

Величина n равнялась 3, 6, 11, 15; степень замещения по связи N—H $\beta = k/(l+k)$ составляла от 0,16 до 0,27. Исследовали гидролиз нитрофениловых эфиров жирных кислот с числом атомов углерода в ацильном радикале от 1 до 7.

Направление реакции. Алкилированные ПЭИ содержат как вторичные, так и третичные атомы азота. Количество первых в 4—6 раз превосходит количество последних. По этой причине наряду с реакцией гидролиза эфиров может протекать ацилирование вторичных аминогрупп [3]. Для того чтобы определить, какая из этих двух реакций преобладает, сравнили начальную активность катализатора с его активностью после превращения эфира и освобождения катализатора от продуктов реакции. Пример этих исследований представлен на рис. 1 (кривые 1 и 2). Видно, что ацилирование ПЭИ, приводящее к пассивации катализатора, протекает в незначительной степени.

Константа связывания $1/K_m$. Как было установлено в работе [2], гидролиз нитрофениловых эфиров на катализаторах, близких по строению с исследовавшимся в данной работе, происходит по трехстадийному механизму, включающему образование сорбционного комплекса катализатор — субстрат (ZS), разрыв сложноэфирной связи и десорбцию продуктов (кислоты) с активного центра. Соответствующее этому механизму уравнение скорости реакции имеет вид

$$v = \frac{k_{\text{кат}} [Z] [S]}{K_m(\text{эфф}) + [S]}, \quad (4)$$

где $k_{\text{кат}} = k_2 k_3 / (k_2 + k_3)$, каталитическая константа скорости, с^{-1} ; k_2 — константа скорости гидролиза, с^{-1} ; k_3 — константа скорости десорбции продуктов реакции, с^{-1} ; $K_m(\text{эфф}) = K_m \cdot [k_3 / (k_2 + k_3)]$. Для начального момента времени, когда каталитические центры свободны от сорбированных продуктов реакции, уравнение скорости реакции упрощается:

$$v_0 = \frac{k_2 [Z_0] [S_0]}{K_m + [S_0]} \text{ при } [S_0] > [Z_0], \quad (2)$$

$$v_0 = \frac{k_2 [Z_0] [S_0]}{K_m + [Z_0]} \text{ при } [S_0] < [Z_0]. \quad (3)$$

В уравнениях (2) и (3) $K_m = (k_{-1} + k_2)/k_1$, а константы k_2 и k_3 имеют те же значения, что и в уравнении (1).

Доказательство существования в катализе сорбционной стадии, предшествующей разрыву сложноэфирной связи, было получено в работе [2] путем сравнения величин K_m , найденных из измерений кинетики, с величинами констант сорбции аналогов субстратов — n -нитроанилидов, измеренными непосредственно методом равновесного диализа. Прежде всего следовало проверить применимость уравнений (1) — (3) для данных катализаторов. На рис. 2, а, б представлены зависимости скорости гидро-

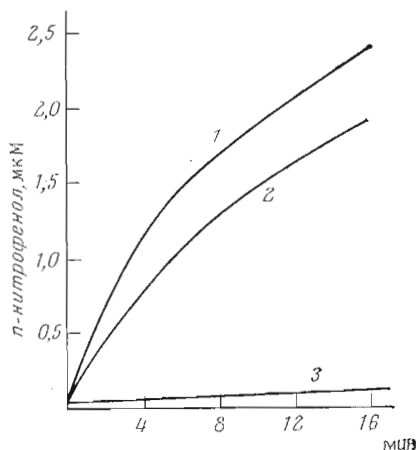


Рис. 1. Кинетические кривые катализируемого ПЭИ-12 гидролиза нитрофенилэнантоата (концентрации реагентов: $[Z] = 2 \cdot 10^{-5}$; $[S] = 5 \cdot 10^{-5}$ М): 1 — исходная система катализатор — субстрат; 2 — повторная реакция на катализаторе, освобожденном от продуктов гидролиза гель-фильтрацией через сефадекс G-25; 3 — спонтанный гидролиз

