

УДК 541(64+42):547.82

**РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ МЕРКАПТОГРУПП
N-АЛКИЛИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
ПОЛИ-4-ВИНИЛПИРИДИНА**

Стародубцев С. Г., Кабанов В. А.

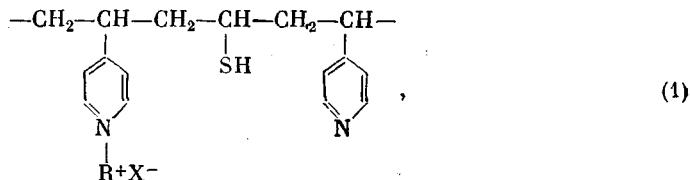
Изучены основные и нуклеофильные свойства меркаптогрупп, входящих в состав производных поли-4-винилпиридина, N-алкилированных диметилсульфатом, бромистым этилом и бромуксусной кислотой. Показано, что величина rK_a меркаптогрупп сополимеров понижена на две-три единицы по сравнению с величиной rK_a низкомолекулярных аналогов и оказывается малочувствительной к химическому строению сополимеров. Уменьшение степени кватернизации сополимеров и замена карбоксилсодержащих заместителей на алкильные группы приводят к существенному возрастанию реакционной способности меркаптогрупп сополимеров в реакциях с *n*-нитрофенилацетатом и 3-нитро-4-ацетоксибензойной кислотой.

Исследования последних лет показали, что локальное окружение в макромолекулах полиэлектролитов существенно изменяет основные и нуклеофильные свойства функциональных групп, введенных в состав полимеров [1–5]. Особенный интерес представляет изучение подобных явлений на примере групп, выполняющих каталитические функции в активных центрах ферментов. В работе [5] было показано, что снижение основности меркаптогрупп, введенных в состав частично N-алкилированного поли-4-винилпиридина (ПВП), и концентрирование молекул анионного сложного эфира, 3-нитро-4-ацетоксибензойной кислоты (НАБК) вблизи положительно заряженной полимерной цепи приводят к значительному возрастанию скорости реакции SH-групп полимера с НАБК по сравнению с низкомолекулярным аналогом при физиологическом значении pH среды.

Данное исследование посвящено главным образом изучению влияния строения полимерной цепи кватернизированных сополимеров 4-винилпиридина и винилмеркаптана на реакционную способность меркаптогрупп сополимеров в реакциях с *n*-нитрофенилацетатом (НФА) и НАБК.

Синтез и установление состава сополимера 4-винилпиридина с винилтиоацетатом (3,5–5,0 мол.%) проводили, как описано в работе [5]; там же описан синтез N-алкилированного диметилсульфатом сополимера со степенью кватернизации $\beta = -16\%$ (СП-1). Сополимер, кватернизованный этилбромидом, со степенью кватернизации, близкой к 100%, получали в метаноле при 50° в присутствии десятикратного мольного избытка галоидалкила. Реакцию проводили в течение 6 час., затем полученный сополимер (СП-2) осаждали в эфир и далее очищали трехкратным пересаждением из метанола в эфир. О практически исчерпывающей кватернизации пиридиновых групп в этом случае свидетельствовало отсутствие полосы поглощения неалкилированных пиридиновых групп в ИК-спектре этого сополимера при 1600 см^{-1} . Сополимер, кватернизованный бромуксусной кислотой, с $\beta = 60\%$ был синтезирован, как описано в работе [2]. Деацетилирование тиолаптетных звеньев полученных сополимеров осуществляли обработкой их 0,1 M водным раствором NaOH при 20° в течение 40 мин. Концентрацию деацетилированных меркаптогрупп в растворе устанавливали по методу Эллмана [6]. Измеренное сразу после обработки щелочью содержание меркаптогрупп в сополимерах составляло 3,5 (СП-1), 2,5 (СП-2) и 2,3 мол.% (СП-3). Таким образом, строение синтезированных сополимеров с SH-группами может быть

