

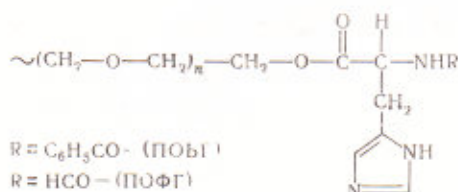
УДК 678.746+678.01:54

ХИМИЯ

И. Н. ТОПЧИЕВА, А. Б. СОЛОВЬЕВА,
член-корреспондент АН СССР В. А. КАБАНОВ

ПОЛИМЕРНЫЕ КАТАЛИЗАТОРЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИОКСИЭТИЛЕНА

Ранее были описаны каталитические свойства полиоксиэтиленового эфира *N*-бензоил-*L*-гистидина (ПОБГ) в реакции гидролиза *n*-нитрофенил-ацетата (НФА) (^{1, 2}). Показано, что модификация концевых гидроксильных групп в молекуле полиоксиэтилена *M* 15 000 (ПОЭ₁₅) гидрофобным остатком *N*-бензоил-*L*-гистидина приводит к существенным изменениям конформационного состояния полимера и придает ему способность к ассоциации в водных растворах. Интересно, что конформации моно- и дизамещенных эфиров ПОЭ₁₅ в растворах существенно различаются, что, в свою очередь, обуславливает различие в их поведении как полимерных катализаторов (ПК). В монозамещенных цепях ПОЭ₁₅ нарушение гидрофильно-гидрофобного баланса макромолекулы приводит к тому, что бензоилгистидиновая группа оказывается внутри полимерной глобулы и стерически недоступной действию субстрата. В случае дизамещенных молекул ПОЭ₁₅ наиболее выгодным способом компенсации избыточной гидрофобности, вносимой бензоилгистидиновыми группами, служит ассоциация этих макромолекул, приводящая к образованию своеобразных мицелл, ядро которых составляют бензоильные группы, а гидрофильной частью являются полиоксиэтиленовые цепи. Образующиеся ассоциаты очень чувствительны даже к небольшим изменениям баланса взаимодействий и легко диссоциируют в узком интервале pH среды под влиянием различных эффектов, изменения температуры и т. д. Субстрат и продукт реакции, *n*-нитрофенол (НФ), оказывают активизирующее действие на ПК, вызывая распад неактивных ассоциатов на активные мономеры. Благодаря наличию подобных регуляторных свойств ПК можно рассматривать как модель ассоциирующего аллостерического фермента. С целью изучения влияния природы концевых групп и молекулярного веса на каталитические свойства ПК на основе ПОЭ нами была синтезирована группа полиоксиэтиленовых эфиров *N*-замещенного гистидина общей формулы:



молекулярного веса 15 000 и 40 000.

Свойства ПОБГ₁₅ изучены в работе (²). Показано, что кинетические кривые гидролиза НФА в присутствии ПОБГ₁₅ характеризуются индукционным периодом τ_i , вслед за которым образование НФ происходит линейно во времени (стационарный участок). Величина τ_i , определяемая скоростью перехода неактивных ассоциатов в активные мономеры под действием субстрата, по существу является каталитической меткой, позволяющей следить за изменением физического состояния ПК в реакционной системе. При изучении гидролиза НФА в присутствии ПОБГ₁₅ оказалось, что на кинети-

ческих кривых не наблюдается индукционных периодов, что, по-видимому, указывает на отсутствие ассоциации ПК. Дополнительные подтверждения этому были получены при изучении скоростной седиментации ПОФГ₁₅ в ультрацентрифуге в интервале концентраций 0,25—1 вес.%. Концентрационная зависимость коэффициентов седиментации для ПОФГ₁₅ совпадает с соответствующей зависимостью для ПОЭ₁₅. Однако, ввиду малых значений коэффициентов седиментации для этих полимеров, наиболее надежные данные о наличии или отсутствии ассоциации можно получить при изучении гель-фильтрации ПОФГ₁₅. Гель-фильтрацию ПОФГ₁₅ проводили на колонке с Сефадексом Г-200, уравновешенным фосфатным буфером pH 7,8. Оказалось, что место выхода ПОФГ₁₅ не зависит от концентрации нанесенного полимера и совпадает с местом выхода ПОЭ₁₅.

Далее нами были изучены каталитические свойства двух полимерных катализаторов более высокого молекулярного веса ПОБГ₁₀ и ПОФГ₁₀, в реакции гидролиза НФА. На кинетических кривых гидролиза НФА имеются индукционные периоды, величины которых меняются при изменении pH, концентрации НФА и НФ. Для выяснения возможной роли процессов ассоциации — диссоциации в активации ПК нами была изучена зависимость скорости реакции

и t_i от концентрации ПОБГ₁₀ и ПОФГ₁₀. Из рис. 1 видно, что величина t_i остается постоянной во всем интервале изученных концентраций ПОБГ₁₀ и ПОФГ₁₀, а удельная активность (скорость каталитической реакции, отне-

