3	14,5	4,4	$0,60 \pm 0,04$
Соединение VIII ^б	(R)-(—)	17	430	25	$2,5 \pm 0,2^d$
	(S)-(+)	17	(23) ^г	—	$1,1 \pm 0,2^e$
ДФФ ^в	—	1,0	90	90	$1,2 \pm 0,1^e$
					21 ± 1

^а pH 9,0; 25° ± 0,1; ^б pH 12,0; 25° ± 0,1; ^в pH 10,0; 25° ± 0,1; ^г константа скорости псевдопервого порядка в присутствии 0,00516 M циклогексаамилозы; ^д определена кинетическим методом; ^е определены спектрофотометрическим методом.

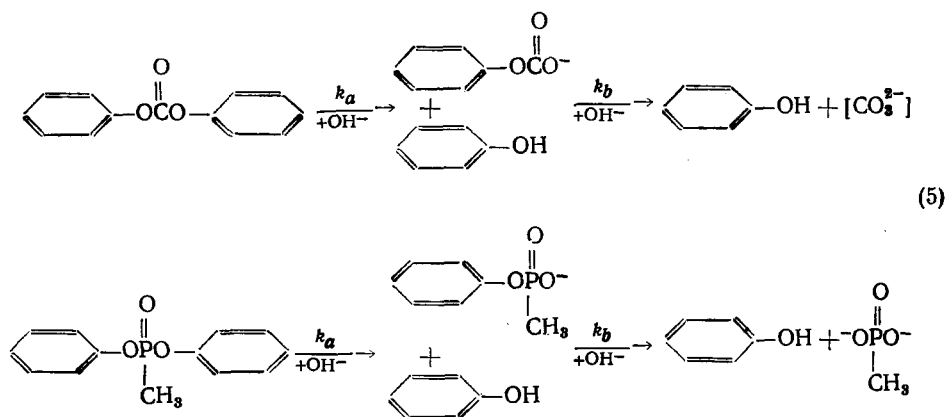
проявляется также специфичность в отношении изопропил-*p*-нитрофенилметилфосфоната: скорость освобождения — *p*-нитрофенолят-иона из (—)-энантиомера в присутствии циклогексаамилозы в 25 раз превышает скорость некаталитического гидролиза, в то время как для (+)-энантиомера различие практически отсутствует. При этом константы диссоциации комплексов включения обоих энантиомеров, определенные спектрофотометрически, совпадают в пределах ошибки эксперимента. Поскольку в полость циклогексаамилозы потенциально могут входить или изопропильная, или *p*-нитрофенильная группы, специфичность обусловлена, по-видимому, образованием двух типов комплексов, различных по реакционной способности. В зависимости от конфигурации энантиомеров, они могут отличаться и по устойчивости.

Для определения сил взаимодействия между циклогексаамилозой и нейтральными фосфорорганическими субстратами была исследована термодинамика образования комплекса включения циклогексаамилоза — ДФФ^г. Поскольку этот процесс сопровождается изменением энтальпии ($-7,3 \text{ ккал/моль}$) и неблагоприятным изменением энтропии (-21 э. ед.), авторы предположили, что основной вклад в энергию комплексообразования вносят полярные взаимодействия — водородные связи и дисперсионные силы. Однако, как уже отмечалось в одном из предыдущих разделов этого обзора, представляется маловероятным, чтобы различия в энергиях межмолекулярных взаимодействий и взаимодействий отдельных молекул с водой были настолько велики, чтобы привести к энтальпии ассоциации $-7,3 \text{ ккал/моль}$. Хотя полярные взаимодействия, бесспорно, участвуют в стабилизации комплексов включения, они, вероятно, играют второстепенную роль по сравнению с гидрофобными силами. Как уже упоминалось выше, циклоамилозы, в отличие от типичных неполярных молекул, по-видимому, не окружены оболочкой сильно структурированной воды. Поэтому ассоциация циклоамилоз с субстратами может происходить с большим отрицательным изменением энтропии, если при этом субстрат в достаточной мере соответствует полости и потеря структурированных молекул воды, первоначально окружавших субстрат, невелика. Компенсирующее благоприятное изменение энтальпии обусловлено взаимной благоприятной сольватацией полости и субстрата и последующей перестройкой молекул воды, вытесненных из полости.

Независимо от относительного значения полярных и неполярных взаимодействий в стабилизации комплекса циклогексаамилоза — ДФФ, вы-

воды, полученные для этой системы, нельзя с достоверностью переносить на хиральные аналоги. ДФФ является исключением в том смысле, что константа диссоциации его комплекса с циклогексаамилозой на порядок превышает константы диссоциации комплексов включения подобных ему субстратов. Это, по-видимому, обусловлено неблагоприятным изменением энтропии при образовании комплекса с ДФФ. Таким образом, прежде чем делать какие-либо выводы о взаимодействиях, которые обуславливают энантиомерную специфичность, следует измерить термодинамические параметры для комплексов с хиральными субстратами.

Реакции циклогептаамилозы с диарилкарбонатами и с диарилметилфосфонатами позволяют непосредственно сравнить производные карбоновой кислоты со структурно аналогичными фосфорорганическими соединениями⁶⁷. Щелочной гидролиз этих соединений осуществляется в две стадии, на каждой из которых выделяется один моль фенола (схема 5).



Однако соотношение скоростей обеих стадий для этих двух реакций противоположно. В то время как щелочной гидролиз диарилкарбоната протекает с отщеплением двух молей фенола в процессе первого порядка ($k_b > k_a$), гидролиз метилфосфоната протекает с освобождением только одного моля фенола с образованием относительно устойчивого промежуточного арилметилфосфоната ($k_a > k_b$). В присутствии же циклогептаамилозы реакции с обоими субстратами протекают кинетически идентично — два моля фенола освобождаются в процессе реакции первого порядка*. В табл. 11 приведены максимальные каталитические константы скорости образования фенола. В отличие от ранее обсуждав-

* Единственным исключением является гидролиз *бис*-(*p*-нитрофенил)-метилфосфоната, который в присутствии циклогептаамилозы дает лишь 1,7 моля фенола. По-видимому, в данном случае гидролиз включенного субстрата может осуществляться по двум конкурентным механизмам: через 1) нуклеофильную атаку ионизированной гидроксильной группы циклоамилозы и 2) нуклеофильную атаку молекулой воды или гидроксил-ионом из раствора. В то время как первый процесс дает 2 моля фенола и фосфорилированную циклоамилозу, в последнем образуется лишь один моль фенола и сравнительно устойчивый анион моноэфира. При одновременном протекании этих процессов может выделяться менее двух молей фенола. Поскольку образующееся в этой реакции количество моноэфира значительно больше, чем можно было ожидать в некаталитической реакции, не исключено, что алкоксид-ион циклоамилозы участвует в основном катализе при взаимодействии молекулы воды с субстратом⁶⁷. (Прим. авторов).

