



УДК 541.128.1+577.15.02

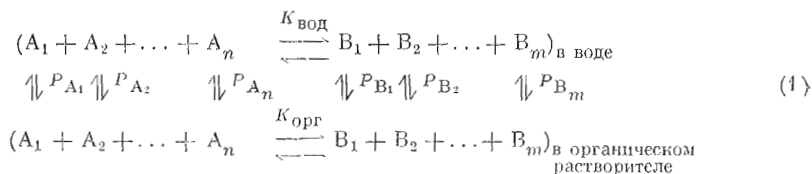
**ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ СИНТЕЗ В ДВУХФАЗНЫХ
ВОДНО-ОРГАНИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ****IV *. ОТКЛОНЕНИЯ ОТ «ИДЕАЛЬНОЙ» МОДЕЛИ И ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ
В ПРЕПАРАТИВНОМ СИНТЕЗЕ СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ***Семенов А. Н., Громов А. И., Мартинек К.**Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
химический факультет*

Изучена катализируемая α -химотрипсином реакция синтеза этилового эфира *N*-бензоил-*L*-фенилаланина из кислоты и спирта в двухфазной системе «вода — не смешивающийся с водой органический растворитель». Обнаружено, что при высоких концентрациях спирта (~ 1 M) наблюдается аномальная зависимость выхода конечного продукта от содержания водной фазы: при уменьшении содержания воды выход сложного эфира падает. Это не может быть объяснено в рамках рассмотренной ранее идеальной модели и требует учета влияния высоких концентраций реагентов (спирта) на величину коэффициентов распределения реагентов. Предложено и обосновано количественное описание наблюдаемых эффектов. Показано, что предложенная модель обладает предсказательной способностью и может быть использована для оптимизации процесса синтеза.

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что использование ферментов в препаративном органическом синтезе весьма перспективно и во многих случаях имеет ряд преимуществ по сравнению с обычными химическими катализаторами [2–7]. Однако широкое применение ферментов в синтетической химии ограничено, поскольку равновесие многих химических реакций, представляющих практический интерес, смещено в сторону исходных реагентов. Традиционные методы сдвига равновесия, обычно используемые в органической химии (изменение pH, температуры, растворителя и т. д.), не всегда применимы (или применимы в очень ограниченной степени), так как ферменты сохраняют каталитическую активность, специфичность и стабильность в весьма узком диапазоне условий. Эта проблема может быть успешно решена путем перехода от воды как среды реакции к двухфазным системам «вода — не смешивающийся с водой органический растворитель» [1, 8]. Двухфазный характер системы позволяет широко (в пределах нескольких десятичных порядков) варьировать величину константы равновесия химических или ионных реакций путем изменения природы органической фазы и соотношения объемов органической и водной фаз и, следовательно, существенно сдвигать равновесие термодинамически неблагоприятных реакций в сторону желаемого продукта. В то же время катализатор — фермент — локализован в водной фазе, т. е. находится в благоприятном для его функционирования окружении и не подвергается инактивации органическим растворителем.

* Сообщение III см. [1].

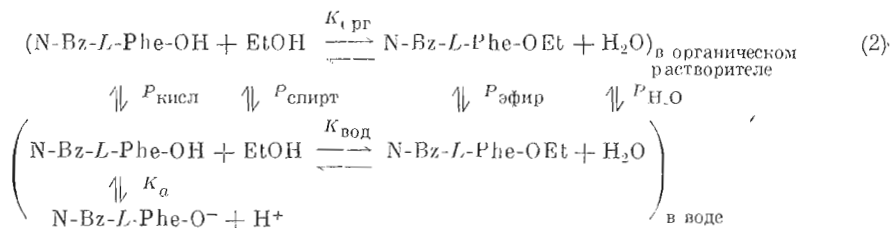
В предыдущих работах [4, 8] были подробно проанализированы количественные закономерности сдвига химического равновесия (увеличения выхода продуктов) для реакций разных типов. Для этой цели была рассмотрена модель, где параллельное установление химического равновесия сопровождается равновесным распределением реагентов между фазами:



