



УДК 541.128.1

ВЛИЯНИЕ ГИДРОФОБНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ  
НА КАТАЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ АЛКИЛИРОВАННЫХ  
ПОЛИЭТИЛЕНИМИНОВ — ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ  
КАТАЛИЗАТОРОВ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ АНАЛОГОВ  
 $\alpha$ -ХИМОТРИПСИНА

*Шежецкий В. С., Лукьянова А. И.*

*Химический факультет Московского государственного  
университета им. М. В. Ломоносова*

Методом потенциометрического титрования и исследованием зависимости скорости реакции гидролиза от pH среды определены константы диссоциации активных центров катализа в алкилированных ПЭИ и низкомолекулярных аминах — аналогах активных центров в полимерных катализаторах. Установлено, что кооперативные взаимодействия алкильных радикалов в ПЭИ создают гидрофобное окружение аминогруппы — активных центров, снижая их  $pK_a$  по сравнению с молекулярными и мицеллярными растворами аминов на 3 и 2 единицы pH соответственно.

Ранее были получены данные, характеризующие влияние длины алифатических радикалов, присоединенных к атому азота линейного ПЭИ, на каталитические стадии реакции гидролиза алифатических шитрофениловых эфиров [1, 2]. Было показано, что константы связывания и скорости гидролиза возрастают с увеличением длины радикала как в полимере, так и в молекуле эфира; этот факт свидетельствовал об аналогии свойств данных синтетических катализаторов и  $\alpha$ -химотрипсина.

В настоящем сообщении приводятся результаты исследования взаимосвязи между pH среды и скоростью катализа, а также кислотно-основные свойства активных центров катализаторов на основе алкилированных ПЭИ. Были изучены также кислотно-основные свойства и pH-зависимость скорости гидролиза для каталитических систем на основе ряда низкомолекулярных аминов — аналогов активных центров в полимерах — в молекулярном и мицеллярном растворах.

В табл. 1 приведены измеренные в водной и водно-этанольной средах величины  $pK_a$  низкомолекулярных аминов, которые рассматриваются как модели молекулярного звена в полимерных катализаторах.

Из таблицы видно, что с ростом радикала величина  $pK_a$  аминов уменьшается незначительно. Следует отметить, что додецилдиэтиламин имеет два значения  $pK_a$ , различающиеся на 3 единицы pH, а  $pK_a$  гексадецилдиэтиламина — на 4 единицы pH меньше, чем  $pK_a$  других аминов. В то же время  $pK_a$  этих же аминов в спирто-водной среде практически не отличается от  $pK_a$  остальных аминов. Отсюда следует вывод, что в водной среде эти два амина образуют ассоциаты, в которых амино-

Сокращения: ПЭИ — полиэтиленимин, ЦТАБ — цетилтриметиламмонийбромид.

Значения констант диссоциации ( $pK_a$ ) диэтиламина и алкилдиэтиламина в водной и водно-этанольной средах (по данным потенциометрического титрования)  
Условия: атмосфера аргона, 0,1 н. KCl [амины]  $10^{-2}$  М, титрант — 0,1 н. КОН

Амины	Вода	Вода — этанол, 1 : 1 (по объему)	Амины	Вода	Вода — этанол, 1 : 1 (по объему)
Диэтиламин	11,0	—	Гептилдиэтиламин	10,52	10,12
Триэтиламин	10,72	—	Додецилдиэтиламин	10,38; 6,9	10,02
Бутилдиэтиламин	10,60	10,00	Гексадецилдиэтиламин	6,03	8,76; 9,55 *

\* Измерено в среде вода — этанол, 1 : 9 (по объему).

Величины  $pK_a$  полимерных и мицеллярных катализаторов

Природа катализаторов	$pK_a$ центров катализа	Природа катализаторов	$pK_a$ центров катализа
Амины в мицеллах ЦТАБ *		Гексадецилдиэтиламин	9,5
Диэтиламин	9,8	Алкилированные ПЭИ **: ПЭИ-4	8,6
Триэтиламин	9,4	ПЭИ-7	8,05
Бутилдиэтиламин	9,3	ПЭИ-12	7,8
Гептилдиэтиламин	9,3	ПЭИ-16	7,5
Додецилдиэтиламин	9,5		

\* Гидролиз нитрофенилкарбоната: [S]  $5 \cdot 10^{-4}$  М, [ЦТАБ]  $10^{-2}$  М, 10% ДМСО, [амины]  $10^{-4}$  М, 0,04 н. универсальный буфер.

