

Untersuchungen zur Theorie der α -Ketosäuren. VIII¹⁾

**Der Einfluß von Metallsalzen
auf die Reaktionsfähigkeit der β -CH-Bindungen
von α -Ketosäuren**

VON ALFRED SCHELLENBERGER, RUDOLF LORENZ, GÜNTHER OEHME
und HARTMUT DIESCHER

Mit 2 Abbildungen

Professor Wolfgang Langenbeck zum 65. Geburtstag gewidmet

Inhaltsübersicht

Die Halogenierung sowie die Deuterierung der β -ständigen CH-Bindungen von α -Ketosäuren wird, vor allem in Gegenwart von komplexaktiven Metallionen wie Aluminium- und Kupfer-Ionen erheblich beschleunigt. Es konnte gezeigt werden, daß dieser Effekt auf einer säurekatalytischen Beeinflussung der Umwandlungsgeschwindigkeit der Keto- in die Enolform beruht.

Das Reaktionsvermögen von Brenztraubensäure (BTS)²⁾ gegenüber Halogenen erfährt in Gegenwart von Metallionen eine erhebliche Steigerung³⁾. Auch das Kondensationsbestreben von α -Ketosäuren mit mindestens einem H-Atom in β -Stellung wird durch Metallsalze beträchtlich erhöht⁴⁾. In beiden Fällen entspricht die Wirksamkeit der Metallionen weitgehend dem von MELLOR und MALEY⁵⁾ aufgestellten allgemeinen Komplexbildungsvermögen.

Auf Grund des gesteigerten Reaktionsvermögens gegenüber Halogenen vermuteten wir zunächst eine von der Stärke der Komplexbildner abhängige Verschiebung des Keto-Enol-Gleichgewichtes zugunsten der Enolverbindung.

Unsere weiteren Untersuchungen ergaben jedoch, daß — auch in Gegenwart sehr komplexaktiver Metallionen wie $Al^{3\oplus}$ oder $Cu^{2\oplus}$ — die Halogenie-

¹⁾ VII. Mittel., A. SCHELLENBERGER u. G. OEHME, J. prakt. Chem. [4] **24**, 231 (1964).

²⁾ Folgende Abkürzungen werden verwendet: Brenztraubensäure = BTS; Methylbrenztraubensäure = MBTS; Dimethylbrenztraubensäure = DBTS.

³⁾ A. SCHELLENBERGER u. K. WINTER, Chem. Ber. **92**, 793 (1959).

⁴⁾ A. SCHELLENBERGER u. R. SELKE, J. prakt. Chem. **48**, 379 (1959).

⁵⁾ D. P. MELLOR u. L. E. MALEY, Nature London **159**, 370 (1947); **161**, 436 (1948).

rung trotz der um drei Potenzen gesteigerten Geschwindigkeit stets als Zeitreaktion verlief, wogegen sich Enole im allgemeinen momentan mit Halogenen umsetzen. Weiterhin war im UV-Spektrum der α -Ketosäure-Komplexe in keinem Falle eine, der sehr intensiv absorbierenden Enol-C=C-Bindung⁶⁾ entsprechende Bande nachzuweisen⁷⁾.

Somit erhebt sich von neuem die Frage, wie das in Gegenwart von Metallionen beobachtete gesteigerte Reaktionsvermögen der α -Ketosäuren zu erklären ist. Die vorliegende Arbeit soll an Hand neuer experimenteller Befunde zur Klärung dieser Problematik beitragen.

1. Die Geschwindigkeit der Halogenierung von Brenztraubensäure und Methylbrenztraubensäure in Gegenwart von Metallionen

In Abb. 1 ist die Jodsubstitutionsgeschwindigkeit von BTS und MBTS dargestellt. MBTS ist, im Gegensatz zur BTS, zu einem geringen Prozentsatz (0,66%⁸⁾) enolisiert. Trägt man dieser Tatsache Rechnung, in dem man die für die Messung der Substitutionsgeschwindigkeit erforderliche Jodmenge (Mol.-Verhältnis α -Ketosäure:J₂ = 167:1) um einen, dem Enolgehalt der MBTS entsprechenden Betrag erhöht, so ergibt sich für die Entfärbungszeiten ein ganz ähnliches Bild wie bei der BTS.

