

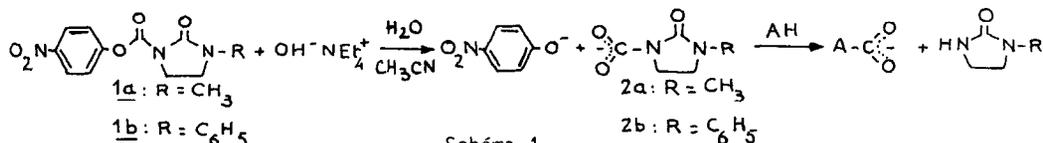
HYDROLYSE BASIQUE ET DECARBOXYLATION D'ESTERS ALLOPHANIQUES EN
 MILIEU MIXTE ACETONITRILE-EAU : CATALYSE BIFONCTIONNELLE PAR
 UNE ENTITE FORMEE ENTRE BASE ET SOLVANT

Par E. MONNIER[†], A. KLAEBE^{††}, J.J. PERIE[†]
 + E.R.A. n° 264 - ++ E.R.A. n° 926

UER-PCA - Bât.II.R1 - Université Paul Sabatier
 118, route de Narbonne - 31062 Toulouse Cédex

Abstract - Base catalysed hydrolysis of allophanic esters-models of carboxybiotin- in acé-
 tonitrile/water mixture, shows a sharp increase in rate constant in the range of 0.1-0.3 M
 in water, with a maximum which is interpreted as a balance between two desolvation terms,
 one concerning the nucleophile, the other the anionic transition state. Moreover, in aceto-
 nitrile/water mixtures at low water content ($2 \cdot 10^{-2}$ M), a fast hydrolysis ($k_{exp} \approx 0.5 \text{ s}^{-1}$ at
 20 °C) of allophanic esters (carboxy-biotin models) is observed due to catalysis by the eno-
 late of acetamide. This species also catalyses the decarboxylation step, likely behaving as
 a bifunctional catalyst.

L'hydrolyse baso-catalysée d'esters allophaniques cycliques du type **1** constitue une mo-
 délisation possible de la réaction de transfert du groupement carbonate dans les réactions de
 carboxylation enzymatiques réalisées par les enzymes à biotine (schéma 1), réaction dont le
 mécanisme demeure mal compris ¹.



A titre d'exemple la première étape de la biosynthèse des acides gras met en jeu un
 transfert de carboxyle d'une carboxybiotine à l'accepteur acétyl-CoA transformé en malonyl-
 CoA. Les résultats décrits ici sont relatifs à l'hydrolyse du substrat **1a** en milieu acéto-
 nitrile/eau progressivement appauvri en eau, milieu choisi en raison de sa meilleure conformité
 avec le caractère hydrophobe du site dans lequel a lieu la réaction enzymatique.

Les mesures cinétiques sont faites en suivant en spectroscopie U.V. la disparition du
 substrat (10^{-5} M) et l'apparition de l'ion paranitrophénate dans des mélanges eau/acéto-
 nitrile pour lesquels la molarité en eau varie de 55,5 M à $2 \cdot 10^{-2}$ M et en présence de la base
 hydroxyde de tétraéthylammonium ($5 \cdot 10^{-4}$ M), à 20 °C.

Résultats et interprétation

Nous observons une forte dépendance de la constante de vitesse avec la composition du
 binaire eau/acéto- nitrile (Fig. 1) et de l'ordre de la réaction (Fig. 2).

Dans la zone de molarités en eau comprises entre 0,3 à 0,1 M la constante de vitesse
 passe par un maximum très aigu, qui correspond à une valeur au moins 10^3 fois supérieure à
 celle obtenue dans l'eau ².

Pour des concentrations comprises entre 0,1 et 0,02 M, la constante décroît et se sta-
 bilise à une valeur qui reste 10 fois supérieure à la valeur obtenue dans l'eau.

