

УДК 541(64+128)

АДСОРБЦИОННЫЕ КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ
ПОЛИМЕР — НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КАТАЛИЗАТОР

*И. Н. Топчиева, А. Б. Соловьева, Б. И. Курганов,
В. А. Кабанов*

В предыдущей работе [1] на основании анализа pH-зависимости скорости гидролиза *n*-нитрофенилацетата (НФА) в присутствии полиоксиэтиленового эфира N-бензоилгистидина (ПОБГ) нами было показано, что при проведении реакции в *турс*-HCl и боратном буфере в процессе гидролиза наряду с имидазольной группой ПОБГ принимают участие также компоненты буферных растворов, адсорбированные на полиоксиэтиленовой цепи. В связи с этим особый интерес представляют такие адсорбционные системы полимер — низкомолекулярное соединение, в которых низкомолекулярное соединение обладает каталитической активностью. Возникает вопрос о том, как меняются каталитические свойства низкомолекулярного катализатора при связывании его с полимерной цепью. Можно предполагать, что благодаря фиксации катализатора на полимерной цепи каталитические свойства системы будут приближаться к свойствам полимерных катализаторов с ковалентно связанными каталитически активными группами. С одной стороны, такой подход ведет к новому пути создания высокомолекулярных катализаторов как моно-, так и полифункциональных, обладающих широким спектром каталитического действия. С другой стороны, введение каталитически активной функциональной группы является своеобразной меткой, позволяющей изучать процессы связывания, используя высокочувствительный метод определения каталитической активности. Кроме того, изучение каталитических систем подобного типа представляет интерес с точки зрения моделирования некоторых аспектов взаимодействия апофермента с коферментом, приводящего к образованию активного холофермента.

Способность связывать низкомолекулярные соединения характерна для макромолекул с достаточно высокой конформационной подвижностью и компактной структурой в растворе [2]. К числу связывающих синтетических полимеров относятся полиэтиленимин и его производные [2, 3], поливинилцирролидон (ПВП) [4], полиоксиэтилен (ПОЭ) [5] и т. д. В качестве низкомолекулярных лигандов выступают, как правило, соединения анионного типа (кислоты, анионные красители), а также соединения с полярными группами (например, амино- и гидроксильной) [5], способные участвовать в образовании водородной связи с полимерами.

Среди изученных связывающих полимеров ПОЭ по природе сил взаимодействия с низкомолекулярными лигандами характеризуется наибольшим многообразием. В работе [5] при изучении связывания органических ионов в водном растворе авторы пришли к заключению о том, что ПОЭ способен связывать только анионы, что характерно также и для ПВП. Известна способность ПОЭ связывать ионы Na^+ и K^+ , о чем свидетельствуют данные, полученные в работе [6]. С другой стороны, при изучении поведе-

ния ПОЭ в спиртовых растворах, содержащих K^+I^- , авторы пришли к заключению об адсорбции I^- на полимерной цепи [7].

В настоящей работе изучены катализитические свойства адсорбционных систем, построенных на основе «связывающих» полимеров и имидазолсодержащего соединения анионного типа, N-карбобензокси-L-гистидина (КБЗГ).

Наряду с известными связывающими полимерами, такими как ПВП, ПОЭ и поливиниловый спирт (ПВС), нами были использованы также не изученный в этом отношении поливиниловый спирт (ПАС) и мицеллообразующее соединение на основе ПОЭ — ПОЭ с молекулярным весом $M = 1000$ (ПОЭ-1000) — моностеарат.

Экспериментальная часть

В работе были использованы следующие реагенты: ПОЭ с $M = 15\,000$ (ПОЭ-15 000) и 40 000 (ПОЭ-40 000) фирмы Schuchardt; ПОЭ-1000 — моностеарат фирмы Schuchardt (ФРГ); ПАС* с $M = 30\,000$; ПВС фирмы Zaklady Chemiczne Otwock (Польша); ПВП с $M = 11\,000$ и N-карбобензокси-L-гистидин фирмы Reanal (Венгрия).

