

УДК 541.64:678.6

**КОМПЛЕКСЫ Cu(II) С ПОЛИМЕРАМИ НА ОСНОВЕ
ПОЛИ-4-ВИНИЛПИРИДИНА КАК КАТАЛИЗАТОРЫ РЕАКЦИИ
ОКИСЛЕНИЯ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ**

*Н. А. Венгерова, Н. Н. Лукашина, Ю. Э. Кири,
В. А. Кабанов*

Ранее сообщалось [1, 2], что ионы Cu(II) в комплексах с поли-4-винилпиридином (ПВП), частично алкилированным бромуксусной кислотой, проявляют повышенную (на 2 порядка) каталитическую активность по сравнению со свободными ионами меди в реакции окисления аскорбиновой кислоты.

Данная работа посвящена изучению механизма аскорбатоксидазной активности подобных макромолекулярных комплексов меди и выяснению природы «полимерного эффекта».

Экспериментальная часть

Перегнанные 4-винилпиридин (ВП) и 4-этилпиридин (ЭП) имели следующие константы: т. кип. 65°/15 мм, n_D^{20} 1,5525 и т. кип. 165°/750 мм, n_D^{20} 1,5030 соответственно.

Метанол, этанол и нитрометан сушили над CaO и перегоняли при 65, 78 и 101° соответственно. Очистку алкилгалогенидов осуществляли на хроматографической окиси алюминия; использованные алкилгалогениды имели следующие значения n_D^{20} : этилбромид (БЭ) 1,4239, этиленбромгидрин (ЭБГ) 1,4871.

Таблица 1

**Степени алкилирования ПВП различными галоидными соединениями
в зависимости от времени реакции**

ПВП-Э (P* = 410, 50°)		ПВП-ЭГ (P = 440, 55°)		ПВА-ИВК (P = 570, 60°)		ПВП-МВК (P = 570, 60°)		ПВП-УК** (P = 750, 30°)		ПВП-ЯНК (P = 600, 30°)	
время ре-акции, часы	Р, %	время ре-акции, часы	Р, %	время ре-акции, часы	Р, %	время ре-акции, часы	Р, %	время ре-акции, часы	Р, %	время ре-акции, часы	Р, %
0,3	5	1	5,5	3	17	11	28	0,25	20	0,16	20
0,7	6,8	3	13	7	26	16	35	1	34	0,3	27
1,1	8,0	5	20	16	36	29	62	2	37	0,5	32
1,5	10	7	24	34	50	48	79	3	44	1	40
2,3	17,4	12	35	49	70	85	91	5	45	4	45
4	22	13	37	66	80			8	51	16	55
6(60°)	38	20	46					22	60	160	90
8,5(65°)	75	27(60°)	58					48	66	300	92
		70	77					120	72		
								340	80		

* P — степень полимеризации фракции ПВП.

** ПВП-УК были получены также с ПВП, P = 85 и 2300 [2].

Бромуксусную (БУК), α -бромизовалериановую (БИВК), бромянтарную (БЯНК) кислоты марки ч. перекристаллизовывали из эфира.

α -Бром- β -метилвалериановую кислоту (БМВК) получали diaзотированием *L*-изолейцина по методу [3].

Найдено, %: С 38; Н 6; Br 39. $C_8H_{11}O_2Br$. Вычислено, %: С 37; Н 5,65; Br 41.

ПВП получали радикальной полимеризацией ПВ [4] и фракционировали осаждением из метанолю раствора этилацетатом. Молекулярный вес фракций вычисляли по данным вискозиметрических измерений в 92%-ном этаноле при 25° [5].

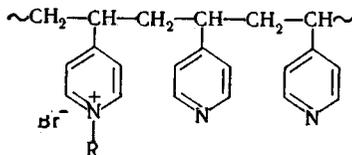
Для алкилирования ПВП БЭ и ЭБГ в качестве растворителя использовали смесь нитрометана и абсолютного этанола 1 : 1 (по объему), а в случае БИВК и БМВК — смесь нитрометана и абсолютного этанола 4 : 1 (по объему).

Реакцию проводили в вакууме с дву- трехкратным мольным избытком соответствующего галогидного алкила при 50—60° в течение 2—100 час. Полимер осаждали в осушенный эфир и сушили в вакууме.

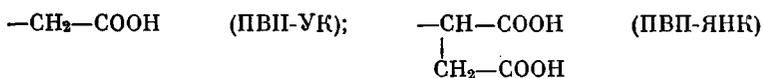
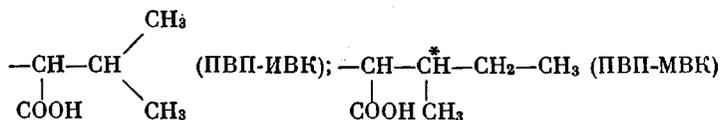
Реакцию ПВП с БУК и БЯНК проводили в смеси вода — метанол (2 : 1 по объему), концентрация ПВП была 0,01 *M*, концентрации БУК и БЯНК 0,02 *M*. В этом случае алкилирование вели в аргоне при 30° с отбором проб через определенные промежутки времени. Пробы многократно промывали эфиром для удаления избытка кислот, затем водный раствор упаривали, полимер осаждали ацетоном и промывали эфиром.

Долю пиридиновых звеньев β , вступивших в реакцию, определяли в конечном продукте по содержанию брома [6]. Был получен ряд полимеров (табл. 1), различающихся по составу и функциональным группам. Эти полимеры в дальнейшем были использованы в качестве полимерных лигандов (ПЛ).

Строение продуктов неполного алкилирования ПВП можно представить следующей формулой



В дальнейшем введем следующие обозначения полимеров для различных R:



Низкомолекулярные аналоги звеньев полимеров получали нагреванием ЭП и соответствующего бромистого соединения (ЭБГ, БУК, БЯНК) в эфире до выпадения четвертичной соли. Соль перекристаллизовывали из абсолютного этанола.

Четвертичные соли ЭП и БИВК, БМВК, БЭ получали в нитрометане при 60° под аргоном или в вакууме. После упаривания и промывания абсолютным эфиром соли кристаллизовались при стоянии.

Продукт реакции ЭП и БУК (ЭП-УК): найдено, %: С 43,7; Н 4,9; N 5,7; Br 31,2. $C_9H_{12}O_2NBr$. Вычислено, %: С 44,0; Н 4,88; N 5,7; Br 32,5.

Продукт реакции ЭП и БИВК (ЭП-ИВК): найдено, %: С 51,0; Н 6,4. $C_{12}H_{18}O_2NBr$. Вычислено, %: С 50,0; Н 6,2.

Продукт реакции ЭП и БЭ (ЭП-Э): найдено, %: С 49,9; Н 6,5. $C_9H_{14}NBr$. Вычислено, %: С 50,2; Н 6,5.

Полимер, полностью *N*-алкилированный БУК ($\beta = 100\%$), синтезировали по методу [7]. Спектры ЯМР подтвердили предполагаемую структуру. Данные элементного анализа: найдено, %: С 40,8%; Н 4,9; N 5,38. $C_9H_{10}O_2NBr$. Вычислено, %: С 40,6; Н 3,4; N 5,28.

Полимеры, исчерпывающе алкилированные БИВК, БМВК, БЯНК, БЭГ, не удалось получить указанным способом из-за возможного отщепления NBr и частичного направления реакции в сторону образования «ионена» [8].