Константы связывания нитрофениловых эфиров $1/K_m$ на катализаторах ПЭИ-7 и ПЭИ-16 при $[S] > [Z]$ и $[S] < [Z]$

Для $[S] > [Z]$, $[ПЭИ] = 10^{-4}$ М, $[Z]$ составляет 2–6 молярных % ПЭИ, концентрации нитрофениловых эфиров, М: ацетата — 10^{-4} – $2 \cdot 10^{-3}$, бутирата — $5 \cdot 10^{-5}$ – $5 \cdot 10^{-4}$, валерата — 10^{-5} – $2 \cdot 10^{-4}$, капроната — $5 \cdot 10^{-6}$ – $5 \cdot 10^{-5}$, энантоата — $5 \cdot 10^{-5}$ – $3 \cdot 10^{-3}$, каприлата — $2 \cdot 10^{-6}$ – $2 \cdot 10^{-5}$. Для $[S] < [Z]$, $[S] = 2$ – $3 \cdot 10^{-6}$ М, $[ПЭИ] = 10^{-4}$ – $2 \cdot 10^{-2}$ М

Субстрат	ПЭИ-7		ПЭИ-16	
	$[S] > [Z]$	$[S] < [Z]$	$[S] > [Z]$	$[S] < [Z]$
Нитрофенилацетат	$9 \cdot 10^2$	—	$6,5 \cdot 10^3$	—
Нитрофенилбутират	$3,5 \cdot 10^3$	$3,3 \cdot 10^3$	$8,2 \cdot 10^3$	—
Нитрофенилвалерат	$7 \cdot 10^3$	$4,6 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^4$	$8,8 \cdot 10^3$
Нитрофенилкапронат	$1,7 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^4$	$3,2 \cdot 10^4$	$1,7 \cdot 10^4$
Нитрофенилэнантоат	$3,5 \cdot 10^4$	—	$7,0 \cdot 10^4$	$5,1 \cdot 10^4$
Нитрофенилкаприлат	$4 \cdot 10^4$	$1,9 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^5$	$4,4 \cdot 10^4$

лиза нитрофенилкаприлата, катализируемого ПЭИ-16 * от концентраций эфира (а) и катализатора (б) в координатах Лайнуивера — Берка. Из полученных данных следует, что уравнения (2) и (3) применимы для данного катализатора. В табл. 1 серия значений $1/K_m$, характеризующих связывание ряда эфиров на катализаторах ПЭИ-7 и ПЭИ-16 при $[S_0] > [Z_0]$ — уравнение (2), сопоставлена с величинами для тех же эфиров и катализаторов, но определенных из эксперимента, соответ-

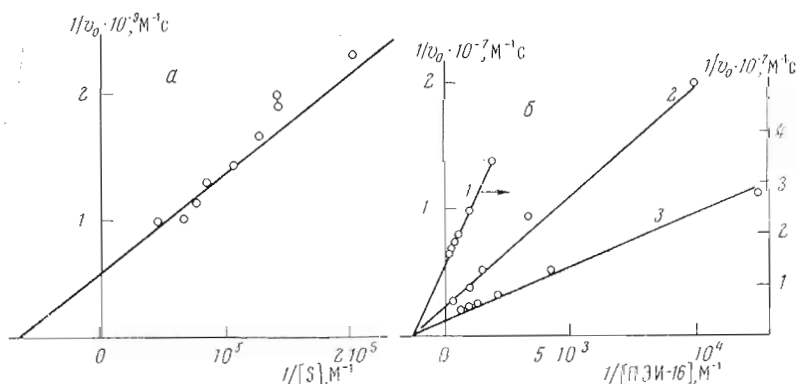


Рис. 2. Зависимость скорости каталитического гидролиза нитрофенилкаприлата от концентрации субстрата (а) и от концентрации катализатора (б): а — концентрация катализатора ПЭИ-16 — 10^{-4} М; б — концентрация субстрата, М: 1 — $3,0 \cdot 10^{-6}$, 2 — $1,6 \cdot 10^{-5}$, 3 — $2,5 \cdot 10^{-5}$

ствующего уравнению (3). По порядку величины константы соответствуют друг другу, указывая на применимость уравнений (2) и (3) для всех эфиров.