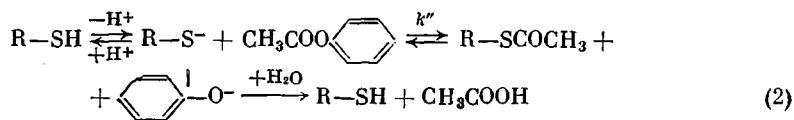
представлено следующей формулой:



где $\text{R}=\text{CH}_3$, C_2H_5 и CH_2COOH ; $\text{X}^-=\text{CH}_3\text{SO}_4^-$ и Br^- . Кинетические измерения проводили на спектрофотометре «Hitachi-124» при $\lambda=400$ (НФА) и 412 (НАБК) нм и $T=25^\circ$. Для приготовления растворов использовали бидистиллированную воду, пропущенную через смолу «Ionchelex» и содержащую $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л трилона Б.

Известно, что меркаптосоединения при стоянии в растворе на воздухе способны окисляться, образуя дисульфиды. В растворах синтезированных кватеризованных сополимеров с деацилированными SH-группами было отмечено уменьшение концентрации меркаптогрупп при стоянии на воздухе. На рис. 1 представлена кинетическая кривая превращения меркаптогрупп сополимера СП-2 при стоянии на воздухе в водном *tris-HCl* буфере, причем за 100% принята концентрация SH-групп, определенная непосредственно после проведения реакции деацилирования. Кинетика превращения меркаптогрупп не подчиняется уравнению первого порядка, скорость реакции быстро уменьшается со временем. Это может быть объяснено как образованием связок $\text{S}-\text{S}$ в макромолекулах, так и наличием в них SH-групп, различающихся по реакционной способности. Для кинетических измерений использовали свежеприготовленные растворы сополимеров, в которых доля меркаптогрупп была не ниже 90% от количества, определенного непосредственно после реакции деацилирования.

Известно, что реакция сложных эфиров с меркаптогруппами протекает в соответствии со следующей схемой:



В предварительных опытах нами было показано, что добавление *n*-нитрофенола и 3-нитро-4-оксибензойной кислоты в растворы сополимеров с SH-группами до концентрации 10^{-4} моль/л не влияет на кинетику реакции ацилирования меркаптогрупп. Кроме того, было показано, что в исследованной области pH (7,5–9,5) гидролиз ацилмеркаптановых звеньев сополимеров в воде практически не идет. После выдерживания сополимеров с винилтиолацетатными группами в водном *tris-HCl* буфере (0,02 моль/л) при 25° вплоть до 8 час. доля регенерированных меркаптогрупп в растворе не превышала 3–5%.

На рис. 2 приведена интегральная кривая накопления 3-нитро-4-оксибензоат-анионов при распаде НАБК в присутствии СП-2, снятая против раствора того же полимера с ацилированными SH-группами. Обработка этой кривой по методу Гугенхайма показывает, что в условиях большого избытка субстрата кинетика реакции не подчиняется уравнению первого порядка. Уменьшение кажущейся константы скорости первого порядка при увеличении степени превращения можно связать с наличием в цепи сополимера нескольких типов реакционноспособных центров. Поскольку при малом содержании меркаптогрупп в сополимере вероятность нахождения по соседству двух тиольных звеньев мала, а степень кватернизации пиридиновых групп близка к 100%, можно предположить, что наличие разных центров в сополимере обусловлено конфигурационной неоднородностью цепи. Определенные из рис. 2 величины максимальной и минимальной констант псевдо первого порядка равны $3,2 \cdot 10^{-2}$ и $1,6 \cdot 10^{-2}$ сек $^{-1}$. Аналогичные результаты были получены для сополимеров СП-1 и СП-3, где кроме конфигурационной неоднородности микроокружения тиольных звеньев на их реакционную способность может влиять различие в строении соседних звеньев цепи.