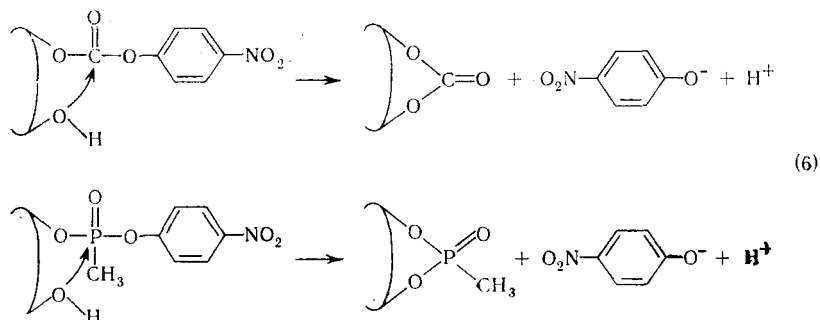
ТАБЛИЦА 11

Максимальные константы скорости образования фенолов и константы диссоциации комплексов циклогептаамилозы с диарилкарбонатами и метилфосфонатами 25,5°⁶⁷

Субстрат	pH	$k_1 \cdot 10^3, \text{сек}^{-1}$	$k_2 \cdot 10^3, \text{сек}^{-1}$	k_2/k_1	$K_d \cdot 10^3, M$
Дифенилкарбонат	10,4	1,64	3,77	2,3	$7,2 \pm 1,3$
Бис-(<i>p</i> -нитрофенил)-карбонат	9,1	4,71	35,1	7,4	$1,54 \pm 0,64$
Дифенилметилфосфонат	10,8	0,35	5,61	16,0	$1,43 \pm 0,18$
Бис-(<i>p</i> -нитрофенил)-метилфосфонат	9,86	8,54	159	18,6	$4,64 \pm 0,15$
Бис-(<i>m</i> -нитрофенил)-метилфосфонат	9,86	2,85	118	41,4	$3,45 \pm 0,19$

шихся реакций циклогептаамилозы с *m*- и *p*-нитрофенилметилфосфонатами, реакция циклогептаамилозы с диарилметилфосфонатами проявляет обычную мета — пара специфичность, т. е. большее кинетическое ускорение наблюдается для мета-изомера. Однако, как и прежде, ускорение реакции не связано со степенью связывания в комплексе.

Особый интерес представляет наблюдаемый первый порядок образования двух молей фенола в реакции циклогептаамилозы с метилфосфонатами. Это можно объяснить (схема 6) внутримолекулярным заме-



щением второго моля фенола соседней гидроксильной группой циклоамилозы внутри ковалентного промежуточного соединения. По-видимому, и для метилфосфонатов, и для карбонатов реакция осуществляется по этому пути, который подобен механизму, предложенному для реакций циклоамилоз с диарилпирофосфатами ⁶⁶.

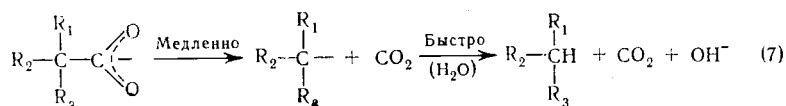
Для оценки увеличения скорости, обусловленного внутримолекулярным фосфорилированием, можно использовать изопропил-*p*-нитрофенилметилфосфонат в качестве модели ковалентного промежуточного соединения, образующегося на первой стадии реакции циклогептаамилозы с бис-(*p*-нитрофенил)-метилфосфонатом. Константа скорости первого порядка для щелочного гидролиза изопропил-*p*-нитрофенилметилфосфоната при pH 9,86 составляет $1,4 \cdot 10^{-5} \text{сек}^{-1}$ ⁶⁹. В то же время максимальная константа скорости реакции циклогептаамилозы с бис-(*p*-нитрофенил)-метилфосфонатом $k_2 = 1,59 \cdot 10^{-1} \text{сек}^{-1}$ при pH 9,86. Эта величина является минимальной скоростью внутримолекулярного фосфорилирования. Таким образом, кинетическое ускорение составляет по крайней мере 10^4 , что соответствует увеличению скорости при образовании циклических фосфатов из диэфиров нуклеозидфосфатов.

IV. НЕКОВАЛЕНТНЫЙ КАТАЛИЗ ЦИКЛОАМИЛОЗАМИ

В отличие от реакций циклоамилоз с эфирами карбоновых и фосфорных кислот, в некоторых случаях изменение скоростей органических реакций может быть вызвано простым включением реагентов в полость циклоамилозы. Нековалентный катализ может быть обусловлен: 1) изменением микроокружения благодаря относительно неполярным свойствам внутри полости циклоамилозы или 2) конформационным изменением, обусловленным геометрическими требованиями процесса включения. Кинетически нековалентный катализ можно охарактеризовать тем же способом, как и ковалентный катализ: k_2 представляет скорость всего продуктивного процесса, осуществляющегося внутри комплекса включения, и K_d равновесную константу диссоциации комплекса.

1. Микросольватационные эффекты

Примером нековалентного катализа циклоамилозами за счет микросольватационного эффекта является декарбоксилирование анионов активированных карбоновых кислот. Считают, что такое декарбоксилирование осуществляется (см. схему 7) обычно путем определяющего скорость гетеролитического расщепления C—C связи при карбоксильной группе.



Сообщалось^{71, 72}, что при pH 10 циклоамилозы увеличивают скорость декарбоксилирования анионов некоторых ацетоуксусных кислот, тригалогенуксусных кислот и фенилциануксусных кислот почти в 15 раз. Обычно увеличение скорости при использовании циклогептаамилозы больше, чем в присутствии циклогексаамилозы, и мало зависит от структуры субстрата.

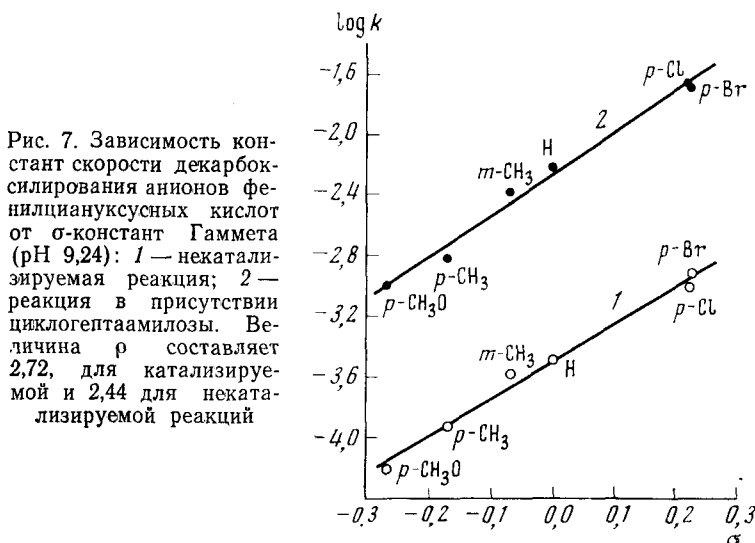
В табл. 12 представлены данные по исследованию катализируемого циклогептаамилозой декарбоксилирования ряда анионов фенилциануксусных кислот⁴⁹. Эти данные существенно отличаются от ранее приведенных примеров ковалентного катализа тем, что максимальное увеличение скорости почти не зависит ни от размера, ни от положения заместителя в фенильном кольце. И максимальная каталитическая константа скорости, k_2 , и некаталитическая константа скорости, k_r , коррелируют с σ -константами Гаммета (рис. 7). Поскольку величина реак-

ТАБЛИЦА 12

Кинетические параметры декарбоксилирования анионов фенилциануксусных кислот, катализируемого циклогептаамилозой (pH 8,6; 60,4°)⁴⁹

$R - C_6H_4CH(CN)CO_2^-$	$k_T \cdot 10^3, \text{сек}^{-1}$	$k_2 \cdot 10^3, \text{сек}^{-1}$	k_2/k_r	$K_d \cdot 10^3, M$
$R = p\text{-CH}_3O\text{-}$	0,0614	0,979	15,9	$17,6 \pm 1,4$
$p\text{-CH}_3\text{-}$	0,119	1,51	12,7	$15,7 \pm 1,4$
$m\text{-CH}_3\text{-}$	0,262	4,13	15,8	$37,3 \pm 3,0$
$o\text{-CH}_3\text{-}$	0,374	4,48	12,0	$67,8 \pm 16,6$
H	0,323	6,03	18,7	$39,5 \pm 5,9$
$p\text{-Cl-}$	0,963	22,4	23,3	$17,6 \pm 0,7$
$o\text{-Cl-}$	4,87	96,4	19,8	$29,8 \pm 2,7$
$p\text{-Br-}$	1,21	20,1	16,6	$8,5 \pm 0,5$

ционной константы, ρ , обратно пропорциональна диэлектрической проницаемости растворителя⁷³, увеличение ρ для катализируемой циклогептаамилозой реакции может означать, что полость циклоамилозы