\*\* Гидролиз нитрофенилкарбоната: [S]  $5 \cdot 10^{-6}$ – $3 \cdot 10^{-5}$  М, [ПЭИ-4]  $2 \cdot 10^{-4}$  М, [ПЭИ-7], [ПЭИ-12] и [ПЭИ-16]  $5 \cdot 10^{-5}$  М, 4% ДМСО, [трис-НСl]  $10^{-2}$  М.

группы экранированы углеводородными радикалами от молекул воды, что приводит к резкому уменьшению  $pK_a$  и уменьшению степени протонизации аминогрупп. Доля ассоциированных молекул додецилдиэтиламина составляет 40%, а гексадецилдиэтиламин ассоциирован на 100%.

В мицеллярных растворах этих же аминов  $pK_a$  снижается на 1–1,5 единицы по сравнению с молекулярными водными растворами (рис. 1, 1–4). Этот эффект имеет место только для части аминогрупп, по-видимому находящихся во внутренних областях мицелл, обладающих наибольшей гидрофобностью. Эффект увеличивается с ростом углеводородного радикала в молекулах амина, которые наиболее полно погружены в гидрофобную часть мицеллы (рис. 1, 3 и 4). Часть молекул аминов, находящихся, по-видимому, в поверхностных слоях мицелл, не испытывает влияния гидрофобного взаимодействия углеводородных радикалов, вследствие чего величины  $pK_a$  аминов в мицеллярных и молекулярных растворах сближаются (рис. 1).

В высокомолекулярных катализаторах на основе алкилированных ПЭИ наблюдаются следующие закономерности (рис. 2, 1–3). Константа диссоциации аминогрупп в ПЭИ для катализаторов, содержащих углеводородные радикалы различной длины, снижается в ряду ПЭИ, ПЭИ-7, ПЭИ-16. Это обусловлено тем же гидрофобным взаимодействием углеводородных радикалов, приводящим к уменьшению степени гидратации аминогрупп, находящихся внутри макромолекулярного клубка. В результате этого уменьшается степень протонизации аминогрупп, так как заряженной частице невыгодно находиться в неполярной среде с малой поляризуемостью, которую создают углеводородные радикалы. Этот эффект име-

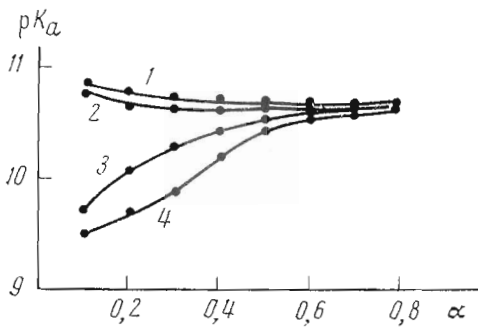


Рис. 1

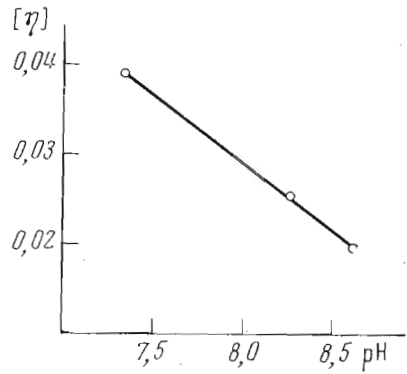


Рис. 3

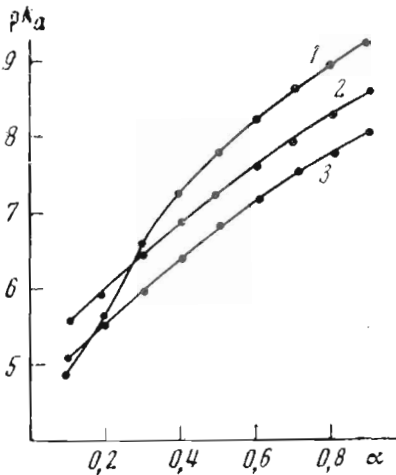


Рис. 2

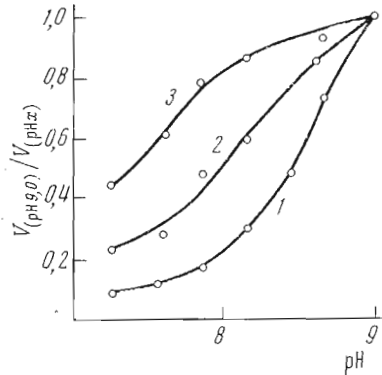


Рис. 4

Рис. 1. Зависимость  $pK_a$  от степени нейтрализации  $\alpha$  аминогрупп в алкилдиэтиламинах: 1 — бутилдиэтиламин в воде, 3 — в ЦТАБ; 2 — гептилдиэтиламин в воде, 4 — в ЦТАБ. [ЦТАБ]  $3 \cdot 10^{-2}$  М, [амин]  $3 \cdot 10^{-3}$  М, [КСl]  $3 \cdot 10^{-2}$  М титрант — 0,1 н. КОН, атмосфера аргона

