

REACTIVITE DE BENZOTRIAZOLES VIS-A-VIS DE L'ACETATE DE P-NITROPHENYLE.  
HYDROLYSE DE L'ACETYL-1 BENZOTRIAZOLE.

M. Ravaux<sup>(\*)</sup>, M. Laloi-Diard et M. Vilkas

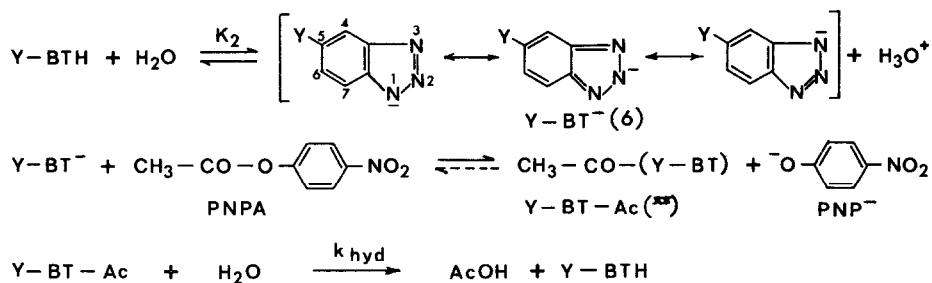
Laboratoire de Chimie Organique Biologique, Université Paris-Sud,  
Centre d'Orsay, Bâtiment 420, 91 - Orsay, France.

(Received in France 24 September 1971; received in UK for publication 26 September 1971)

Dans le but d'élucider le rôle joué par le noyau imidazole de l'histidine dans l'action catalytique des estérases telles que la chymotrypsine, de nombreux travaux ont été consacrés à l'étude de la catalyse nucléophile de l'hydrolyse de l'acétate de p-nitrophényle par l'imidazole et ses dérivés (1) et, d'une manière générale, à la catalyse nucléophile des transferts d'acyle par diverses amines hétérocycliques (2).

Les benzotriazoles, qui présentent une structure isoélectronique avec celle de l'imidazole, nous ont paru particulièrement intéressants à ce point de vue : la rupture facile de la liaison N-H de ces composés, due au caractère quasi aromatique de l'hétérocycle (3) ( $pK_2 = 8,34$  pour le benzotriazole non substitué dans l'eau), nous a conduit à étudier la catalyse de l'hydrolyse de l'acétate de p-nitrophényle (PNPA) par des benzotriazoles diversement substitués en position 5 (Y-BTH). Le benzotriazole (Y=H) et plusieurs triazoles ont été étudiés par Overberger et Yuen (4) qui ont montré que leur action catalytique est due uniquement à l'action de l'anion triazolure. Il s'agit vraisemblablement d'une catalyse nucléophile; les N-acétyltriangles ainsi formés s'hydrolysent ensuite en raison de la grande réactivité des azolides. (3, 5).

Dans notre cas, le processus réactionnel est le suivant :



(\*) Ce mémoire constitue une partie de la Thèse de Doctorat ès-Sciences de Mlle Ravaux, n° d'ordre C. N. R. S. : A. O. 6151.

(\*\*) Bien que l'acétylation du benzotriazole par le chlorure d'acétyle dans le benzène conduise uniquement au dérivé acétylé en N-1, nous ne pouvons pas préciser la structure de Y-BT-Ac, cet intermédiaire ne s'accumulant pas dans les conditions de nos mesures.

Pour chaque nucléophile, l'étude cinétique a été conduite à différents pH. La vitesse de la réaction est déterminée en suivant par spectrophotométrie l'apparition de l'anion p-nitrophénate à 400 nm (Cary 15). Le benzotriazole étant en excès, la vitesse de la réaction est :

$$v = \frac{d[\text{PNP}^-]}{dt} = -\frac{d[\text{PNPA}]}{dt} = k_{\psi}[\text{PNPA}] = \left\{ k_n[\text{Y-BT}^-] + k_{\text{solv}} \right\} [\text{PNPA}]$$

$k_{\psi}$  est la constante de vitesse de pseudo premier ordre,  $k_n$  et  $k_{\text{solv}}$  étant respectivement les constantes de vitesse en présence et en l'absence de benzotriazole.

**Tableau I.** Constantes de vitesse  $k_n$  de la réaction nucléophile de Y-BT<sup>-</sup> sur PNPA à 25°C dans 28,5% v/v éthanol-eau, force ionique 0,4.

	5-NO <sub>2</sub>	5-Cl	H	5-Me	5-NH <sub>2</sub>
pK <sub>2</sub> a)	6,34	7,77	8,65	8,93	9,40
k <sub>n</sub> b)	0,13 <sub>3</sub>	1,63	4,10 c)	5,50	8,40

- a) pK<sub>2</sub> déterminés par dosages potentiométriques dans les mêmes conditions que l'étude cinétique. b) k<sub>n</sub> en l. mole<sup>-1</sup>. s<sup>-1</sup>. c) valeur en accord avec celle de la littérature (4).