где A_i и B_j — соответственно исходные и конечные реагенты ферментативной реакции, P_{A_i} и P_{B_j} — их коэффициенты распределения, $K_{\text{вод}}$ и $K_{\text{орг}}$ — константы равновесия реакции (1) в водной и органической фазах. При анализе системы (1) ранее всегда подразумевалось, что коэффициенты распределения реагентов для данной системы растворителей — величины постоянные, зависящие только от температуры. По аналогии с терминологией, принятой в химической термодинамике, назовем такую модель идеальной. Совершенно очевидно, что в реальных экспериментах постоянство коэффициентов распределения может нарушиться, например, по тем же самым причинам, которые вызывают отклонения от идеальности, наблюдаемые в гомогенных системах. Здесь не будем, однако, обсуждать эффекты такого рода, так как, во-первых, они, как правило, не очень существенны и ими можно пренебречь и, во-вторых, их можно учесть, используя обычные подходы, разработанные для неидеальных растворов.

Более интересными представляются отклонения от идеальной модели, обусловленные именно двухфазным характером системы и, следовательно, отсутствующие в гомогенных растворах. Цель настоящей работы — рассмотреть физическую природу и количественные закономерности таких отклонений, а также их влияние на сдвиг химического равновесия (изменение выхода целевого продукта) в двухфазных водно-органических системах. В связи с этим обсудим принципы подбора оптимальных условий для проведения катализируемых ферментами синтетических реакций.

Экспериментально наблюдаемые отклонения от идеальной модели рассмотрим на примере изученной ранее [8] реакции синтеза этилового эфира *N*-бензоил-*L*-фенилаланина, катализируемой α -химотрипсином:



Анализ (см. [8]) реакции (2) в рамках идеальной модели (при постоянных значениях $P_{\text{кисл}}$, $P_{\text{спирт}}$, $P_{\text{эфир}}$ и P_{H_2O}) приводит к следующему соотношению равновесных концентраций:

$$\frac{[\text{эфир}]}{[\text{кислота}]} = K_{\text{вод}} \cdot \frac{[\text{спирт}] \cdot (1 + \alpha \cdot P_{\text{эфир}}) (1 + \alpha)}{55,5 (1 + K_{\alpha}/[H^+] + \alpha \cdot P_{\text{кисл}}) (1 + \alpha \cdot P_{\text{спирт}})}, \quad (3)$$

где $\alpha = V_{\text{орг}}/V_{\text{вод}}$ — соотношение объемов органической и водной фаз.

В соответствии с уравнением (3) уменьшение содержания водной фазы (увеличение α) приводит к увеличению выхода продукта лишь до некото-

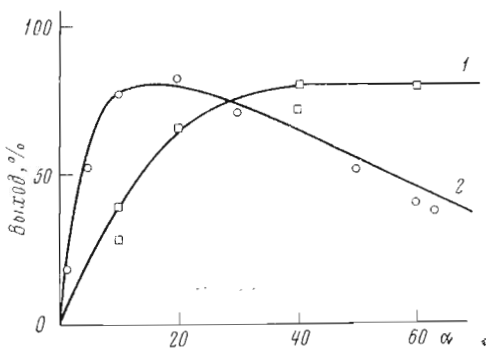


Рис. 1

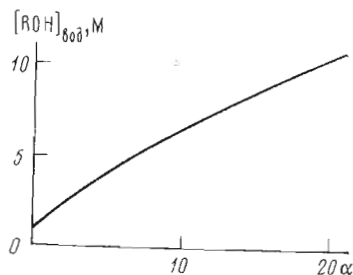


Рис. 2

Рис. 1. Зависимость выхода этилового эфира *N*-бензоил-*L*-фенилаланина в двухфазной системе вода – хлороформ от соотношения объемов органической и водной фаз (α) при концентрациях этилового спирта 0,1 М (1) и 1 М (2). Теоретические кривые рассчитывали по уравнению (9), полагая: $P_{\text{эфир}}^0$ $4,1 \cdot 10^3$, $P_{\text{кисл}}^0$ 484, $P_{\text{спирт}}^0$ 10^{-2} , $\gamma_{\text{эфир}}^0$ 1,25,