Концентрацию меди в водных (бидистиллят) растворах $CuSO_4$ (х.ч.) и $Cu(NO_3)_2$ (ч.д.а.) определяли подометрическим титрованием.

L-Аскорбиновая кислота (х.ч.) ($[\alpha_D]^{20} = 23,3^\circ$ в воде) имела в ацетатном буфере (0,02 M) при pH = 4,3 коэффициент экстинкции ϵ 9400 л·моль⁻¹·см⁻¹ при $\lambda = 265$ мкм (поглощение аскорбатмоноаниона [9]) и 25°, что находится в соответствии с литературными данными [10].

Значения pK_{a1} аскорбиновой кислоты (АК), найденные спектрофотометрическим титрованием [11] при 15, 20, 25 и 30°, были равны соответственно 4,35; 4,30; 4,20; 4,15 ($\pm 0,04$ pH). Литературные данные — $pK_{a1} = 4,17$ при 25° [12]. Все измерения pH и потенциометрические титрования были выполнены на приборе ЛПМ-60 М в термостатированной ячейке.

Вискозиметрические измерения проводили в вискозиметре Уббелоде при $25 \pm 0,1^\circ$.

Измерения оптической активности и дисперсии оптического вращения проводили с помощью спектрополяриметра фирмы «Джаско» модель ORD/UV-5 в термостатированной кювете.

Гель-хроматографию проводили на сефадексе G-100 в термостатированной (25°) колонке (50 × 2,5 см) в ацетатном буфере (pH = 4,3), ионная сила 1 0,02 M. Свободный объем колонки $V_0 = 40$ мл, полный объем колонки $V_t = 128$ мл. Выход полимера контролировали спектрофотометрически при $\lambda = 255$ мкм.

Спектрофотометрические и кинетические измерения проводили с помощью двухлучевого регистрирующего спектрофотометра Хитачи-ЕPS-03 в термостатированных кварцевых кюветах.

Ряд спектров в видимой области получен на спектрофотометре «Уникам SP-800». Температуру поддерживали с точностью $\pm 0,1^\circ$.

Окисление АК изучали в ацетатном буфере, ионная сила 0,02 M. В случае, когда полимерным лигандом служил ПВП, реакцию окисления АК проводили в ацетатном буфере с добавлением 5 об. % метанола. Раствор перед добавлением субстрата насыщали чистым кислородом в течение 8—10 мин. Известно [13], что в реакции окисления участвует в основном аскорбатмоноанион (АА). Схема реакции окисления приведена в работе [13]. Начальную скорость реакции определяли по падению оптической плотности раствора при $\lambda = 265$ мкм (поглощение АА).

Каталитический эффект полимера находили по разности начальной скорости окисления АА в присутствии ионов Cu(II) и полимера и начальной скорости окисления АА в присутствии только ионов Cu(II). Кинетические данные по реакции окисления АК совпадали при использовании растворов CuSO₄ и Cu(NO₃)₂. Ошибка кинетических измерений, оцененная методом наименьших квадратов, составляла 15%.

Обсуждение результатов

Особенности связывания ионов меди полимерами. Спектральные исследования. Известно, что ионы Cu(II) образуют комплексы с пиридином [14, 15] в водных растворах и с ПВП в спиртовых растворах [16, 17]. ПВП, неполностью кватернизованный галоидалкилами, также связывает ионы меди в водных растворах с образованием комплексов синего цвета. Для ЭП — Cu(II) и ПЛ — Cu(II) наблюдается сильное смещение полосы поглощения в коротковолновую область и увеличение коэффициента экстинкции ионов меди (рис. 1). ПЛ и ЭП в видимой области не поглощают. Поскольку в области 600—700 мкм коэффициент экстинкции свободных ионов Cu(II) в отсутствие низкомолекулярных лигандов и ПЛ значительно ниже, можно считать, что в этой области поглощают в основ-

Таблица 2

Изменение эффективного коэффициента экстинкции ϵ ионов Cu(II) в области $\lambda = 630$ мкм и λ_{\max} (из дифференциальных спектров) в присутствии ПЛ и ЭП*

Спектральные параметры	Нет лиганда	ЭП	ПВП-Э ($\beta = 38\%$)	ПВП-ЭГ ($\beta = 24\%$)	ПВП-УК ($\beta = 37\%$)	ПВП-ЯНК ($\beta = 40\%$)	ПВП-МКК ($\beta = 36\%$)
ϵ_{630} , л/моль·см	1	10—11	18—20	16—18	6—8	18	20—21
λ_{\max} , мкм	810	680	630	630	690	640	640

* Коэффициент экстинкции зависит от соотношения [Cu(II)]/L. Условия опыта: [Cu(NO₃)₂] = $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л; концентрация свободных пиридиновых звеньев в полимерах $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л; мольное соотношение [Cu(II)]/L = 1.

ном лишь ионы, связанные в комплексах. Спектры растворов, содержащих комплексообразователь, снятые против растворов соответствующих концентраций $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, позволяют найти максимумы поглощения $\lambda_{\text{макс}}$. Характеристики спектров поглощения водных растворов ПЛ — $\text{Cu}(\text{II})$, ЭП — $\text{Cu}(\text{II})$ и $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ представлены в табл. 2.

Важно отметить, что поглощение в области 600—700 мкм при $\beta = \text{const}$ и $[\text{Cu}(\text{II})] = \text{const}$ постепенно увеличивается с ростом концентрации пи-

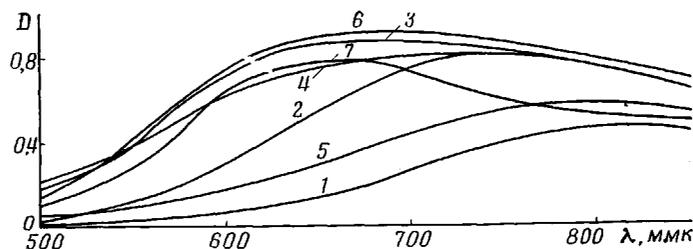


Рис. 1. Спектры поглощения растворов $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л) в присутствии ПЛ и ЭП при соотношении $[\text{Cu}(\text{II})] / [\text{L}] = 1$:

1 — без лигандов; 2 — ЭП; 3 — ПВП-Э ($\beta = 38\%$); 4 — ПВП-ЭГ ($\beta = 24\%$); 5 — ПВП-УК ($\beta = 37\%$); 6 — ПВП-ИВК ($\beta = 36\%$); 7 — ПВП-ЯНК ($\beta = 40\%$)