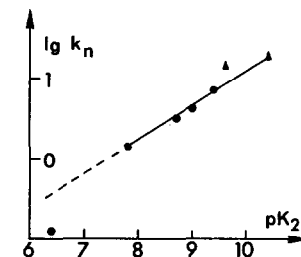


fig. 1. Relation entre  $\lg k_n$  et  $pK_2$   
● benzotriazoles  
▲ 1, 2, 3 triazoles (4)

La figure 1 montre qu'il existe une relation linéaire du type Brønsted entre  $\lg k_n$  et le pK de l'acide conjugué du nucléophile ( $pK_2$ ) :

$$\lg k_n = \beta pK_2 + \lg C \quad \text{avec } \beta = 0,5$$

Le dérivé nitré, seul à présenter une possibilité de délocalisation par conjugaison de la charge négative de l'anion entre le cycle triazole et le substituant, se place au-dessous de la droite de corrélation. La comparaison des valeurs des constantes de nucléophilie obtenues pour les benzotriazoles avec celles obtenues pour d'autres séries de nucléophiles vis-à-vis du même substrat, dans les mêmes conditions de température et de solvant, montre que les anions benzotriazolure présentent, comme les imidazoles (forme neutre) (1a), une nucléophilie très exaltée et qui est voisine de celle de ces derniers. Les anions triazolure-1, 2, 3 (4) se situent au voisinage de la droite obtenue. Cependant, la nucléophilie des anions benzotriazolure est moins sensible à la basicité que celle des imidazoles [ $\beta = 0,5$  au lieu de  $0,80$  (1a)]. Si l'on admet la valeur  $\beta = 1,7$  pour un transfert total d'acétyle (7), on voit que, dans l'état de transition, la liaison entre l'azote de Y-BT<sup>-</sup> et le carbone du carbonyle est peu formée et qu'il n'y a qu'une faible modification de charges (degré d'avancement de la réaction  $0,5/1,7$ ); ce comportement est caractéristique des bons nucléophiles.

La disparition rapide des N-acétylbenzotriazoles, formés intermédiairement dans la réaction précédente, nous a conduit à étudier la cinétique comparée de l'hydrolyse et de l'aminolyse de l'acétyl-1 benzotriazole non substitué, AcBT.

Les dérivés acylés, phosphorylés et sulfonylés des bases hétérocycliques (azoles, pyridines...) sont des composés en général facilement hydrolysables (3) mais dont l'aminolyse, beaucoup plus rapide que l'hydrolyse (2a et b, 8), peut être rendue préparative en milieu aqueux (9). L'acétylbenzotriazole pourrait donc éventuellement servir d'agent d'acétylation des amines et d'autres nucléophiles en milieu aqueux, au même titre que l'acétylimidazole par exemple (10). Dans le tableau II et la figure 2, nous présentons nos résultats concernant la variation de la vitesse d'hydrolyse de l'acétyl-1 benzotriazole en fonction du pH.

L'expression de la vitesse d'hydrolyse est la suivante :

$$v = - \frac{d[\text{AcBT}]}{dt} = k_{\text{hyd}} [\text{AcBT}]$$

Tableau II. Constante de vitesse d'hydrolyse de AcBT à 25°, force ionique 0,1 (KCl) a)

pH	1,18	2,06	3,01	4,05	5,05	6,07	7,14	7,52	7,72	7,86	8,02	8,20	8,51	8,75	8,95
$k_{\text{hyd}} 10^4$ b)	1,78	1,27	1,23	1,23	1,29	1,35	2,03	2,79	4,27	5,61	7,30	11,3	17,8	40	58,3

a) A  $\text{pH} \leq 6,07$ ,  $k_{\text{hyd}}$  est extrapolé à concentration nulle en tampon; la réaction est suivie en UV par disparition de AcBT à 300 nm (2% dioxanne). A  $\text{pH} \geq 7,14$ , la réaction est suivie au pH-stat (4% dioxanne). b)  $k_{\text{hyd}}$  en  $\text{s}^{-1}$ .

fig. 2. Variation de la vitesse d'hydrolyse en fonction du pH à 25°, 28,5% v/v éthanol-eau.

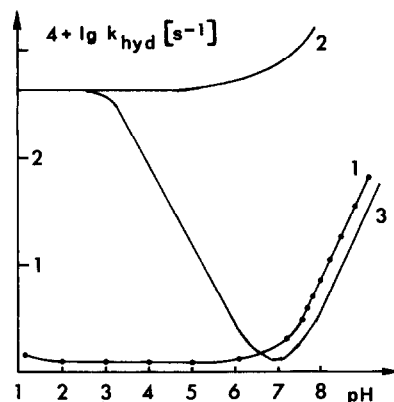
1. Acétylbenzotriazole
2. Acétyl-1 méthyl-3 imidazolium (11)
3. Acétylimidazole (2a).

