

Действительный член АН УССР Е. А. ШИЛОВ и А. А. ЯСНИКОВ

КИНЕТИКА И МЕХАНИЗМ ЕНОЛИЗАЦИИ АЦЕТОНА В ПРИСУТСТВИИ АМИНОКИСЛОТ

Каталитическое действие аминокислот в енолизации ацетона было открыто А. М. Кузиным и Н. А. Невраевой⁽¹⁾. Эти авторы ограничились немногими кинетическими измерениями и не могли поэтому дать достоверной схемы течения реакции. Между тем ее механизм представляет большой интерес, особенно если иметь в виду каталитическую роль аминокислот в биохимических реакциях.

Как прежние исследователи^(2,1), мы изучали кинетику енолизации ацетона, измеряя скорость его иодирования, которая полностью лимитирована скоростью его енолизации. Кинетические измерения были сделаны для трех аминокислот: глицина, β -аланина и N, N-диметилглицина в присутствии и в отсутствие фосфорнокислых и некоторых других солей и добавок. Опыты ставились по обычным правилам кинетической методики, но в малых объемах благодаря применению пневматического способа титрования. Пробы объемов 1,5—2 мл, вылитые в титрованный раствор арсенита, дотитровывались раствором иода. Точность отдельного определения около 1% абсолютного значения содержания иода в смеси.

pH раствора определялся электрометрически со стеклянным электродом с точностью $\pm 0,03$ — $0,05$ единиц pH. В случае незабуференных смесей, где pH раствора должен падать по мере образования иодистого водорода, стеклянный электрод помещался внутри реакционного сосуда, снабженного кольцевой мешалкой, и pH поддерживался постоянным (в пределах $\pm 0,1$ единиц pH) путем непрерывной подачи $0,05 N$ раствора щелочи.

Начальная концентрация иода в наших опытах была равна $0,005 M$, а ацетона, по крайней мере, в 10 раз больше. В этих условиях реакция идет по нулевому порядку и графически выражается прямой линией. По отношению к ацетону (A) реакция мономолекулярна и ее скорость подчиняется уравнению $v = k_0 A$. Для случая глицина скорость реакции оказалась пропорциональной активности OH^- -иона и квадрату концентрации глицина:

$$v = \bar{k} A \Gamma^2 a_{\text{OH}^-},$$

или, имея в виду, что Γa_{OH^-} пропорционально Γ^- -концентрации глицин-иона,

$$v = k A \Gamma \Gamma^-. \quad (1)$$

Константы электролитической диссоциации простых аминокислот K_2 и, в частности, глицина, так малы (порядка 10^{-10} ⁽³⁾), что до pH ~ 8

значение Γ совпадает с аналитической концентрацией глицина, Γ_a , а $\Gamma^- = K_2 \Gamma_a / a_{H^+}$. При pH выше 8

$$\Gamma_a = \Gamma \left(1 + \frac{K_2}{a_{H^+}} \right) = \Gamma^- \left(1 + \frac{a_{H^+}}{K_2} \right).$$

Из сравнения уравнения (1) с отношением $v = k_0 A$ следует $k = k_0 / \Gamma \Gamma^-$, или

$$k = \frac{k_0 a_{H^+}}{K_2 \Gamma^2}. \quad (2)$$

Как можно видеть из табл. 1, где сведены опытные данные и значения констант, уравнение (2) оказывается в удовлетворительном согласии с опытом.

Таблица 1

Иодирование ацетона в присутствии глицина (начальная концентрация J_2 во всех опытах 0,005 M, KJ 0,012 M; температура 25°)

A	Γ	pH	$k_0 \cdot 10^4$	$K_2 k \cdot 10^{10}$	A	Γ	pH	$k_0 \cdot 10^4$	$K_2 k \cdot 10^{10}$
0,3	1	5	2,1	16	0,15	0,15	7,95	14,4	7,2
0,3	2	5	7,6	19	0,05	0,2	8	24	6,0
0,15	0,3	7,05	8,3	8,2	0,05	0,4	8	111	7,0
0,3	0,15	7,1	2,2	7,8	0,05	0,05	8,7	18,6	14,8
0,15	0,15	7,1	2,14	7,55	0,05	0,1	8,7	51,4	10,3
0,15	0,3	7,15	9,0	7,1	0,05	0,1	8,7	51,4	10,3
0,15	0,15	7,55	6,5	8,1	0,05	0,05	8,8	26,6	16,9
0,15	0,075	7,6	1,64	7,3	0,05	0,05	9	51,4	10,3
0,15	0,15	7,7	10,3	9,1					
Средн. 10									

Из среднего значения $K_2 k = 1 \cdot 10^{-9}$ и $K_2 = 2,5 \cdot 10^{-10}$ (концентрационная константа) k равно 4,0 (единицы моль/л, минута).