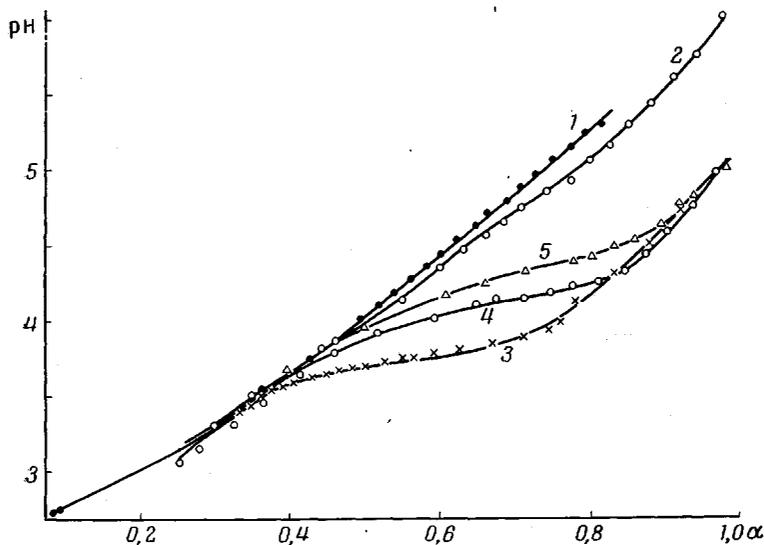


Рис. 2. Кривые потенциметрического титрования ПВП-Э ($\beta = 22\%$) и ПВП-ЭГ ($\beta = 35\%$) раствором 0,1 н. HCl в присутствии и в отсутствие $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$:

1 — ПВП-Э; 2 — ПВП-ЭГ; 3 — ПВП-Э и $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$; 4, 5 — ПВП-ЭГ и $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$. $[\text{Cu}(\text{II})] / [\text{L}] = 0,31$ (3), 0,5 (4), 0,2 (5), концентрация свободных пиридиновых звеньев в полимерах 0,008 и $[\text{KNO}_3] = 0,07$ моль/л, 25° , ток аргона

ридиновых звеньев в растворе, а максимум поглощения все сильнее сдвигается в коротковолновую область. Это находится в соответствии с литературными данными по комплексам пиридин — $\text{Cu}(\text{II})$ [15] и свидетельствует о ступенчатом комплексообразовании. Известно, что пиридин и $\text{Cu}(\text{II})$ могут образовывать несколько типов комплексов (до 6) с различными константами устойчивости.

Из табл. 2 и рис. 1 видно, что эффективные коэффициенты экстинкции ε ионов меди и значения $\lambda_{\text{макс}}$ в присутствии ПВП-Э, ПВП-ЭГ, ПВП-ЯНК, ПВП-ИВК близки друг к другу. Комплекс $\text{Cu}(\text{II})$ и ПВП-УК отличается от комплексов $\text{Cu}(\text{II})$ с другими ПЛ относительно небольшой величиной

эффективного коэффициента экстинкции. Максимум поглощения этого комплекса сдвинут в длинноволновую область.

Определение констант комплексообразования методом потенциометрического титрования. Спектрофотометрическое определение последовательных констант устойчивости комплексов в случае ступенчатого связывания полимерных лигандов — проблема весьма сложная [18] и мало разработан-

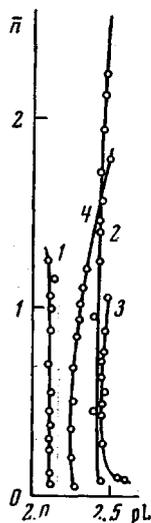


Рис. 3

Рис. 3. Кривые образования для систем ПВП-Э ($\beta = 22\%$) — Cu(II) (1) и ПВП-ЭГ ($\beta = 35\%$) — Cu(II) (2—4) при соотношениях $[Cu(II)]/[L]$: 1 — 0,31; 2 — 0,2; 3 — 0,5; 4 — 0,38

Рис. 4. Изменение оптической плотности три 265 мкм в зависимости от времени реакции окисления АА:

1 — в присутствии ионов Cu(II) (аналогичная кривая для Cu(II) в присутствии низкомолекулярных аналогов); 2 — ионов Cu(II) и ПЛ, рН = 4,3, ацетатный буфер 0,02 М, 25°, концентрация полимера и низкомолекулярных аналогов $Cu(NO_3)_2$ — $3 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Рис. 5. Зависимости начальной скорости реакции окисления аскорбиновой кислоты от концентрации АА в присутствии:

1' — Cu(II), 1'' — Cu(II) и ЭП, 1''' — Cu(II) и смеси 1:1 ЭП и ЭП-УК; 2 — Cu(II) и ПЛ. Условия реакции приведены в подписи к рис. 4

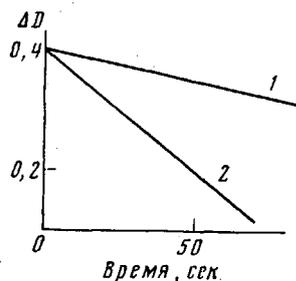


Рис. 4

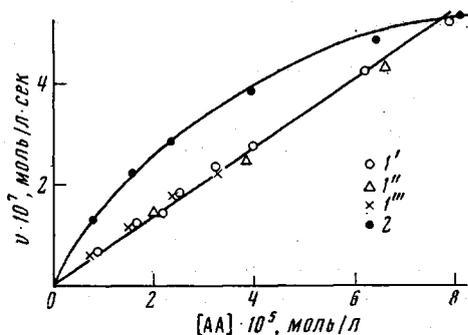


Рис. 5

ная для полимеров. Поэтому при измерении констант устойчивости комплексов мы использовали потенциометрический метод Бьеррума [18], уже применявшийся ранее к комплексам полимеров с ионами металлов [19, 20]. Метод основан на поддержании постоянной концентрации ионов металла и изменении концентрации лиганда путем титрования последнего кислотой или щелочью. Тогда среднее число лигандов \bar{n} , связанных с одним ионом металла, выражается как функция концентрации свободных лигандов L и дает так называемую кривую образования системы.

Кривая образования позволяет определить последовательные константы устойчивости комплексов. Различия в кривых потенциометрического титрования соляной кислотой растворов ПВП-Э ($\beta = 22\%$) и ПВП-ЭГ ($\beta = 35\%$) в присутствии и в отсутствие ионов меди указывают на образование комплексов пиридин — Cu(II) (рис. 2), позволяют рассчитать параметр Бьеррума и построить кривую образования системы, т. е. зависимость \bar{n} от $-\lg [L]$ (pL), где [L] — концентрация не связанных в комплексах свободных пиридиновых звеньев. Расчет \bar{n} и pL проводили по методу Грегора [19]. Эффективные pK_a пиридиновых звеньев ПВП-Э и ПВП-ЭГ при $\alpha = 0,5$ равны 4,0 (α — степень нейтрализации).

Из кривых образования (рис. 3) можно найти последовательные константы (K_1 , K_2 и т. д.) устойчивости комплексов, соответствующие реакциям:



Полученные кривые позволили надежно определить только первую и вторую константы. Они приведены в табл. 3. Константы более высоких комплексов можно определить, уменьшив концентрацию меди.

Из рис. 3 и табл. 3 видно, что для комплексов полимеров рассчитанные на основании экспериментальных данных последовательные константы устойчивости близки, в то время как в случае низкомолекулярных лигандов эти константы уменьшаются при переходе от низших комплексов к высшим.

Таблица 3

Последовательные константы устойчивости комплексов с полимерными и низкомолекулярными лигандами

Система	lg K_1	lg K_2	lg K_3	lg K_4
ПВП-Э — Cu(II) ($\beta = 22\%$) [Cu(II)]/[L] = 0,31	2,14	2,14	—	—
ПВП-ЭГ — Cu(II) ($\beta = 35\%$) [Cu(II)]/[L] = 0,5	2,5	—	—	—
ПВП-ЭГ — Cu(II) ($\beta = 35\%$) [Cu(II)]/[L] = 0,2	2,4	2,45	2,5	—
4-Метилпиридин — Cu(II)	2,56 *	—	—	—
	2,82 **			
Пиридин — Cu(II) *	2,52	1,86	1,39	0,85

* По данным работы [14].