$$\gamma_{\text{кисл}}^0$$
 2,9, $K_{\text{вод}}$ 7, ρK_a 3,35

Рис. 2. Зависимость концентрации спирта в водной фазе двухфазной системы от соотношения объемов органической и водной фаз (α) при постоянной общей концентрации спирта $[\text{ROH}]_{\text{общ}}$ 1 М. Рассчитано по уравнению (5) при $P_{\text{спирт}}$ 0,05

рого определенного предела (рис. 1, 1). При дальнейшем увеличении α равновесная концентрация сложного эфира не изменяется. Предельный выход продукта определяется уравнением, которое следует из выражения (3) при $\alpha \rightarrow \infty$:

$$\left(\frac{[\text{эфир}]}{[\text{кислота}]} \right)_{\text{предельн}} = K_{\text{вод}} \frac{[\text{спирт}] \cdot P_{\text{эфир}}}{55,5 \cdot P_{\text{кисл}} \cdot P_{\text{спирт}}} \quad (4)$$

Согласно уравнениям (3) и (4), степень превращения кислоты в эфир можно увеличить за счет увеличения концентрации спирта. Из рис. 1 видно, что увеличение концентрации этанола в 10 раз, во-первых, не приводит к ожидаемому увеличению предельного выхода сложного эфира и, во-вторых, существенно изменяет характер наблюдаемой на опыте зависимости: после достижения некоторого максимального значения выход продукта в противоречии с уравнением (3) уменьшается, несмотря на дальнейшее уменьшение содержания водной фазы. Эта концентрация продукта в реакционной смеси достигается при проведении реакции как со стороны синтеза, так и со стороны гидролиза, т. е. является равновесной. Следовательно, падение выхода при уменьшении содержания водной фазы нельзя объяснить кинетическими причинами (например, инактивацией катализатора, уменьшением скорости реакции и т. д.).

Ранее для реакции (2) нами было показано, что даже в рамках идеальной модели в координатах «выход — α » при определенных соотношениях коэффициентов распределения могут наблюдаться зависимости с экстремумом [8]. Однако в этом случае характер зависимости не зависит от концентраций реагентов (спирта) и однозначно определяется соотношением коэффициентов распределения. Следовательно, уравнение (3), выведенное в предположении идеальной модели, не описывает экспериментальные данные, полученные при высокой концентрации одного из реагентов (спирта).

Причины аномального влияния спирта на равновесную концентрацию сложного эфира можно объяснить, если учесть, что при постоянной общей концентрации спирта и при изменении содержания водной фазы содержание спирта в воде изменяется. Действительно, из уравнения материального

баланса:

$$[\text{РОН}]_{\text{общ}} \cdot (V_{\text{вод}} + V_{\text{орг}}) = [\text{РОН}]_{\text{вод}} \cdot V_{\text{вод}} + [\text{РОН}]_{\text{орг}} \cdot V_{\text{орг}}$$

имеем

$$[\text{РОН}]_{\text{вод}} = [\text{РОН}]_{\text{общ}} \cdot \frac{1 + \alpha}{1 + \alpha \cdot P_{\text{спирт}}} \quad (5)$$

Из уравнения (5) вытекает, что при $[\text{РОН}]_{\text{общ}} = \text{const}$ концентрация спирта в воде $[\text{РОН}]_{\text{вод}}$ будет постоянна при изменении α тогда и только тогда, когда $P_{\text{спирт}}$ равен 1.