Рис. 2. Зависимость  $pK_a$  от степени нейтрализации аминогрупп в полимерах: 1 — ПЭИ, 2 — ПЭИ-7, 3 — ПЭИ-16; все в  $10^{-2}$  М концентрации, атмосфера аргона, титрант — 0,1 н. КОН

Рис. 3. Зависимость характеристической вязкости  $[\eta]$  ПЭИ-7 от рН среды. 0,01 М трис-НСl-буфер

Рис. 4. Максимальная скорость реакции гидролиза *n*-нитрофенилcapрилата, катализируемого алкилированными ПЭИ, в зависимости от рН среды: 1 — ПЭИ-4, 2 — ПЭИ-7, 3 — ПЭИ-16; [ПЭИ-4]  $2 \cdot 10^{-4}$  М, [ПЭИ-7] и [ПЭИ-16]  $5 \cdot 10^{-5}$  М, [S]  $5 \cdot 10^{-6}$  —  $3 \cdot 10^{-5}$  М, 4% ДМСО, [трис-НСl]  $10^{-2}$  М

ет кооперативную природу, поскольку создание гидрофобной среды внутри макромолекул обусловлено гидрофобным взаимодействием радикалов, находящихся у звеньев макромолекулы, отдаленных друг от друга значительными расстояниями, что свойственно только полимерным молекулам. Макромолекула при этом приобретает свернутую конформацию, что следует из очень малых величин характеристической вязкости (ПЭИ-7), которые продолжают уменьшаться по мере обусловленного увеличением рН среды снижения доли протонизованных аминогрупп (рис. 3). Принимая во внимание, что молекулярный вес ПЭИ-7 равен  $4,7 \cdot 10^4$ , значение  $[\eta]$ , равное 0,02, свидетельствует о компактной структуре макромолекул

Константы скорости ( $k_2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) гидролиза нитрофениловых эфиров, катализируемого алифатическими аминами в молекулярном растворе, мицелле и полимере

Эфир	Молекулярный раствор		Мицеллярный раствор				Полимер	
	диэтиламин	триэтиламин	диэтиламин	бутилдиэтиламин	гептилдиэтиламин	гексадецилдиэтиламин	ПЭИ-7	ПЭИ-16
<i>n</i> -Нитрофенилбутират (НФБ)	1,0	0,78	5,7	2,9	1,9	1,7	5,8	27
<i>n</i> -Нитрофенилкапронат (НФК <sub>6</sub> )	0,62	0,47	5,0	2,4	2,1	1,3	166	536
<i>n</i> -Нитрофенилкаприлат (НФК <sub>8</sub> )	0,26	0,32	7,4	3,6	2,8	1,7	1330	2460

Полимерный катализ: [НФБ]  $10^{-3}$ – $6 \cdot 10^{-4}$  М, [НФК<sub>6</sub>]  $10^{-3}$ – $2 \cdot 10^{-4}$  М, [НФК<sub>8</sub>]  $2 \cdot 10^{-6}$ – $2 \cdot 10^{-5}$  М, [ПЭИ-алкил]  $5 \cdot 10^{-3}$  М, [трис-НСI] 0,01 М, рН 8,3.

Катализ аминами в мицеллах: [НФБ]  $10^{-1}$ – $2 \cdot 10^{-3}$  М, [НФК<sub>6</sub>]  $5 \cdot 10^{-5}$ – $5 \cdot 10^{-4}$  М, [НФК<sub>8</sub>]  $5 \cdot 10^{-6}$ – $2 \cdot 10^{-4}$  М, [амины]  $10^{-3}$ – $5 \cdot 10^{-4}$  М, [ЦТАБ]  $10^{-2}$  М, 0,04 М универсальный буфер, рН 9,3.

Катализ аминами в воде: [НФБ]  $4 \cdot 10^{-4}$  М, [НФК<sub>6</sub>]  $10^{-4}$  М, [НФК<sub>8</sub>]  $1,1 \cdot 10^{-5}$  М, [амины]  $1$ – $5 \cdot 10^{-3}$  М, рН 9,3, 0,01 н. КСI.