Получение N-формилгистидина. К раствору 1,3 г ($5 \cdot 10^{-3} M$) гистидина в 11 мл свежеперегнанной муравьиной кислоты (муравьиную кислоту сушили над борным ангидридом в течение месяца, затем сутки над прокаленным сульфатом меди и перегоняли в вакууме, $T_{\text{кип}} = 25-30^\circ / 10 \text{ мм}$) добавляли по каплям 3,5 мл свежеперегнанного уксусного ангидрида ($T_{\text{кип}} = 35-40^\circ / 10 \text{ мм}$). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 час. и оставляли на ночь. Затем раствор упаривали в вакууме, добавляя несколько раз ледянную воду до появления белых кристаллов. Выход 0,99 г (65%). $T_{\text{пл}} = 200^\circ$ (литературные данные 202° [8]).

НФА получали из уксусного ангидрида и *n*-нитрофенола [9], $T_{\text{пл}} = 78^\circ$ (литературные данные 78°).

n-Нитрофенилкаприлат получали по методике [10].

Гидролиз субстратов в присутствии адсорбционных катализаторов изучали в $10^{-2} M$ фосфатном буферне при $\text{pH} = 7,8$ и 25° .

Методика гидролиза описана в работе [1].

Измерения приведенной вязкости 0,87%-ного водного раствора (ПОЭ-40 000) проводили в вискозиметре Уббелоде при $25 \pm 0,05^\circ$.

Особенности кинетического поведения адсорбционных катализитических систем, связанные с истощением низкомолекулярных компонентов. Предположим, что как центры полимерной цепи, связывающие катализатор (К), так и центры, связывающие субстрат (S), являются эквивалентными и невзаимодействующими и что связывание К и S происходит независимо друг от друга. Предположим также, что концентрация центров в полимерной молекуле, связывающих низкомолекулярные соединения, сравнима с концентрациями катализатора и субстрата. Для оценки эффективности полимерного катализатора адсорбционного типа следует сопоставить скорости гидролиза субстрата в присутствии системы катализатор — высокомолекулярный сорбент и в присутствии свободного катализатора.

В отсутствие полимера начальная скорость v катализитического гидролиза НФА прямо пропорциональна начальным концентрациям К и S

$$v = k_{11}[K]_0[S]_0, \quad (1)$$

где k_{11} — константа скорости реакции второго порядка. В адсорбционной системе



где R — центр на полимерной цепи, связывающий низкомолекулярный катализатор K, общая скорость реакции определяется суммой двух слагаемых, первое из которых соответствует свободной форме катализатора, а второе — связанной форме

$$v = k_{11}[K][S] + [RK] \frac{k_2[S]}{K_m + [S]} \quad (3)$$

При выводе этого уравнения предполагается, что зависимость скорости реакции, катализируемой связанной формой катализатора, от концентрации субстрата подчиняется уравнению Михаэлиса — Ментен, как и в случае полимерных катализаторов с катализически активной группой, ковалентно связанный с полимерной цепью. В выражении (3) [K], [S] и [RK] представляют собой стационарные концентрации (концентрации [K] и [S] в общем случае меньше начальных вследствие связывания катализатора и субстрата полимерной цепью); K_m — константа Михаэлиса и k_2 — константа распада комплекса RKS. Соотношение между [K] и [RK] определяется кон-

* ПАС любезно предоставлен В. П. Зубовым и М. Н. Мастеровой.

стантой равновесия (2). Если в опыте варьируется концентрация катализатора, то при $[K]_0 \rightarrow \infty$

$$v \rightarrow [R]_0 [S] \left(\frac{k_2}{k_m + [S]} - k_{II} \right) + k_{II} [S] [K]_0, \quad (4)$$

где $[R]_0$ — общая концентрация центров, связывающих катализатор. Наклон этой асимптоты в $[S]/[S]_0$ раз меньше наклона прямой, описываемой выражением (1). Следовательно, различие в наклонах указанных прямых будет тем больше, чем сильнее выражен эффект снижения концентрации свободного субстрата вследствие связывания последнего полимерной цепью.

