

Tabelle 1. Gleichgewichtskonstanten der Addition einiger Nucleophiler an Pyruvamid und Pyruvamid- β -d, bei $25 \pm 0.2^\circ\text{C}$

| Nucleophil | pH | c_N (Mol/l) | K_o^H (1/Mol) | K_o^D (1/Mol) | K_o^H/K_o^D | Reprod. |
|--|-----|---------------|-----------------------|-----------------------|-----------------|---------|
| Wasser | 4.7 | 55.5 | 0.75/55.5 | 0.87/55.5 | 0.87 - 0.01 | 40 |
| CH ₃ OH | — | 24.7 | 4.40×10^{-2} | 5.19×10^{-2} | 0.85 ± 0.04 | 10 |
| C ₂ H ₅ OH | — | 17.2 | 2.01×10^{-2} | 2.28×10^{-2} | 0.88 ± 0.04 | 10 |
| β -Mercaptoäthanol | 5.6 | 0.2-0.5 | 5.9 | 6.7 | 0.88 ± 0.06 | 8 |
| HS-CH ₂ -COOCH ₃ | 5.6 | 0.02-0.04 | 12.8 | 14.7 | 0.87 ± 0.05 | 10 |
| Semicarbazid | 6.2 | 0.01-0.03 | 80.1 | 112 | 0.73 ± 0.08 | 16 |
| Hydroxylamin | 6.2 | | 135 | 172 | 0.79 ± 0.05 | 10 |

aber erheblich über dem BTS-Anion liegt ($K_{H,SO} = 0.053/55.5 \approx K_{NH,OH} = 57^{10}$). Mit dem Parameter γ , einem Mass für die Affinität eines Nucleophilen zur Carbonylgruppe,¹² sind die $\lg K_o$ -Werte der isotopen PA linear korrelierbar (Gl.4 und 5).

$$\lg K_o^H = 1.0\gamma + 0.1 \quad (4)$$

$$\lg K_o^D = 1.0\gamma + 0.2 \quad (5)$$

Diese Korrelationen werden auch von N-Nucleophilen erfüllt, was auf ein Additionsverhalten ähnlich dem der aromatischen Aldehyde und verschieden von dem des Formaldehyds hinweist.¹² Der Anstieg der Korrelationsgeraden ($\Delta = 1.0$; $r = 0.99$) zeigt, dass die Sensibilität der α -Carbonylgruppe des PA gegenüber den Nucleophilen sich nicht von der des Formaldehyds bzw. *p*-Chlorbenzaldehyds unterscheidet.¹²

Der Isotopeneffekt auf die Additions-gleichgewichte ist erwartungsgemäss invers ($K_H/K_D < 1$).¹¹ Weitgehende Änderungen der sterischen Eigenschaften und der Stärke des Nucleophilen lassen trotz beträchtlicher Unterschiede in den Additionskonstanten den Isotopeneffekt nahezu unbeeinflusst. Nichtbindende Wechselwirkungen des Substituenten mit der isotopen Bindung können damit nicht für die Grösse des Effektes verantwortlich gemacht werden.

Erwartungsgemäss findet man für N-Nucleophile ein kleineres K_H/K_D als für S- und O-Verbindungen.^{14,15}

(b) Kinetische Untersuchungen

Für die allgemeine Säure- und allgemeine Basen-Katalyse der nucleophilen Addition von H₂O an die α -Carbonylgruppe des PA gilt Gl. (6).

$$k_1 = k_0 + k_{H_2O} \cdot [H_2O] + k_{OH} [OH^-] + k_{HA} [HA] + k_A [A^-] \quad (6)$$

Bei Acetationenkonzentrationen < 0.02 m und Essigsäurekonzentrationen < 0.1 m sind nur katalytische Beiträge der H₂O- und OH⁻-Katalyse zu beobachten. Protonenkatalytische Terme treten, wie bei allen bisher untersuchten Carbonylreaktionen an BTS-Derivaten

demgegenüber in den Hintergrund. In Tabelle 2 sind einige der in Acetatpuffer erhaltenen Geschwindigkeitskonstanten 1. Ordnung der PA-Hydratation aufgeführt.