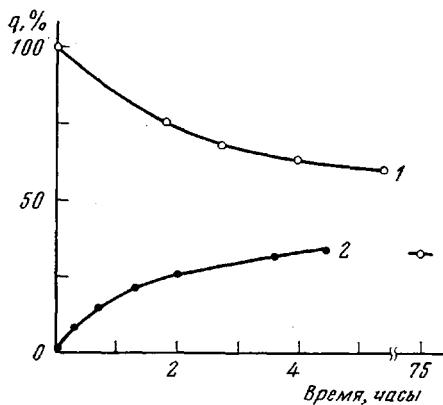


Рис. 1. Кинетические кривые превращения регенерированных меркаптогрупп (1) и деацилирования винилтиолацетатных групп (2) сополимера СП-2

Условия реакции: $[SH] = 2.8 \cdot 10^{-5}$ [трис- $HCl] = 10^{-2}$ моль/л; pH 8,02 (1) и 8,50 (2); $[SCOCH_3] = 3.1 \cdot 10^{-5}$ [имидазол-HCl] = $= 10^{-1}$ моль/л; 25°

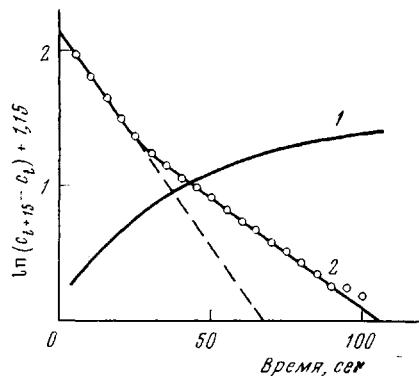


Рис. 2. Кинетическая кривая реакции ацилирования меркаптогрупп сополимера СП-2 НАБК (1)

Условия реакции: $[SH] = 4 \cdot 10^{-5}$, $[НАБК] = 4 \cdot 2 \cdot 10^{-4}$, [трис- $CH_3COOH] = 5 \cdot 10^{-2}$ моль/л; pH 8,5; 25°. 2 — Кривая 1, обработанная по методу Гугенхайма

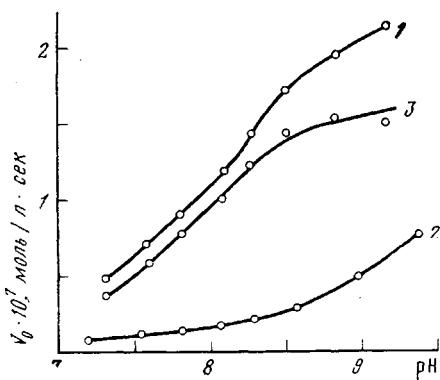


Рис. 3. pH-Зависимость начальной скорости выделения 3-нитро-4-оксибензоата в присутствии СП-2 с регенерированными (1) и ацилированными SH-группами (2). Точки кривой 3 представляют разность кривых 1 и 2, 3 — рассчитанная по этим точкам кривая

Условия реакции: $[SH] = 1.28 \cdot 10^{-5}$, $[НАБК] = 2 \cdot 10^{-4}$, [трис- $HCl] = 10^{-2}$, $[NaCl] = 4 \cdot 10^{-2}$ моль/л; 25°

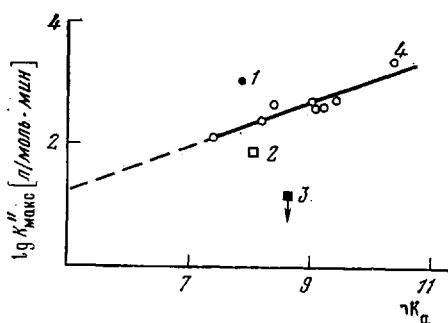


Рис. 4. Зависимость Бренстеда для реакции меркаптогрупп сополимеров (1-3) и низкомолекулярных тиолов (4) (см. работу [8]) с НФА

