

含水杨酸的缩聚物对 *P*-硝基苯酚 乙酸酯水解反应的催化作用 (II)*

何炳林 黄文强 赵书燕

(南开大学化学系)

摘 要

水杨酸、甲醛和烷基伯胺(烷基: 甲基, 正-丙基, 正-己基或正-十二烷基)通过 Mannich 缩合反应制得了主链上既含有水杨酸基又含有叔胺基的线型缩聚物。用这些缩聚物催化 *P*-硝基苯酚乙酸酯 (PNPA) 水解反应的动力学研究结果表明, 缩聚物的催化活性随 *N*-烷基侧链的链长增加而增加。在催化剂过量的条件下, 带有十二碳烷基侧链的缩聚物催化 PNPA 水解反应时符合简单的 Michaelis-Menten 动力学历程。

模拟酶聚合物对于有机反应的催化作用已经受到广泛的注意^[1]。聚合物催化剂具有比相应的低分子模型化合物高得多的催化活性。目前普遍认为, 聚合物催化剂的这种大的速度增加是由三个因素引起的, 即协同作用, 静电作用和疏水作用^[2]。前文^[3]报道了水杨酸、甲醛和甲胺的缩聚物 (SFMA) 在水溶液中对 *P*-硝基苯酚乙酸酯 (PNPA) 水解反应的催化作用。动力学的研究表明, 缩聚物 (SFMA) 比水杨酸及其与甲醛的缩聚物对 PNPA 的水解反应具有高得多的催化活性。SFMA 的这种性质可能是由于缩聚物主链上的胺基氮原子与水杨酸基中的羟基发生协同作用的结果。本文由不同链长的烷基胺与水杨酸、甲醛通过 Mannich 反应得到带有不同烷基侧链的缩聚物, 并用这类缩聚物作为 PNPA 水解反应的催化剂来研究疏水侧链对缩聚物催化活性的影响。

实 验 部 分

合成

水杨酸、甲醛和烷基伯胺(烷基: 甲基, *n*-丙基, *n*-己基或 *n*-十二碳烷基)缩聚物的合成同前文^[3] *P*-硝基苯酚乙酸酯 (PNPA) 按常法^[3]合成。

pH 测定

缩聚物中可离解基团的 pK_a 值的测定同前文^[3]。

酯水解反应动力学的测量

含水杨酸和胺的缩聚物的酯水解反应的动力学测量同前文^[3]。催化剂按水杨酸的量

* 本文部分内容曾在 "IUPAC MACRO 82" 会议上宣读, 本刊于 1981 年 10 月 30 日收到。

配成 $5 \times 10^{-4} M/l$ 的溶液。底物 PNPA 配制成 $0.03 M/l$ 的乙醇溶液,使用时移取一定体积至 3 毫升的催化剂溶液中使最终浓度符合实验要求。实验仪器及以下操作同前文^[3]。

数据处理: 所有 PNPA 的水解反应均按假一级反应动力学处理。催化剂浓度过量于底物浓度时,用 $\ln(A_{\infty} - A_t)$ 对时间 t 作图; 底物浓度过量于催化剂浓度时,由反应进行的最初 5 分钟内的吸光度 A_t 对时间 t 作图。图中直线的斜率为假一级速度常数 k_m ; 酯水解反应的一级速度常数为 $k_0 = k_m - k_m$, 式中 k_m 为 PNPA 在缓冲溶液中的自发水解反应速度常数; 酯水解的二级速度常数, $k_{cat} = k_0/[C]$, 式中 $[C]$ 为催化剂的浓度。酯水解反应的速度为 $V_0 = k_0 \cdot [PNPA]$, 式中 $[PNPA]$ 为底物 PNPA 的起始浓度。

结 果 和 讨 论

缩聚物的合成

前文^[3]报道了水杨酸、甲醛和甲胺的缩聚物的合成反应和条件。实验证明,要想通过 Mannich 反应得到线型大分子化合物,关键是控制胺和甲醛反应中间体的稳定性。因为胺和甲醛生成的中间体羟甲基胺在酸性条件下迅速脱水生成西佛碱^[4]。因此,为了使羟甲基胺中间体能参与同水杨酸的缩合反应,必须严格控制介质的 pH 值接近中性。待反应一段时间后,加入酸催化脱水,进一步缩合得到大分子的缩聚物。烷基伯胺和水杨酸在甲醛过量的条件下得到的缩聚物的有关数据列于表 1。