На рис. 2 показано, что при переходе от воды к двухфазной системе, содержащей 95% (по объему) органического растворителя, концентрация спирта в воде увеличивается от 1 до 10,5 М, т. е. от 6 до 60% (по объему) (при постоянной общей концентрации 1 М). Естественно, что коэффициенты распределения реагентов при этом должны существенно измениться. Следовательно, в уравнении (3) необходимо учесть эти изменения, введя зависимость коэффициентов распределения P_i от $[\text{РОН}]_{\text{вод}}$:

$$P_i = P_i^0 f([\text{РОН}]_{\text{вод}}),$$

где P_i^0 — коэффициент распределения вещества в отсутствие спирта, P_i — коэффициент распределения этого же вещества при данной концентрации спирта в воде $[\text{РОН}]_{\text{вод}}$, которая при постоянном значении $[\text{РОН}]_{\text{общ}}$ зависит от α по уравнению (5).

Для анализа количественных данных, наблюдаемых на опыте, необходимо знать характер (линейный, степенной, экспоненциальный и т. д.) функциональной зависимости P_i от $[\text{РОН}]_{\text{вод}}$, т. е. функцию $f([\text{РОН}]_{\text{вод}})$. Как было недавно показано теоретически [9], растворимость, а следовательно, и коэффициенты распределения веществ в смешанных растворителях определяются составом и константами устойчивости соответствующих сольватных комплексов и, вообще говоря, могут зависеть от концентрации компонентов растворителя любым образом, в том числе и немонотонно. Чаще всего, однако, на опыте наблюдают [10–12] экспоненциальную зависимость, т. е.

$$P_i = P_i^0 10^{-\gamma'_i [\text{РОН}]_{\text{вод}}}, \quad (6)$$

где γ'_i — параметр, отражающий «чувствительность» коэффициента распределения данного вещества P_i к изменению состава водной фазы. Уравнение (6) аналогично уравнению Сеченова [13, 14], которое описывает влияние солей на растворимость и коэффициенты распределения органических веществ.

Для практического применения более удобна другая форма уравнения (6):

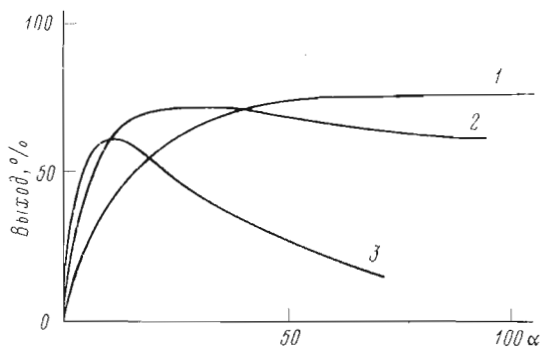
$$P_i = P_i^0 \cdot 10^{-\gamma_i \frac{M_{\text{спирт}}}{1000 \rho} \cdot [\text{РОН}]_{\text{вод}}} \quad (7)$$

содержащая в показателе степени нормировочный коэффициент $M_{\text{спирт}}/1000 \cdot \rho$, где $M_{\text{спирт}}$ — молекулярный вес спирта, ρ — его плотность. Если теперь представить гипотетическую ситуацию — когда концентрация спирта в водной фазе достигает максимальной величины, т. е. концентрации спирта в спирте, то уравнение (7) благодаря наличию этого нормировочного коэффициента упростится до выражения

$$P_i = P_i^0 \cdot 10^{-\gamma_i} \quad \text{или} \quad \frac{P_i^0}{P_i} = 10^{\gamma_i} \approx \frac{S_{i, \text{орг}}/S_{i, \text{вод}}}{S_{i, \text{орг}}/S_{i, \text{спирт}}} = \frac{S_{i, \text{спирт}}}{S_{i, \text{вод}}}, \quad (8)$$

Рис. 3. Зависимость выхода продукта в двухфазной системе от соотношения объемов органической и водной фаз (α) при концентрациях спирта 0,1 М (1), 0,5 М (2), 1 М (3). Рассчитано по уравнению (9) при $P_{\text{эфир}}^0 10^4$, $P_{\text{кисл}}^0 10^2$,

$\gamma_{\text{эфир}} 2$, $\gamma_{\text{кисл}} 0,5$, $P_{\text{спирт}}^0 0,02$,
 $K_{\text{вод}} 1$, $K_a 10^{-4}$, pH 7, $M 50$, $\rho 1$



где S_i — растворимость вещества i . Уравнение (8), во-первых, позволяет довольно ясно представить физический смысл параметра γ_i и, во-вторых, открывает путь для заведомой оценки величины этого параметра (достаточно сравнить растворимости вещества i в воде и спирте).