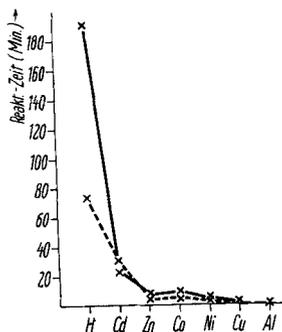


Abb. 1. Jodsubstitutionsgeschwindigkeit von Brenztraubensäure (—) und Methylbrenztraubensäure (---) in Gegenwart von Metallsalzen (Mol.-Verh. — Keto-säure: J₂ = 167:1, Reaktionstemperatur 25°)

Zur Messung der Anfangsgeschwindigkeit der Jodsubstitution wurden entsprechend der in unserer früheren Mitteilung³⁾ eingehend beschriebenen Methodik 2,5 mMol α -Ketosäure und 12,5 mMol Metallsalz in 100 cm³ Wasser gelöst und das Reaktionsgemisch nach Zugabe der für die Bestimmung der Entfärbungszeiten erforderlichen 0,3 cm³ n/10J₂/KJ-Lösung (im Falle der MBTS 0,33 (Enol-MBTS) + 0,3 cm³ n/10 J₂/KJ-Lösung) bei 25° ± 0,1° bis zur Entfärbung kolorimetriert.

Der pH der verwendeten α -Ketosäure-Metallsalz-Lösungen lag im Falle der BTS zwischen 1,82 (AlCl₃) und 2,31 (ZnSO₄), bei der MBTS zwischen

⁶⁾ Der einzige Fall, der Grund zur Annahme eines intermediär gebildeten BTS-Enol-Cu-Komplexes liefert, scheint dies zu bestätigen (E. GELLES u. R. W. HAY, J. chem. Soc. London 1958, 3673).

⁷⁾ J. SEIDLER, Diplomarbeit, Halle/S. (1960).

⁸⁾ R. LORENZ, Diplomarbeit, Halle/S. (1960), siehe auch CL. FROMAGEOT, M. PELLETIER u. P. EHRENSTEIN, Bull. Soc. chim. France [4] 51, 1283 (1932).

1,95 und 2,45. Auf eine Anwendung von Puffersystemen wurde, um den Einfluß fremder Substanzen auf den Substitutionsvorgang zu vermeiden, zunächst verzichtet. Der gesamte Metallioneneffekt spielt sich damit bei beiden Säuren innerhalb von 0,5 pH-Einheiten ab, wobei die pH-Werte der Metallionen-freien Lösungen etwa in der Mitte der genannten Bereiche (BTS: 2,08; MBTS: 2,19) liegen. Die durch Metallionen katalysierten Substitutionsvorgänge sind zwar gegen pH-Änderungen sehr empfindlich, jedoch beweist der ähnliche pH-Wert von BTS-AlCl₃ (1,82) und BTS-BaCl₂ (1,95, BaCl₂ ist als Komplexbildner nahezu unwirksam, es wurde daher in Abb. 1 nicht aufgeführt), daß sich die angeführten Ergebnisse keinesfalls durch einen pH-Effekt erklären lassen.

Der Enolgehalt der α -Ketosäure-Lösungen wird durch die Metallionen nicht beeinflußt. Die zur Messung der Substitutionsgeschwindigkeit den beiden α -Ketosäuren zugefügten 0,3 cm³ n/10 J₂/KJ-Lösung werden auch im Falle sehr aktiver Komplexbildner wie Aluminium und Kupfer in allen Phasen der Reaktion mit meßbarer Geschwindigkeit verbraucht, während die der enolisierten MBTS entsprechende Halogenmenge momentan addiert wird. Es ist somit offenbar nicht die Lage des Keto-Enol-Gleichgewichtes, sondern die Umlagerungsgeschwindigkeit der Keto- in die Enolform, die unter der Wirkung der Metallionen eine, dem Komplexbildungsvermögen entsprechende, teilweise sehr beträchtliche Änderung erfährt.