Естественно предположить, что связывание субстрата катализатором происходит при ван-дер-ваальсовых взаимодействиях радикалов катализатора с аналогичными по строению радикалами субстрата. Рассмотрим зависимость между величиной константы связывания и числом звеньев CH_2

* Цифры означают длину алкильного радикала в алкилированном ПЭИ.

в радикале полимера (n_p). Эти данные представлены на рис. 3 для трех эфиров. Из рис. 3 видно, что зависимость является линейной и прямые для различных эфиров пересекают ось абсцисс в одной точке при значении $n_p = 2$. Отсюда следует, что при $n_p \leq 2$ определенная из кинетических измерений константа связывания равна нулю. Следовательно, длина радикала, равная двум атомам углерода, является критической, ниже которой не происходит кинетически эффективно связывания. Линейная зависимость между $1/K_m$ и n_p дает основание рассматривать алифатический радикал как адсорбционную площадку, способность которой к адсорбции субстрата пропорциональна n_p .

Прямая, характеризующая зависимость между относительным содержанием центров катализа в полимерах и n_p , представлена на рис. 4. То, что прямая пересекает ось абсцисс при $n_p = 2$, показывает, что при $n_p < 2$ становится невозможным формирование структуры активного центра. С ростом n_p в алкильных радикалах полимера увеличивается число атомов азота, способных к образованию реакционного комплекса катализатор — субстрат.

Зависимость между $1/K_m$ и числом СН_2 -групп в радикале молекулы эфира (n_s) не является линейной, а подчиняется экспоненциальному закону (рис. 5, а, б). Эту зависимость можно объяснить, если предположить,

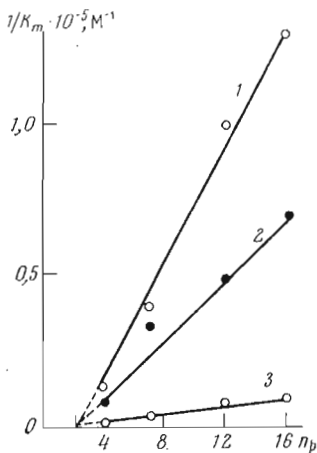


Рис. 3. Зависимость констант связывания субстратов от числа СН_2 -групп в алкильных радикалах в катализаторах (по данным зависимостей v_0 от $[S]$): 1 — нитрофенилкаприлат; 2 — нитрофенилэнантоат; 3 — нитрофенилбутират (условия эксперимента приведены в подписи к табл. 1)

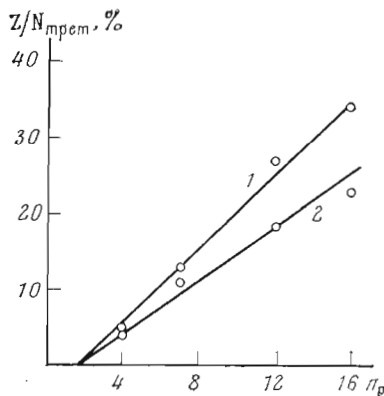


Рис. 4. Зависимость относительного содержания активных центров в полимерных катализаторах от n_p : 1 — нитрофенилкаприлат (концентрация $10^{-6} - 2 \cdot 10^{-5}$ М); 2 — нитрофенилэнантоат ($3 \cdot 10^{-6} - 3 \cdot 10^{-5}$ М) (экспериментальные условия [ПЭИ-4] = 10^{-4} М, [ПЭИ-7] = [ПЭИ-12] = [ПЭИ-16] = $5 \cdot 10^{-5}$ М)

что теплота адсорбции пропорциональна числу СН_2 -групп в молекуле эфира. Тогда, предполагая существование адсорбционного равновесия, для константы связывания получим выражение $1/K_m = a \exp [bn_s/RT]$ в соответствии с экспериментальными зависимостями, приведенными на рис. 5.