Рассмотрим теперь, как изменится уравнение (3), если учесть, что коэффициенты распределения не постоянны, а зависят от концентрации спирта в воде:

$$\frac{[\text{эфир}]}{[\text{кислота}]} = K_{\text{вод}} \frac{[\text{спирт}]_{\text{общ}} \cdot [1 + \alpha \cdot P_{\text{эфир}}(\alpha)] \cdot (1 + \alpha)}{55,5 [1 + K_a / [\text{H}^+] + \alpha \cdot P_{\text{кисл}}(\alpha)] \cdot (1 + \alpha \cdot P_{\text{спирт}})}, \quad (9)$$

где

$$P_i(\alpha) = P_i^0 \cdot 10^{-\gamma_i} \cdot \frac{M_{\text{спирт}}}{1000 \cdot \rho} \cdot \frac{1 + \alpha}{1 + \alpha \cdot P_{\text{спирт}}} \cdot [\text{ROH}]_{\text{общ}}$$

На рис. 3 показаны некоторые характерные зависимости, рассчитанные по уравнению (9). Видно, что при определенных соотношениях параметров это уравнение (по крайней мере качественно) может описывать необычные экспериментальные результаты, полученные как при низких, так и при высоких концентрациях спирта (ср. рис. 1, 2 и рис. 3, 3).

С практической и теоретической точки зрения существенное значение имеет вопрос: описывает ли уравнение (9) также и количественно зависимость выхода сложного эфира от концентрации спирта и содержания водной фазы? Иными словами, существуют ли такие постоянные значения параметров $P_{\text{эфир}}^0$, $P_{\text{кисл}}^0$, $P_{\text{спирт}}^0$, $\gamma_{\text{эфир}}$ и $\gamma_{\text{кисл}}$, при которых экспериментальная и теоретическая кривые совпадают в пределах ошибки опыта.

Для практических целей представляет интерес то, что уравнение (9), если знать его параметры из независимых экспериментов, позволяет предсказывать величину выхода конечного продукта в разных условиях и, в частности, предсказывать условия, при которых выход будет максимальным. С теоретической точки зрения важно доказать справедливость физического и математического описания, которое выше мы дали для наблюдаемых в эксперименте отклонений от идеальной модели.

Для проверки этой возможности была создана программа оптимизации. Эта программа осуществляет поиск минимума целевой функции (10), характеризующейся сложной зависимостью от пяти независимых переменных $P_{\text{эфир}}^0$, $P_{\text{кисл}}^0$, $P_{\text{спирт}}^0$, $\gamma_{\text{эфир}}$ и $\gamma_{\text{кисл}}$, значения которых ограничены как снизу, так и сверху:

$$F(K_i) = \sum_{j=1}^n [A(K_i, \alpha_j) - g(\alpha_j)]^2, \quad (10)$$

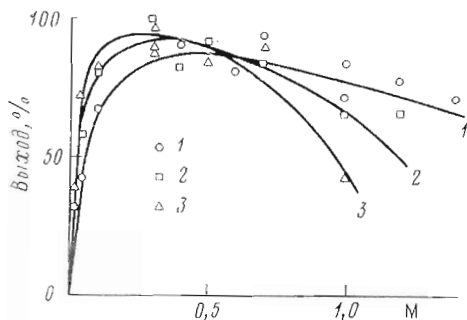


Рис. 4. Зависимость выхода этилового эфира *N*-бензоил-*L*-фенилаланина в двухфазной системе вода — хлороформ от концентрации этанола при соотношениях объемов органической и водной фаз (α) 20 (1), 40 (2) и 60 (3). Теоретические кривые рассчитаны по уравнению (9) при: $P_{\text{эфир}}^0$ $4,1 \cdot 10^3$, $P_{\text{кисл}}^0$ 484,

$$P_{\text{спирт}}^0 10^{-2}, \quad \gamma_{\text{эфир}} 1,25, \quad \gamma_{\text{кисл}} 2,9, \\ K_{\text{вод}} 7, \quad pK_a 3,35$$