Wie aus Abb. 1 weiterhin hervorgeht, ist die Einführung einer Methylgruppe in das BTS-Molekül — vor allem in Gegenwart aktiver Komplexbildner, wie Zn, Co, Ni, Cu und Al — nur von relativ geringem Einfluß auf die Geschwindigkeit der Umlagerung.

2. Die pH-Abhängigkeit der Deuterierung von Brenztraubensäure und Methylbrenztraubensäure

Die Umwandlungsgeschwindigkeit der Keto- in die Enolform wird sowohl von Säuren, wie von Basen katalytisch beeinflußt. Um eine Entscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten herbeizuführen, wurde die pH-Abhängigkeit des H—D-Austausches der β -ständigen CH-Bindungen gemessen, da kinetische Untersuchungen mit Halogenen bei höheren pH-Werten mit Ungenauigkeiten behaftet sind. Zu diesem Zwecke wurden die Säuren eine bestimmte Zeit bei dem gewünschten pH der Einwirkung von D₂O ausgesetzt, anschließend als Oxim isoliert und nach Behandlung mit Diazomethan in Form der tetrachlorkohlenstofflöslichen Methylester in 1proz. Lösung ir-spektroskopisch vermessen. Die zunehmende Deuterierung läßt sich in einem linear mit der Zeit erfolgenden Anstieg der C—D-Bande bei 1280 cm⁻¹ (BTS) bzw. 1100 cm⁻¹ (MBTS, DBTS) gut verfolgen. In Tab. 1 sind

Tabelle 1

Abhängigkeit der Deuterierungsgeschwindigkeit von BTS, MBTS und DBTS vom pH des Reaktionsmediums bei $37 \pm 0,1^\circ$. Die linear mit der Zeit erfolgende Extinktionszunahme der gebildeten C—D-Banden (s. Text) wurde als $\tan x$ des Anstiegswinkels der Kurven eingetragen

BTS pH	(1280 cm^{-1}) $\tan x \cdot 10^{-4}$	MBTS pH	(1100 cm^{-1}) $\tan x \cdot 10^{-4}$	DBTS pH	(1100 cm^{-1}) $\tan x \cdot 10^{-4}$
1,36	4,82	1,48	10,80	1,32	5,60
2,76	4,00	3,66	3,30	2,14	3,36
3,25	1,43	5,94	1,15	4,36	0,43
6,25	0,80				

die $\tan x$ der Anstiegswinkel der erhaltenen Geraden für BTS, MBTS und DBTS in Abhängigkeit vom pH zusammengestellt.

Es zeigt sich eindeutig, daß die Deuterierungsgeschwindigkeit mit zunehmendem pH abnimmt, wie es von einer säurekatalysierten Umwandlung zu erwarten ist.

3. Der Einfluß von Metallionen auf die Deuterierungsgeschwindigkeit der Brenztraubensäure

Wenn, wie die im 2. Abschnitt beschriebenen Deuterierungsversuche in Abhängigkeit vom pH gezeigt haben, die Umwandlungsgeschwindigkeit der α -Ketosäuren in die Enolform säurekatalytisch beeinflussbar ist, so sollten

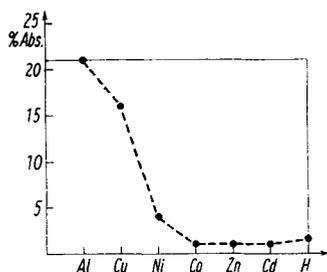


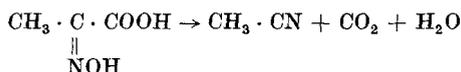
Abb. 2. Deuterierungsgeschwindigkeit von Brenztraubensäure in Gegenwart von Metallsalzen, gemessen an der Höhe der Extinktionsbande bei 1280 cm^{-1}