Таким образом, зависимость между константой связывания и числом СН_2 -групп в полимере и эфире соответствует уравнению

$$1/K_m = a' n_p \exp [bn_s/RT].$$

Представляло интерес сопоставить величины инкремента в изменении свободной энергии связывания одной CH_2 -группы в молекуле эфира с данными по переносу CH_2 -группы из водной фазы в органическую [4], что является некоторой аналогией процесса переноса субстрата из водного раствора на полимер. Мы получили величину $\Delta F = -430$ кал/ CH_2 (ср. с величиной -700 кал/ CH_2 [4]). Сравнимые величины близки. Несколько меньшее значение, полученное нами, возможно, обусловлено тем, что в отличие от переноса молекулы из одной жидкой фазы в другую взаимодействие с полимером не является объемным.

При связывании эфиров на исследовавшихся катализаторах, помимо их гидрофобности, играет существенную роль структура ацильного радикала. В табл. 2 приведены данные, подтверждающие это положение. Так, константа связывания нитрофенилового эфира кислоты ароматического ряда (гидрокоричной) меньше, чем эфира близкой с ним гидрофобности, но имеющей алифатический радикал каприловой кислоты, структура которой соответствует структуре радикалов, образующих сорбционные центры на полимерах. Аналогичные результаты получены при связывании другой пары эфиров — нитрофениловых эфиров триметилуксусной

и валериановой кислот. Различие в связывании выражено сильнее у полимера с более длинными радикалами.

Константа скорости гидролиза (k_2 , с^{-1}). Представляло интерес исследовать, как влияет длина радикалов в эфире и полимере на величину константы скорости, характеризующей стадию гидролиза сложноэфирной связи. Сорбционные эффекты, учитываемые константой $1/K_m$, не входят в k_2 . На рис. 6, а показано, что в условиях, когда $[\text{S}] < [\text{Z}]$, k_2 растет с увеличением n_s . При этом k_2 выше для полимера с более длинными радикалами. При избытке субстрата (рис. 6, б) зависимость между k_2 и n_s имеет другой вид. Такую зависимость можно объяснить взаимным отталкиванием при

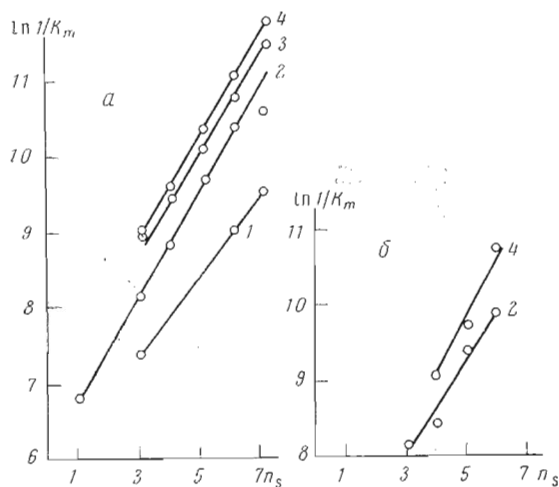


Рис. 5. Зависимость логарифма констант связывания эфиров на полимерных катализаторах от числа атомов углерода в ацильном радикале субстратов: а — $[\text{S}] > [\text{Z}]$, б — $[\text{S}] < [\text{Z}]$; 1 — ПЭИ-4, 2 — ПЭИ-7, 3 — ПЭИ-12, 4 — ПЭИ-16

адсорбции молекул эфира, возрастающим с увеличением n_s . Поскольку влияние n_s в процессе связывания учитывалось приведенной выше зависимостью $1/K_m$ от n_s , объяснение роста k_2 с увеличением n_s , очевидно, следует искать во влиянии на вероятность формирования структуры активного центра катализа. Отсутствие прямых данных не позволяет пока сделать достаточно обоснованное предположение о характере этой структуры. Однако из этих данных следует, что вероятность ее образования тем больше, чем больше n в молекулах полимера и эфира.