является микрорастворителем с более низкой диэлектрической проницаемостью, в отличие от водного раствора. Как и следовало ожидать для такого эффекта в противоположность специфическому взаимодействию субстрата с ионизированной гидроксильной группой циклоамилозы*, каталитическое ускорение не зависит от рН. Например, скорость катализируемого циклогептаамилозой декарбоксилирования аниона *p*-хлорфенилциануксусной кислоты изменяется не более чем на 10% при

ТАБЛИЦА 13

Зависимость активационных параметров декарбоксилирования аниона *p*-хлорфенилциануксусной кислоты от растворителя (60,4°)⁴⁹

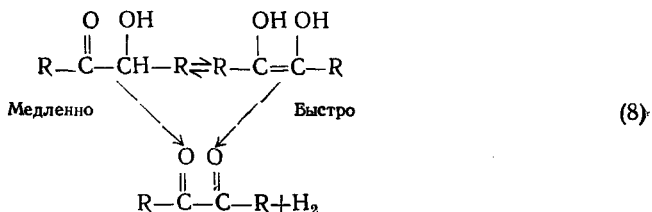
Растворитель	ΔF^\ddagger , ккал/моль	E_a , ккал/моль	ΔS^\ddagger , э. е.
Вода	$25,0 \pm 1,1$	$31,3 \pm 0,5$	19 ± 2
Циклогептаамилоза	$22,5 \pm 1,2$	$26,1 \pm 0,6$	10 ± 2
2-Пропанол (57,5% по весу) — вода	$22,4 \pm 0,2$	$25,6 \pm 0,1$	$8,6 \pm 0,1$

изменении рН от 4,0 до 11,5⁴⁹. Наконец, следует отметить, что путем подбора соответствующего растворителя можно добиться такого же кинетического эффекта, как и при использовании циклогептаамилозы. Из табл. 13 видно, что активационные параметры реакции декарбоксилирования аниона *p*-хлорфенилциануксусной кислоты в присутствии циклогептаамилозы и в 57,5%-ном (по весу) водном растворе пропанола очень близки. Таким образом, включение субстрата в полость цикло-

* Ранее для объяснения увеличения скорости декарбоксилирования предполагали специфическое взаимодействие между включенным субстратом и гидроксильными группами циклоамилозы⁷². Однако в свете дополнительных данных, в особенности отсутствия зависимости ускорения реакции от структуры субстрата и рН, микросольватационный эффект, по-видимому, более вероятен (Прим. авторов).

амилозы приводит, по-видимому, к изменению сольватации, характерному для переноса субстрата из воды в смешанный растворитель.

Еще одним примером катализа циклоамилозой, который обусловлен, вероятно, микросольватационным эффектом, является окисление α -оксикетонов в α -дикетоны:

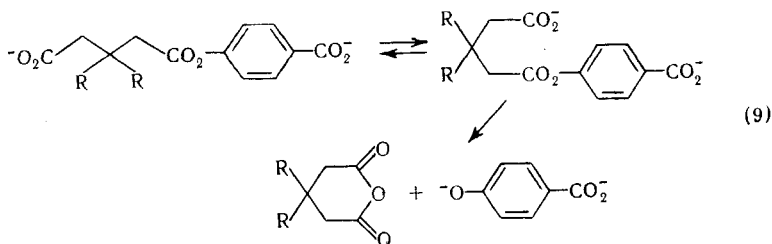


Скорость окисления увеличивается в 2,1—8,3 раза в зависимости от структуры субстрата. Такое ускорение можно объяснить смещением кето-енольного равновесия под влиянием циклоамилозы в сторону более реакционноспособной енольной формы⁷⁴.

Гидролиз *p*-нитрофенил- и 2,4-динитрофенилсульфатов ускоряется в присутствии циклогептаамилозы (pH 9,98; 50,3°) соответственно в 4 и 8 раз⁷⁵. Полагают, что такие ускорения обусловлены стабилизацией переходного состояния за счет делокализации заряда в активированном комплексе, и являются доказательством индуцирования напряжения в субстратах при включении их в полость циклоамилозы. Другим объяснением увеличения скорости гидролиза арилсульфатов может быть микросольватационный эффект. Для исключения одного из этих возможных механизмов было бы желательно сравнение влияния циклогептаамилозы и смешанного растворителя (2-пропанол — вода) на скорость реакции.

2. Конформационные эффекты

Ускорение или замедление циклоамилозами внутримолекулярных реакций может быть обусловлено конформационными эффектами. Скорость внутримолекулярной реакции зависит не только от близости реакционных группировок, но и от их относительной ориентации. Например, показано⁷⁶, что скорость образования циклических ангидридов из моноэфиров 3-замещенных глутаровых кислот зависит от размера заместителя в положении 3. Предполагают, что это обусловлено изменением соотношения концентраций реакционных и нереакционных конформеров глутаровых кислот при изменении заместителя в положении 3 (схема 9).



Очевидно, что циклоамилозы могут образовывать комплексы включения предпочтительно с одним из конформеров, и изменять за счет этого распределение конформеров в исходном состоянии. Оказалось, что скорость внутримолекулярной атаки карбоксил-ионом в ряду *p*-карбоксифениловых эфиров 3-замещенных глутаровых кислот сильно замедляется в присутствии циклогептаамилозы (табл. 14)⁴⁸. Поскольку реакции в присутствии и в отсутствие циклогептаамилозы одинаково зависят от

pH, то роль циклоамилозы в этом случае ограничивается только комплексообразованием. Поэтому реакционная способность определяется геометрией образующихся комплексов.

ТАБЛИЦА 14

Скорости гидролиза моно-*p*-карбоксифениловых эфиров 3-замещенных глutarовых кислот в присутствии и в отсутствие циклогептаамилозы (pH 9,4; 30°)⁴⁸

3-Заместитель	$k_1 \cdot 10^4, \text{сек}^{-1}$	$k_2 \cdot 10^4, \text{сек}^{-1}$	k_2/k_1	$K_d \cdot 10^4, M$
3,3-Диметил-	20,1	0,40	0,02	4,6
3-Изопропил-	21,6	1,5	0,07	14,5
3-Фенил-	1,96	0,47	0,24	13,1
3-Метил-	4,54	0,04	0,009	32,8

ТАБЛИЦА 15

Максимальные константы скорости декарбоксилирования и константы диссоциации комплексов циклогептаамилозы с бензоилуксусными кислотами (50,3°)⁴⁹

Субстрат	$k_1 \cdot 10^{3a}, \text{сек}^{-1}$	$k_2 \cdot 10^{3b}, \text{сек}^{-1}$	k_2/k_1	$K_d \cdot 10^{3b}, M$
Бензоилуксусная кислота	0,950	5,90	6,2	$9,8 \pm 0,6$
<i>p</i> -Метилбензоилуксусная кислота	0,967	6,04	6,2	$4,6 \pm 0,3$
<i>m</i> -Хлорбензоилуксусная кислота	0,939	5,20	5,5	$6,0 \pm 0,1$

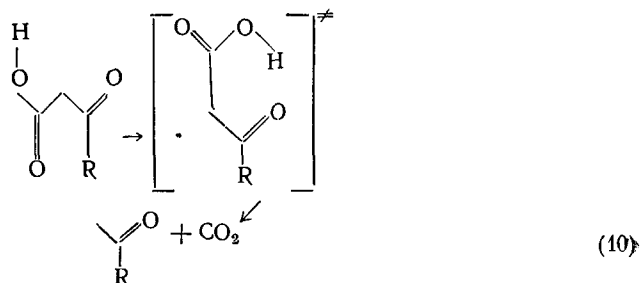
^a В 0,1*N* HCl; ^b экстраполированы по зависимости от pH к pH 1,0; ^b при pH 3,0.

Однако аргументы, приводимые для объяснения замедления скорости, спорны, так как невозможно точно установить геометрию связывания. По аналогии с другими соединениями, комплексообразование осуществляется, вероятно, путем включения заместителя в положение 3, а не относительно полярной карбоксильной группы. Хотя такое включение должно было бы облегчать внутримолекулярную реакцию, вместо этого взаимодействие включенного субстрата с полостью циклогептаамилозы затрудняет сближение карбоксильной группы с эфирным углеродом. С другой стороны, наблюдаемые замедления могут отражать тонкие геометрические особенности активированного комплекса, которые неочевидны при рассмотрении молекулярных моделей.