Metallionen in Analogie zu den Halogenierungsversuchen auch die Deuterierung der α -Ketosäuren erheblich beschleunigen. Nach der allgemeinen Ansicht, daß das Katalysator-Proton zunächst am Carbonylsauerstoff angreift und unter der Mitwirkung einer Hilfsbase (Wasser) die Verschiebung des Elektronensystems in Richtung der Enolform erzwingt, sollte dieser Effekt mit zunehmender Elektronenaffinität des Chelatbildners, grob gesagt also, mit steigendem Komplexbildungsvermögen des Metallions ansteigen. Die folgenden Untersuchungen zeigen, daß dies tatsächlich der Fall ist.

Während eine Lösung von reiner BTS in D_2O noch nach 25 Stunden bei einer Temperatur von 25° kaum einen Austausch der β -H-Atome zeigte, war in Gegenwart von $\text{Al}^{3\oplus}$ - und $\text{Cu}^{2\oplus}$ -Salzen bereits nach 30 Minuten ein erheblicher Teil der Säure deuteriert (s. Abb. 2). Eine weitere Ausdehnung der

Versuche über diesen Zeitraum von 30 Minuten hinaus war nicht möglich, da die vor allem in Gegenwart guter Komplexbildner mit großer Geschwindigkeit ablaufenden Kondensationsvorgänge zu einem raschen Verbrauch der eingesetzten Säure führten.

Um die Möglichkeit einer Verunreinigung der oximierten α -Ketosäuren durch diese Kondensationsprodukte auszuschalten, mußte die im 2. Abschnitt beschriebene Methodik geändert werden. Das nach Beendigung des Versuches durch Zugabe von Hydroxylamin-hydrochlorid dargestellte Oxim wurde durch Extraktion mit Äther aus dem Reaktionsgemisch entfernt und durch Erhitzen in Acetonitril übergeführt.



Das nach der Decarboxylierung zunächst anfallende Acetonitril-D₂O-Gemisch wurde über P₂O₅ getrocknet. Bei den ir-spektroskopischen Untersuchungen erwies sich das erhaltene Acetonitril als spektralrein und für quantitative Deuterierungsversuche sehr geeignet.

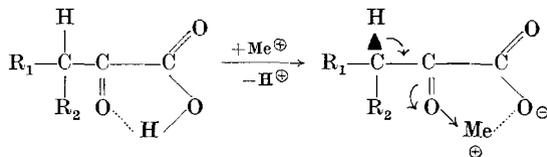
In Tab. 2 wurden die Ergebnisse unserer Untersuchungen zusammengefaßt:

Tabelle 2

Einfluß von Metallionen auf die Enolisierungsgeschwindigkeit der BTS, gemessen an der Deuterierungs- und Halogenierungsgeschwindigkeit. Die Aufzählung der Metallionen erfolgte in der von MELLOR und MALEY⁵⁾ angegebenen Reihenfolge fallender Komplexstabilitäten

Metall- ionen	Deuterierung				Halogenierung		
	Mol.-Verh. BTS: Metall- ionen	Mol.-Verh. BTS: D ₂ O	Reakt. Zeit (Std.n.)	Deuterie- rung (% Ab- sorpt. bei 1280cm ⁻¹)	Mol.- Verh. BTS: Metall- ionen	Mol.-Verh. BTS: J ₂	Zeit bis zur Ent- färbung der einge- setzten Jodmenge (Min.)
ohne	—	1:12	0,5	1,5	—	167:1	191,1
ohne	—	1:12	25,5	8	—	—	—
ohne	—	1:12	95,0	18	—	—	—
Al	6:1	1:12	0,5	21	1:5	167:1	0,03
Cu	4:1	1:12	0,5	16	1:5	167:1	0,17
Ni	4:1	1:12	0,5	5	1:5	167:1	4,00
Co	4:1	1:12	0,5	1	1:5	167:1	8,10
Zn	4:1	1:12	0,5	1	1:5	167:1	6,72
Cd	4:1	1:12	0,5	1	1:5	167:1	23,24