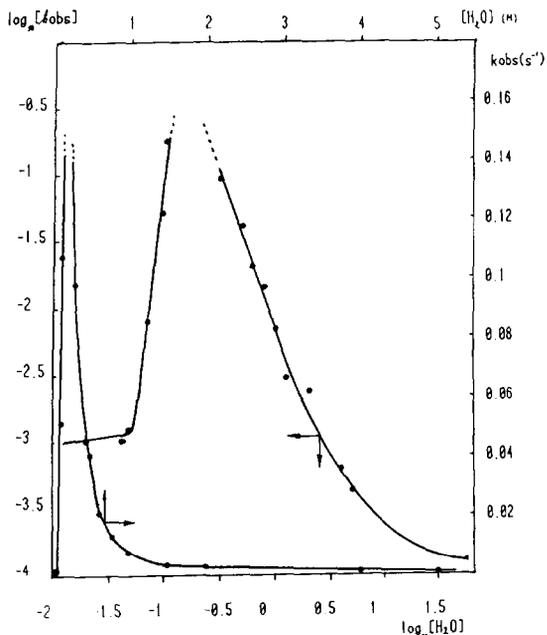


Figure 1 : Variation de la constante de vitesse expérimentale et de son \log_{10} en fonction de la concentration en eau¹⁰ ou de $\log_{10} [\text{H}_2\text{O}]$ dans le milieu $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$.
 20°C ; $[\text{Et}_4\text{N}^+\text{OH}^-] = 5.10^{-4} \text{ M}$; substrat $[1a] = 10^{-5} \text{ M}$

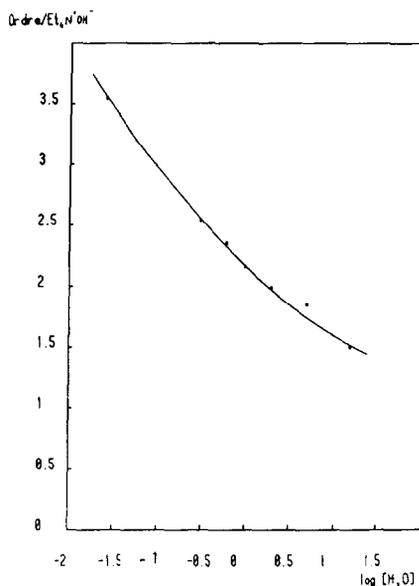


Figure 2 : Variation de l'ordre par rapport à $\text{OH}^-\text{NEt}_4^+$ en fonction de $\log_{10} [\text{H}_2\text{O}]$ de la réaction d'hydrolyse de 1a dans le mélange $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$.

Comme nous l'avons montré³, l'hydrolyse basique des allophanates en milieu aqueux se fait comme celle des carbamates, proches en structure⁴, selon un mécanisme $\text{B}_{\text{AC}}2^5$; dans ces conditions le passage d'un solvant protique à aprotique doit provoquer deux effets antagonistes : 1 - Une augmentation de la réactivité du nucléophile puisque celui-ci est de moins en moins solvaté par liaison hydrogène au fur et à mesure que le pourcentage en eau du milieu diminue⁶.

2 - Une désolvatation de l'état de transition ayant pour effet de ralentir la réaction. C'est de ce compromis que résulte, selon les cas, soit une accélération (cas du mélange DMSO/eau, où le terme désolvatation du nucléophile prédomine, le milieu restant polaire)³, soit un ralentissement (cas du mélange eau/dioxane) pour lequel le second effet l'emporte⁷. Un élément d'interprétation complémentaire est lié au pK du paranitrophénol qui passe de 7,2 à 20,7 de H_2O à CH_3CN ; l'ion paranitrophénate devenant dans ces conditions mauvais groupement partant entraîne un changement de l'étape lente. De plus les valeurs non entières de l'ordre (fig. 2) par rapport à l'hydrolyse de tétraéthylammonium permettent d'envisager la formation d'agrégats qui peuvent être responsables d'un effet catalytique⁸.