Tabelle 2. Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten der Hydratation von Pyruvamid (k_1^H) und Pyruvamid- β -d, (k_1^D) von der Acetatpufferkonzentration

| HAc (Mol/l) | Ac (Mol/l) | pH | K_1^H (min ⁻¹) | k_1^D (min ⁻¹) | k_1^H/k_1^D |
|-----------------------|-----------------------|-----|------------------------------|------------------------------|---------------|
| 9.78×10^{-1} | 9.78×10^{-1} | 4.7 | 1.18 | 1.35 | 0.87 |
| 1.97×10^{-1} | 1.97×10^{-1} | 4.7 | 1.19 | 1.37 | 0.86 |
| 1.96×10^{-2} | 1.96×10^{-2} | 4.7 | 1.19 | 1.37 | 0.86 |

Bei höheren Basekonzentrationen in Phosphatpuffer lässt sich eine lineare Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten k_1 von der Phosphationenkonzentration erhalten, die ausser k_A - auch k_{OH} -liefert. (Abb. 1)

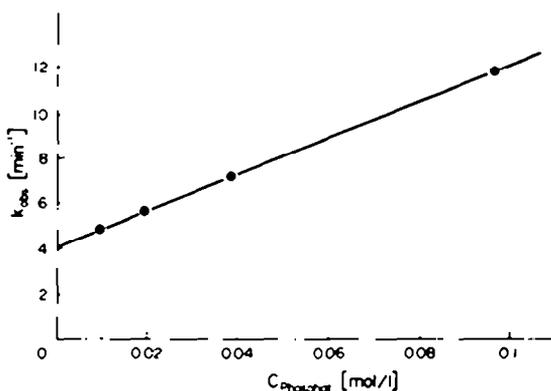


Abb. 1. Phosphationenkatalysierte Hydratation von Pyruvamid. (pH = 7.2; $25 \pm 0.2^\circ\text{C}$; $c_{\text{amid}} = 7.0 \times 10^{-3}$ m; $\mu = 0.2$ (NaCl)) Jedes k_{obs} entspricht dem Mittelwert aus 4 voneinander unabhängigen Messungen.

In Tabelle 3 sind alle erhaltenen Katalysekonstanten für die Hydratisierung (k_1) und Dehydratisierung (k_{-1}) von PA zusammen mit den dazugehörigen kinetischen Isotopeneffekten verzeichnet.

Aus den Geschwindigkeitskonstanten der wasserkata-

Tabelle 3. Katalysekonstanten der Hydratisierung (k_1) und Dehydratisierung (k_{-1}) von Pyruvamid und Pyruvamid- β -d.

| Base | k_1^H (Mol ⁻¹ min ⁻¹) | k_1^D (Mol ⁻¹ min ⁻¹) | k_1^H/k_1^D | k_{-1}^H (Mol ⁻¹ min ⁻¹) ^a | k_{-1}^D (Mol ⁻¹ min ⁻¹) ^a | k_{-1}^H/k_{-1}^D | Reprod. |
|-----------------------|--|--|-----------------|--|--|---------------------|---------|
| H ₂ O | $1.18 \pm 0.02/55.5$ | $1.32 \pm 0.02/55.5$ | 0.89 ± 0.03 | $1.56 \pm 0.03/55.5$ | $1.51 \pm 0.03/55.5$ | 1.03 ± 0.04 | 15 |
| OH | $3.72 \pm 0.13 \times 10^6$ | $3.76 \pm 0.27 \times 10^6$ | 0.99 ± 0.06 | $4.94 \pm 0.18 \times 10^6$ | $4.43 \pm 0.32 \times 10^6$ | 1.12 ± 0.06 | 17 |
| Phosphat ^b | $3.41 \pm 0.13 \times 10^1$ | $3.91 \pm 0.28 \times 10^1$ | 0.87 ± 0.09 | $4.53 \pm 0.17 \times 10^1$ | $4.52 \pm 0.17 \times 10^1$ | 1.01 ± 0.09 | 17 |

^a $k_{-1} = K_{H_2O} \times k_1$.

^b Bei pH 7.2 erhalten und als Katalysekonstante eines Gemisches von HPO₄²⁻ (50%) und H₂PO₄⁻ (50%) zu betrachten.

lysierten Addition (k_a) kann man ersehen, dass der retardierende Einfluss der Amidgruppierung auf die Reaktivität der α -Carbonylgruppe beträchtlich ist. (Tabelle 4).