表 1 水杨酸、甲醛和胺的缩聚物*

缩聚物	胺的烷基	配料比 SA:A (mole)	缩聚物链组成** S/A	产率*** (%)	元素分析(%)					
					实 测 值			计 算 值		
					C	H	N	C	H	N
SFMA	甲 基	1:1	1.65	47.5	63.50	5.63	4.66	62.93	5.14	4.83
SFPA	n-丙基	1:1	3.14	47.9	63.22	5.24	2.62	64.40	5.13	2.58
SFHA	n-己基	1:1	2.40	51.7	66.78	6.42	2.89	66.47	6.22	2.96
SFLA	n-十二烷基	1:0.6	2.05	70.8	68.00	7.78	2.73	68.79	7.66	2.73

* S: 水杨酸, F: 甲醛, SFMA 为文献[3]值。

** S/A: 缩聚物链中的水杨酸基数与胺基数之比。

*** 按水杨酸的加入量计。

表 2 含水杨酸和胺的缩聚物各功能基的 pK_a 值*

	n_1	pK_{a_1}	n_2	pK_{a_2} **	n_3	pK_{a_3}
SFMA*	1.56	4.48	1.11	9.72	—	12.30
SFPA	1.12	4.25	1.21	9.82	—	12.30
SFHA	1.83	4.52	1.15	9.53	—	12.70
SFLA	1.41	3.75	1.07	9.45	—	12.75

* 为文献[3]值。 ** 为胺基的 pK_a 值。

为了比较缩聚物各功能基的相对酸碱性及其对水解 PNPA 反应的影响,我们在 $30 \pm 0.2^\circ C$, 中性盐浓度为 $0.5 M$ (滴定终了的浓度) 的条件下用 pH 滴定法测定了缩聚物各功能基的 pK_a 值。结果列于表 2。

动力学

1. 催化剂过量于底物时缩聚物的催化作用 有人^[2,5,6,7]对聚合物催化剂分子中的疏水侧链对酯水解反应的催化作用的影响做过研究. 聚合物催化剂的疏水侧链与底物的疏水相互作用可大大提高聚合物的催化活性. 我们用带有不同链长的烷基伯胺同水杨酸和甲醛的缩聚物在 pH9.28, 0.5M KCl, 30±0.2°C 下催化 PNPA 的水解反应. 结果见表 3. 由此看出, 在缩聚物的组成 (S/A 的数据)相近的条件下, PNPA 水解反应的二级速度常数随侧链烷基链长的增加而增加. 含十二碳烷基侧链的缩聚物 SFLA 的二级速度常数是含一个碳的 SFMA 的二倍多. 因为缩聚物的催化活性与其组成有关, 当 S/A 为 2 时活性最高^[3]. 缩聚物 SPPA 的侧链烷基虽有三个碳原子, 由于它的 S/A 值为 3.14, 远偏离 2, 因此它的二级速度常数低于一个碳的 SFMA(II). 由于侧链烷基链长的增加, 缩聚物与底物间的疏水作用随之增加, 因此, 带有十二碳的烷基侧链的缩聚物 SFLA 比带有较短烷基侧链的缩聚物对 PNPA 水解反应有更大的加速作用. 所以疏水效应是明显的.

表 3 缩聚物侧链烷基链长与二级速度常数的关系*

	S/A	侧链烷基的碳原子数 (n)	$k_{cat} (l \cdot M^{-1} \cdot min^{-1})$
SFMA(II)	2.17	1	17.39
SPPA	3.14	3	10.13
SFHA	2.44	6	23.08
SFLA	2.05	12	36.23

* [C]: $5 \times 10^{-4} M/l$; [PNPA]: $5 \times 10^{-3} M/l$

“饱和”动力学. 用过量于底物浓度的缩聚物 SFLA 在 pH9.28, 0.5M KCl, 30±0.2°C 下催化 PNPA 水解反应时, 反应速度 V_0 ($= k_0 \cdot [PNPA]$) 与 SFLA 的浓度之间的关系的数据列于表 4 中. 由表 4 得到 PNPA 水解反应速度与催化剂浓度的关系图 (图 1). 图 1 表现出明显的速度“饱和”作用. 这是一种底物为催化剂所饱和的情况. 由修正的 Lineweaver-Burk 方程^[8]:

$$\frac{[C]}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max}} + \frac{[C]}{V_{max}}$$