Ошибка в определении  $k_2 = 15$ –30%.

этого полимера с высокой степенью внутримолекулярной гидрофобности. Для сравнения укажем, что величина  $[\eta]$  неалкилированного ПЭИ вдвое меньшего молекулярного веса в абсолютном этаноле, где он имеет форму гауссового клубка, равна 0,16.

На рис. 4 приведено отношение максимальной скорости ( $V$ ) гидролиза в зависимости от рН среды катализаторов с тремя различающимися по длине радикалами. Из рисунка видно, что в случае ПЭИ-4 зависимость выражена наиболее резко; ход кривой 1 свидетельствует о том, что депротонизация активных центров этого полимера происходит в интервале рН 8–9. В то же время депротонизация аминогрупп ПЭИ-16 происходит в области меньших рН, что, вероятно, обусловлено их гидрофобным окружением. В то же время, если амины (триэтиламин и додецилдиэтиламин) находятся в растворах мицелл, зависимости скорости реакции от рН среды практически совпадают (рис. 5); это указывает на то, что длина радикалов аминов в данном случае не играет роли и, следовательно, в случае мицелл кооперативный эффект, свойственный полимерам, отсутствует.

В табл. 2 приведены рассчитанные на основании данных, представленных на рис. 4 и 5, значения  $pK_a$  центров катализа для полимерных и мицеллярных катализаторов. Если для последних значения  $pK_a$  практически не зависят от длины радикала в амине, то в случае полимерных катализаторов величины  $pK_a$  центров катализа уменьшаются с ростом радикала.

На рис. 6 показаны области рН, при которых осуществляется максимальная степень депротонизации полимерных катализаторов, мицеллярного и молекулярного растворов аминов.

Видно, что максимальная степень депротонизации и, следовательно, каталитическая активность этих трех систем находятся при различных рН. В случае полимерных катализаторов значения максимальной степени депротонизации и, следовательно, активности находятся при рН  $\approx 8$ . При этом значения рН степень депротонизации аминов в мицеллярных и молекулярных растворах незначительна ( $\ll 1\%$ ). В табл. 3 приведены данные, показывающие, что каталитическая активность полимеров в гидролизе нитрофениловых эфиров из расчета на одну депротонированную аминогруппу в  $\sim 10^4$  раза выше в сравнении с молекулярными и в  $\sim 10^3$  раза — в сравнении с мицеллярными растворами аминов. Поскольку

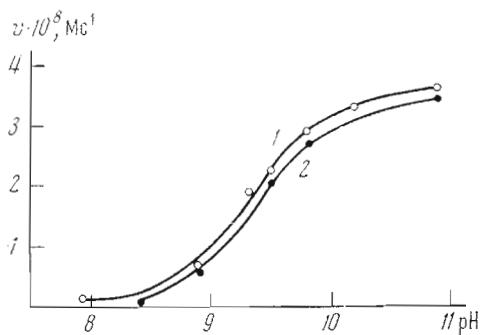


Рис. 5

Рис. 5. Скорость реакции гидролиза *n*-нитрофенилкарбоната в растворе ЦТАБ в зависимости от рН среды: 1 — триэтиламин, 2 — додецилдиэтиламин; [S]  $5 \cdot 10^{-6}$  М, [амины]  $10^{-4}$  М, [ЦТАБ]  $10^{-2}$  М, 10% ДМСО, 0,04н. универсальный буфер

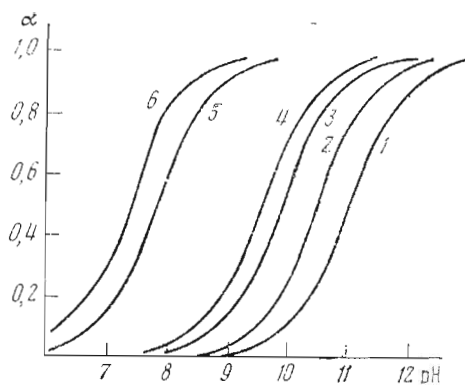


Рис. 6

Рис. 6. Степень депротонизации аминов  $\alpha$  в молекулярном и мицеллярном растворах п алкилированных ПЭИ в зависимости от рН среды. Молекулярный раствор: 1 — диэтиламин, 2 — гексилдиэтиламин; потенциометрическое титрование; [амины]  $10^{-2}$  М, 0,1 н. КСl, 25°, атмосфера аргона, титрант — 0,1 н. КОН. Мицеллярный раствор: 3 — диэтиламин, 4 — додецилдиэтиламин; гидролиз *n*-нитрофенилкарбоната: [S]  $5 \cdot 10^{-4}$  М, [ЦТАБ]  $10^{-2}$  М, 10% ДМСО, [амины]  $10^{-4}$  М, 0,04 н. универсальный буфер. Раствор алкилированных ПЭИ: 5 — ПЭИ-7, 6 — ПЭИ-16; гидролиз *n*-нитрофенилкарбоната: [S]  $5 \cdot 10^{-6}$  —  $3 \cdot 10^{-5}$  М, [ПЭИ-7] и [ПЭИ-16]  $5 \cdot 10^{-5}$  М, 4% ДМСО, [трис-НСl]  $10^{-2}$  М