Tabelle 4. Geschwindigkeitskonstanten k_a der H_2O -katalysierten Wasseraddition

| | k_a (min ⁻¹) | |
|---|----------------------------|---|
| CH ₃ CO-COO | 9.5×10^{-1} | (0°C) ¹⁷ |
| CH ₃ CO-COOH | 3.3×10^1 | (25°C) ¹⁸ ; 2.0(0°C) ¹⁷ |
| CH ₃ CO-COOCH ₃ | 6.9 | (0°C) ¹⁶ |
| CH ₃ CO-COOC ₂ H ₅ | 5.37 | (0°C) ¹⁶ |
| CH ₃ CO-CONH ₂ | 1.18 | (25°C) |

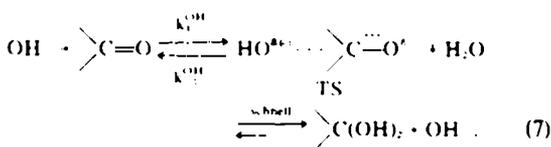
¹³C-NMR-Untersuchungen bestätigen den ausserordentlich grossen Einfluss des Zustandes der Carboxylgruppe auf die α -Carbonylgruppierung und lassen, obwohl der C-C-Bindungsabstand zwischen dem α -Carbonyl und der Carboxylat-²⁰ oder Carboxamidgruppe nicht verkürzt ist, auf intensive konjugative Wechselwirkungen schliessen.²¹

Eine intramolekulare Protonenkatalyse, die auf Grund der verschiedenen k_a -Werte bei Strehlow¹⁶ und Pocker¹⁷ auch bei der BTS-Hydratation noch fraglich erscheint, ist für PA auszuschliessen.

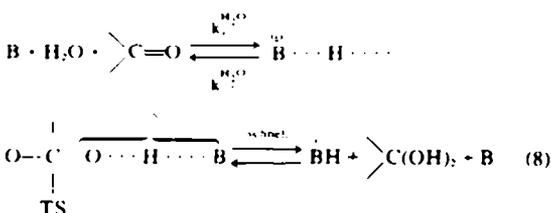
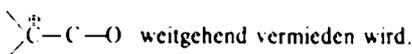
Unter der Voraussetzung, dass die unterschiedliche Ladungsverteilung im dipolaren Übergangszustand (TS, Gl.8) und im ungeladenen Reaktionsprodukt keinen Einfluss auf den Betrag der kinetischen Isotopeneffekte hat, lassen sich beim Vergleich der thermodynamischen und kinetischen Isotopeneffekte Aussagen über den Grad der Bindungsbildung zwischen dem Nucleophilen und der Carbonylgruppe im Übergangszustand machen. Dabei ergeben sich für die H_2O - und Phosphatkatalyse einerseits und für die OH⁻-Katalyse wesentliche Unterschiede.

Wir finden im TS der H_2O - und Phosphatkatalyse ein weitgehend sp^3 -hybridisiertes α -C-Atom des PA, während die OH⁻-Katalyse einen reaktandenanalogen TS aufweist. Daraus kann man auf verschiedene Reaktionsmechanismen schliessen.

Wir nehmen für die OH⁻-Katalyse eine direkte Addition der Hydroxylionen an die α -Carbonylgruppe an (Gl.7)



Für die durch schwache Basen katalysierte Wasseraddition kann Mechanismus (8) formuliert werden, bei dem die Bildung instabiler Intermediate¹⁹ vom Typ



BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Pyruvamid und Pyruvamid- β -d, wurden nach in einer früheren Arbeit beschriebenen Methode dargestellt und gereinigt.²² Die Gleichgewichtskonstanten der Addition verschiedener Nucleophiler an PA wurden anhand der Abnahme der Extinktion der $n \rightarrow \pi^*$ -Bande der α -Carbonylgruppe bei 339 nm untersucht. Der Extinktionskoeffizient der reinen Carbonylform des PA in Wasser war durch Extrapolation der pseudo-1. Ordnung-Kinetik der H_2O -Addition auf $t=0$ zu erhalten ($\epsilon_{339}^{H_2O} = 24.9 \pm 0.5$; $\epsilon_{339}^{H_2O} = 1.00$).