Примером катализа циклоамилозами, обусловленного, по крайней мере частично, благоприятным конформационным эффектом, является декарбоксилирование некоторых неионизированных β-кетокислот, которое в присутствии циклогептаамилозы ускоряется примерно в 6 раз (табл. 15)⁴⁹. В отличие от декарбоксилирования анионов, скорость реакции в кислой среде мало зависит от растворителя. Например, скорость декарбоксилирования бензоилуксусной кислоты в смесях 2-пропанол — вода увеличивается только в 2,5 раза по сравнению с водой*.

* Скорость этой реакции возрастает также в смесях диоксан — вода⁷⁷ и ацетонитрил — вода⁴⁹. Однако и в этих растворах увеличение скорости не превышает 2,5-кратного. В апротонных растворителях, например в бензоле, скорости декарбоксилирования снижаются⁷⁸ (Прим. авторов).

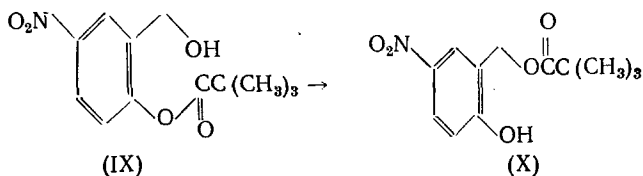
Таким образом, если принять, что смесь 2-пропанол — вода точно моделирует диэлектрические свойства полости циклоамилозы, то наблюдаемое ускорение нельзя объяснить только микросольватационным эффектом. Поскольку декарбоксилирование неионизированных β -кетокислот осуществляется через циклическое переходное состояние (схема 10), можно предполагать, что дополнительное увеличение скорости обусловлено преимущественным включением циклического конформера



Такое включение эффективно «замораживает» субстрат в реакционно-способной конформации и, таким образом, дополняет микросольватационный эффект⁴⁹.

В противоположность циклогептаамилозе, циклогексаамилоза уменьшает скорость этой реакции⁴⁹. Такая высокая чувствительность к размеру полости циклоамилозы не удивительна, поскольку конформационные эффекты сильно зависят от геометрии связывания. По-видимому, меньшая по размеру полость циклогексаамилозы не способна включать циклическое переходное состояние при кислотном декарбоксилировании.

Еще одним примером ускорения реакции в присутствии циклоамилоз, которое вполне можно объяснить конформационным эффектом, является перенос триметилацетильной группы от фенольного кислорода в соединении (IX) к алифатическому кислороду соседней оксиметильной группы с образованием изомера (X). Эта внутримолекулярная



трансэтерификация осуществляется значительно быстрее сравнимых межмолекулярных реакций*; при pH 7,0 и 25,0° константа скорости равна $3,52 \cdot 10^{-2} \text{ сек}^{-1}$ ⁷⁹. Еще большее ускорение достигается при включении этого соединения в полость циклогексаамилозы ($k_2 = 1,6 \cdot 10^{-1} \text{ сек}^{-1}$). Это 5-кратное ускорение нельзя удовлетворительно объяснить ни микросольватационным эффектом, который должен был бы уменьшать скорость реакции, ни ковалентным участием гидроксильных групп циклоамилозы при этом низком значении pH. Однако оно вполне объяснимо, если принять во внимание конформационные эффекты. В комплексе оксиметильная группа фиксируется в реакционноспособном положении относительно ацильного атома углерода. Так же, как и в случае реакции декарбоксилирования β -кетокислот, ацильная миграция чувствительна к размеру полости циклоамилозы. Скорость этой реакции уменьшается в

* Внутримолекулярная трансэтерификация осуществляется примерно в 10^5 раз быстрее гидролиза, при котором происходит межмолекулярный перенос триметилацетильной группы на молекулу окружающей воды⁷⁹ (Прим. авторов).

присутствии циклогептаамилозы. Замедление объясняется, по-видимому, непродуктивным связыванием триметилацетильной группы внутри большей по размеру полости циклогептаамилозы.

Последние два примера благоприятных конформационных эффектов позволяют сделать вывод о том, что энергия связывания при ассоциации катализатора и субстрата используется для снижения свободной энергии активации путем ограничения числа нереакционных конформеров, которые может принимать субстрат. Следовательно, величина ускорения реакции может быть приблизительно равна изменению свободной энергии, требуемой для «замораживания» внутреннего вращения. Такое изменение составляет примерно $0,76 \text{ ккал/моль}^{80}$ и соответствует изменению скорости примерно в 5 раз (при 25°), что хорошо согласуется с величинами, полученными в указанных выше двух примерах. По-видимому, можно достигнуть больших ускорений с более подвижными субстратами, для которых процесс включения будет накладывать большие ориентационные ограничения.

В заключение следует отметить, что, если рассматривать конформационные ограничения или специфические сольватационные эффекты как формы напряжений в органических молекулах, то нековалентный катализ циклоамилозами является простой моделью для исследования эффектов напряжения и дисторсионных эффектов в ферментативных реакциях.

У. КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЦИКЛОАМИЛОЗ

Как уже отмечалось ранее, использование циклоамилоз как ковалентных катализаторов ограничено низкой реакционной способностью каталитически активных гидроксильных групп при нейтральных рН и сравнительно медленным деацилированием ковалентных промежуточных соединений. Для устранения этих недостатков некоторые исследователи пытались избирательно модифицировать циклоамилозы введением внутреннего катализатора для облегчения деацилирования, или введением более сильного нуклеофила для ускорения ацилирования и (или) деацилирования.

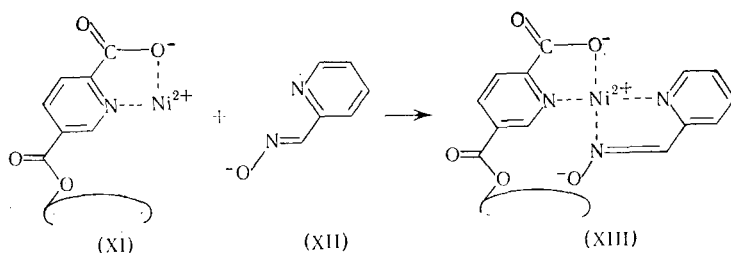
Для успешной избирательной модификации циклоамилоз следует преодолеть значительные синтетические трудности, обусловленные главным образом большим числом реакционноспособных гидроксильных групп циклоамилозы. При использовании методов, разработанных для нециклических углеводов, циклоамилозы обычно модифицируются неспецифично с образованием, например, додека-О-метилциклогексаамилозы^{23, 81}. С метилирующими агентами первичные гидроксильные группы реагируют быстрее, чем вторичные гидроксилы при атомах С(2) глюкозного остова, которые, в свою очередь, реагируют более быстро, чем остальные вторичные гидроксильные группы при атомах С(3). При использовании более усовершенствованных методов можно, однако, провести избирательную модификацию первичных гидроксильных групп. Так была получена, например, гекса-(6-О-тозил)-циклогексаамилоза^{82, 83}. Тозилированные циклоамилозы, в свою очередь, можно превратить в другие производные, замещая одну или более тозилных групп нуклеофильными реагентами⁸³. Разработан метод избирательной модификации одной первичной гидроксильной группы, и получены несколько монозамещенных циклогексаамилоз через промежуточную моно-6-О-тозилциклогексаамилозу⁸⁴.

Была сделана попытка используя аналогичные методы улучшить каталитические свойства циклоамилоз путем введения имидазольной группы при первичном гидроксиле циклоамилозы^{85, 86}. Модификация осуществлялась или реакцией циклогекса-(циклогепта-)амилозы с 4(5)-хлорметилимидазолом в присутствии основания, или реакцией то-зилированной циклоамилозы с нуклеофильным 4(5)-аминометилимидазолом. В зависимости от времени реакции, были получены циклоамилозы, содержащие в среднем от двух до четырех имидазольных колец на молекулу циклоамилозы. Полагают⁸⁴, что циклоамилозы, содержащие, например, две имидазольные группы, представляют смеси соединений с различными степенями замещения и различных изомеров, т. е. что вслед за введением первой имидазольной группы, вторая может входить в любое из оставшихся трех положений. К сожалению, такая структурная неопределенность не позволяет точно оценить каталитические свойства этих производных.