В случае добавок к глицину фосфата скорость енолизации ацетона значительно возрастает, и изменяется форма кинетического уравнения. Приходится ввести поправку (Δ) на независимые реакции в присутствии только фосфата и только глицина, равную 3—9% от опытной константы k'_0 . После введения этой поправки эмпирическое кинетическое уравнение принимает вид:

$$v = k_0 A = \bar{k}_0 A \Gamma_a \Phi, \quad (3)$$

где Φ — аналитическая концентрация фосфатной соли.

Учитывая, что фосфатный буфер в интервале pH от 6,5 до 8 состоит из $H_2PO_4^-$ и HPO_4^{2-} , и анализируя кинетические отношения, мы преобразовали эмпирическое уравнение (3) в уравнение:

$$v = k' A \Gamma^- [H_2PO_4^-]. \quad (4)$$

Это уравнение аналогично уравнению (1) с той разницей, что биполярный ион Γ заменяется ионом $H_2PO_4^-$. Для расчета опытных данных по уравнению (4) надо заменить Γ^- и $[H_2PO_4^-]$ на аналитически определимые концентрации с помощью формулы

$$v = k' A K_2 \frac{\Gamma}{a_{H^+}} \frac{\Phi a_{H^+}}{K + a_{H^+}} = k' K_2 A \frac{\Gamma \Phi}{K + a_{H^+}},$$

где K — константа электролитической диссоциации H_2PO_4^- , вычисленная из уравнения $K = \frac{a_{\text{H}^+}[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}$ и равная, согласно нашим определениям, $2 \cdot 10^{-7}$ в 0,1 М и $2,3 \cdot 10^{-7}$ в 0,2 М растворе фосфата (ср. (4)).

Учитывая, что $v = k_0 A$, найдем

$$k' = \frac{k_0(K + a_{\text{H}^+})}{K_2 \Gamma \Phi}$$

Данные, собранные в табл. 2, показывают, что константа $K_2 k'$ в пределах ошибок опыта постоянна, что служит подтверждением правильного выбора уравнения (4).

Имея в виду, что для глицина $K_2 = 2,5 \cdot 10^{-10}$ (3), найдем $k' = 410$.

Температурный коэффициент скорости реакции был определен в нескольких параллельных опытах при рН 7, концентрации глицина 0,05 М и $\Phi = 0,1$ М. Были найдены следующие средние значения k' : при 15° —180, при 25° —408, при 35° —900 (единицы моль/литр, минута). Из этих значений вычислены энергия активации $E = 14200$ кал и фактор частоты $\alpha = 1,5 \cdot 10^{11}$ (моль/литр, секунда).

Опыты с добавкой β -аланина показали, что эта β -аминокислота по своим кинетическим

отношениям в реакции енолизации ацетона очень близка к глицину. Формы кинетических уравнений повторяются без изменения и самые константы кинетических уравнений по величине довольно близки: при 25° k для β -аланина равно 2,47, $K_2 k' = 3,9 \cdot 10^{-8}$ и $k' = 604$.

Диметилглицин, выбранный как аминокислота с третичной аминогруппой, представил некоторые отличия. Реакцию пришлось вести в темноте, так как оказалось, что на свету в нейтральных и щелочных растворах диметилглицин окисляется иодом. Скорость енолизации пропорциональна концентрации диметилглицин-иона и менее чем пропорциональна концентрации свободного диметилглицина. Если для сравнения с глицином рассчитать кинетические данные для диметилглицина по уравнению (2), то среднее значение $K_2 k$ оказывается равным $7,5 \cdot 10^{-10}$ и $k = 5,4$ (при 25°).

