

HANS PLIENINGER, LOTHAR ARNOLD und WERNER HOFFMANN

## Kinetische Untersuchung der Hydrolyse von $\alpha$ -Keto-glutarsäure- und Phenylbrenztraubensäure-acetalen

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Heidelberg

(Eingegangen am 15. September 1964)

Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der Hydrolyse von  $\alpha$ -Keto-glutarsäure- und Phenylbrenztraubensäure-acetalen wurden bei verschiedenen pH-Werten bestimmt.

Für einen bestimmten präparativen Zweck<sup>1)</sup> benötigten wir Geschwindigkeitsdaten über die Hydrolyse von  $\alpha$ -Keto-säure-acetalen. Für die Untersuchung wählten wir  $\alpha$ -Keto-glutarsäure und Phenylbrenztraubensäure, um zu prüfen, ob sich strukturelle Unterschiede merklich auf die Hydrolysegeschwindigkeit auswirken. Auch interessierte uns, ob die Dimethylacetale schneller hydrolysiert werden als die Diäthylacetale.

Die Acetalsäuren wurden aus den entsprechenden Estern durch alkalische Verseifung hergestellt. Zur Messung der Geschwindigkeit der Acetalhydrolyse wurden einer Lösung ihres Natriumsalzes bei einem bestimmten pH-Wert zu bestimmten Zeiten Proben entnommen und in einen Puffer von pH 7 gebracht. Mit Natriumborhydrid wurde die gebildete Ketosäure reduziert und anschließend durch Ansäuern noch vorhandenes Acetal sauer hydrolysiert. Die hierdurch entstandene Ketosäure bestimmte man nach T. E. FRIEDEMANN und G. E. HAUGEN<sup>2)</sup> als 2,4-Dinitro-phenylhydrazone bei 546 m $\mu$ . Phenylbrenztraubensäure kann auch direkt bei pH 14 im UV quantitativ bestimmt werden.

Es wurden folgende Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten bei pH 1.8 und 20° ermittelt:

$\alpha$ -Keto-glutarsäure-diäthylacetal  $1.71 \cdot 10^{-3}$  [sec $^{-1}$ ]

$\alpha$ -Keto-glutarsäure-dimethylacetal  $2.05 \cdot 10^{-3}$  [sec $^{-1}$ ]

Phenylbrenztraubensäure-diäthylacetal  $1.82 \cdot 10^{-3}$  [sec $^{-1}$ ]

bei pH 1.8 und 0°:

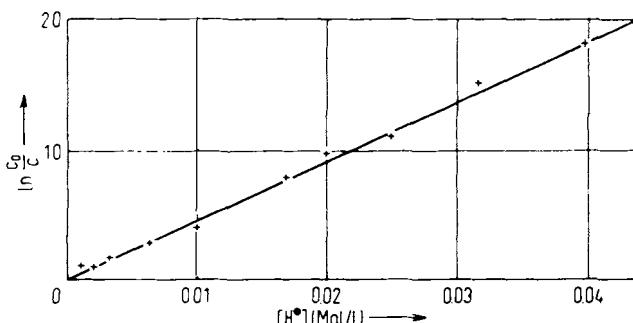
$\alpha$ -Keto-glutarsäure-diäthylacetal  $0.97 \cdot 10^{-5}$  [sec $^{-1}$ ]

Außerdem untersuchten wir beim  $\alpha$ -Keto-glutarsäure-diäthylacetal den Zusammenhang zwischen der Geschwindigkeit der Acetalhydrolyse und dem pH-Wert. Dazu wurde das Säureacetal in Pufferlösungen von bekanntem pH-Wert bei 25° hydrolysiert und die Hydrolyse nach einer Stunde durch Zugabe eines Puffers von pH 7 unterbrochen. Das noch nicht verseifte Acetal bestimmten wir, wie oben beschrieben.

1) H. PLIENINGER, L. ARNOLD, R. FISCHER und W. HOFFMANN, Chem. Ber. 98, 1774 [1965], und zwar S. 1776.

2) J. biol. Chemistry 147, 415 [1943].

Beim Auftragen von  $\ln c_0/c$  ( $c_0$  = Anfangskonzentration und  $c$  = Konzentration an noch vorhandenem Acetal beim jeweiligen pH-Wert) gegen die Wasserstoffionen-Konzentration ergab sich eine Gerade (Abbild.).