式中 [C] 为催化剂浓度, V_0 为 PNPA 水解反应的速度 ($= k_0 \cdot [PNPA]$), V_{max} 为最大速度, K_m 为 Michaelis 常数, 用 $[C]/V_0$ 对催化剂浓度 [C] 作图时可得到一条直线. 斜率为 $1/V_{max}$, x 轴上的截距为 $-k_m$. 图 2 即用表 4 的数据根据修正的 Lineweaver-Burk 方程作的图. 由图 2 得到的动力学参数列在表 5 中.

如果用带有己烷基侧链的缩聚物 SFHA 催化 PNPA 水解反应时, 反应速度 V_0 则随催化剂浓度增加呈直线关系增加, 没有“饱和”现象出现 (图 3), 即是一种二级反应. 由图 1 和图 3 我们可以明显看出 SFLA 和 SFHA 两种缩聚物对酯水解反应的催化作用的差别. SFHA 催化酯水解反应时没有速度饱和现象, 有可能是六个碳的烷基侧链的疏水作用尚未达到足以能与 PNPA 发生作用的程度^[9]. 十二碳烷基侧链则能与 PNPA 发生疏水相互作用, 形成催化剂与底物间的络合物中间体, 然后再由水杨酸基的羟基进行催化. 这就使 SFLA 催化 PNPA 水解反应的历程符合简单的 Michaelis-Menten 动力学历程^[10]:

表 4 SFLA 催化的 PNPA 水解反应*

[SFLA] × 10 ⁴ M/l	k ₀ × 10 ² min ⁻¹	V ₀ (= k ₀ · [PNPA]) × 10 ² M · min ⁻¹	[SFLA]/V ₀ min
0.25	0.28	0.56	446
0.50	0.50	1.00	500
1.0	0.66	1.32	758
3.0	0.74	1.48	2027
5.0	0.96	1.92	2604

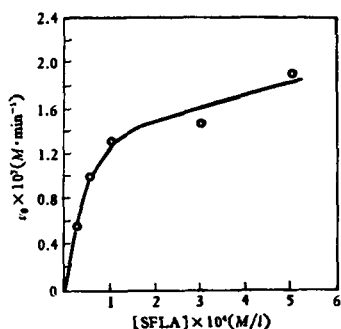
* [PNPA]: 2 × 10⁻³ M/l

图 1 反应速度与催化剂浓度关系(反应条件同表 3)。

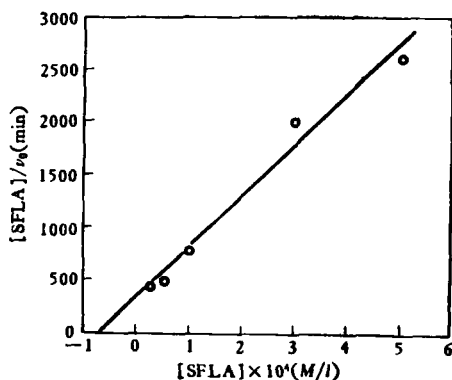
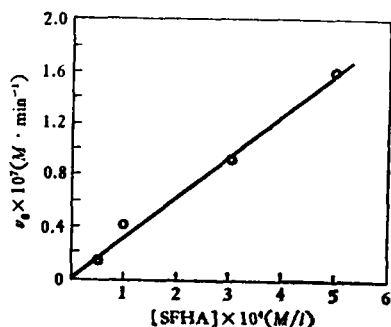
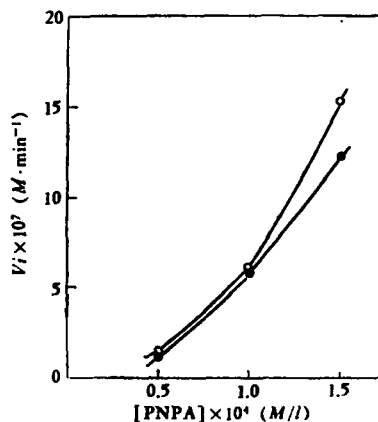
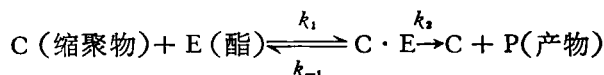
图 2 修正的 Lineweaver-Burk 方程的 [C]/V₀ 与 [C] 关系图(反应条件同表 3)。