Таким образом, из изложенных данных можно сделать вывод, что изменения в структуре высокомолекулярного катализатора, обусловленные присоединением алифатических радикалов, проявляются в величинах констант обеих основных стадий процесса гидролиза: 1) на стадии связывания и 2) на стадии превращения вещества на каталитическом центре. Последнее может рассматриваться как косвенное подтверждение того, что образование каталитического комплекса связано с локальными кон-

формациями высокомолекулярной основы катализатора, возникающими при связывании молекул эфира. Таким образом, субстрат как бы формирует для себя комплекс с катализатором, активно распадающийся при реакции с водой, т. е. мы сталкиваемся со специфической формой «автоката-

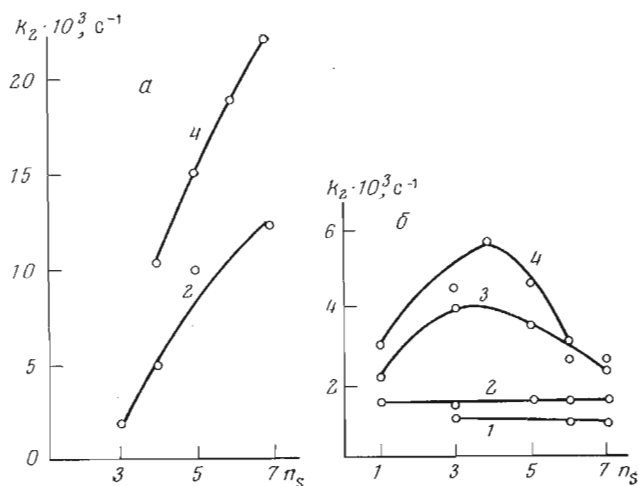


Рис. 6. Зависимость константы скорости каталитического гидролиза эфиров от числа CH_2 -групп в ацильном радикале субстратов: а — $[S] < [Z]$, б — $[S] > [Z]$; 1 — ПЭИ-4; 2 — ПЭИ-7, 3 — ПЭИ-12, 4 — ПЭИ-16

лиза», которая, по-видимому, характерна для высокомолекулярных катализаторов как естественного происхождения (ферментов), так и для создаваемых синтетическим путем.

Экспериментальная часть

Нитрофениловые эфиры уксусной, масляной, валериановой, капроновой, энантовой, каприловой, гидрокоричной и триметилуксусной кислот были синтезированы и охарактеризованы В. Доровской (Лаборатория биоорганической химии, МГУ) [3]. Концентрацию эфиров в растворах определяли спектрофотометрически по количеству выделившегося *n*-нитрофенола в условиях щелочного гидролиза (0,1 н. NaOH) — $\epsilon_{400} 1,8 \cdot 10^4 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$.

ПЭИ линейного строения был получен и охарактеризован П. А. Гембицким (Институт нефтехимического синтеза АН СССР). Молекулярный вес ПЭИ равен 18 000 и распределение по молекулярным весам не превышало 1,2. Алкилирование ПЭИ бромистыми алкилами — бутилом (ПЭИ-4) гептилом (ПЭИ-7), додецилом (ПЭИ-12) и гексадецилом (ПЭИ-16) осуществляли в спиртовом растворе в атмосфере аргона при 60° . Время реакции составляло 10 ч. Очистку полимерных продуктов от низкомолекулярных веществ и фракционирование полимеров по композиционной неоднородности осуществляли, пропуская сконцентрированную реакционную смесь через гель сефадекса G-25. Степень чистоты полимеров оценивали по концентрации ионного брома и по характеру кинетических кривых разложения эфиров. Повторная гель-фильтрация полимеров не приводила к изменению указанных характеристик. Содержание алкильных радикалов в полимерах определяли по спектрам ЯМР в растворах трифторуксусной кислоты, аргентометрическим титрованием Br^- и по процентному содержанию азота (по Кьельдалю). Результаты анализа представлены в табл. 3.