Гидролиз *p*-нитрофенилацетата наиболее эффективно катализируется производными циклогептаамилозы, содержащими около двух имидазольных групп на молекулу⁸⁶. При рН 7,5 и 23° такая циклоамилоза ускоряет реакцию в 300 раз по сравнению с некатализируемой реакцией. Однако по сравнению с гидролизом в присутствии эквивалентных количеств имидазола, который эффективно катализирует гидролиз эфиров при нейтральных рН, скорость в присутствии этого производного циклогексаамилозы увеличивается лишь в 2—3 раза.

Такое увеличение скорости объясняют внутримолекулярным участием введенной имидазольной группы (как общесосновного катализатора) в реакции нуклеофильного замещения фенола во включенном эфире гидроксильными группами циклогептаамилозы⁸⁶. В качестве подтверждения этого предположения сообщается о конкурентном ингибировании этой реакции *p*-нитрофенолом. Однако наблюдаемое увеличение скорости реакции в 2—3 раза можно вполне объяснить, если допустить, что имидазол действует как межмолекулярный катализатор, а циклоамилоза действует своим обычным способом. Эти два механизма невозможно разделить до тех пор, пока не будет установлена структура этих производных циклоамилозы и, кроме того, пока не будут получены максимальные каталитические константы скорости диссоциации комплексов циклоамилоза — субстрат. Производные циклоамилозы, содержащие вторичные имидазольные группы, будут, по-видимому, обладать еще большей каталитической активностью.

Хотя получить циклоамилозы со вторичными имидазольными группами пока не удалось, в настоящее время разработаны методы для обращения обычной реакционной способности гидроксильных групп циклоамилозы путем избирательной модификации вторичных гидроксильных групп. Поскольку последние легко ацилируются *m*-нитрофениловыми эфирами, самым простым методом является реакция циклоамилозы с *m*-нитрофениловыми эфирами, содержащими в ацильной части потенциальный катализатор. Образующиеся ацилированные циклоамилозы вполне устойчивы при рН 4—6, но легко гидролизуются в щелочных растворах. Таким методом удалось ввести в циклогексаамилозу пиридин-2,5-дикарбоновую кислоту⁸⁷. Хелат никеля с этим соединением (XI) превращался затем в каталитически активную форму (XIII) с одним эквивалентом пиридин-2-альдоксима (XII). Установлено⁸⁸, что реакция оксима (XII) с эфирами является двухстадийным процессом. На первой стадии происходит ацилирование нуклеофильного атома кислорода с выделением фенола



а на второй — более медленный гидролиз промежуточного ацилированного оксима. По-видимому, реакция производного циклоамилозы (XIII) с эфирами карбоновых кислот протекает аналогично.

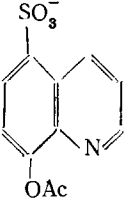
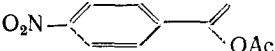
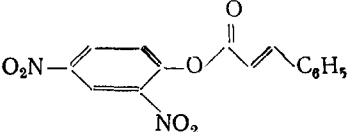
В табл. 16 приведены константы скорости (псевдопервого порядка) освобождения фенола при реакциях эквивалентных количеств оксима (XII) и комплекса (XIII) с несколькими субстратами. Поскольку катализ конкурентно ингибируется циклогексанолом, можно полагать, что первоначальное ацилирование производного циклогексаамилозы является внутрикомплексным процессом⁸⁷. Однако константы диссоциации комплексов включения должны быть большими, так как зависимость скорости выделения фенола от концентрации катализатора линейна. Поэтому реакция может частично протекать по межмолекулярному механизму.

Как видно из данных табл. 16, каталитическое влияние производного циклоамилозы (XIII) зависит от структуры субстрата. Например, гидролиз 8-ацетокси-5-хиолинсульфоната (АХС) — субстрата большого размера, который не может включаться в полость циклогексаамилозы, — не ускоряется в присутствии этого производного. Кроме того, в отличие от немодифицированных циклоамилоз, увеличение скорости гидролиза *p*-нитрофенилацетата больше, чем мета-изомера. Это подтверждает вывод о том, что реакция осуществляется по внутримолекулярному механизму. Действительно, на молекулярных моделях видно, что нуклеофильный оксим, расположенный на некотором расстоянии от кольца циклогексаамилозы, может более легко приближаться к карбонильному углероду включенного пара-замещенного субстрата по сравнению с мета-изомером⁸⁹.

Таким образом, производное (XIII) ускоряет отщепление фенола в некоторых эфирах посредством включения субстрата в полость циклогексаамилозы перед нуклеофильным замещением фенола введенным нуклеофилом. Следует отметить, что эти ускорения наблюдаются при нейтральных рН, и в этом отношении достигается одна из вышеупомянутых целей модификации циклоамилоз. Однако увеличение скорости не очень значительно, поскольку присоединение нуклеофила к связываемому участку циклоамилозы недостаточно увеличивает его реакционную способность. Кроме того, стадией, определяющей общую скорость гидролиза, все равно остается деацилирование ковалентного промежуточного соединения. Полагают⁸⁷, что ускорения реакций в присутствии этого катализатора могут быть ограничены, благодаря неблагоприятному энтропийному члену, обусловленному затормаживанием некоторых внутренних вращений, необходимых для фиксации присоединенного нуклеофила в реакционноспособном положении. Следует добавить, что обладающий значительными размерами пиридин-2-альдоксим может конкурировать с потенциальными субстратами за участок связывания циклоамилозы или, по крайней мере, затруднять достижение этого участка субстратом.

ТАБЛИЦА 16

Сравнение влияния соединений (XII) и (XIII) на скорости гидролиза
некоторых эфиров (pH 5,2; 30°)^{87,89}

Субстрат	$k_{\text{XIII}} \cdot 10^2$ *, мин ⁻¹	$k_{\text{XII}} \cdot 10^2$ *, мин ⁻¹	$k_{\text{XIII}}/k_{\text{XII}}$
<i>p</i> -Нитрофенилацетат	19,3	5,06	3,8
<i>m</i> -Нитрофенилацетат	0,76	0,85	0,89
 (AXC)	11,9	21,4	0,56
	0,101	0,072	1,4
	7,5	1,67	4,5

* Константы скорости (псевдопервого порядка) ацилирования катализатора в присутствии эквивалентных концентраций соединений (XII) и (XIII).

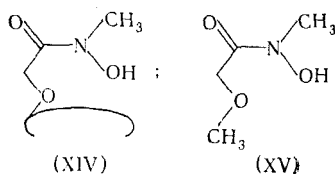
Попытки найти каталитически активные производные циклоамилозы, которые сохраняли бы комплексообразующие свойства немодифицированных циклоамилоз *, привели к получению циклогексаамилозы, в которой ко вторичной гидроксильной группе был присоединен остаток гидроксамовой кислоты⁹². Исходной и наиболее важной стадией при синтезе этого соединения была реакция ионизированной циклогексаамилозы с натриевой солью иодусусной кислоты для избирательного получения монокарбоксиметилированного продукта **. Окисление этого соединения периодатом однозначно показывает, что карбоксиметильная группа расположена у вторичного гидроксила. Затем карбоксиль-

* Для улучшения каталитических свойств циклоамилоз, первичные и вторичные гидроксильные группы циклогексаамилозы замещались на тиольные группы^{90, 91}, рK_a которых ближе к нейтральным, чем у гидроксильных групп. Однако, ни одно из этих производных не катализировало гидролиз *m*-нитрофенилацетата больше, чем немодифицированная циклогексаамилоза (Прим. авторов).