** По данным работы [21].

Указанная особенность, по-видимому, является общей для полимерных комплексов и объясняется нестрогостью применения описанного выше метода расчета к полимерным системам [19]. Дело в том, что если координируемый ион металла соединяется хотя бы с одной группой полимерной цепи, то он попадает в область относительно высокой локальной концентрации свободных лигандов в макромолекулярном клубке и поэтому тут же, если это стерически возможно, присоединяет второй, третий и т. д. лиганды. Иными словами, описанный метод определения применительно к полимеру фактически позволяет найти истинное значение только первой константы (она, как видно из табл. 3, близка к значению первой константы комплексообразования Cu(II) с пиридином). Последующие константы фиктивны. Поэтому при оценке количества ионов металла, связанных макромолекулярным лигандом, правильнее пользоваться экспериментально найденной величиной именно первой константы, приписывая ее доминирующему комплексу, стехиометрия которого установлена независимым методом или может быть постулирована из косвенных соображений.

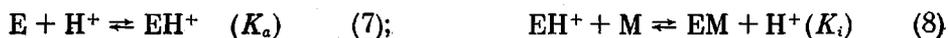
Константы устойчивости комплексов ПВП-УК—Cu(II), ПВП-ЯНК — Cu(II), ПВП-ИВК — Cu(II) методом потенциометрического титрования определить не удалось из-за осаждения полимерных комплексов даже при небольших ионных силах, создаваемых добавлением KNO_3 .

Кинетика окисления. На рис. 4 представлены типичные кинетические кривые окисления АК в присутствии катализаторов: ионов Cu(II), ионов Cu(II) и полимеров (ПЛ), ионов Cu(II) и соответствующих низкомолекулярных аналогов. Видно, что добавление полимера приводит к возрастанию каталитической активности ионов Cu(II). Низкомолекулярные анало-

ги полимерного звена в тех же условиях не оказывают влияния. Полимеры в отсутствие ионов Cu(II) не ускоряют окисления АК. Зависимости скорости реакции от концентрации АА в присутствии ионов Cu(II) и различных полимеров (ПВП-Э, ПВП-ЭГ, ПВП-ИВК, ПВП-МВК, ПВП-УК, ПВП-ЯНК) имеют тенденцию к насыщению. Типичная кривая представлена на рис. 5. Последнее характерно, в частности, для реакций с участием ферментов, когда происходит образование промежуточного комплекса активного центра с субстратом (комплекс Михаэлиса). Кинетически [22] и спектрофотометрически [10] было показано образование комплекса ионов меди и аскорбатмоноаниона в реакции окисления АК молекулярным кислородом, что приводит к увеличению скорости окисления по сравнению с окислением АК в отсутствие ионов металла.

Итак, в изученных системах возможно образование комплексов полимер — металл (EM), полимер — субстрат (ES), металл — субстрат (MS) и тройного — полимер — металл — субстрат (EMS) (комплекс Михаэлиса).

Соответствующие равновесия записываются в следующем виде:



где E — концентрация полимера или «активных» в связывании металла и субстрата мест в полимере; M — концентрация субстрата и металла соответственно; P — продукт реакции, образующийся с константой скорости k_2 . Кинетическая обработка уравнений в стационарном приближении описана ранее [2]. Получают конечные уравнения для скорости реакции окисления АК

$$v = \frac{k_2[E]}{\left(1 + \frac{K_m}{[S]_0}\right) \left(1 + \frac{K}{[M]_0}\right)}, \quad (10)$$

где $[S]_0$ и $[M]_0$ — начальные концентрации субстрата АА и металла соответственно

$$K_m = K_s + k_2 / k_1 \quad (\text{константа Михаэлиса})$$

$$K = K_A + [H^+] / K_i$$

При постоянной концентрации ионов меди получаем

$$v = \frac{v'_{\text{макс}}}{\left(1 + \frac{K_m}{[S]_0}\right)}, \quad (11)$$

где $v'_{\text{макс}}$ — максимальная скорость при избытке субстрата и при данной концентрации ионов меди.

$$v'_{\text{макс}} = \frac{k_2[E]}{1 + \frac{K}{[M]_0}} \quad (12)$$

При постоянной концентрации субстрата

$$v = \frac{v''_{\text{макс}}}{1 + \frac{K}{[M]_0}}, \quad (13)$$

где $v''_{\text{макс}}$ — максимальная скорость при избытке ионов Cu(II) и при данной концентрации субстрата

$$v''_{\text{макс}} = \frac{k_2[E]}{1 + \frac{K_m}{[S]_0}} \quad (14)$$

Определив величины начальных скоростей окисления при постоянной концентрации ионов меди и построив зависимости $1/v$ от $1/[S]_0$, [2], можно найти K_m и $v''_{\text{макс}}$.

ПВП-Э — Cu(II) и ПВП-ЭГ — Cu(II) . Значения максимальной скорости окисления АК при постоянной концентрации $\text{Cu(NO}_3)_2$ и полимера проходят через максимум для ПВП-Э в области $\beta \sim 10\%$, для ПВП-ЭГ в области $\beta \sim 25\%$. В обоих случаях каталитическая активность ПЛ значительно уменьшается при $\beta \sim 25\%$ и около 50% становится равной нулю. В этой же области падения каталитической активности растет константа Михаэлиса, что говорит об ухудшении связывания субстрата. Сходный характер зависимости каталитической активности от β для ПВП-Э и ПВП-ЭГ указывает, что в обоих случаях основную роль в комплексообразовании и формировании каталитических центров играют свободные пиридиновые звенья, связывающие ионы меди.

Особый интерес представляет экстремальный характер зависимости каталитической активности от степени алкилирования макромолекул. По-видимому, в интервале значений β , соответствующих максимальной каталитической активности, происходят достаточно резкие изменения в структуре положительно заряженного полимерного лиганда, которые сказываются на его взаимодействии с ионами меди.

Действительно, измерения приведенной вязкости растворов ПВП-ЭГ в отсутствие и в присутствии $\text{Cu(NO}_3)_2$ подтвердили это предположение. (ПВП-ЭГ оказался наиболее удобным объектом исследования из-за его лучшей растворимости в воде при малых β .)

Приведенная вязкость растворов ПВП-ЭГ в отсутствие ионов Cu(II) монотонно возрастает с увеличением β до 60% (рис. 7), что объясняется разворачиванием макромолекул, обусловленным взаимодействиями положительно заряженных групп цепи. Иная картина наблюдается при измерении приведенной вязкости растворов ПВП-ЭГ в присутствии ионов меди. В этом случае на кривой зависимости приведенной вязкости от β обнаруживается минимум в области $\beta \sim 25\%$. При больших степенях алкилирования ход кривых приведенной вязкости в присутствии и в отсутствие Cu(II) симбатен. Минимум вязкости свидетельствует об уменьшении гидродинамических размеров макромолекул, обусловленном внутримолекулярными взаимодействиями ионов меди и лигандов полимера. Характерно, что минимум вязкости совпадает с максимумом каталитической активности. Измерения приведенной вязкости водных растворов полимеров удалось провести лишь при концентрациях $\text{Cu(NO}_3)_2$, в 20—30 раз меньших, чем концентрация полимера. При больших концентрациях соли происходило катастрофическое падение вязкости. Но даже небольшие концентрации $\text{Cu(NO}_3)_2$ оказались достаточными для обнаружения эффекта.