1 — СП-1, 2 — СП-2 и 3 — СП-3. Условия реакции: концентрация меркаптогрупп $(2-5) \cdot 10^{-5}$, $[HFA] = 2 \cdot 10^{-4}$, $[трис-CH_3COOH] = 10^{-2}$, $[CH_3COONa] = 4 \cdot 10^{-2}$ моль/л; 25°

В качестве меры химической активности меркаптогрупп сополимеров была использована величина эффективной константы скорости второго порядка ($л/моль\cdotсек$), определенная как

$$k'' = \frac{V_p - V_n}{c_s c_m},$$

где V_p и V_n — скорости, наблюдаемые в присутствии сополимеров с регенерированными и нерегенерированными меркаптогруппами; c_s и c_m — концентрации сложного эфира и меркаптогрупп.

На рис. 3 приведена pH-зависимость начальной скорости выделения 3-нитро-4-оксибензоат-аниона при распаде НАБК в присутствии СП-2 со свободными и ацилированными SH-группами. Из разностной кривой методом наименьших квадратов рассчитаны значения pK_a и k''_{\max} для пол-

Значения pK_a и эффективных констант скоростей второго порядка k'' (л/моль·сек) реакции меркаптогрупп кватернизированных сополимеров ПВП с НАБК

Меркапто-соединение	$k''_{pH\ 8,0}$	$k''_{\text{макс}}$	pK_a	Меркаптосоединение	$k''_{pH\ 8,0}$	$k''_{\text{макс}}$	pK_a
СП-1	270	540	8,0	2,5-Димеркаптогексан	0,0055	3	10,9
СП-2	55	95	7,8	Пропилмеркаптан	-	-	10,5
СП-3	4,5	13	8,3				

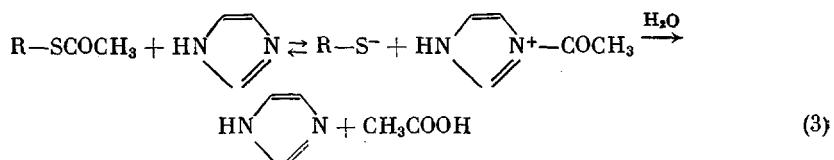
ностью ионизированных меркаптогрупп. В таблице приведены определенные таким образом величины pK_a меркаптогрупп сополимеров. Они оказываются на много ниже величин pK_a низкомолекулярных аналогов тиолсодержащих звеньев сополимеров, пропилмеркаптана и 2,5-димеркаптогексана [7]. Значительное снижение основности меркаптогрупп в случае исследованных нами полиэлектролитов, так же как и других ранее исследованных групп [1–5] в аналогичных системах, обусловлено влиянием пиридиниевых катионов цепи, усиленным благодаря тому, что электростатическое взаимодействие передается через малополярную объемную полимерную цепь [1].

Следует отметить, что возрастание числа положительно заряженных пиридиниевых групп в макромолекулах при переходе от поликатиона СП-1 к СП-2 сопровождается лишь незначительным снижением pK_a SH-групп. Это свидетельствует о том, что наиболее резкое возрастание электростатического поля, создаваемого катионами вблизи меркаптогрупп, происходит уже при малых степенях кватернизации сополимеров. Дальнейшее введение пиридиниевых катионов в макромолекулы сопровождается связыванием противоионов и экранированием положительных зарядов цепи [2]. В качестве крайнего случая такого экранированного поликатиона можно рассматривать сополимер, кватернизованный бромуксусной кислотой. В этом сополимере величина pK_a SH-групп остается на 2,2–2,6 единиц ниже, чем в аналогах, несмотря на то, что вблизи каждого пиридиниевого катиона цепи находится карбоксилат-анион, так что суммарный заряд макромолекул оказывается близок к нулю. Снижение основности меркаптогрупп в этом случае свидетельствует о том, что пиридиниевые катионы цепи оказывают существенно более сильное влияние на процесс диссоциации SH-групп, чем карбоксилат-анионы. Последние находятся дальше от цепи в окружении молекул воды и оказывают лишь слабое электростатическое воздействие на диссоциацию «утопленных» в полимерную цепь SH-групп.