С другой стороны, если в опыте варьируется концентрация субстрата, то при $[S]_0 \rightarrow \infty$

$$v \rightarrow [R]_0 (k_2 - k_{II} [K]) + k_{II} [K] [S]_0 \quad (5)$$

Наклон этой асимптоты в $[K]/[K]_0$ раз меньше наклона прямой, описываемой выражением (1). На рис. 1 схематически сопоставлены зависимости скорости реакции от начальной концентрации катализатора или субстрата для катализатора в отсутствие полимера (прямая 1) и для рассмотренной модельной системы (кривая 2). При $k_2 / (k_m + [S]) > k_{II}$ в выражении (4) и $k_2 > k_{II} [K]$ в выражении (5), т. е. при большей эффективности связанный формы по сравнению со свободной (рис. 1) существует определенная концентрация катализатора или субстрата, ниже которой скорость реакции для адсорбционной системы выше скорости реакции для свободного катализатора, а выше которой наблюдается обратная картина.

Если эксперимент поставлен таким образом, что при оценке эффективности адсорбционной катализитической системы в кювете сравнения проводят гидролиз субстрата в присутствии низкомолекулярного катализатора той же концентрации, но без полимерного сорбента, то измеряемая величина скорости представляет собой разность скоростей Δv . В рассмотренном случае кривые зависимости Δv от концентрации субстрата и катализатора должны проходить через максимум (рис. 1).

Результаты и их обсуждение

ПОЭ — КБЗГ. Гидролиз НФА в системе ПОЭ — КБЗГ проводили в фосфатном буфере, $pH = 7,9$. Концентрацию ПОЭ во всех опытах поддерживали постоянной и равной $7,7 \cdot 10^{-5} M$. Концентрацию КБЗГ обычно варьировали в пределах $(2-30) \cdot 10^{-5} M$, а концентрацию субстрата — в интервале $(1-7,5) \cdot 10^{-4} M$. Поскольку естественно предположить, что молекула ПОЭ содержит много центров, способных связывать молекулы катализатора и субстрата, можно считать, что в изучаемой системе концентрации связывающих центров, катализатора и субстрата сравнимы. Следовательно, в данной системе могут наблюдаться кинетические эффекты, обусловленные снижением концентраций субстрата и катализатора в результате связывания их полимерной цепью при варьировании концентраций катализатора или субстрата соответственно.

Оказалось, что по своей катализитической эффективности адсорбционный катализатор превосходит свободный КБЗГ (рис. 2, а, б). Поскольку эффект увеличения скорости невелик, более надежные значения разности скоростей были получены при проведении гидролиза НФА в системе ПОЭ — КБЗГ против гидролиза НФА в присутствии КБЗГ. Видно, что величина Δv проходит через максимум при увеличении концентрации КБЗГ.

Аналогичного вида кривые получены при изучении зависимости скорости гидролиза НФА в системе ПОЭ — КБЗГ от концентрации НФА при различных концентрациях КБЗГ (рис. 2, в, г). Для выяснения вопроса о том, как влияет молекулярный вес полимера на катализитическую эффективность системы ПОЭ — КБЗГ, аналогичные опыты были проведены с ПОЭ-40 000 (рис. 3). Видно, что эти зависимости имеют такой же характер, что и соответствующие зависимости для системы ПОЭ-15 000 — КБЗГ.

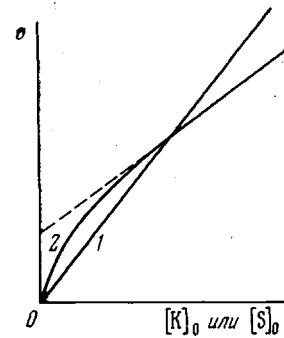


Рис. 1. Схематическое сопоставление зависимости скорости катализитической реакции от начальной концентрации катализатора $[K]_0$ или субстрата $[S]_0$: — для низкомолекулярного катализатора в отсутствие полимера (1) и для модельной системы, кинетическое поведение которой описывается уравнением (3) (2)