Из данных таблицы следует, что доля алкильных радикалов, определенная по содержанию брома, меньше, чем эта величина, определенная

Таблица 2

Константы связывания нитрофениловых эфиров с различающейся структурой ацильного радикала на ПЭИ-7 и ПЭИ-16

Экспериментальные условия: $[S] > [Z]$; концентрации:
 $[ПЭИ-7] = [ПЭИ-16] = 5 \cdot 10^{-5}$ М, $[S] = 10^{-6} - 10^{-5}$ М (1, 2) и
 $5 \cdot 10^{-5} - 2 \cdot 10^{-4}$ М (3, 4)

Ацильный радикал	Параметр гидрофобности, π	$1/K_m, M^{-1}$	
		ПЭИ-7	ПЭИ-16
$C_6H_5CH_2CH_2-$	3,2	$1,5 \cdot 10^4$	$3,1 \cdot 10^4$
$CH_3(CH_2)_6-$	3,5	$4,0 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^5$
$(CH_3)_3C-$	2,0	$1,4 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^3$
$CH_3(CH_2)_3-$	2,0	$3,5 \cdot 10^3$	$8,2 \cdot 10^3$

Таблица 3

Характеристика алкилированных ПЭИ

Полимер	Доля мономерных звеньев, содержащих радикал		Средний молекулярный вес звена	Содержание (теоретическое : экспериментальное)
	по данным ЯМР	по содержанию Br^-		
ПЭИ-4	0,18	0,13	63,6	1,00
ПЭИ-7	0,28	0,18	85,2	1,04
ПЭИ-12	0,22	0,15	91,3	1,02
ПЭИ-16	0,16	0,13	88,8	1,08

методом ЯМР. Приняв, что это расхождение не ошибка эксперимента, а что HBr частично уходит в водный раствор при гель-фильтрации, были рассчитаны средние молекулярные веса мономерного звена. Экспериментальное и теоретическое содержание азота в полимерах дало совпадающие результаты.

Кинетику гидролиза эфиров определяли по скорости выделения *n*-нитрофенола. Измерения проводили на спектрофотометре «ENIGEMSAEC» (США) при 25° в 0,01 н. растворе трис- HCl буфера (рН 8,3), содержащем 4% диметилсульфоксида. Из измерений скорости реакции рассчитывали константу Михаэлиса K_m , константу скорости реакции k_2 , константу скорости десорбции продуктов k_3 , концентрацию активных центров $[Z]$ аналогично тому, как это описано в работе [2].

ЛИТЕРАТУРА

1. Pshezhetskii V. S., Murtazaeva G. A., Kabanov V. A. (1974) Eur. Polymer J., 10, 581—584.
2. Pshezhetskii V. S., Murtazaeva G. A., Kabanov V. A. (1974) Eur. Polymer J., 10, 571—580.
3. Fife T. M. (1965) J. Amer. Chem. Soc., 87, 4597—4600.
4. Klotz I. M., Stryker V. H. (1968) J. Amer. Chem. Soc., 90, 2717—2722.
5. Дженкс В. (1972) Катализ в химии и энзимологии, стр. 308, «Мир», М.

Поступила в редакцию
28.XI.1974

HYDROLYSIS OF *p*-NITROPHENYL ESTERS ON POLYETHYLENEIMINE
CATALYST-HIGH MOLECULAR SYNTHETIC
ANALOG OF α -CHYMOTRYPSIN

PSHEZHETSKII V. S., LUKJANOVA A. P., KABANOV V. A.

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

The kinetics were studied for the hydrolysis of nitrophenyl esters of aliphatic acids (from acetic to caprylic) catalyzed by N-alkylsubstituted polyethyleneimines (alkyl = butyl, heptyl, dodecyl and hexadecyl). A correlation was found between the binding constants $1/K_m$ and size of polymer radical.