Интересно сравнить нуклеофильные свойства SH-групп изученных сополимеров с аналогичными свойствами низкомолекулярных тиолов. На рис. 4 приведена зависимость Бренстеда для реакции меркаптид-анионов сополимеров и низкомолекулярных тиолов [8] с НФА. Поскольку индукционный эффект со стороны пиридиниевых катионов цепи в макромолекулах пренебрежимо мал, их электростатическое влияние должно было бы приводить к снижению основности SH-групп без изменения их нуклеофильных свойств, т. е. к смещению величины $\lg k''_{\text{макс}}$ на 2,5–3,0 единицы влево от зависимости Бренстеда, приведенной на рис. 4. Так обстоит дело, например, в случае пиридиновых групп, входящих в состав ПВП, частично кватернизованного галоидалкилами, где снижение pK_a основных звеньев полимера сопровождается лишь незначительным снижением величины $\lg k''_{\text{макс}}$ в реакции с НФА в водной среде (по данным работ [1] и [2]). Однако, как видно из рис. 4, величины $\lg k''_{\text{макс}}$ для меркаптид-анионов в сополимерах СП-2 и СП-3 (обозначена стрелкой) лежат ниже, а в сополимере СП-3 лишь ненамного выше зависимости Бренстеда для низкомолекулярных тиолов. Полученные результаты свидетельствуют о том,

что в исследованных сополимерах снижение основности меркаптид-анионов по сравнению с основностью низкомолекулярных аналогов сопровождается заметным снижением их реакционной способности по отношению к НФА. Можно думать, что близкое расположение меркаптид-анионов к цепи и наличие на соседних звеньях объемистых пиридиновых и пиридиневых колец создают стерические препятствия для реакции их с НФА.

В пользу этого предположения свидетельствует тот факт, что реакционная способность ацилированных меркаптогрупп в изученных сополимерах также оказывается ниже по сравнению с реакционной способностью низкомолекулярных тиоэфиров. На рис. 1 представлена кинетическая кривая образования меркаптогрупп в результате взаимодействия винилтиолацетатных звеньев СП-2 с имидазолом по реакции



Определенная из начального участка этой кривой величина эффективной константы скорости второго порядка реакции (3) равна $0,04 \text{ л/моль}/\text{мин}$, в то время как аналогичная константа для этилтиолацетата при 25° равна $0,996 \text{ л/моль}/\text{мин}$ [9]. Подобное снижение скорости реакции, обусловленное стерическими причинами, было продемонстрировано ранее для реакции оксимат-анионов, находящихся вблизи полимерной цепи кватернизованного ПВП, со сложными эфирами [4].

Сопоставление величин $\lg k''_{\max}$, приведенных на рис. 4, показывает, что строение изученных сополимеров заметно влияет на реакционную способность меркаптид-анионов макромолекул по отношению к НФА. Увеличение степени кватернизации при переходе от СП-1 к СП-2, и особенно введение в макромолекулы бетаиновых звеньев, снижает величину $\lg k''_{\max}$. В случае СП-3 величина k''_{\max} оказалась настолько мала, что ее не удалось определить ($<0,1 \text{ л/моль}\cdot\text{сек}$). В работе [2] при изучении катализического гидролиза НФА под действием свободных пиридиновых колец частично N-алкилированного галоидалкилами и бромуксусной кислотой ПВП также было обнаружено снижение реакционной способности нуклеофилов при увеличении содержания в макромолекулах пиридиневых катионов и в особенности бетаиновых групп. Наблюдаемый эффект был объяснен увеличением гидратации макромолекул при увеличении содержания в них ионогенных групп и исключением малополярных молекул субстрата из микроокружения полимерных цепей [2].