где $g(\alpha_j)$ — экспериментальные, а $\Lambda(K_i, \alpha_j)$ — вычисленные по уравнению (9) величины выхода сложного эфира при различных значениях α_j ; K_i — искомые параметры (описание программы см. в «Экспериментальной части»).

Было найдено, что при значениях параметров $P_{\text{эфир}}^0$ $4,1 \cdot 10^3$, $P_{\text{кисл}}^0$ 484, $P_{\text{спирт}}^0$ 10^{-2} , $\gamma_{\text{эфир}}$ 1,25, $\gamma_{\text{кисл}}$ 2,9 расчетная кривая удовлетворительно описывает экспериментальные результаты (рис 1, 2) *.

Более того, используя предложенную нами физическую модель и полученные на ее основании численные значения параметров, можно предсказывать условия, в которых выход конечного продукта (эфира) будет максимальным, т. е. оптимизировать процесс. Поскольку в реальных условиях изменение содержания водной фазы не приводит, как было показано выше, к дальнейшему увеличению выхода, мы изменяли значения общей концентрации спирта $[\text{РОН}]_{\text{общ}}$ для трех фиксированных значений α , равных 20, 40 и 60. Теоретические кривые, полученные в соответствии с уравнением (9), представлены на рис. 4. Из рисунка видно, что при определенной концентрации спирта теория предсказывает для данной системы количественный выход конечного продукта. При дальнейшем увеличении концентрации спирта наблюдается кажущийся парадокс: выход падает, что объясняется ухудшением коэффициентов распределения по экспоненциальному закону согласно уравнению (7). Эксперимент, проведенный нами в оптимальных условиях, показал, что синтез действительно протекает количественно. Более того, с теоретической кривой совпали также экспериментальные результаты, полученные при меньших и больших, чем оптимальные, концентрациях спирта.

Все это свидетельствует о том, что, во-первых, предложенное физическое описание отклонений от идеальной модели адекватно отражает поведение системы и, во-вторых, что найдены истинные численные значения параметров, входящих в уравнение (9), а не набор неких эффективных величин, которые позволили добиться лишь случайного совпадения теоретической и экспериментальной кривых на рис. 1.

Экспериментальная часть

Синтез этилового эфира N-бензоил-L-фенилаланина, катализуемый α -химотрипсином, проводили по методике, описанной нами ранее [8].

Определение неизвестных параметров уравнения (9). Для поиска минимума целевой функции (10) $F(K_i)$ был использован реализованный на вычислительной машине PDP 11/45 алгоритм, основанный на следующих принципах:

* В качестве проверки нами была сделана попытка добиться соответствия теоретической кривой и экспериментальных результатов, используя линейную зависимость коэффициентов распределения от содержания спирта в водной фазе: $P_i = P_i^0 (1 - \gamma_i [\text{РОН}]_{\text{вод}})$. Однако в этом случае ЭВМ не смогла подобрать соответствующие численные значения параметров.

Набор возможных решений уравнения (9)