Конформационные изменения в ПВП-ЭГ в зависимости от β были подтверждены также методом гель-хроматографии в ацетатном буфере. На рис. 8 представлены зависимости коэффициента разделения K_2 на хромато-

графической колонке ПВП-ЭГ и его комплексов от β [23]

$$K_s = (V_s - V_0) / (V_t - V_0),$$

где V_s — элюационный объем, V_t и V_0 — полный и свободный объем колонки соответственно. Видно, что скорость прохождения полимеров в колонке в отсутствие ионов меди не зависит от β , в то время как в присутствии $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ полимеры с $\beta < 30\%$ сильно задерживаются гелем сефадекса. Как известно, это происходит в том случае, когда размеры макромолекул уменьшаются настолько, что становятся меньше размера пор сефадекса.

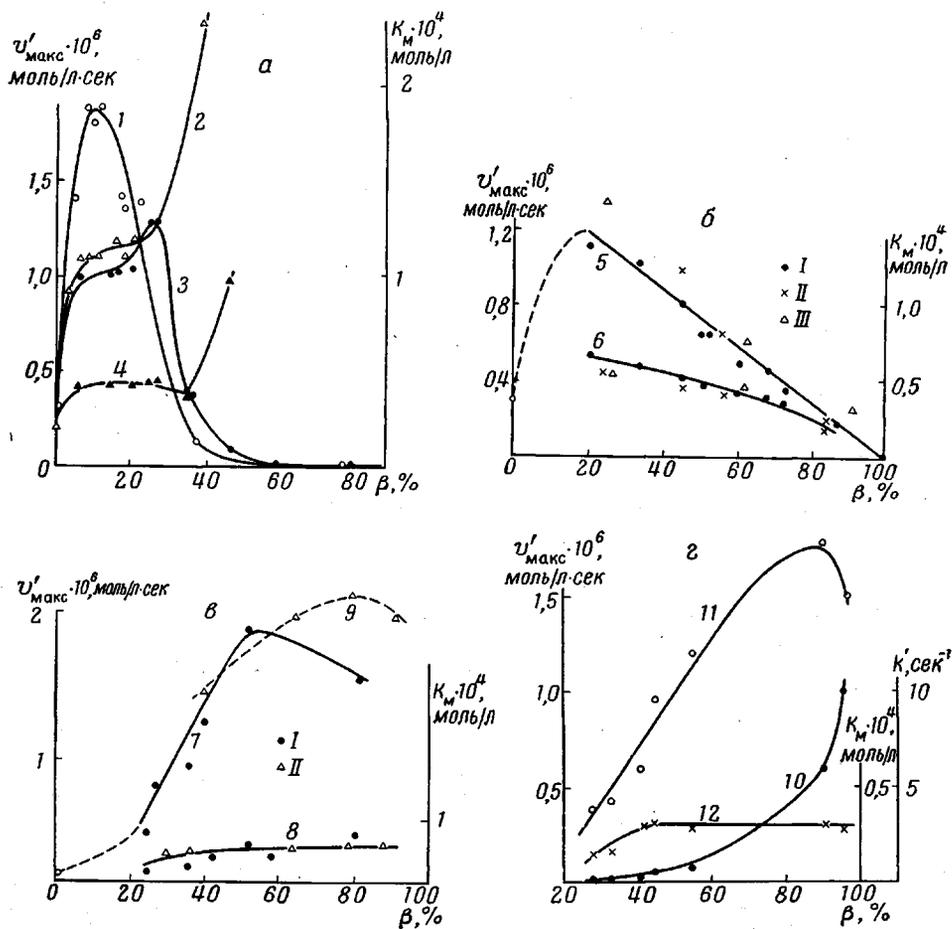


Рис. 6. Зависимости $v'_{\text{макс}}$ реакции окисления АК (1, 3, 5, 7, 9, 11), константы Михаэлиса K_M (2, 4, 6, 8, 12) и константы скорости k' (10) от β :

а: 1, 2 — ПВП-Э; 3, 4 — ПВП-ЭГ; б: ПВП-УК (степень полимеризации: I — 2300, II — 750, III — 85); в: I — ПВП-ИВК, II — ПВП-МВК; г: ПВП-ЯНК. Условия реакции приведены в подписи к рис. 4

Следовательно, в присутствии ионов меди наблюдается изменение конформации макромолекул ПВП-ЭГ в определенном интервале степеней алкилирования. Макромолекулы становятся компактными, что свидетельствует о связывании ионом меди по меньшей мере двух пиридиновых звеньев в одной и той же макромолекуле.

Наиболее сильное изменение конформаций происходит в области степеней алкилирования, соответствующих максимуму каталитической активности. Эти данные очень хорошо согласуются с данными вязкозиметрических измерений.

Следует отметить, что скорость прохождения в колонке полимеров с $\beta > 50\%$ одинакова в присутствии и в отсутствие ионов меди. Как было упомянуто выше, в этой же области β не наблюдалось влияния ПЛ на каталитическую активность ионов Cu(II) в реакции окисления АК. Для выяснения причин падения каталитической активности указанных полимерных комплексов меди были измерены оптические плотности растворов ПЛ— Cu(II) в области поглощения комплексов 620–650 мкм в зависимости от степени алкилирования. Концентрацию ПЛ варьировали таким образом, чтобы концентрация свободных пиридиновых звеньев поддерживалась постоянной. Соответствующие данные приведены на рис. 8. От-

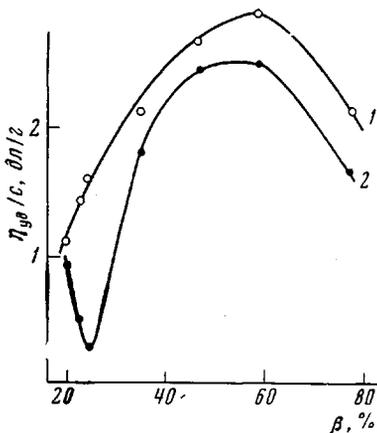


Рис. 7

Рис. 7. Зависимость приведенной вязкости растворов ПВП-ЭГ ($c = 0,1$ г/дл) от β в отсутствие (1) и в присутствии $\text{Cu(NO}_3)_2$ (2) ($1,2 \cdot 10^{-4}$ моль/л)

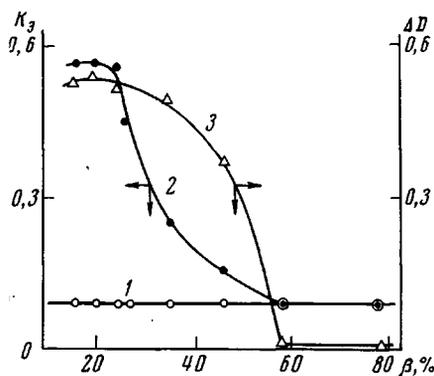


Рис. 8

Рис. 8. Зависимости коэффициента разделения K_2 ПВП-ЭГ в отсутствие (1) и в присутствии (2) $\text{Cu(NO}_3)_2$ и изменение оптической плотности ΔD при 630 мкм растворов ПВП-ЭГ с $\text{Cu(NO}_3)_2$ (3) от степени алкилирования полимера:

1 и 2 — ацетатный буфер 0,02 М, рН = 4,3; $\text{Cu(NO}_3)_2$ 0,01 М, навеска полимеров 5 мг, 25°; 3 — концентрация $\text{Cu(NO}_3)_2$ и свободных пиридиновых звеньев в полимерах $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л, кюветы 4 см

сутствие поглощения в области 620–650 мкм в растворах полимеров, содержащих Cu(II) , при $\beta > 50\%$ свидетельствует о том, что пиридиновые звенья в этой области степеней алкилирования полимеров утрачивают способность к комплексообразованию.