表 5 SFLA 催化 PNPA 水解反应的动力学参数

V _{max} M · min ⁻¹	k _m M	k ₂ min ⁻¹	k _{cat} = k ₂ /k _m M ⁻¹ · min ⁻¹
2.07 × 10 ⁻⁷	6.7 × 10 ⁻³	1.03 × 10 ⁻²	153.7

图 3 反应速度 V₀ 与催化剂浓度的关系(反应条件同表 4)图 4 PNPA 水解反应初速度 V_i 与底物浓度之间的关系, [C] 2.5 × 10⁻³ M/l; pH 9.28; 0.5 M KCl; 30 ± 0.2°C. ● SFMA, ○ SFLA.



SFLA 这种通过疏水作用同底物的络合作用就相当于大大增加了缩聚物链周围的底物浓度,从而增加了缩聚物的催化活性。

2. 底物过量于催化剂时缩聚物的催化作用 在底物浓度过量于催化剂 1—5 倍的条件,以缩聚物 SFMA 和 SFLA 催化 PNPA 水解反应时,初速度 $V_i (-k_m \cdot [\text{PNPA}])$ 对底物浓度 ($[\text{PNPA}]$) 作图时没有发现“饱和”现象(图 4)。所得到的较高的初速度值可能表明缩聚物有足够高的再生能力^[1]。

致谢 南开大学元素有机化学研究所分析室协助测定聚合物的元素含量,谨致谢意。

参 考 文 献

- [1] Overberger, C. G., Mitra, S., *Pure Appl. Chem.*, **51**, 1391(1979).
- [2] Pavlisko, J. A., Overberger, C. G., “Proceedings of China-U.S. Bilateral Symposium on Polymer Chemistry and Physics”, Science Press-van Nostrand Reinhold, Beijing, 1981. p 12.
- [3] 何炳林, 黄文强等, 待发表.
- [4] Jenks, W. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 475(1959).
- [5] Overberger, C. G., Pacansky, T. J., *J. Polym. Sci.*, **A13**, 931(1975).
- [6] Kirfer, H. C., Congdon, W. I., Scarpa, I. S., Klotz, I. M., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **69**, 2155(1972).
- [7] Kunitake, T., Shinkai, S., Okahata, Y., *Bull. Chem. Chem. Soc. Japan*, **49**, 540(1976).
- [8] Lineweaver, H., Burk, D., *J. Am. Chem. Soc.*, **56**, 658(1934).
- [9] Overberger, C. G., Corett, R., Salamone, J. C., Yaroslavsky, S., *Macromolecules*, **1**, 331(1968).
- [10] Michaelis, L., Menten, M., *Biochem. Z.*, **49**, 333(1913).

CATALYSIS OF CONDENSATION POLYMERS CONTAINING SALICYLIC ACID FOR HYDROLYSIS OF *P*-NITROPHENYL ACETATE IN AQUEOUS SOLUTION (II)

He Binglin, Huang Wenqiang and Zhao Shuyan

(Department of Chemistry, Nankai University)

ABSTRACT

As a model of Serine hydrolase, the polycondensates of salicylic acid, formaldehyde and methyl, n-propyl, n-hexyl, or n-lauryl amine were prepared by Mannich's condensation. The catalytic activities of the above polymers for hydrolysis of *p*-nitrophenyl acetate (PNPA), were investigated. It was found kinetically that the rate of hydrolysis of PNPA increases with increasing length of the alkyl groups in the side-chain of the polymers. Hydrolysis of PNPA catalyzed by the polycondensate of salicylic acid, formaldehyde and n-laurylamine proceeded by the simple Michaelis-Menten type mechanism. The kinetics parameters were obtained as: $K_m = 6.7 \times 10^{-5}M$, and $V_{max} = 2.07 \times 10^{-7}M \cdot \text{min}^{-1}$.