Es zeigt sich, daß der beschleunigende Einfluß von komplexaktiven Metallionen auf die Halogenierungs- und Deuterierungsgeschwindigkeit der β -CH-Bindung von α -Ketosäuren auf einer — sehr wahrscheinlich intramolekularen — Säurekatalyse der Enolisierungsgeschwindigkeit beruht. Je stärker die Elektronen des Carbonylsauerstoffes durch die Chelatbildner ($H < Cd < Zn < Co < Ni < Cu < Al$) beansprucht werden, desto rascher erfolgt bei konstantem pH die Umwandlung der „inerten“ Ketosäure in die reaktionsfähige Enolform.



Den Einfluß des pH-Wertes auf die Reaktionsfähigkeit der BTS-Metall-Komplexe werden wir in einer späteren Arbeit erörtern.

Beschreibung der Versuche

1. Bestimmung des Enolgehaltes der Methyl-brenztraubensäure

Der Bestimmung des Enolgehaltes wurde die von MEYER⁹⁾ beschriebene indirekte Titrationsmethodik zugrunde gelegt. Da uns der Enolgehalt in wäßriger Lösung interessierte, wurden 10 cm³ einer 0,25 m Lösung von MBTS mit 20 cm³ bzw. 100 cm³ Wasser versetzt und nach einigen Minuten (Gleichgewichtseinstellung) mit 1 cm³ einer 4proz. (Gewichtsprozent) methanolischen Bromlösung versetzt. Nach 3 Sekunden wurde das überschüssige Brom durch Zugabe von 1 cm³ 10proz. methanolischer β -Naphthollösung entfernt. Anschließend wurde mit überschüssiger KJ Lösung versetzt, erwärmt und das in Freiheit gesetzte Jod mit n/10 Thiosulfatlösung titriert. Der Gehalt der methanolischen Bromlösung wurde vor jedem Versuch erneut getestet. Der Verdünnungsgrad der wäßrigen MBTS-Lösung hat auf den Enolgehalt innerhalb der untersuchten Konzentrationen keinen Einfluß. (Titration der wäßrigen MBTS mit n/10 J₂/KJ-Lösung bis zur bleibenden Braunfärbung lieferte das gleiche Ergebnis.)

2. Der Einfluß von Metallionen auf die Umsetzungsgeschwindigkeit der Methylbrenztraubensäure mit Jod

Die Versuchsmethodik wurde in einer früheren Arbeit³⁾ eingehend dargelegt. Entsprechend dem Enolgehalt der MBTS von 0,66% wurden die zur Messung der Substitutionsgeschwindigkeit zugefügten 0,3 cm³ n/10 J₂/KJ-Lösung um die dem Enolgehalt entsprechende Halogenmenge (0,33 cm³) vermehrt.

3. Deuterierungsgeschwindigkeit der α -Ketosäuren in Abhängigkeit vom pH

Etwa 500 mg der α -Ketosäure wurden mit 50 cm³ D₂O, das vorher mit NaOH auf einen pH-Wert gebracht worden war, der nach Vereinigung mit der Säure den gewünschten

⁹⁾ K. H. MEYER u. P. KAPPELMEIER, Ber. dtsh. chem. Ges. 44, 2720 (1911).