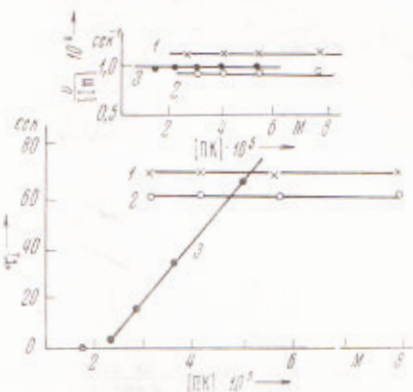


Рис. 1. Зависимость t_i и удельной активности ($v/[Im]_0$) ПОБГ₁₅, ПОБГ₁₀ и ПОФГ₁₀ от концентрации ПК, в фосфатном буфере, pH 7,8, 25°. Концентрация НФА $3 \cdot 10^{-4}$ M; 1 — ПОБГ₁₀, содержащий 37,5% Im; 2 — ПОФГ₁₀, 27% Im; 3 — ПОБГ₁₅, 28% Im

Таблица 1
Кинетические параметры гидролиза НФА, катализируемого полиоксантиленовыми эфирами N-бензоил- и N-формилгистидина молекулярного веса 15 000 и 40 000

Катализатор	Содержание Im в полимере, %	β	pK	$V \cdot 10^4$, мол/л·сек	$K_M \cdot 10^4$, M	$k_2 \cdot 10^3$, сек ⁻¹	$1/k_M$, л/моль·сек	R_{11} , л/моль·сек	k_2/K_M
ПОБГ* ₁₅	28	0,23	6,9	1,0	16,5	1,65	1,0		2,0
ПОБГ ₄₀	37,5	0,4	7,0	0,33	1,6	0,28	1,7		3,4
ПОФГ ₁₀	27	0,29	7,0	0,2	1,05	0,45	1,5		7,9
ПОФГ ₁₅	19	0,23	6,9	0,41	12,5	0,6	0,48		2,5
МЭБГ			6,1					0,50	
МЭФГ			5,9					0,19	

* В случае ПОБГ₁₅ величина β определялась по данным реакции модификации имидазольных групп бромуксусной кислотой.

сенная к концентрации имидазольных групп $v/[Im]_0$ не меняется при варьировании концентрации ПК. Для сравнения на том же рисунке приведены соответствующие зависимости t_i и $v/[Im]_0$ гидролиза НФА, катализируемого ПОБГ₁₅. Постоянство t_i при варьировании концентрации ПОБГ₁₀ и ПОФГ₁₀ указывает на внутримолекулярный механизм активации в процессе каталитического гидролиза. Следовательно увеличение молекулярного веса ПОЭ от 15 000 до 40 000 приводит к тому, что, во-первых, ПК утрачивает способность к ассоциации в результате введения гидрофобных концевых групп, и, во-вторых, конформационное состояние ПК перестает зависеть от природы концевых групп ПК. Известно, что для непонных детерген-

тов, содержащих в качестве гидрофильной части полиоксипропиленовые фрагменты, удлинение цепи ПОЭ приводит к увеличению критической концентрации мицеллообразования и уменьшению степени ассоциации молекул в мицеллах⁽³⁾. По-видимому, при достижении определенного молекулярного веса введение в молекулу ПОЭ дополнительных

гидрофобных групп может быть скомпенсировано как на уровне моно-, так и дисащенных макромолекул за счет реализации гибкости полимерной цепи.

Рассмотрим теперь основные кинетические закономерности гидролиза НФА, катализируемого всеми ПК, и, прежде всего, зависимости скорости гидролиза НФА от концентрации субстрата (рис. 2). Линейный характер приведенных зависимостей указывает на выполнимость кинетической схемы Михаэлиса — Ментен. Соответствующие этой схеме кинетические параметры K_M и V представлены в табл. 1.

Там же приведены значе-

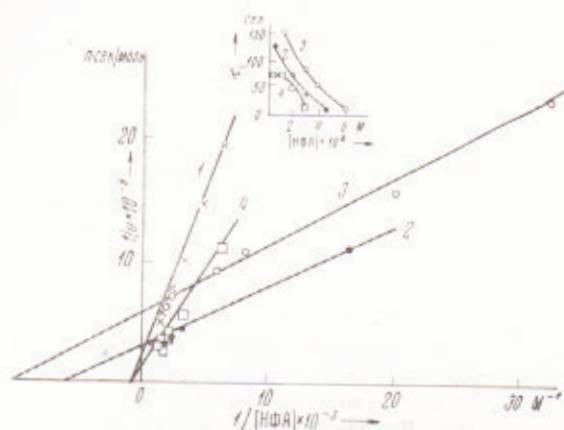


Рис. 2. Зависимость обратной скорости гидролиза НФА, катализируемого ПК, от обратной концентрации субстрата и t_i от концентрации субстрата в фосфатном буфере, рН 7,8, 25°. 1 — ПОФГ₁₅ 7,8 · 10⁻⁵ М, содержащий 19% Im; 2 — ПОБГ₁₅ 4 · 10⁻⁵ М, 37% Im; 3 — ПОФГ₁₀ 4 · 10⁻⁵ М, 27% Im; 4 — ПОБГ₁₅ 3,9 · 10⁻⁵ М, 28% Im