Réaction d'hydrolyse catalysée par une entité formée entre base et solvant (substrat 1a, 20°C)

Dans le domaine des concentrations en eau dans l'acétonitrile comprises entre 0,2 et 0,02 M dans lequel est réalisée l'hydrolyse du schéma 1, deux séries de résultats sont observées suivant les conditions dans lesquelles est utilisée la solution de base $\text{Et}_4\text{N}^+\text{OH}^-$:

a - Les résultats décrits ci-dessus relatifs à des réactions dans lesquelles la base OH^- est le catalyseur (constantes de vitesse d'hydrolyse 10^{-3} s^{-1} mesurées 30 minutes après préparation du milieu réactionnel).

b - Des constantes de vitesse beaucoup plus élevées (estimées supérieures à $0,5 \text{ s}^{-1}$) sont observées quand la mesure est faite immédiatement après préparation de la solution. Dans ce second cas il y a formation d'une entité réactive entre base et acétonitrile responsable de la réactivité élevée observée. Une solution aqueuse saturée d'hydroxyde de tétraéthylammonium après dilution dans l'acétonitrile ($[\text{OH}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{H}_2\text{O}] = 1,7 \cdot 10^{-2} \text{ M}$) constitue le milieu réactionnel d'hydrolyse. L'évolution de son spectre U.V montre un épaulement à 215 nm qui disparaît progressivement et une bande à 245 nm. Par ailleurs l'addition d'eau à cette solution fait immédiatement disparaître la bande à 215 nm.

Nature de l'espèce réactive

L'espèce absorbant à 215 nm correspond à l'addition d'un ion OH^- sur l'acétonitrile, première étape de l'hydrolyse basique des nitriles ⁹.

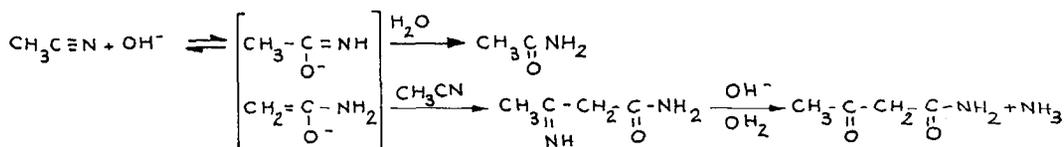


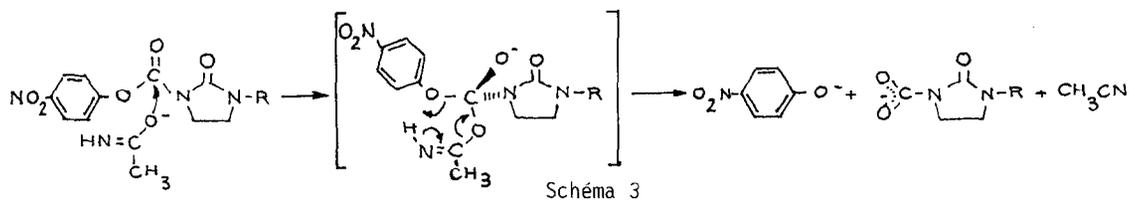
Schéma 2

Cette structure énolate s'accumule dans ce milieu de faible concentration en eau et réagit sur cette dernière pour donner l'acétamide qui est connu comme étant une impureté de l'acétonitrile ¹⁰ du fait de cette hydrolyse partielle.

Le schéma 2 est confirmé par le fait que le spectre U.V d'une solution d'acétamide dans l'acétonitrile sur laquelle on fait réagir la base $\text{OH}^- + \text{NEt}_4^+$ à la même concentration, est identique à celui du milieu réactionnel (bandes à 215 et 245 nm).

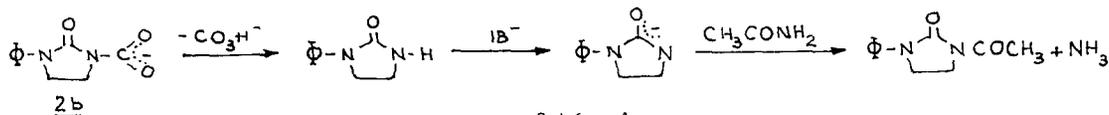
La bande à 245 nm ne correspond pas à l'acétamide (qui absorbe peu dans l'U.V) mais au produit résultant de l'addition de l'énolate sur une autre molécule d'acétonitrile : l'acétylacétamide (schéma 2). Ce dernier produit est caractérisé par son spectre de masse ($M^+ = 101$) et par son spectre U.V ¹¹. La concentration en énolate peut être estimée en déterminant, par approches successives, la concentration en substrat à partir de laquelle peuvent être distinguées les deux vitesses d'hydrolyse (celle due à l'énolate et celle due à l'ion OH^-). Cette mesure donne une valeur de $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$. Cette valeur non négligeable devrait d'ailleurs être prise en considération pour toute réaction réalisée par une base dans l'acétonitrile considéré comme sec.