Bei den Messungen in CH_3OH und C_2H_5OH und C_3H_7OH wurde zur Beschleunigung der Gleichgewichtseinstellung eine Spur Pyrrolidin zugesetzt. Die Konzentration an PA betrug in allen Fällen $ca. 10^{-2}$ m. Die Gleichgewichtsmessungen und die Kinetik wurden an einem Bifrequenzspektralphotometer (Perkin-Elmer Modell 356) bei $25 \pm 0.2^\circ C$ verfolgt. Da die Reaktion durch Injektion einer 2 m Stammlosung des PA in Dioxan (Fa. Merck, Uvasol) gestartet wurde, waren die kinetischen Ansätze in Wasser $ca. 10^{-2}$ m an Dioxan ($\mu = 0.1$ (NaCl)). Bei den Gleichgewichtsmessungen konnte nachgewiesen werden, dass der Dioxangehalt in diesem Konzentrationsbereich die Konstanten nicht beeinflusst. Die kinetischen Messungen wurden durch Zugabe der PA-Stammlosung in die temperierte Küvette gestartet. Erste Messwerte konnten $ca. 4$ sec. nach der Zugabe erhalten werden; lineare pseudo-1. Ordnung-Kurven wurden mindestens 3 Halbwertszeiten beobachtet. Da die Hydratation reversibel ist, muss die gemessene Geschwindigkeitskonstante k_{app} nach Gl. 9 in k_a umgewandelt werden.

$$k_a = k_{app} K_{H_2O} / K_{H_2O} + 1; \quad K_{H_2O} = [Hydrat] / [Ketoform] \quad (9)$$

LITERATUR

- R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 1792 (1957).
- L. O. Krampitz, *Ann. Rev. Biochem.* **38**, 213 (1969).
- A. Schellenberger, *Notulae Acta Leopoldina* **36**, 9 (1971).
- P. A. Reese und E. E. Snell, *Biochemistry* **1970**, 9; *D. S. Hodgkins und R. H. Abeles, *J. Biol. Chem.* **242**, 5158 (1967); *K. R. Hanson und E. A. Havir, *Arch. Biochem. Biophys.* **141**, 1 (1970).
- G. Fischer, in Vorbereitung.
- V. Gold, G. Socrates und M. R. Crampton, *J. Chem. Soc.* 5888 (1969); *V. S. Griffith und G. Socrates, *Trans. Faraday Soc.* **63**, 673 (1967); *M. Becker, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **68**, 669 (1964); *M. Eigen, K. Kustin und H. Strehlow, *Z. Phys. Chem.* **31**, 140 (1962); *N. Hellström und S.-O. Almquist, *J. Chem. Soc. B* 1396 (1970); *Y. Pocker, J. E. Meany, B. J. Nist und C. Zadoranyi, *J. Phys. Chem.* **73**, 2879 (1969).
- W. J. Albery, R. P. Bell und A. L. Powell, *Trans. Faraday Soc.* **61**, 1194 (1965); *G. Fischer und A. Schellenberger, *Tetrahedron* **29**, 4113 (1972); *G. Fischer, G. Kullertz und A. Schellenberger, *Ibid.* **29**, 4313 (1973); *J. E. Meany, *J. Phys. Chem.* **75**, 150 (1971).
- H. M. Menzel, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **78**, 89 (1974).
- V. Franzen, *Liebigs Ann. Chem.* **613**, 1 (1958).
- W. P. Jencks, *J. Am. Chem. Soc.* **90**, 6154 (1969).
- L. Field und B. J. Sweetman, *J. Org. Chem.* **34**, 1799 (1969).
- E. G. Sander und W. P. Jencks, *J. Am. Chem. Soc.* **90**, 6154 (1968).
- M. M. Mocek und R. Stewart, *Can. J. Chem.* **41**, 1641 (1963).
- V. J. Shiner, Jr., In *Isotope Effects in Chemical Reactions*, C. J. Collins und N. S. Bowman, Ed., van Nostrand, New York (1970).
- L. do Amaral, H. G. Bull und E. H. Cordes, *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 7579 (1974).
- Y. Pocker, J. E. Meany und C. Zadoranyi, *J. Phys. Chem.* **75**, 792 (1971).
- Y. Pocker und J. E. Meany, *Ibid.* **74**, 1486 (1970).
- H. Patting und H. Strehlow, *Ber. Bunsenges. Physik. Chem.* **73**, 534 (1969).
- W. P. Jencks, *Chem. Reviews* **72**, 705 (1972).
- K.-M. Marstokk H. Mollendal, *J. Molecular Struct.* **20**, 257 (1974).
- G. Fischer und D. R. Petzold, in Vorbereitung.