Номер	$R^0_{эфир} \cdot 10^{-3}$	$\gamma_{эфир}$	$R^0_{кисл}$	$\gamma_{кисл}$	$R^0_{снрт}$	$F(K_i)$
1	72	3,06	287	5,61	0,03	0,435
2	153	3,09	112	3,72	0,025	2,29
3	53	2,91	76,9	4,53	0,03	2,44
4	62,4	1,4	5450	2,91	0,01	2,55
5	37	1,1	1310	2,57	0,005	3,06
6	103	2,67	57,6	3,03	0,02	3,75
7	97	0,34	83,8	4,56	0,035	4,18
8	2,85	0,72	0,166	$9,7 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-5}$	4,32
9	3	0,73	0,176	$8,7 \cdot 10^{-4}$	$5,2 \cdot 10^{-4}$	4,36
10	3,25	0,95	371	1,3	$1,0 \cdot 10^{-4}$	4,61
11	3,28	1,07	$6 \cdot 10^4$	43,3	$5,0 \cdot 10^{-8}$	4,73
12	2,27	0,84	22,1	$3,2 \cdot 10^{-3}$	$7,4 \cdot 10^{-4}$	4,89
13	4,1	1,25	484	2,9	0,01	6,9
14	4,24	1,26	$8 \cdot 10^5$	$3,2 \cdot 10^6$	0,01	7,6
15	36,2	2,99	36,8	4,98	0,035	10,4
16	2,84	0,56	0,474	$4,0 \cdot 10^{-3}$	$8,2 \cdot 10^{-8}$	10,9

1) преобразование пространства входных переменных для улучшения или сглаживания поверхности поиска;

2) использование конкретных процедур поиска в зависимости от выполнения критерия качества сходимости алгоритма;

3) анализ значимости полученных параметров с целью определения ошибки каждого конкретного параметра.

Входные переменные K_i для данной задачи имели значения от 10^{-3} до 10^3 усл. ед. Кроме того, степень зависимости функции $A(K_i, \alpha_j)$ от своих аргументов была весьма различной, что в свою очередь привело к образованию так называемых плато и оврагов, что в целом сильно усложнило процедуру поиска. Этот недостаток был устранен переходом к новым безразмерным параметрам соответствующей нормировкой [15].

Для ускорения поиска были использованы три различные процедуры, каждая из которых имеет свои определенные недостатки, но в результате последовательно-выборочного использования этих процедур для поиска минимума существенно нелинейной целевой функции $F(K_i)$ в заданной области влияние данных недостатков удается значительно уменьшить. Для получения первого грубого приближения был использован алгоритм Нелдера — Мида [16], модифицированный при помощи включения в него процедуры акселерации, т. е. пропорционального увеличения или уменьшения шага поиска в зависимости от скорости изменения критерия качества. Для завершения поиска был использован принцип «наказания случайностью» и метод нелинейного программирования (НЛП) [16]. Введение в процесс элемента случайности делает поиск минимума более устойчивым, нечувствительным к мелкому рельефу поверхности.

Для определения значимости каждого из полученных параметров была проведена следующая процедура:

1) фиксация всех параметров, кроме анализируемого;

2) выборочное увеличение и уменьшение значения анализируемого аргумента с контролем изменения значения функции $A(K_i, \alpha_j)$;

3) регистрация диапазона изменения параметра при 10% изменении значения функции.

Авторы понимают, что с точки зрения классических процедур анализа данный метод не является идеальным, однако для получения наглядного представления о характере влияния изменения значений аргументов на поведение функции данного вида подобная процедура дает хорошие результаты по затратам машинного времени и ресурсов.

Как известно [18], при многомерном поиске минимума функции (10) возможна неоднозначность решений. В настоящей работе получено 16 решений (таблица). Естественно, что с точки зрения физического смысла правильным может быть только одно. Чтобы найти это решение, следует использовать дополнительную информацию, полученную независимым способом. В данном случае были использованы экспериментальные результаты, полученные при низкой концентрации спирта (рис. 1, 1). Только одно решение (13) описывает эти данные. Кроме того, часть решений (8—12, 14, 16) можно было отбросить до проверки, так как численные значения некоторых из входящих в них параметров явно нереальны с точки зрения физического смысла.