каталитически активны только депротонированные аминогруппы, а число последних, как показано на рис. 6, у ПЭИ-16 максимально при рН 8 (физиологические значения рН), активность полимерного катализатора будет отличаться от молекулярного или мицеллярного раствора аминов на 6—7 порядков.

Таким образом, наличие радикалов в полимере влияет не только на константы элементарных стадий гидролиза, как было показано ранее [1, 2], но и на число активных каталитических центров, что обусловлено кооперативным взаимодействием радикалов, влияющим на константу диссоциации протонированных аминогрупп.

### Экспериментальная часть

Нитрофениловые эфиры жирных кислот, ПЭИ линейного строения и синтез алкилированных ПЭИ описаны ранее [1]. Диэтиламин, триэтиламин — препараты марки ч.д.а. — очищали перегонкой (т. кип = 55,5 и 89,4° соответственно). ЦТАБ — препарат фирмы «Chemapol» (ЧССР) очищали перекристаллизацией. Алкилдиэтиламины синтезировали алкилированием бромистыми алкилами диэтиламина в избытке последнего. Реакцию проводили при 65° в течение 3 ч. Продукты реакции выделяли из эфира в виде солей бромистоводородной кислоты. Степень чистоты полученных аминов оценивали потенциометрическим титрованием.

Потенциометрическое титрование аминов и алкилированных ПЭИ проводили, используя прибор рН-673, в термостатированной ячейке при 25°, в атмосфере аргона.

Измерение скорости гидролиза нитрофениловых эфиров в присутствии всех исследовавшихся каталитических систем проводили на 16-куветном спектрофотометре «ENIGEMSAEC» (США) при 25° [1]. Для приготовления буферных растворов использовали 0,01 М трис-(оксиметил)аминометан (марка ч.), раствор которого титровали 0,1 н. NaOH до нужного рН. Определенную ионную силу ( $\mu = 0,01$ ) поддерживали

добавлением рассчитанного количества 0,1 н. NaCl и 0,1 н. HCl. В некоторых кинетических измерениях использовали универсальный буфер.

Значения кинетических констант,  $V$ , а также  $pK_a$  активных центров рассчитывали из значений скоростей реакции с помощью вычислительной машины PDP-8E по программам, созданным на кафедре энзимологии химического факультета МГУ. Точность в определении  $K_m = 60-90\%$ ,  $V = 80-95\%$ ,  $pK_a = 0,1$ . Характеристическую вязкость ПЭИ-7 в зависимости от pH измеряли в вискозиметре Убеллоде со временем истечения растворителя 120—122 с при  $25 \pm 0,1^\circ$ .

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Пшежецкий В. С., Лукьянова А. П., Кабанов В. А. (1975) Биоорган. химия, **1**, 950—957.
2. Пшежецкий В. С., Лукьянова А. П., Кабанов В. А. (1975) Биоорган. химия, **1**, 1458—1463.
3. Duynstee E. F., Grunwald E. (1959) J. Amer. Chem. Soc., **81**, 4540—4543.

Поступила в редакцию  
1.VII.1975

#### THE EFFECTS OF HYDROPHOBIC INTERACTIONS ON THE CATALYTIC ACTIVITY OF ALKYLATED POLYETHYLENEIMINES—HIGH MOLECULAR CATALYSTS AND FUNCTIONAL ANALOGS OF $\alpha$ -CHYMOTRYPSIN

PSHEZHETSKII V. S., LUKJANOVA A. P.

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

The dissociation constants of the active centers in the catalysis with alkylated polyethyleneimines (PEI) and low molecular weight amines — active centers analogs of polymer catalysts — were determined by potentiometric titration and pH-dependence study of the hydrolysis rate. The cooperative interactions of the alkyl radicals in PEI were found to result in a hydrophobic environment of the amino groups (the active centers), a decrease in  $pK_a$  as compared with molecular and micellar solutions of amines being 3 and 2 pH units, respectively.