** Неопубликованный до настоящего времени *** метод получения карбоксиметилциклогексаамилозы, важного промежуточного продукта для других модификаций, состоит в следующем⁹³. 15 мл сухого диметилсульфоксида добавляли в атмосфере азота к 0,234 г (9,75 ммоль) гидрида натрия. После завершения бурной реакции смесь выдерживали при 80° до прекращения выделения водорода (около 1 часа). После охлаждения добавляли из капельной воронки раствор 8,4 г (8,64 ммоль) циклогексаамилозы в 10 мл диметилсульфоксида и сразу вслед за этим к бледно-зеленому раствору добавляли 0,37 г (1,75 ммоль) иодацетата натрия в 5 мл диметилсульфоксида. После нагревания при 55° в течение 48 часов раствор подкисляли 15 мл 1 N HCl и сырой продукт осадили добавлением 700 мл ацетона. Карбоксиметилированная циклогексаамилоза может быть очищена гель-фильтрацией через колонку с сефадексом G-10 и хроматографией на колонке с ДЕАЕ сефадексом А-25. Такая очистка приводит к продукту 92—97%-ной чистоты (определялась по содержанию карбоксильных групп) (Прим. авторов).

*** К моменту выхода этого перевода указанный метод опубликован⁹⁷ (Прим. переводчика).

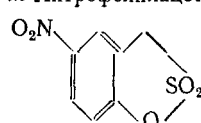
ная группа была этерифицирована диазометаном в диметилформамиде, и обработка метилгидроксиламином в диметилсульфоксиде привела к образованию требуемой модифицированной *N*-метилгидроксамовой кислотой циклогексаамилозы (XIV).



По-видимому, небольшие гидроксаматные группы также мешают процессу включения, поскольку не удается получить кинетического подтверждения насыщения катализатора. Зависимость констант скорости (псевдопервого порядка) освобождения фенола от концентрации катализатора линейна. В табл. 17 приведены кажущиеся константы скорости второго порядка, полученные из наклонов этих зависимостей. Чтобы оценить влияние циклогексаамилозы на реакционную способность нуклеофила, в табл. 17 приведены для сравнения константы скорости второго порядка для реакций тех же субстратов с нециклическим аналогом производного циклогексаамилозы — *N*-метил-1-метоксиацетогидроксамовой кислотой (XV).

ТАБЛИЦА 17

Сравнение влияния соединений (XIV) и (XV) на скорости гидролиза некоторых эфиров (рН 7,95; 25°)⁹³

Субстрат	$k_{XIV}, M^{-1}сек^{-1}$	$k_{XV}, M^{-1}сек^{-1}$	k_{XIV}/k_{XV}
<i>p</i> -Нитрофенилацетат	72,4	4,01	17
<i>m</i> -Нитрофенилацетат	7,3	1,30	5,6
	45,2	0,65	70
<i>p</i> -Трет-бутилфенил-хлорацетат	7,0	2,6	3
<i>m</i> -Трет-бутилфенил-хлорацетат	9,0	2,6	3

* Кажущиеся константы скорости второго порядка появления фенола, полученные из наклонов графиков зависимостей $k_{набл.}$ от концентрации катализатора.

Хотя кинетические данные не дают прямого доказательства предвзятительного равновесного комплексобразования, такой механизм подтверждается конкурентным ингибированием циклогексанолам, а также проявляемой субстратной специфичностью. Поскольку скорость каталитической реакции пропорциональна концентрации ионизированной гидроксаматной группировки (значения pK_a , определенные кинетически и спектрофотометрически, совпадают в пределах экспериментальной ошибки и составляют 8,5), реакция протекает, вероятно, по нуклеофильному механизму с образованием ацильного промежуточного соединения. Хотя ацильные производные *N*-алкилгидроксамовых кислот крайне неустойчивы в водных растворах, тем не менее определяющей скоростью гидролиза стадией является деацилирование⁹⁴.

Несмотря на то, что точная оценка каталитической эффективности этого производного невозможна из-за отсутствия максимальных ката-

литических констант скорости, некоторые особенности данных табл. 17 заслуживают внимания. Производное (XIV) ускоряет реакции значительно больше, чем ранее рассмотренные производные циклоамилозы. В случае сультона, например, реакционная способность гидроксамата увеличивается в 70 раз при присоединении этой группы к связывающему участку циклогексаамилозы. Следует учесть к тому же, что это ускорение обусловлено лишь одной нуклеофильной группой в производном циклогексаамилозы, тогда как обычная циклогексаамилоза содержит шесть потенциально нуклеофильных групп в связывающем участке. Если предположить, что константа диссоциации комплекса включения *p*-нитрофенилацетата с циклоамилозой (XIV) равна $5 \cdot 10^{-2} M$, то максимальная каталитическая константа скорости освобождения *p*-нитрофенола из полностью комплексированного эфира составит $3,6 \text{ сек}^{-1}$ *. Отношение этой константы скорости первого порядка внутримолекулярной реакции к константе скорости второго порядка для реакции *N*-метил-1-метоксиацетатгидроксамовой кислоты (XV) с *p*-нитрофенилацетатом близко к 1 *M*. Таким образом, увеличенную реакционную способность модифицированной циклоамилозы (XIV) разумно объяснять увеличением эффективной локальной концентрации нуклеофила вблизи субстрата.

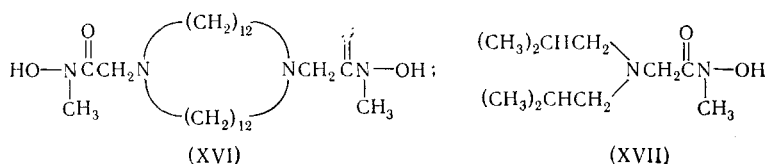
Модифицированная циклоамилоза (XIV), как и производное циклоамилозы (XIII), проявляет явно выраженную специфичность к *p*-нитрофенилацетату по сравнению с мета-изомером, обусловленную, по-видимому, геометрией комплекса включения, т. е. более благоприятным расположением внутри комплекса реакционного центра пара-изомера относительно гидроксаматной группировки.

Таким образом, эта модификация позволяет достигнуть лишь одну из двух целей — снижение рН функционирования катализатора. Введение гидроксаматной группировки в циклоамилозу не увеличивает существенно скорости деацилирования ковалентного промежуточного соединения, и эта стадия остается определяющей скоростью всей реакции гидролиза. Показано, однако, что скорости деацилирования простых ацилгидроксаматов можно увеличить введением внутреннего катализатора⁹⁴. Например, эффективность *N*-метилацетогидроксамовой кислоты как нуклеофильного катализатора возрастает в 25 раз при замене метильной группы на *N,N*-диметиламиноэтильную. Этот внутренний катализатор увеличивает скорость деацилирования с помощью общесосновного катализа взаимодействия молекул воды с карбонильным углеродом ацильного промежуточного соединения. Было бы очень желательно с помощью методов, описанных выше, присоединить этот более эффективный нуклеофильный катализатор ко вторичной гидроксильной группе циклоамилозы.

Можно полагать, что и другие макроциклические соединения могут проявлять многие специфические свойства циклоамилоз. Так, был получен макроциклический амин, содержащий две потенциально каталитические гидроксамовые группы (XVI)⁹⁵. Алифатические цепочки этого соединения создают потенциальный связывающий участок, подобный полости циклоамилозы (диаметр полости макроциклического амина приблизительно равен диаметру полости циклогептаамилозы). Чтобы отделить влияние включения в полость амина (XVI) от реакционной

* Пренебрегая некаталитической реакцией, которая при этом рН должна быть очень медленной, получаем для линейной части кривой насыщения уравнение $k_{\text{набл.}} = k_2/K_d [C]$. Таким образом, k_2 можно получить в виде произведения тангенса угла наклона зависимости $k_{\text{набл.}}$ от $[C]$ и принятой величины K_d . В данном случае $k_2 = (72,4 M^{-1} \text{сек}^{-1}) (5 \cdot 10^{-2} M) = 3,6 \text{ сек}^{-1}$.