Кривые потенциометрического титрования ПВП-Э и ПВП-ЭГ раствором HCl в присутствии $\text{Cu(NO}_3)_2$ в интервале значений β , где отсутствует каталитическая активность ПЛ с Cu(II) , не отличаются от соответствующих кривых титрования полимеров в отсутствие меди. Все это свидетельствует об утрате полимерным лигандом способности связывать ионы меди, вероятно, из-за взаимного отталкивания ионов меди и положительно заряженной макромолекулы.

Для комплексов ПВП-Э и ПВП-ЭГ с ионами меди из потенциометрических данных были рассчитаны (см. выше) константы устойчивости. В свою очередь, из кинетических данных по уравнению (13) [2] были также определены константы устойчивости $1/K$ и $1/K_A$ (где K и K_A — константы диссоциации; $K = K_A(1 + [\text{H}^+]/K_A)$). Значения этих констант необходимы для расчета константы скорости k_2 , характеризующей каталитическую активность ионов меди, комплексносвязанных с пиридиновыми звеньями. Значения констант устойчивости комплексов и констант скоростей k_2 представлены в табл. 4.

Несоответствие констант устойчивости, определенных кинетически и потенциометрически, на один порядок можно объяснить погрешностями обоих методов.

ПВП-УК — Cu(II). Окисление АК было исследовано в присутствии комплексов Cu(II) и ПВП-УК различных степеней полимеризации (85, 750, 2300) и различных степеней алкилирования. Эти зависимости представлены на рис. 6, б. Видно, что при введении в полимер заместителей, содержащих карбоксильные группы, характер зависимости каталитической активности от β изменяется, по сравнению с соответствующими зависимостями для полимеров, алкилированных этильными и этоксигруппами. Значения $v'_{\text{макс}}$ линейно уменьшаются с увеличением степени алкилирования одинаковым образом для ПЛ всех степеней полимеризации. Полимер, исчерпывающе алкилированный бромуксусной кислотой,

Таблица 4

Кинетические параметры реакции окисления АК и константы комплексообразования систем ПЛ — Cu(II)

Катализатор	β , %	k^* , л.сек/мл.сек	k_2 , сек ⁻¹	$K_M \cdot 10^4$, моль/л	$\lg (1/K)$ (из кинетических измерений)	$\lg K_1$ (из потенциометрических измерений)	$\lg K_1$ (из кинетических измерений)	pH
Cu(NO ₃) ₂	—	$2,2 \cdot 10^2$	—	70****	—	—	—	4,3
ПВП-УВК — Cu(II)	20	$(0,6-1,0) \cdot 10^5$	5,3	0,3—0,8	2,5 — 2,6	3,0 — 3,3	—	4,3
	50		5,3					
ПВП-ИВК — Cu(II)	28	$0,08 \cdot 10^5$	0,8	0,4—0,8	3,5 — 3,6	4,0	—	4,3
	50		2,0					
ПВП-ЭГ — Cu(II)	80	$0,8 \cdot 10^5$	4,0	0,4	3,0	3,3	2,4	4,3
	35		0,5					
ПВП-Э — Cu(II)	22	$3,7 \cdot 10^5$	4,1**	1,1	2,9 — 3,0	3,2	2,14	4,3
			60					
Аскорбатоксидаза [24]	—	—	$1,67 \cdot 10^8$	2,4	—	—	—	5,6

* k^* — Константа второго порядка начальной скорости окисления.

** Рассчитано с использованием констант устойчивости, полученных потенциометрически.

*** Число молей субстрата, превращенных молекул активных центров в одну секунду (в ферменте активны 6 атомов Cu(II) [25]).

**** По данным [24].

совсем не активен. Следовательно, как и в случае ПЛ, описанных в предыдущем разделе, неалкилированные пиридиновые звенья в ПВП-УК ответственны за каталитические свойства.

Однако присутствие карбоксильных групп сказывается на характере конформационных изменений макромолекул различной степени алкилирования в присутствии Cu(NO₃)₂. Приведенная вязкость растворов ПВП-УК с введением Cu(II) уменьшается, но ход зависимости ее от β остается симбатным соответствующему ходу приведенной вязкости ПВП-УК без Cu(II). Отношение $\eta_{\text{пр}}/\eta_{\text{пр}}^0$ (где $\eta_{\text{пр}}$ — приведенная вязкость раствора полимера в присутствии ионов Cu(II), а $\eta_{\text{пр}}^0$ — в их отсутствие) остается постоянной величиной. Постоянство этого отношения свидетельствует о том, что при изменении содержания боковых заместителей, включающих карбоксильные группы, не происходит особых конформационных изменений, связанных с комплексообразованием в макромолекулах. Никаких экстремумов в зависимости каталитической активности от β не наблюдается. Скорость падает пропорционально уменьшению содержания свободных пиридиновых звеньев, т. е. константа $k' = v'_{\text{макс}}/[L]$, где $[L]$ — концентрация свободных пиридинов, остается величиной постоянной (рис. 9, а).

Таким образом, в данном случае мы наблюдаем другой тип комплексов, характеризующийся отсутствием выраженных кооперативно конформационных изменений и экстремального характера зависимости каталитической активности от степени алкилирования.

Роль отрицательно заряженных карбоксильных групп сводится, вероятно, к нейтрализации отталкивающего действия положительных зарядов макромолекулы, влияющих на связывание ионов Cu(II) . Как следует из рис. 6, б, некоторое уменьшение K_m с увеличением доли карбоксильных групп указывает, по-видимому, на то, что связыванию субстрата способствуют образующиеся в макромолекуле при алкилировании диполи.