Hydrolyse des  $\alpha$ -Keto-glutarsäure-diäthylacetals bei verschiedener Wasserstoffionen-Konzentration und 25°

Die Abbild. zeigt, daß auch die Acetalhydrolyse von  $\alpha$ -Keto-glutarsäure-diäthylacetal säurekatalysiert ist. Für derartige Reaktionen gilt nämlich:

$$-\frac{dc}{dt} = k_2 \cdot [H^{\oplus}] \cdot c \quad (1)$$

oder nach Integration (mit konstant gehaltener  $H^{\oplus}$ -Konzentration)

$$\ln c_0/c = k_2 \cdot [H^{\oplus}] \cdot t \quad (2)$$

wobei  $k_2$  die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante (RG-Konstante) der nach zweiter Ordnung erfolgenden Reaktion ist.

Bei unseren Messungen wurde die Zeit  $t$  konstant gehalten. Beim Auftragen von  $\ln c_0/c$  gegen die Wasserstoffionen-Konzentration  $[H^{\oplus}]$  muß also eine Gerade durch den Nullpunkt mit der Steigung  $k_2 \cdot t$  resultieren; in unserem Beispiel ist  $k_2 \cdot t = 45$  [Mol<sup>-1</sup>·l] und, da  $t = 3600$  [sec] war, erhält man  $k_2 = 1.25 \cdot 10^{-2}$  [sec<sup>-1</sup> Mol<sup>-1</sup>·l].

Die RG-Konstante pseudoerster Ordnung  $k_1$  (Hydrolyse bei konstanter Wasserstoffionen-Konzentration) ergibt sich durch Multiplikation des  $k_2$ -Wertes mit der jeweiligen Wasserstoffionen-Konzentration  $[H^{\oplus}]$

$$k_1 = k_2 [H^{\oplus}] \text{ oder } k_1 = 1.25 \cdot 10^{-2} \cdot [H^{\oplus}] [\text{sec}^{-1}]$$

Für pH 2.5 und 25° (Reaktionsbedingungen, auf die wir später zurückkommen \*) berechnet man eine RG-Konstante  $k = 0.4 \cdot 10^{-3}$  [sec<sup>-1</sup>].

#### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

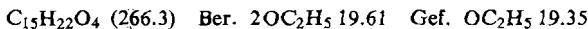
**$\alpha$ -Keto-glutarsäure-diäthylacetal:** Zu einer Lösung von 2.76 g (10 mMol)  $\alpha$ -Keto-glutarsäure-diäthylester-diäthylacetal<sup>3)</sup> in 25 ccm Äthanol gibt man eine Lösung von 1.6 g (40 mMol) NaOH in 20 ccm Wasser. Man läßt 2 Tage bei 20° stehen, engt im Rotationsverdampfer auf 15 ccm ein und stellt mit 1 n HCl auf pH 8 ein. Durch Auffüllen mit Wasser auf 100 ccm erhält man eine 10<sup>-1</sup> m Lösung von  $\alpha$ -Keto-glutarsäure-diäthylacetal.

\*) I. c. 1) S. 1777.

3) R. G. JONES, J. Amer. chem. Soc. 77, 4074 [1955].

Das  *$\alpha$ -Keto-glutarsäure-dimethylester-dimethylacetal* wurde wie das Diäthylacetal<sup>3)</sup> aus dem Dimethylester hergestellt. Sdp.<sub>0,3</sub> 86–87°,  $n_D^{20}$  1.4360.

Das *Phenylbrenztraubensäure-äthylester-diäthylacetal* wurde entsprechend aus Phenylbrenztraubensäure-äthylester gewonnen. Zur Entfernung von Ausgangsmaterial, das leicht verseift wird, wurde mit eiskalter Natronlauge ausgeschüttet.  $n_D^{20}$  1.4735.



*Hydrolysen bei pH 1.8:* Nach Zugabe von 1.00 ccm der Lösung des *Acetals* zu 9.00 ccm eines Natriumcitrat-Salzsäure-Puffers vom pH 1.8 ( $10^{-2}m$  Lösung) wird in einem Thermo- staten bei 20° gerührt. Zu bestimmten Zeiten entnimmt man Proben von 0.50 ccm und gibt sie zu 4.50 ccm eines Phosphatpuffers von pH 7 ( $10^{-3}m$  Lösung), wodurch die Hydrolyse unterbrochen wird.