pH ergibt, vereinigt. Nach erfolgter Temperierung wurde der pH-Wert exakt bestimmt. Zur Bestimmung des Deuterierungsgrades wurden nach Ablauf der Versuchszeit dem Reaktionsgefäß 10 cm³ Lösung entnommen und mit 100 mg festem Hydroxylamin-hydrochlorid vereinigt. Nach Auflösung der Kristalle wurde 1 Minute stehengelassen, dann dreimal mit je 10 cm³ Äther extrahiert. Der Rückstand des Extraktes wurde über Ätzkali im Vakuum getrocknet, aus Toluol umkristallisiert, anschließend in 15 cm³ Äther gelöst und unter Kühlung mit ätherischer Diazoäthan-Lösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt. Nach Abdampfen des Äthers wurde der Rückstand abermals im Vakuum über Ätzkali getrocknet und aus Petroläther (Fraktion 30—60° für BTS, 60—70° für MBTS und DBTS) umkristallisiert. Das erhaltene Produkt wurde in 1proz. Lösung von Tetrachlorkohlenstoff IR-spektroskopisch vermessen. Ein besonderer Vorteil dieses Verfahrens ist, daß es sich zur Untersuchung der Deuterierungsgeschwindigkeit unter biochemischen Bedingungen eignet.

4. Deuterierung der Brenztraubensäure in Gegenwart von Metallsalzen

a) Allgemeine Vorschrift: 10 g BTS, gelöst in 25 cm³ D₂O, wurden eine der Dauer des Versuches entsprechende Zeit im Thermostaten bei 25° aufbewahrt. Anschließend wurden 13 g Hydroxylamin-hydrochlorid, gelöst in 20 cm³ Wasser, zugefügt und nach einer Minute gründlich ausgeäthert. Nach Abdunsten des Äthers wurde der kristallisierte Rückstand im Vakuum über Ätzkali getrocknet. Ausbeute an rohem BTS-Oxim: 8,8 g.

Die Zersetzung des Oxims wurde in einer Mikrodestillationsapparatur vorgenommen, wobei das entstehende Acetonitril D₂O-Gemisch laufend abdestilliert und in einer mit gekörntem Calciumchlorid beschickten Vorlage aufgefangen wurde. Nach etwa 1 Stunde wurde das Acetonitril, das sich in einer Schicht über der konzentrierten CaCl₂-Lösung abgeschieden hatte, abdestilliert. Sdp. 77—80°. Ausbeute an Rohprodukt: 2,40 g. Dieses wurde abermals 1 Stunde über CaCl₂ getrocknet, abdestilliert und über Nacht, mit P₂O₅ versetzt, stehengelassen. Die endgültige Destillation lieferte das Acetonitril spektralrein in einer Ausbeute von etwa 0,9 g.

b) Versuche in Gegenwart von Metallsalzen: Für die in Gegenwart von Metallsalzen durchgeführten Versuche wurden wiederum 10 g BTS mit 10 cm³ D₂O versetzt. Diese Lösung wurde zu Beginn des Versuches mit einer auf 25° temperierten Lösung von Metallsulfat in 15 cm³ D₂O (Molverhältnisse s. Tab. 2) vereinigt. Nach Ablauf der Versuchsdauer (30 Minuten) wurde in der unter a) beschriebenen Weise aufgearbeitet.

Im Unterschied zu den metallionfreien Ansätzen verblieb bei diesen Versuchen bei der thermischen Zersetzung ein geringfügiger Rückstand, der auf — unter dem Einfluß der Metallionen gebildete — Kondensationsprodukte zurückzuführen ist.

Zur Sicherung der Ergebnisse wurden daher 7,7 g analysenreines Meta-BTS-Oxim nach 30 Minuten Deuterierung in 25 cm³ D₂O auf gleiche Weise, wie bei den metallsalzhaltigen Ansätzen aufgearbeitet. Die Bildung von Acetonitril konnte für diesen Fall mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

5. Apparaturen

Die IR-Spektren wurden mit einem Ultrarot-Spektralphotometer UR 10 der Firma VEB Carl Zeiss, Jena, (Schichtdicke 0,037 mm), aufgenommen.

Herrn Prof. Dr. W. LANGENBECK danken wir für das freundliche Interesse, das er diesen Untersuchungen entgegengebracht hat.

Halle (Saale), Institut für Organische Chemie der Martin-Luther-Universität.

Bei der Redaktion eingegangen am 16. November 1963.