Следовательно, система ПОЭ — КБЗГ по своему кинетическому поведению близка к модельной системе, рассмотренной выше. Для оценки наклона предельной асимптоты ($[КБЗГ]_0 \rightarrow \infty$) эти же зависимости были изучены в более широком интервале концентраций КБЗГ (рис. 4). Из рисунка

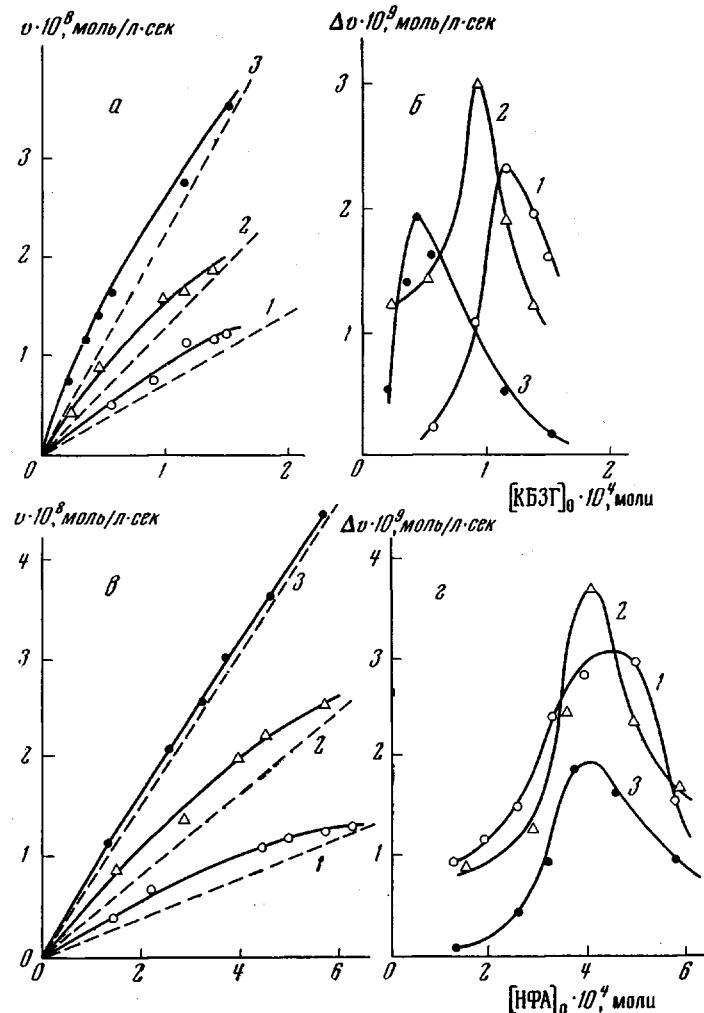


Рис. 2. Зависимость скоростей гидролиза НФА в системе ПОЭ-15 000 — КБЗГ от концентрации КБЗГ (а, б) и от концентрации НФА (в, г), измеренных против спонтанного гидролиза НФА в фосфатном буфере (а, в) и против гидролиза НФА в присутствии КБЗГ (б, г). Начальная концентрация НФА на рис. а и б (ммоль/л: 1 — 0,15, 2 — 0,3 и 3 — 0,6). На рис. в сплошные линии соответствуют системе ПОЭ — КБЗГ, а пунктирные — КБЗГ в отсутствие полимера. $7,8 \cdot 10^{-5} M$ ПОЭ, $10^{-2} M$ фосфатный буфер, $pH = 7,8$, 25° . Начальная концентрация КБЗГ на рис. в и г (ммоль/л): 1 — 0,046, 2 — 0,092 и 3 — 0,18

видно, что даже при очень больших начальных концентрациях КБЗГ соответствующие кривые гидролиза НФА в присутствии системы ПОЭ — КБЗГ не выходят на линейный участок; это, по-видимому, обусловлено тем, что среди связывающих центров имеются центры с относительно слабым средством КБЗГ к полимерной цепи ПОЭ. Данные, приведенные на рис. 5, позволяют сопоставить катализитические эффективности обеих систем. Видно, что при двух концентрациях субстрата кривые, соответствующие системе ПОЭ-40 000 — КБЗГ, проходят выше кривых, соответствующих системе ПОЭ-15 000 — КБЗГ. Это указывает на то, что наиболь-

шей катализитической эффективностью в данных условиях обладает адсорбционная система на основе ПОЭ с более высоким молекулярным весом.