Авторы выражают искреннюю благодарность чл.-кор. АН СССР И. В. Березину за ценные замечания и плодотворное обсуждение результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Семенов А. Н., Мартинек К. Ферментативный синтез в двухфазных водно-органических системах. III. Сдвиг ионных равновесий.— *Биоорганическая химия*, 1980, т. 6, № 10, с. 1559—1571.
2. Имобилизованные ферменты. Ред. Березин И. В., Антонов В. К., Мартинек К. М. Изд. МГУ, 1976, т. 2.
3. Скрябин Г. К., Головлева Л. А. Использование микроорганизмов в органическом синтезе. М.: Наука, 1976.
4. Synthetic production and utilization of amino acids. Eds. Kaneko T., Izumi I., Chibata I., Itoh T. New York: John Wiley Sons, 1974.
5. Methods in enzymology. Ed. Mosbach K. New York: Acad. Press, 1976, v. 44.
6. Applications of biochemical systems in organic chemistry. Eds. Jones J. B., Sih C. J., Perlman D. New York: John Wiley Sons, 1976, v. 1 and 2.
7. Мартинек К. Стабилизация ферментов — один из ключевых факторов при внедрении биокатализа в практику.— В кн.: Успехи биорганического катализа. Ред. Березин И. В., Мартинек К. М. Изд. МГУ, 1979, с. 105—157.
8. Семенов А. Н., Мартинек К., Березин И. В. Ферментативный синтез в двухфазных водно-органических системах. II. Сдвиг химического равновесия.— *Биоорганическая химия*, 1980, т. 6, № 4, с. 600—608.
9. Сытлин М. С. Растворимость веществ в смешанных бинарных растворителях.— *Ж. физ. химии*, 1978, т. 52, № 11, с. 2911—2913.
10. Мартинек К., Левашов А. В., Березин И. В. Гидрофобное взаимодействие алифатических спиртов с активным центром α -химотрипсина.— *Молекулярная биология*, 1970, т. 4, с. 517—528.
11. Tanford C. Protein denaturation.— In: *Advances in protein chemistry*. Eds. Anfinsen C. B., Edsall J. T., Richards F. M. New York: Acad. Press, 1970, v. 24, p. 1—95.
12. Maurel P. Relevance of dielectric constant and solvent hydrophobicity to the organic solvent effect in enzymology.— *J. Biol. Chem.*, 1978, v. 253, № 5, p. 1677—1683.
13. Дженкс В. Катализ в химии и энзимологии. М.: Мир, 1972, с. 281.
14. Яковенко Д. П. Влияние солей на коэффициенты распределения бензойной кислоты, *p*-толуидина, пиридина, пиперидина и анилина между водой и бензолом. Автореф. дис. на соискание уч. ст. канд. хим. наук. Алма-Ата: КазГУ, 1969, 23 с.
15. Химмельблау Д. Прикладное нелинейное программирование. М.: Мир, 1975.
16. Антрофанов В. Б. Методы многомерного поиска. М.: Препринт ИПМ АН СССР, 1974, № 77.
17. Расстригин А. А. Случайный поиск в задачах оптимизации многопараметрических систем. М.: Знание, 1965.
18. Stocker D. C. Comparative Study of nonlinear programming codes: M. S. Thesis, Austin Tex.: The Univ. of Texas, 1969.

Поступила в редакцию
21.X.1980

ENZYMATIC SYNTHESIS IN BIPHASIC WATER-ORGANIC SYSTEMS.
I V. DEVIATIONS FROM THE «IDEAL» MODEL AND OPTIMIZATION OF CONDITIONS
FOR PREPARATIVE SYNTHESIS OF ESTERS

SEMENOV A. N., GROMOV A. I., MARTINEK K.

Chemistry Department, M. V. Lomonosov State University, Moscow

α -Chymotrypsin catalyzed synthesis of N-benzoyl-L-phenyl-alanine ethyl ester from acid and alcohol is studied in the biphasic system «water – water-immiscible organic solvent». It is found that at a high alcohol concentration (~ 1 M) an abnormal dependence of the end product yield on water content takes place – the lower the water content, the lower the ester yield. This effect can not be explained within the framework of the ideal model described in previous papers. It is necessary to take into account the effects of high reagents concentrations (e.g. alcohol) on the value of partition coefficients. A quantitative description of the observed effects is suggested and reasoned. Proposed model has a predictive force and may be used for optimizing the synthetic process.