ния доли активных имидазольных групп β , необходимые для вычисления константы k_2 , которые были найдены на основании данных реакции модификации имидазольных групп ПК диазотетразолом⁽²⁾. Из табл. 1 видно, что увеличение молекулярного веса ПК приводит к уменьшению K_M и, следовательно, к увеличению эффективного средства субстрата к ПК. Для оценки активности полимерных катализаторов по сравнению с соответствующими низкомолекулярными аналогами, метиловыми эфирами N-бензоилгистидина (МЭБГ) и N-формилгистидина (МЭФГ), величины отношения k_2/K_M , имеющего смысл константы скорости второго порядка, относили к константам скорости второго порядка k_{11} гидролиза НФА, катализируемого МЭБГ и МЭФГ соответственно. Эти отношения, представленные в табл. 1, по порядку величины близки между собой.

Изучение кинетического поведения каталитических систем, содержащих ПОБГ₁₀ и ПОФГ₁₀, при варьировании концентрации субстрата показало, что величина t_i в обоих случаях убывает по мере увеличения концентрации НФА (рис. 2). Подобная зависимость t_i от концентрации НФА наблюдается в присутствии ПОБГ₁₅. Различные механизмы активации ПК разных молекулярных весов заключается в том, что в случае ПОБГ₁₅ субстрат вызывает диссоциацию неактивных ассоциатов на активные мономеры, а в случае ПОБГ₁₀ и ПОФГ₁₀ — переход из неактивной конформации в активную. Наряду с субстратом активирующим действием обладает также и продукт реакции НФ, предварительно инкубированный с ПК. Введение НФ в систему приводит к уменьшению величины индукционного периода, но не влияет на скорость реакции. Таким образом, НФА и НФ, как и в случае ПОБГ₁₅, представляют собой аллостерические эффекторы.

Для определения рК имидазольных групп ПОФГ₁₅, ПОБГ₁₀ и ПОФГ₁₀ скорости гидролиза НФА были изучены в интервале рН от 7 до 8, в фосфатном буфере. Во всех случаях рН-зависимости гидролиза НФА описываются уравнением, допускающим участие в каталитическом процессе только

одной имидазольной группы (²). Рассчитанные значения pK имидазольных групп в ПК и низкомолекулярных аналогов приведены в табл. 1. Видно, что введение имидазольных групп в полимерную цепь приводит к сдвигу pK в щелочную область, что свидетельствует о ее гидрофобном окружении в ПК (³). Представленные на рис. 3 зависимости τ_i от pH указывают, что, несмотря на различные механизмы активации ПК в случае катализаторов разного молекулярного веса, влияние pH среды на скорость молекулярных перестроек полиоксэтиленовой цепи имеет общий характер.

Таким образом, варьирование природы концевых групп и молекулярного веса полимерных катализаторов на основе полиоксэтилена позволяет формировать полимерные катализаторы различной структурной организации. Влияние природы концевых групп ослабевает по мере увеличения молекулярного веса полимера.

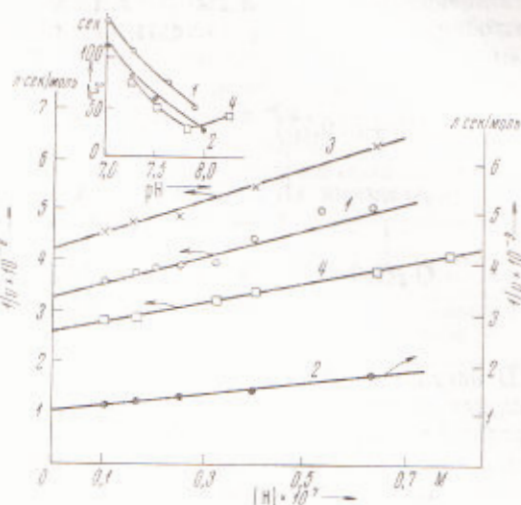


Рис. 3. Зависимость обратной скорости гидролиза НФА в присутствии ПК от концентрации водородных ионов и зависимость τ_i от pH в фосфатном буфере. Концентрации НФА $4,5 \cdot 10^{-5} M$; 1 — ПОБГ₄₀ $4 \cdot 10^{-5} M$, содержащий 12% Im; 2 — ПОФГ₄₀ $8 \cdot 10^{-5} M$, 8% Im; 3 — ПОФГ₁₃ $7,8 \cdot 10^{-5} M$, 19% Im; 4 — ПОБГ₁₅ $3,9 \cdot 10^{-5} M$, 35% Im

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
11 III 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Б. Соловьев, И. Н. Топчиева и др., ДАН, 187, 850 (1969). ² И. Н. Топчиева, Тез. докл. симпозиума: Кинетика и механизм макромолекулярных реакций, М., 1971. ³ К. Шинода, Т. Накагасава и др., Коллоидные поверхностно-активные вещества, М., 1966, стр. 72. ⁴ Г. В. Троицкий. Вопросы биосинтеза, структуры и функций биополимеров, Киев, 1967, стр. 152.