Интересно отметить, что при использовании вместо КБЗГ соответствующего метилового эфира катализитическая система, включающая ПОЭ, теряет преимущества в катализитической эффективности по сравнению со

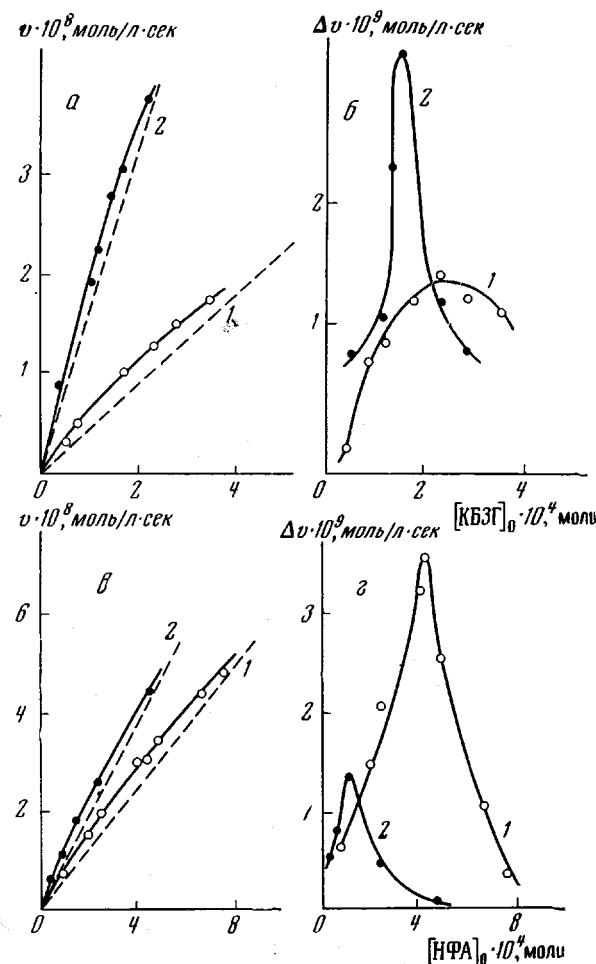


Рис. 3. Зависимости скоростей гидролиза НФА в системе ПОЭ-4000 — КБЗГ от концентрации КБЗГ (a, б) и НФА (в, г), измеренных против спонтанного гидролиза НФА (a, в) и против гидролиза НФА в присутствии КБЗГ (б, г). Начальная концентрация НФА (моль/л): 1 — 0,13, 2 — 0,40 (a, б). Условия те же, что и на рис. 2. Начальная концентрация КБЗГ (моль/л): 1 — 0,15, 2 — 0,23 (в, г)

свободным метиловым эфиром в реакции гидролиза НФА. Это указывает на необходимость присутствия в молекуле низкомолекулярного компонента специфической группы — карбоксилат-аниона, играющей существенную роль в связывании с полимерной цепью. С другой стороны, отсутствие различия в каталитических свойствах N-формилгистидина в присутствии ПОЭ и без него также указывает на отсутствие связывания этого соединения. Таким образом, эти экспериментальные данные по скоростям каталитического гидролиза НФА в системе ПОЭ — N-замещенный гистидин и соответствующий метиловый эфир позволяют предположить, что основной вклад в связывание низкомолекулярных соединений вносят неполярные взаимодействия между N-защитной группой гистидина и $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ -группами ПОЭ и электростатические взаимодействия между положительными центрами ПОЭ, представляющими собой области, содержащие связанные катионы щелочных металлов, и расположеннымными вблизи анионными группами низкомолекулярного лиганда. Эти взаимодействия

аналогичны по типу специфическому связыванию противоионов вблизи полимерной цепи полиэлектролита [11].