Il est à priori surprenant que cet ion énolate soit meilleur catalyseur basique que l'ion OH^- puisque sa charge est plus délocalisée et sa concentration moindre. Une interprétation vraisemblable est que cet ion énolate réagit en tant que catalyseur bifonctionnel (schéma 3) ¹².



Réaction de décarboxylation de l'intermédiaire 2 (substrat 1b, 20 °C)

Cette réaction qui correspond à la décarboxylation du produit 2b (schéma 1) constitue une bonne modélisation de la réaction enzymatique de transfert de carboxyle. La réaction rapide d'hydrolyse de l'ester catalysée par l'énolate de l'acétamide (disparition de la bande du substrat à 253 nm, apparition de la bande paranitrophénate à 428 nm) est suivie d'une cinétique plus lente (disparition de la bande à 269 nm formée après l'étape d'hydrolyse et apparition d'une nouvelle bande à 247 nm, avec une constante de vitesse $k_{\text{obs}} = 7 \pm 0,2 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ (concentration initiale en base $5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$). Par ailleurs, on note le même type de modification du spectre U.V dans celui de la N-phényl imidazolidine traitée par Et_4OH^+ (même concentration même $k_{\text{obs}} = 6,9 \pm 0,2 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$). La réaction commune est :



Ce résultat signifie que la vitesse de décarboxylation de l'acide allophanique 2b (1° étape, schéma 4) est au moins 10 fois supérieure à celle de la réaction suivie (2° étape schéma 4) puisque la constante de vitesse n'est pas modifiée par rapport à la valeur obtenue avec la réaction de référence, celle de la N-phénylimidazolidone. La constante de vitesse de décarboxylation peut donc être estimée à une valeur de l'ordre de 10^{-1} s^{-1} .

La valeur observée ici, est donc supérieure d'un facteur de l'ordre de 10^3 à celles précédemment indiquées ¹³ vraisemblablement liée à une décarboxylation bimoléculaire.

BIBLIOGRAPHIE ET NOTES

- 1 - M.J. WINNER, I.A. ROSE, Ann. Rev. Biochem., 47, 1031 (1978).
- 2 - Ce maximum ne peut être qu'estimé car très aigu.
- 3 - E. MONNIER, Thèse Ing. Docteur, n° 806, Toulouse 1982
E. MONNIER, A. KLAEBE, J. PERIE, Tetrahedron, à paraître.
- 4 - T.C. BRUICE, S.J. BENKOVIC, J. amer. chem. Soc., 86, 418 (1964).
- 5 - P. ADAMS, F.A. BARON, Chem. Rev., 65, 567 (1965).
- 6 - A.J. PARKER, Chem. Rev., 69, 1 (1969).
- 7 - C.H. BAMFORD, C.F.H. TIPPER, "Comprehensive chemical kinetics", 10, p. 182, Elsevier, Amsterdam (1972).
- 8 - Y. POCKER, D.L. ELLSWORTH, J. amer. chem. Soc., 99, 2284 (1977).
- 9 - J.H. HALL, M. GISLER, J. org. Chem., 41, 23 (1976).
- 10 - D.R. BURFIELD, K.H. LEE, R.H. SMITHERS, J. org. Chem., 42, 3060 (1977).
- 11 - Z. BUKAC et J. SEBENDA, Collection Czechoslov. Chem. Comm., 31, 3315 (1966).
- 12 - K.B. SCHOWEN, M. Mc KAY, J. NISLY, Bull. Soc. chim. Belg., 91, 384 (1982).
- 13 - M. CAPLOW, M. JAGER, J. amer. chem. Soc., 87, 5774 (1965).
H. KONDO, K. MIURA, J. SUNAMOTO, Tetrahedron Letters, 659 (1982).

(Received in France 2 February 1983)