способности собственно гидроксамовых группировок, каталитические свойства этого соединения сравнивались со свойствами нециклического аналога (XVII) ⁹⁵.



В табл. 18 приведены кажущиеся константы скорости второго порядка для реакций соединений (XVI) и (XVII) с рядом *p*-нитрофениловых эфиров карбоновых кислот. Гидросамат-ион действует в обеих системах, по-видимому, как нуклеофил, причем, образуется ацильное промежуточное соединение и одновременно выделяется *p*-нитрофенол. Ускорения, приведенные в табл. 18, относятся к этому начальному ацилированию.

ТАБЛИЦА 18

Сравнение влияния соединений (XVI) и (XVII) на скорости освобождения *p*-нитрофенола из *p*-нитрофенилкарбоксилатов (pH 6,80; 25°) ⁹⁵

<i>p</i> -Нитрофениловый эфир	$k_{XVI}^*, M^{-1}сек^{-1}$	$k_{XVII}^*, M^{-1}сек^{-1}$	k_{XVI}/k_{XVII}
Ацетат	1,18	0,693	1,7
Пропионат	1,32	0,527	2,5
Бутират	(4,00) **	0,420	9,0
Изобутират	2,29	0,230	10
Валерат	3,31	0,340	9,8
Гексаноат	6,35	0,350	15
Октаноат	34,2	0,190	150
Додеканоат	152	0,02	7600

* Кажущиеся константы скорости второго порядка появления *p*-нитрофенола.

** Максимальная константа скорости, k_2 , появления *p*-нитрофенола.

Данные табл. 18 означают, что увеличения скорости обусловлены ассоциацией катализатора с субстратом до реакции. Это подтверждается и тем, что скорость образования *p*-нитрофенола из *p*-нитрофенилбутирата в присутствии амина (XVI) подчиняется кинетике насыщения. Константа диссоциации этого комплекса составляет $9,9 \cdot 10^{-4}$ М, т. е. связывание очень сильное. К сожалению, константы диссоциации комплексосоединения (XVI) с другими субстратами еще не определены.

Еще одним подтверждением наличия дискретного участка связывания является тот факт, что иодид калия понижает скорость появления фенола из *p*-нитрофенилгексаноата в присутствии (XVI). В то же время он несколько ускоряет реакцию нециклического амина (XVII) с тем же субстратом, что соответствует неспецифическому солевому эффекту. Иодид-ион может включаться в полость (10,10,10)-диазабициклоалканов ⁹⁶. Поэтому можно предположить, что ингибирование реакции амина (XVI) с *p*-нитрофенилгексаноатом в присутствии иодид-ионов обусловлено конкуренцией за участок связывания.

Хотя приведенные здесь данные интерпретированы, исходя из специфического взаимодействия между катализатором и субстратом, точный механизм катализа окончательно не установлен. Действительно, нельзя исключить возможность того, что увеличение скорости реакций

вызвано связыванием вне полости соединения (XVI). Тем не менее, эти предварительные результаты показывают, что макроциклические амины могут превосходить циклоамилозы по каталитической эффективности и представляют несомненный интерес для дальнейших исследований.

* * *

Совсем недавно (в 1965 году) Тома и Стюарт предсказывали, что «следует ожидать (в присутствии циклоамилоз) изменений скоростей реакций, величина и знак которых будут варьировать в зависимости от типа реакции», отметив, что «в настоящее время невозможно точно определить, какие факторы вносят наиболее существенный вклад в увеличение или уменьшение энергии активации реакции»⁹. За короткий промежуток времени, прошедший с 1965 года, было обнаружено множество примеров ускорения и замедления реакций в присутствии циклоамилоз. Но наиболее важно то, что изменения скорости, обусловленные циклоамилозами, можно теперь объяснить значительно более уверенно. Например, реакции производных карбоновых кислот и фосфорорганических соединений с циклоамилозами протекают с образованием ковалентных промежуточных соединений. На другие типы реакций влияют, по-видимому, микроскопические диэлектрические свойства полости циклоамилозы или геометрические особенности процесса включения.

Во всех случаях катализ циклоамилозами проявляет специфичность как в отношении структуры субстрата, так и в отношении размера полости циклоамилозы. Хотя в понимании причин специфичности достигнут значительный прогресс, до сих пор нельзя с уверенностью ответить на вопрос, почему специфичность проявляется в каталитических константах скорости, а не в константах диссоциации комплексов включения. Объяснения специфичности катализа циклоамилозами, предложенные в этом обзоре, не следует рассматривать как ответ на этот вопрос; скорее, они должны стимулировать дальнейшие исследования. Например, для проверки гипотезы о том, что специфичность обусловлена «плотностью» связывания, были бы желательны детальные исследования термодинамики комплексообразования и каталитических процессов, а также изменения термодинамических параметров в зависимости от размера полости. Кроме того, представляет значительный интерес определение трехмерной структуры комплексов включения с помощью рентгеноструктурного анализа, которое позволило бы проверить выводы, полученные из рассмотрения молекулярных моделей. До тех пор, пока эти исследования не завершены, причины специфичности будут оставаться спорными.

Каталитическая специфичность циклоамилоз позволяет использовать их как модели при исследовании ферментативного катализа. Авторы ожидают, что циклоамилозы и впредь будут служить моделями ферментов, а также моделями для конструирования более эффективных каталитических систем. С этой точки зрения было бы полезно проверить гипотезу о том, что циклоамилозы могут снижать энергию активации химической реакции путем создания напряжения в субстрате.

Реакции циклоамилоз могут быть полезными также и в стереонаправленных органических синтезах. Кроме того, они могут служить моделями гидрофобных взаимодействий в водных растворах. По мере распространения области катализа циклоамилозами на другие типы реакций и иные производные циклоамилоз, несомненно будут получены новые примеры их использования.