С целью обнаружения возможных конформационных изменений полимерных цепей при связывании низкомолекулярных лигандов нами были проведены вискозиметрические измерения растворов ПОЭ-40 000 при различных концентрациях КБЗГ. Оказалось, что в интервале концентраций КБЗГ $2-30 \cdot 10^{-5} M$ характеристическая вязкость ПОЭ в фосфатном буфере ($pH = 7,8$) постоянна и равна $0,5 \text{ дL/g}$. Следовательно, введение низкомолекулярного соединения не приводит к существенным конформационным изменениям цепей ПОЭ.

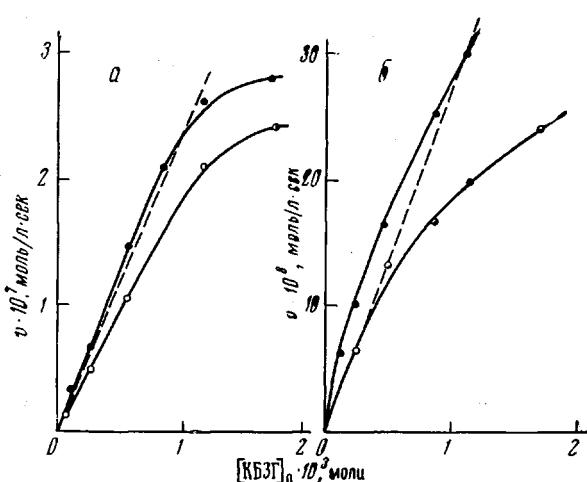


Рис. 4

Рис. 4. Зависимости скоростей гидролиза НФА в системах ПОЭ-45 000 — КБЗГ (○) и ПОЭ-40 000 — КБЗГ (●), измеренных против спонтанного гидролиза НФА в фосфатном буфере, от концентрации КБЗГ при концентрациях НФА, равных $6 \cdot 10^{-4}$ (а) и $7,5 \cdot 10^{-5} M$ (б). Условия те же, что и на рис. 2

Рис. 5. Зависимость скорости гидролиза НФА в системе ПАС — КБЗГ от концентрации КБЗГ, измеренной против гидролиза НФА в присутствии КБЗГ, 10^{-2} фосфатный буфер, содержащий 16,6% этилового спирта, $pH = 7,8$, $2,7 \cdot 10^{-2} M$ ПАС, $8,5 \cdot 10^{-4} M$ НФА

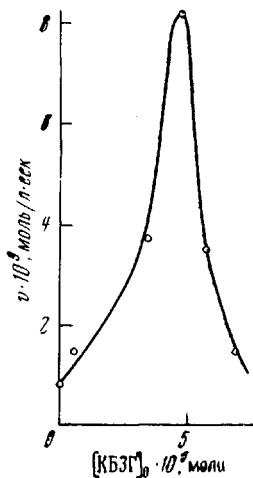


Рис. 5

Системы ПАС, ПВС, ПВП, ПОЭ-1000, моностеарат, КБЗГ. Другим представителем группы связывающих полимеров является сильно разветвленный ПАС — полимер, содержащий как гидрофобные, так и гидрофильтные участки и характеризующийся чрезвычайно компактной формой макромолекулярного клубка [9]. На рис. 5 представлена зависимость скорости гидролиза НФА от концентрации КБЗГ в системе ПАС — КБЗГ (гидролиз НФА в присутствии системы ПАС — КБЗГ сравнивали с гидролизом НФА в присутствии КБЗГ). Видно, что, как и в случае системы ПОЭ — КБЗГ, величина Δv проходит через максимум. Интересно отметить, что аналог ПАС — ПВС, характеризующийся гораздо большей жесткостью цепи и меньшей гидрофобностью, в этих же условиях не связывает КБЗГ, судя по отсутствию эффекта ускорения гидролиза НФА, катализируемого КБЗГ в присутствии этого полимера. Неэффективной оказалась также и система на основе ПВП и КБЗГ.

В настоящей работе в целях поиска эффективных адсорбционных систем была изучена система на основе ионного поверхности-активного вещества (ПАВ) — ПОЭ-1000, моностеарата и КБЗГ. Оказалось, что ПАВ не влияет на скорость гидролиза *n*-нитрофениловых эфиров (НФА и *n*-нитрофенилкаприлата), катализируемых КБЗГ.