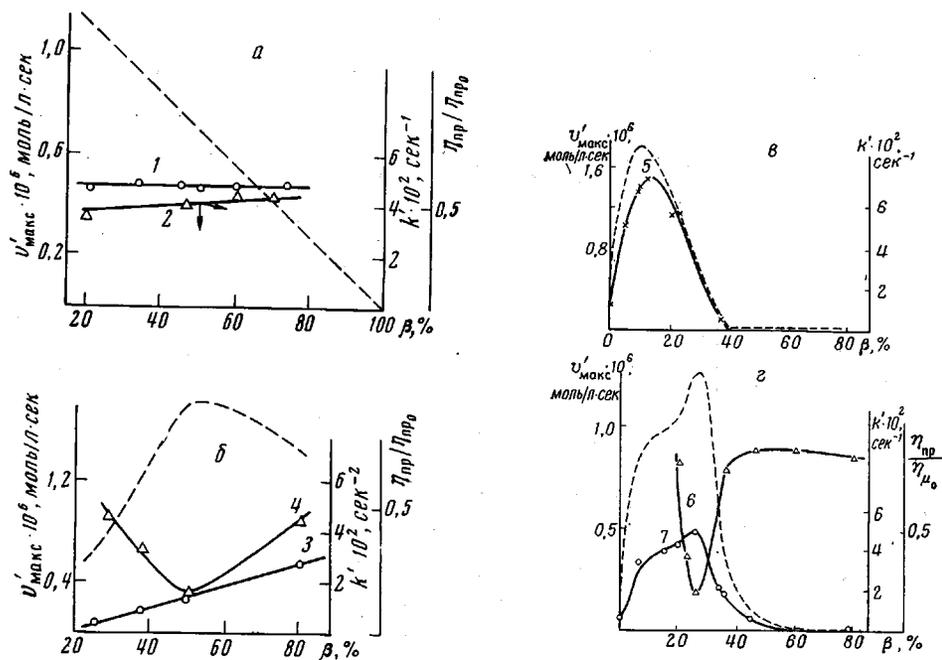


Рис. 9. Зависимости константы скорости окисления АК (1, 3, 5, 7) и отношения $\eta_{\text{пр}}/\eta_{\text{пр}0}$ (2, 4, 6) от β для ПВП-УК (а); ПВП-ИВК (б); ПВП-Э (в) и ПВП-ЭГ (г) (для сравнения пунктирной линией приведены зависимости v'_{max} от β)

Значения констант скорости k_2 , характеризующих активность комплексосвязанных ионов меди, рассчитанные для ПВП-УК различных степеней алкилирования, представлены в табл. 4. Там же представлены эффективные константы диссоциации комплекса, определенные кинетически [2].

ПВП-ИВК — Cu(II) ; ПВП-МВК — Cu(II) ; ПВП-ЯНК — Cu(II) . Из результатов, описанных в предыдущих разделах, следует, что природа боковых групп ПЛ сильно влияет на образование комплексов ионов меди с макромолекулой и тем самым на каталитические свойства Cu(II) в окислительно-восстановительной реакции. В связи с этим представляло интерес исследовать ПЛ, в которых бы карбоксил сочетался с гидрофобным углеводородным радикалом (ПВП-ИВК и ПВП-МВК), или полимер содержал бы в каждой боковой группе два карбоксильных остатка (ПВП-ЯНК). Кинетическое поведение ПВП-ИВК и ПВП-МВК с Cu(II) в реакции окисления АК оказалось почти идентичным, поэтому в дальнейшем изложении мы будем говорить, в основном, о ПВП-ИВК.

На основании спектральных данных было показано, что полимеры ПВП-ИВК образуют комплексы с ионами Cu(II) . Как видно из рис. 1 и табл. 2, λ_{max} ПВП-ИВК — Cu(II) при мольном соотношении $\text{Cu(II)}/L = 1$ равна 640 мкм. Сравнение λ_{max} этого комплекса с λ_{max} ПВП-УК — Cu(II) свидетельствует о существенном различии в их структуре. Это, по-видимому, отражается на ходе кривых зависимости v'_{max} от степени алкилирования β ПВП (рис. 6, в). Характер зависимости v'_{max} от β для

ПВП-ИВК — Cu(II) экстремальный. По мере алкилирования пиридиновых колец полимера активность его комплексов с Cu(II) в реакции окисления АК возрастает и достигает максимума в области $\beta \sim 50\%$, а затем уменьшается. Экстремальный характер зависимости каталитической активности ПВП-ИВК — Cu(II) от β , по сравнению с монотонно убывающей соответствующей зависимостью ПВП-УК — Cu(II), указывает на роль гидрофобных углеводородных радикалов в комплексообразовании ионов меди с макромолекулой и формировании каталитического центра.

Интересно, что в этом третьем типе комплексов ход зависимости $\eta_{\text{пр}} / \eta_{\text{пр}}^0$ от степени алкилирования β , определенной подобно тому, как это было сделано для ПВП-УК, показывает наличие конформационных изменений (рис. 9, б). Максимальные конформационные изменения в присутствии $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, наблюдающиеся для ПВП-ИВК при $\beta \sim 50\%$, соответствуют максимальной каталитической активности комплексов.

Однако третий тип комплекса (ПВП-ИВК — Cu(II)) отличается от первого (ПВП-Э — Cu(II) и ПВП-ЭГ — Cu(II)) тем, что с увеличением β сильно растут кинетические константы k_2 (табл. 4) и $k' = v'_{\text{макс}} / [\text{L}]$ (рис. 9, б). Возрастание значений k' означает, что, кроме пиридиновых звеньев, на каталитические свойства полимеров в данном случае оказывают влияние карбоксилсодержащие гидрофобные заместители.

Что касается полимера ПВП-ЯНК, то можно лишь отметить, что ход зависимости $v'_{\text{макс}}$ и k' от β такой же, как и для ПВП-ИВК (рис. 6, з). Комплекс ПВП-ЯНК — Cu(II) относится, вероятно, к последнему типу. Однако полимер, алкилированный БЯНК, детально не был исследован, так как при длительном насыщении его растворов кислородом он окисляется и постепенно теряет каталитическую активность.

Таким образом, из сопоставления кинетических зависимостей $v'_{\text{макс}}$ (полученных при одинаковой мольной концентрации полимеров) от β с соответствующими зависимостями константы скорости $k' = v'_{\text{макс}} / [\text{L}]$, характеризующей скорость реакции в расчете на каждое свободное пиридиновое звено, а также с зависимостью отношения $\eta_{\text{пр}} / \eta_{\text{пр}}^0$ от β для всех изученных полимерных комплексов можно выделить три типа каталитических систем.

Первый тип — это комплексы ПВП-Э — Cu(II) и ПВП-ЭГ — Cu(II), для которых наблюдается корреляция максимума скорости окисления $v'_{\text{макс}}$ с константой скорости k' в зависимости от β (рис. 9, в, з), что указывает на роль пиридиновых звеньев в катализе. При этом отношение приведенных вязкостей растворов полимеров в присутствии и в отсутствие $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ с увеличением β проходит через минимум, совпадающий с максимумом каталитической активности. Последнее говорит о том, что конформационные изменения макромолекул непосредственно связаны с каталитической активностью.

Второй тип — это комплексы ПВП-УК — Cu(II). Здесь отсутствие особых конформационных изменений, связанных с комплексообразованием при разных β , согласуется с постоянством величины константы k' (рис. 9, а), т. е. с независимостью действия каждого свободного пиридинового звена в комплексообразовании и формировании каталитически активных центров.

В третьем типе комплексов (ПВП-ИВК — Cu(II)), более сложном, чем оба предыдущих, хотя и проявляются конформационные изменения, коррелирующие с максимумом каталитической активности $v'_{\text{макс}}$, однако пиридиновые звенья этого полимера оказываются не единственными группами, играющими существенную роль в катализе.

Представляет интерес сравнить каталитическую активность комплексов изученных полимеров, ионов меди и фермента аскорбатоксидазы. Из табл. 4 видно, что ПЛ, в зависимости от их природы, увеличивают ката-

литическую активность ионов меди от 200 до 1500 раз, но все же активность комплексов ПЛ — Cu(II) остается в 300 раз меньше, чем у активного центра аскорбатоксидазы.

Полученные результаты, хотя и доказывают участие пиридиновых звеньев полимера в связывании ионов меди и в формировании каталитического центра, но не позволяют сделать вывод о точном строении активного центра.

Что касается причин увеличения каталитической активности ионов меди в присутствии полимеров, то на этот счет можно сделать ряд предположений.