Полученные в настоящей работе результаты, по-видимому, подтверждают высказанное в работах [2, 10] предположение о том, что локальная концентрация малополярных органических молекул вблизи макроиона уменьшается при увеличении содержания в макромолекулах ионных групп и увеличении гидратации цепи.

Известно, что электростатическое отталкивание между одноименно заряженными молекулами приводит к снижению скоростей реакций между ними. С другой стороны, притяжение одновалентных ионов противоположно заряженными полимерными клубками может обуславливать значительное ускорение реакций между этими ионами и незаряженными звеньями полимерной цепи. В первом случае увеличение ионной силы раствора приводит к увеличению, во втором — к уменьшению скорости процесса.

На рис. 5 приведена зависимость k'' для реакций меркаптид-анионов СП-2 с анионным субстратом НАБК от концентрации добавленных ацетата и хлорида натрия. Видно, что увеличение ионной силы раствора приводит к уменьшению величины k'' , причем более специфически взаимодействующий с макроионом хлорид-анион является более сильным инги-

битором. Аналогичные результаты были получены также для сополимера СП-1. Таким образом, в исследованных поликатионах электростатическое притяжение анионов субстрата превалирует над электростатическим отталкиванием их реагирующими меркаптид-анионами цепи, так что локальная концентрация молекул НАБК вблизи меркаптид-анионов сополимера оказывается выше, чем в растворе.

В таблице приведены значения величины k'' для изученных сополимеров в реакции с НАБК при pH 8,0, а также рассчитанные из pH-зависимостей начальных скоростей реакции величины k''_{\max} . Там же для сравнения даны значения k'' и k''_{\max} , рассчитанные по данным работы [7], для реакции 2,5-димеркарбогексана с НАБК. Видно, что при pH 0,8 величины k'' для изученных полимеров оказываются на 4,5–3,0 порядка выше, чем для низкомолекулярного аналога. В то же время реакционная способность меркаптид-анионов сополимеров СП-1 и СП-2 в изученной реакции, характеризуемая значениями k''_{\max} , всего на 1,5–2,5 порядка превышает реакционную способность SH-групп низкомолекулярного аналога, а для полибетамина СП-3 оказывается близка к ней. Эти результаты позволяют сделать вывод о том, что главной причиной увеличения реакционной способности меркаптогрупп изученных полизелектролитов по сравнению с аналогом при pH, близких 8,0, является снижение их основности, которое обусловливает значительное увеличение доли реакционноспособных меркаптид-анионов сополимеров в растворе при сравнительно низких значениях pH. Дополнительный вклад в ускорение реакций меркаптид-анионов сополимеров с анионами субстрата вносит электростатическое взаимодействие последних с пиридиниевыми катионами макромолекул. Это выражается в более высоких значениях величин k''_{\max} для сополимеров СП-1 и СП-2 по сравнению с аналогом.

Интересно отметить, что увеличение положительного заряда макромолекул при увеличении степени кватернизации от 16 до ~100% в сополимерах СП-1 и СП-2 сопровождается падением величины k''_{\max} . В работе [2] аналогичное явление было обнаружено при изучении кинетики взаимодействия пиридиновых звеньев частично N-алкилированного галоидалкилами ПВП с НАБК. В работе [2] было показано, что этот эффект объясняется конкурентным вытеснением молекул анионного субстрата из окрестности полимерной цепи противоионами буфера.

Кроме того, наряду с электростатическим взаимодействием молекул НАБК с макромолекулами в случае более гидрофобного сополимера СП-1 можно ожидать также проявления неполярных взаимодействий его с субстратом. По-видимому, именно совокупность электростатических и неполярных взаимодействий обуславливает высокую эффективность связывания молекул НАБК макромолекулами СП-1, обнаруженную в работе [5] кинетическим методом.