Pour les pH supérieurs à 2,  $k_{\text{hyd}}$  suit la relation :

$$k_{\text{hyd}} = 1,23 \cdot 10^{-4} + 5,60 \cdot 10^2 [\text{HO}^-]$$

De pH 2 à pH 5, la vitesse d'hydrolyse est indépendante du pH : ceci correspond à la réaction de l'eau sur l'acétylbenzotriazole ( $k_0 = 1,23 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ), la catalyse par les ions hydronium ne commençant qu'à pH inférieur à 2. De plus, dans cette zone de pH, aucune catalyse acide n'a été observée en présence de tampon (citrate et succinate). A partir de pH 5, AcBT réagit à la fois sur l'eau et l'ion hydroxyle; la réaction avec ce dernier devient prépondérante à pH 7,50. La catalyse par les tampons est importante (pour le tampon tris,  $k_{\text{cat}} = 0,13 \text{ l mole}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ).

La variation de la vitesse d'hydrolyse de l'acétylbenzotriazole en fonction du pH présente beaucoup d'analogies avec celle de l'ion acétyl-1 méthyl-3 imidazolium  $\text{AcImMe}^+$  (11) (fig. 2 courbe 2), AcBT réagissant environ 350 fois moins vite dans la zone indépendante du pH que l'ion  $\text{AcImMe}^+$ . Elle est par contre très différente de celle de l'acétylimidazole (2a) (fig. 2 courbe 3), où, pour les pH inférieurs à 7, la catalyse acide devient très importante, l'équation de vitesse comprenant alors un troisième terme correspondant à l'action de l'eau sur la



forme protonée de l'acétylimidazole ( $\text{AcImH}^+$ ). Les résultats obtenus montrent qu'une telle protonation préalable ne semble pas se produire dans le cas de l'acétylbenzotriazole. En effet, le  $\text{pK}$  de protonation du benzotriazole ( $\text{pK}_1 = 1,6$ )(12) est très inférieur à celui de l'imidazole ( $\text{pK}_1 = 7$ ) et l'anion benzotriazolure ( $\text{pK}_2 = 8,34$ ) est un bien meilleur groupe partant que l'anion imidazolure ( $\text{pK}_2 = 14$ ).

Il en ressort que si à pH 7 AcBT ( $k_{\text{hyd}} = 1,95 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ) est aussi réactif que l'acétylimidazole ( $k_{\text{hyd}} = 1,32 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ )(2a), à pH inférieur à 7, sa stabilité est beaucoup plus grande, ce qui peut être avantageux dans l'utilisation pratique de ce composé comme agent de blocage des amines ou d'autres nucléophiles en milieu aqueux. L'étude de l'aminolyse de ce composé est actuellement en cours. Les premiers résultats obtenus montrent que l'aminolyse de l'acétylbenzotriazole par le glycinate d'éthyle est quantitative et se fait environ 200 fois plus vite que l'hydrolyse à pH 7,91, à 5° et à une concentration en amine libre de 0,14 M.

#### Références

1. a) T. C. Bruice et G. L. Schmir, J. Amer. Chem. Soc., **80**, 148 (1958).  
b) M. L. Bender et B. W. Turnquest, J. Amer. Chem. Soc., **79**, 1652, 1656 (1957).
2. W. P. Jencks et J. Carriuolo, J. Biol. Chem., **234**; a) 1272, b) 1280 (1959),  
c) D. G. Oakenfull et W. P. Jencks, J. Amer. Chem. Soc., **93**, 178, 188 (1971).
3. H. A. Staab et W. Rohr, in Newer Methods of Preparative Organic Chemistry, vol. **5**, p. 61, W. Foerst, Ed., Academic Press, New York, 1968.
4. C. G. Overberger et P. S. Yuen, J. Amer. Chem. Soc., **92**, 1667 (1970).
5. H. A. Staab, Chem. Ber., **90**, 1320 (1957).
6. J. E. Fagel et G. W. Ewing, J. Amer. Chem. Soc., **73**, 4360 (1951).
7. J. Gerstein et W. P. Jencks, J. Amer. Chem. Soc., **86**, 4655 (1969).
8. W. P. Jencks, Catalysis in Chemistry and Enzymology, McGraw Hill, 1969, p. 604.
9. a) E. Guibé-Jampel, M. Wakselman et M. Vilkas, Bull. Soc. Chim., 1308 (1971).  
b) E. Guibé-Jampel, G. Bram et M. Vilkas, Tetrahedron Letters, 3541 (1969).  
c) C. Jozefczak, G. Bram et M. Vilkas, C. R. Acad. Sci., **271** (C), 553 (1970).  
d) E. Guibé-Jampel et M. Wakselman, Chem. Comm., 267 (1971).
10. R. T. Simpson, J. F. Riordan, B. L. Vallee, Biochem., **2**, 616 (1963);  
J. F. Riordan, W. E. C. Wacker, B. L. Vallee, Biochem., **4**, 1758 (1965).
11. R. Wolfenden et W. P. Jencks, J. Amer. Chem. Soc., **83**, 4390 (1961).
12. D. D. Perrin, Dissociation constants of organic bases in aqueous solution, IUPAC (1965).