Следует обратить внимание на то, что все изученные ПЛ содержат положительно заряженные ионы, образующиеся в результате алкилирования, а также при протонировании свободных пиридинов в цепи ($pH = 4,3$). Субстрат заряжен отрицательно из-за диссоциации спиртовой группы ($pK_{a1} = 4,2$). Вследствие притяжения субстрата к полимеру, его локальная концентрация у активного центра увеличивается, что приводит к возрастанию скорости реакции. Надо отметить, что подобный эффект известен и достаточно изучен в реакциях гидролиза заряженных эфиров в присутствии ВП [26], поли-4-(5)-винилимидазола и его сополимеров [27], в реакциях окисления под действием Cu(II) и полигистидина [28].

Следует отметить также, что по данным, полученным в работе [29] для низкомолекулярных комплексов, наиболее активными оказываются только комплексы с определенным числом лигандов. Так, в реакции окисления перекиси водорода наиболее активны комплексы Cu(II) с двумя лигандами (аммиаком, этилендиамином и т. д. [29]). Роль полимера может сводиться к образованию максимального числа оптимальных комплексов.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что макромолекула вносит особенности в связывание ионов металла, субстрата и способна к значительным конформационным изменениям, влияющим на каталитические свойства комплексов. Полимеры различного строения по-разному ведут себя как в комплексообразовании, так и в катализе. Можно надеяться, что более глубокое изучение подобных каталитически активных комплексов полимеров будет способствовать пониманию механизма действия окислительно-восстановительных ферментов.

Выводы

1. Получены полимерные катализаторы на основе поли-4-винилпиридина, частично N-алкилированные различными галогенными соединениями, обладающие в комплексе с ионами Cu(II) высокой каталитической активностью в реакции окисления аскорбиновой кислоты молекулярным кислородом.

2. Показано, что активными центрами служат ионы меди, комплексно-связанные с незамещенными пиридиновыми кольцами. Каталитическая активность комплекса неалкилированных пиридиновых звеньев с Cu(II) на 2–3 порядка превышает каталитическую активность комплекса низкомолекулярного аналога 4-этилпиридина с Cu(II) и активность только ионов Cu(II).

3. Изучена кинетика реакций окисления аскорбиновой кислоты (АК) полимерными катализаторами, содержащими группы различного строения (этильную, оксиэтильную, карбоксиметильную, карбоксиизобутильную). Показано, что кинетическое поведение синтезированных катализаторов в комплексе с Cu(II) имитирует кинетическое поведение аскорбатоксидазы.

4. Определены кинетические параметры, характеризующие реакцию окисления АК, и установлена их зависимость от природы заместителей и от степени алкилирования звеньев.

5. Установлено три типа комплексов полимеров с Cu(II), характеризующихся различной зависимостью кинетических характеристик от степени алкилирования и различными конформационными изменениями в макромолекулах при комплексообразовании.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию
18 V 1971

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. А. Венгерова, Ю. Э. Кирш, В. А. Кабанов, В. А. Каргин, Докл. АН СССР, 190, 131, 1970.
2. Н. А. Венгерова, Ю. Э. Кирш, В. А. Кабанов, Высокомолек. соед., А13, 2509, 1971.
3. Вейганд-Хильгетаг, Методы эксперимента в органической химии, изд-во «Химия», 1968.
4. Ю. Э. Кирш, В. А. Кабанов, В. А. Каргин, Докл. АН СССР, 177, 112, 1967.
5. A. G. Voyes, U. P. Strauss, J. Polymer Sci., 22, 463, 1956.
6. В. А. Климова, Основные микрометоды анализа органических соединений, изд-во «Химия», 1967.
7. В. А. Кабанов, К. В. Алиев, В. А. Каргин, Высокомолек. соед., А10, 1618, 1968.
8. В. А. Кабанов, О. В. Каргина, В. А. Петровская, Высокомолек. соед., А13, 348, 1971.
9. E. Racker, Biochem. et biophys. acta, 9, 577, 1952.
10. J. Ogata, J. Kosugi, Tetrahedron, 26, 4711, 1970.
11. А. Альберт, Е. Сергент, Константы ионизации кислот и оснований, изд-во «Химия», 1964, стр. 64.
12. Краткая химическая энциклопедия, т. 1, стр. 299, 1961.
13. М. М. Таqui Khan, А. Е. Martell, J. Amer. Chem. Soc., 89, 4176, 1967.
14. R. J. Bruehlman, F. H. Verhoek, J. Amer. Chem. Soc., 70, 1401, 1948.
15. А. В. Аблоу, Л. В. Назарова, Ж. неорганич. химии, 6, 2043, 1961.
16. G. Geuskens, M. Borsu, E. Hellinckx, C. David, Makromolek. Chem., 135, 235, 1970.
17. Т. П. Дадзе, М. Л. Хидекель, Изв. АН СССР, серия химич., 1970, 2722.
18. Г. Л. Шлефер, Комплексообразование в растворах, изд-во «Химия», 1964.
19. D. H. Gold, H. P. Gregor, J. Phys. Chem., 64, 1464, 1960.
20. М. М. Hatanо, Т. Nozawa, Т. Yamamoto, S. Kambara, Makromolek. Chem., 115, 1, 1968.
21. C. J. Hawkins, D. D. Perrin, J. Chem. Soc., 1962, 1351.
22. М. М. Таqui Khan, А. Е. Martell, J. Amer. Chem. Soc., 89, 4176, 1967.
23. Г. Детерман, Гель-хроматография, изд-во «Мир», 1970.
24. S. Osaki, J. A. McDermott, D. A. Johnson, E. Frieden, The Biochemistry of Copper, N. Y., 1966, p. 559.
25. G. R. Stark, C. R. Dawson, The Enzymes, v. 8, N. Y., 1963, p. 297.
26. R. L. Letsinger, T. J. Savereide, J. Amer. Chem. Soc., 84, 3122, 1962.
27. C. G. Overberger, T. St. Pierre, N. Vorheimer, T. Lee, S. Yaroslavsky, J. Amer. Chem. Soc., 87, 296, 1965.
28. I. Pecht, A. Levitzki, M. Anbar, J. Amer. Chem. Soc., 89, 1587, 1967.
29. А. П. Пурмаль, Диссертация, 1971.

COMPLEXES OF Cu (II) WITH POLYMERS BASED ON POLY-4-VINYLPYRIDINE AS CATALYSTS FOR OXIDATION OF ASCORBIC ACID

*N. A. Vengerova, N. N. Lukashina, Yu. E. Kirsh,
V. A. Kabanov*

Summary

A study has been made of the interaction of copper ions with poly-4-vinylpyridines partially N-alkylated by ethyl bromide, ethylenebromohydrin, bromoacetic, α -bromoisovaleric, α -bromo- β -methylvaleric and bromosuccinic acids. It is shown by potentiometric and spectrophotometric methods that Cu(II) ions are bonded to nonalkylated pyridine units of polymers. The kinetic behavior the Cu(II) complexes and polymers with various alkylation degrees in catalysis of the oxidation reaction of ascorbic acid (AA) by molecular oxygen has been investigated. It is also shown that polymer ligands increase the activity of copper ions in the oxidation reaction of AA 200—1500 times, the activity of polymer complexes, however, remaining 300 times less than that of ascorbate-oxidase.