ЛИТЕРАТУРА

1. M. L. Bender, Mechanisms of Homogeneous Catalysis from Proton to Proteins, Wiley (Interscience), New York, 1971.
2. A. Villiers, C. R., 112, 536 (1891).
3. F. Schardinger, Z. Unters. Nahr. Genussm. Gebrauchsgegenstaende, 6, 865 (1903).
4. F. Schardinger, Wien. Klin. Wochenschr., 17, 207 (1904).
5. F. Schardinger, Zentr. Bakteriол., Parasitenk., Infektionskr. Hyd., Abt. 2, 29, 188 (1911).
6. D. French, Advan. Carbohyd. Chem., 12, 189 (1957).
7. F. Carmer, Einschlussverbindungen, Springer-Verlag, Berlin, 1954.
8. F. R. Senti, S. R. Erlander, В кн. Non-Stoichiometric Compounds (L. Mandelcorn, ed.), Academic Press, New York, 1964, стр. 588.
9. A. J. Thoma, L. Stewart, В кн. Starch: Chemistry and Technology, (R. L. Whistler, E. F. Paschall, eds.), v. 1. Academic Press, New York, 1965, стр. 209.
10. F. Carmer, H. Hettler, Naturwiss., 54, 625 (1967).
11. A. O. Pulley, D. French, Biochem. Biophys. Res. Commun., 5, 11 (1961).
12. D. French, A. O. Pulley, J. A. Effenberger, M. A. Rougvie, M. Abdullah, Arch. Biochem. Biophys., 111, 153 (1965).
13. A. Hybl, R. E. Rundle, D. E. Williams, J. Am. Chem. Soc., 87, 2779 (1965).
14. J. A. Hamilton, L. K. Steinrauf, R. L. VanEtten, Acta Crystallogr., Sect. B, 24, 1560 (1968).
15. K. Takeo, T. Kuge, Agr. Biol. Chem., 33, 1174 (1969).
16. K. Takeo, T. Kuge, Agr. Biol. Chem., 34, 1787 (1970).
17. K. Takeo, T. Kuge, Agr. Biol. Chem., 34, 568 (1970).
18. D. French, M. L. Levine, J. H. Pazur, E. Norberg, J. Am. Chem. Soc., 71, 353 (1949).
19. W. J. James, D. French, R. E. Rundle, Acta Crystallogr., 12, 385 (1959).
20. V. S. R. Rao, J. F. Foster, J. Phys. Chem., 67, 951 (1963).
21. C. A. Glass, Can J. Chem., 43, 2652 (1965).
22. B. Casu, M. Reggiani, G. G. Gallo, A. Vigevani, Tetrahedron, 22, 3061 (1966).
23. B. Casu, M. Reggiani, G. G. Gallo, A. Vigevani, Tetrahedron, 24, 803 (1968).
24. B. Casu, M. Reggiani, G. G. Gallo, A. Vigevani, Carbohyd. Res., 12, 157 (1970).
25. K. Takeo, T. Kuge, Agr. Biol. Chem., 34, 1416 (1970).
26. S. Beychok, E. A. Kabat, Biochemistry, 4, 2565 (1965).
27. F. Cramer, G. Mackensen, K. Sensse, Chem. Ber., 102, 494 (1969).
28. P. R. Sundararajan, V. S. R. Rao, Carbohyd. Res., 13, 351 (1970).
29. D. A. Rees, J. Chem. Soc., 1970, 877.
30. F. Cramer, F. M. Henglein, Chem. Ber., 91, 308 (1958).
31. F. Cramer, W. Dietsche, Chem. Ber., 92, 378 (1959).
32. M. Mikolajczyk, J. Drabowicz, Chem. Commun., 1971, 317.
33. H. P. Benschop, G. R. Van den Berg, Chem. Commun., 1970, 1431.
34. H. Schlenk, D. M. Sand, J. Am. Chem. Soc., 83, 2312 (1961).
35. J. Cohen, J. L. Lach, J. Pharm. Sci., 52, 132 (1963).
36. J. L. Lach, J. Cohen, Там же, 52, 137 (1963).
37. J. L. Lach, T.-F. Chin, Там же, 53, 69 (1964).
38. J. L. Lach, T.-F. Chin, Там же, 53, 924 (1964).
39. W. A. Pauli, J. L. Lach, Там же, 54, 1745 (1965).
40. J. L. Lach, W. A. Pauli, Там же, 55, 32 (1966).
41. R. L. VanEtten, J. F. Sebastian, G. A. Clowes, M. L. Bender, J. Am. Chem. Soc., 92, 1016 (1970).
42. F. J. C. Rossotti, H. Rossotti, The Determination of Stability Constants, McGraw-Hill, New York, 1961, стр. 276.
43. F. Gramer, W. Saenger, H.-Ch. Spatz, J. Am. Chem. Soc., 89, 14 (1967).
44. W. Broser, W. Lautsch, Z. Naturforsch., B8, 711 (1953).
45. B. Casu, L. Rava, Ric. Sci., 36, 733 (1966).
46. P. V. Demarco, A. L. Trakkar, Chem. Commun., 1970, 2.
47. A. L. Trakkar, P. V. Demarco, J. Pharm. Sci., 60, 652 (1971).
48. D. L. VanderJagt, F. L. Killian, M. L. Bender, J. Am. Chem. Soc., 92, 1016 (1970).
49. T. S. Straub, M. L. Bender, J. Am. Chem. Soc., 94, 8875 (1972).
50. W. P. Jencks, Catalysis in Chemistry, and Enzymology, McGraw-Hill, New York, 1969, гл. 8.
51. W. Kauzmann, Advan. Protein chem., 14, 1 (1959).
52. F. Cramer, W. Dietsche, Chem. Ber., 92, 1739 (1959).
53. M. L. Bender, Trans. N. Y. Acad. Sci., 29, 301 (1967).
54. H. Lineweaver, D. Burk, J. Am. Chem. Soc., 56, 658 (1934).
55. G. S. Eadie, J. Biol. Chem., 146, 85 (1942).
56. J. E. Dowd, D. S. Riggs, Там же, 240, 863 (1965).
57. A. K. Colter, S. S. Wang, G. H. Megerle, P. S. Ossip, J. Am. Chem. Soc., 86, 3106 (1964).

58. R. L. VanEtten, G. A. Clowes, J. F. Sebastian, M. L. Bender, Там же, 89, 3253 (1967).
59. R. M. Izatt, J. H. Rytting, L. D. Hansen, J. J. Christensen, Там же, 88, 2641 (1966).
60. J. J. Christensen, J. H. Rytting, R. M. Izatt, Там же, 88, 5105 (1966).
61. T.-F. Chin, P.-H. Chung, J. L. Lach, J. Pharm. Sci., 57, 44 (1968).
62. D. E. Tutt, M. A. Schwartz, Chem. Commun., 1970, 113.
63. D. E. Tutt, M. A. Schwartz, J. Am. Chem. Soc., 93, 767 (1971).
64. K. Flohr, R. M. Paton, E. T. Kaiser, Chem. Commun., 1971, 1621.
65. R. M. Paton, E. T. Kaiser, J. Am. Chem. Soc., 92, 4723 (1970).
66. N. Hennrich, F. Gramer, Там же, 87, 1121 (1965).
67. H. J. Brass, M. L. Bender, Там же, 94, 7421 (1972).
68. C. van Hooideonk, J. C. A. E. Breebaart-Hansen, Rec. 89, 289 (1970).
69. C. van Hooideonk, C. C. Gross, Там же, 89, 845 (1970).
70. C. van Hooideonk, J. C. A. E. Breebaart-Hansen, Там же, 90, 680 (1971).
71. F. Cramer, W. Kampe, Tetrahedron Letter, 1962, 353.
72. F. Cramer, W. Campe, J. Am. Chem. Soc., 87, 1115 (1965).
73. P. R. Wells, Chem. Rev., 63, 171 (1963).
74. F. Cramer, Chem. Ber., 86, 1576 (1953).
75. W. I. Congdon, M. L. Bender, Bioorg. Chem., 1, 424 (1971).
76. T. C. Bruice, W. C. Bradbury, J. Am. Chem. Soc., 87, 4846 (1965).
77. R. W. Hay, K. R. Tate, Aust. J. Chem., 23, 1407 (1970).
78. C. G. Swain, R. F. W. Bader, R. M. Esteve, Jr. R. N. Griffin, J. Am. Chem. Soc., 83, 1951 (1961).
79. D. W. Griffiths, M. L. Bender, Там же, 95, 1679 (1973).
80. M. I. Page, W. P. Jencks, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., 68, 1678 (1971).
81. J. Staerk, H. Schlenk, Abstr. Papers 149-th Meeting amer. Chem. Soc., 11C (1965).
82. W. Lautsch, R. Wiechert, H. Lehmann, Kolloid-Z., 135, 134 (1954).
83. S. Umezawa, K. Tatsuta, Bull. Chem. Soc., Japan, 41, 464 (1968).
84. L. D. Melton, K. N. Slessor, Carbohydr. Res., 18, 29 (1971).
85. F. Cramer, G. Mackensen, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 5, 601 (1966).
86. F. Cramer, G. Mackensen, Chem. Ber., 103, 2138 (1970).
87. R. Breslow, L. E. Overman, J. Am. Chem. Soc., 92, 1075 (1970).
88. R. Breslow, D. Chipman, Там же, 87, 4195 (1965).
89. R. Breslow, Advan. Chem. Ser. No. 100, 21 (1971).
90. J. W. Bunting, M. L. Bender, Неопубл. данные.
91. J. L. Kice, M. L. Bender, Неопубл. данные.
92. W. B. Gruhn, M. L. Bender, Неопубл. данные.
93. W. B. Gruhn, Ph. D. Thesis, Northwestern University, 1970.
94. W. B. Gruhn, M. L. Bender, J. Am. Chem. Soc., 91, 5883 (1969).
95. R. Hershfield, M. L. Bender, Там же, 95, 1376 (1972).
96. C. H. Park, H. E. Simmons, Там же, 90, 2431 (1968).
97. W. B. Gruhn, M. L. Bender. Bioorgan. Chem., 3, 324 (1974).

Департамент химии
Северо-западного Университета
Эванстон, Иллинойс, США