Выводы

1. Обнаружено увеличение эффективности гидролиза *p*-нитрофенилацетата (НФА), катализируемого N-карбобензоксигистидином (КБЗГ) при введении в каталитическую систему добавок полиоксизтилена (ПОЭ), (молекулярный вес 15 000 и 40 000) и полиаллилового спирта (ПАС). Увеличение молекулярного веса ПОЭ приводит к увеличению каталитической эффективности системы ПОЭ — КБЗГ в реакции гидролиза НФА.

2. Зависимости скорости гидролиза НФА от концентрации КБЗГ в присутствии полимеров и от концентрации субстратов (при использовании ПОЭ), измеренные против скорости гидролиза НФА в присутствии КБЗГ, имеют экстремальный характер, что связано, по-видимому, со снижением концентрации низкомолекулярных компонентов вследствие связывания последних на полимерной цепи.

3. Каталитическая эффективность систем, содержащих в качестве высокомолекулярного компонента поливинилпирролидон, поливиниловый спирт и мицеллообразующее соединение — ПОЭ-1000 — моностеарат, а в качестве низкомолекулярного — КБЗГ, в реакции гидролиза НФА не отличается от эффективности свободного КБЗГ, что указывает на отсутствие связывания последнего на полимерных цепях.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова
Всесоюзный научно-исследовательский
витаминный институт

Поступила в редакцию
23 XII 1970

ЛИТЕРАТУРА

1. И. Н. Топчиева, А. Б. Соловьева, Б. И. Курганов, В. А. Кабанов, Высокомолек. соед., А14, 1774, 1972.
2. J. M. Klotz, A. R. Slonievsky, Biochem. Biophys. Res. Commun., 31, 421, 1968.
3. J. M. Klotz, J. P. Royer, A. R. Slonievsky, Biochemistry, 8, 4752, 1969.
4. P. Molyneux, H. P. Frank, J. Amer. Chem. Soc., 83, 3169, 1961.
5. W. Scholtan, Makromolek. Chem., 11, 131, 1953.
6. J. L. Down, J. Lewis, B. Moore, G. Wilkinson, J. Chem. Soc., 1959, 3767.
7. F. E. Bailey, R. D. Lundberg, R. W. Callard, J. Polymer Sci., 4, A-1, 1963, 1966.
8. Дж. Гринштейн, М. Виниц, Химия аминокислот и пептидов, изд-во «Мир», 1965, стр. 421.
9. F. D. Chatterway, J. Chem. Soc., 2495, 1931.
10. H. Zahn, F. Schade, Chem. Ber., 96, 1747, 1963.
11. Г. Моравец, Макромолекулы в растворе, изд-во «Мир», 1967.
12. С. А. Долматов, Диссертация, 1964.

ADSORPTION CATALYTIC SYSTEMS POLYMER—LOW-MOLECULAR CATALYST

I. N. Topchieva, A. B. Solov'eva, B. I. Kurganov,
V. A. Kabanov

Summary

Introduction of polyoxyethylene (POE) (mol. wt. 15 000 and 40 000) and poly(allyl alcohol) additions during hydrolysis of *p*-nitrophenyl acetate catalyzed by N-carbobenzoxyhistidine (CBH) increases the process efficiency. Increase of the molecular weight of POE enhances the catalytic efficiency of the system POE — CBH. The dependences of the hydrolysis rate of nitrophenyl acetate on the concentration of CBH in the presence of polymers and on the concentration of substrates (when POE is used), measured against the hydrolysis rate in the presence of CBH are of extremal nature, which is apparently due to a decrease in the concentration of low-molecular components resulting from their binding by the polymer chain. The catalytic efficiency of the systems containing as a high-molecular component polyvinylpyrrolidone, poly(vinyl alcohol) and a micelle-forming compound POE-1000-monostearate, and as a low-molecular component CBH, in the hydrolysis of *p*-nitrophenyl acetate does not differ from that of CBH, which points to the absence of its binding by the polymer chains.