Таким образом, результаты данной работы показывают, что введение кватернизованных пиридиниевых звеньев в макромолекулы сополимеров ПВП, содержащих нуклеофильные группы, приводят к значительному снижению основности этих групп. Концентрирование субстратов вблизи реакционноспособных меркаптогрупп полимера и снижение основности последних позволяет создать сополимеры, гидролитическая активность которых на три-четыре порядка превышает активность низкомолекуляр-

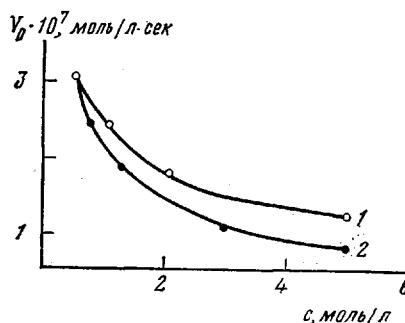


Рис. 5. Зависимость начальной скорости ацилирования SH-групп сополимера СП-2 от концентрации CH_3COONa (1) и NaCl (2)

Условия реакции: $[\text{SH}] = 2,5 \cdot 10^{-5}$,
 $[\text{НАБК}] = 10^{-3}$, $[\text{три-CH}_3\text{COOH}] = 5 \cdot 10^{-3}$ моль/л; pH 8,05; 25°

ных аналогов в реакции гидролиза сложных эфиров при физиологических значениях рН-среды. Кроме того, в изученных сополимерах в отличие от ранее описанных [3, 4] прореагировавшие нуклеофильные центры легко могут быть регенерированы путем обработки N-ацетилгистидином, имидазолом или щелочью.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию
4 I 1979

ЛИТЕРАТУРА

1. Yu. E. Kirsh, O. P. Komarova, G. M. Lukovkin, Europ. Polymer J., 9, 1405, 1973.
2. S. G. Starodubtzev, Yu. E. Kirsh, V. A. Kabanov, Europ. Polymer J., 10, 739, 1974.
3. Yu. E. Kirsh, A. A. Rachnanskaya, G. M. Lukovkin, V. A. Kabanov, Europ. Polymer J., 10, 393, 1974.
4. Yu. E. Kirsh, T. A. Lebedeva, V. A. Kabanov, Polymer Letters, 13, 207, 1975.
5. С. Г. Стародубцев, Ю. Э. Кириш, В. А. Кабанов, Докл. АН СССР 227, 156, 1976.
6. G. L. Ellman, Arch. Biochem. Biophys., 82, 70, 1959.
7. G. G. Overberger, T. J. Pagnansky, J. Y. Lee, St. T. Pierre, S. Yaroslavsky, J. Polymer Sci., Polymer Symp., 46, 209, 1974.
8. Т. Брюс, С. Бенкович, Механизмы биоорганических реакций, «Мир», 1970, стр. 176.
9. H. Ternkvist, J. Amer. Chem. Soc., 79, 1656, 1957.
10. Г. Моравец, Макромолекулы в растворе, «Мир», 1968, стр. 352.

REACTIVITY OF MERCAPTO-GROUPS IN N-ALKYLATED DERIVATIVES OF POLY-4-VINYLPYRIDINE

Starodubtzev S. G., Kabanov V. A.

Summary

The basic and nucleophilic properties of mercapto-groups being part of the N-alkylated poly-4-vinylpyridine derivatives by dimethyl sulfate, ethyl bromide and bromacetic acid have been studied. It was shown that a value of pK_a of mercapto-groups in copolymers in 2–3 unities lower than a value of pK_a of low-molecular analogs and little depends on the chemical structure of copolymers. Decrease of the degree of quaternization of copolymers and the substitution of carboxyl-containing substituents by alkyl groups led to the essential increase of the reactivity of mercapto-groups in copolymers in their reactions with *p*-nitrophenyl acetate and 3-nitro-4-acetoxibenzoic acid.