Durch Hydrolyse des Acetals freigesetzte *Ketosäure* wird in den Proben mit 20 mg *Natriumborhydrid* bei 20° reduziert und anschließend noch vorhandenes Acetal durch Erhitzen mit 1 ccm 2n HCl während 15 Min. auf 50° zur Ketosäure hydrolysiert. Je 0.50 ccm der so erhaltenen Lösungen werden mit Wasser auf 2.0 ccm aufgefüllt und mit 0.50 ccm 0.1-proz. 2.4-Dinitro-phenylhydrazin-Lösung in 2n HCl 5 Min. zur Reaktion gebracht. Dann lässt man 5 Min. mit 3 ccm 2.5n NaOH stehen und misst die Extinktion bei 546 m $\mu$  ( $10^{-4}m$  Lösung).

Das 2.4-Dinitro-phenylhydrazon der  *$\alpha$ -Keto-glutarsäure* hat unter diesen Bedingungen  $\epsilon = 6590$ . Die Extinktion bei  $t = \infty$  entspricht der Acetalkonzentration 0 und wird mit  $E_0$  bezeichnet. Die dem noch vorhandenen Acetal entsprechende Extinktion ist die Differenz der jeweiligen Extinktion  $E$  und  $E_0$ . Die einzelnen Konzentrationen ergeben sich nach:  $c = \frac{E - E_0}{\epsilon \cdot d}$

#### Kinetik der Hydrolyse des *$\alpha$ -Keto-glutarsäure-diäthylacetals*.

Gemessene Extinktionen und die daraus berechneten Acetalkonzentrationen  $c$ . Die RG-Konstanten wurden nach der Gleichung  $k = \frac{1}{t} \ln \frac{c_0}{c}$  berechnet. Reaktionstemperatur 20°

| $t$<br>[sec] | $E$   | $c$<br>[Mol/l]        | $k$<br>[sec $^{-1}$ ] |
|--------------|-------|-----------------------|-----------------------|
| 0            | 0.659 | $1.000 \cdot 10^{-4}$ |                       |
| 9            | 0.570 | 0.863                 | $1.65 \cdot 10^{-3}$  |
| 18           | 0.481 | 0.725                 | 1.78                  |
| 27           | 0.415 | 0.625                 | 1.73                  |
| 36           | 0.361 | 0.542                 | 1.70                  |
| 45           | 0.308 | 0.460                 | 1.71                  |
| 63           | 0.229 | 0.339                 | 1.71                  |
| 81           | 0.169 | 0.264                 | 1.72                  |
| 96           | 0.133 | 0.191                 | 1.72                  |
| 126          | 0.084 | 0.115                 | 1.70                  |
| 144          | 0.063 | 0.084                 | 1.66                  |
| 180          | 0.032 | 0.035                 | 1.83                  |
| 216          | 0.025 | 0.025                 | 1.70                  |
| $\infty$     | 0.009 |                       |                       |

*Hydrolyse bei verschiedenen pH-Werten:* Je 0.50 ccm der 0.1 m *α-Keto-glutarsäure-diäthyl-acetal*-Lösung wird unter Rühren bei 25° zu 4.5 ccm eines Natriumcitrat-Salzsäure-Puffers (10<sup>-2</sup> m) mit bestimmtem pH gegeben. Nach einer Stde. werden 0.50 ccm entnommen und zu 4.50 ccm Pufferlösung vom pH 7 gegeben, wodurch die Hydrolyse abgebrochen wird. Mit 20 mg *Natriumborhydrid* reduziert man innerhalb von 30 Min. die freigesetzte *Ketosäure*, zerstört durch Ansäuern mit 1.0 ccm 2 n HCl und Erwärmen auf 50° überschüss. Natriumborhydrid und verseift noch nicht hydrolysiertes Acetal. 1.00 ccm der so erhaltenen Lösungen wird mit Wasser auf 2.00 ccm verdünnt und die Ketosäure durch Zugabe von 2.4-*Dinitro-phenylhydrazin*-Lösung und Natronlauge, wie oben beschrieben, bestimmt. Die gefundenen Werte sind der Abbild. zugrundegelegt. [425/64]