Фосфат-ион при рН 7 оказывает так мало влияния, что после поправки на независимые параллельные реакции вычисление константы k' становится ненадежным.

Наши кинетические данные по иодированию ацетона в присутствии аминокислот дают основание для следующего истолкования

Таблица 2

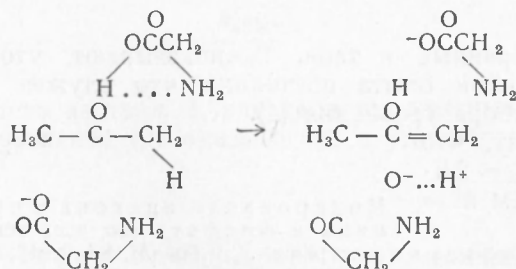
Иодирование ацетона в присутствии глицина и фосфата (во всех опытах начальная концентрация I_2 0,005 М, КJ 0,012 М; температура 25°)

A	Γ	Φ	рН	$\Delta \cdot 10^8$	$k_0 \cdot 10^8$	$K_2 k' \cdot 10^7$
0,05	0,05	0,1	6,9	0,11	1,53	1,00
0,05	0,05	0,1 + + 0,2 М $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$	6,95	0,11	1,69	1,05
0,05	0,025	0,1	7,0	0,1	0,88	1,06
0,05	0,05	0,1	7,0	0,11	1,71	1,03
0,05	0,05	0,1	7,0	0,11	1,73	1,04
0,20	0,05	0,1	7,0	0,11	1,74	1,04
0,05	0,05	0,2	7,0	0,21	3,25	1,07
0,1	0,05	0,1	7,02	0,11	1,65	0,98
0,05	0,15	0,1	7,05	0,3	5,5	1,06
0,15	0,05	0,1	7,06	0,11	1,69	0,97
0,05	0,05	0,1	7,7	0,18	2,49	1,10
0,05	0,05	0,1	7,78	0,28	2,56	1,11
0,05	0,05	0,1	8,0	0,47	2,52	1,11
0,05	0,05	0,2	8,0	0,68	4,39	1,04
0,05	0,1	0,1	8,0	1,22	4,62	0,93

Средн. 1,04

механизма енолизации. Реакция возбуждается сродством аминогруппы иона глицина к протонам метильных групп ацетона. Однако непосредственный отрыв протона затруднен, потому что он должен был бы привести к образованию слишком богатого энергией енолата. Отсюда появляется необходимость в доноре протона, которым может явиться свободная аминокислота или другой кислый компонент смеси.

Течение реакции енолизации в присутствии аминокислоты можно представить такой схемой:



Когда в смеси находится дигидрофосфат-ион, он, как более сильная кислота, заменяет аминокислоту в роли протонодонора.

Диметилглицин представляет отличия в кинетике, но, повидимому не в механизме реакции. Можно думать, что в силу стерических причин для диметиламиногруппы несколько затруднен захват протона. Поэтому скорость реакции в значительной степени лимитируется ее первой стадией. По существу же реакция остается тримолекулярной, как в случае действия аминокислот с первичной или вторичной аминогруппой.

Тримолекулярный механизм енолизации ацетона в присутствии аминокислот находит аналогию в течении других реакций присоединения по карбонильной группе⁽⁵⁾ и по двойной или тройной связи C—C⁽⁶⁾. Если сюда добавить, что некоторые типические реакции замещения тоже развиваются по тримолекулярной схеме⁽⁷⁾, то мы придем к выводу, что образование тримолекулярных переходных комплексов представляет весьма общий принцип органических превращений.

Институт органической химии
Академии наук УССР

Поступило
17 III 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. М. Кузин и Н. А. Невраева, Биохимия, 4, 142 (1939). ² E. Dawson, Trans. Farad. Soc., 24, 640 (1928). ³ E. Cohn and J. Edsall, Proteins, Aminoacids and Peptides as Ions and Dipolar Ions, N. Y., 1943, 88, 84; E. King, Journ. Am. Chem. Soc., 73, 155 (1951); M. May and W. Felsing, ibid., 73, 406 (1951). ⁴ E. Guggenheim and T. Schindler, Journ. phys. Chem., 38, 533 (1934). ⁵ R. Bell and B. de B. Darwent, Trans. Farad. Soc., 46, 34 (1950); C. Swain, Journ. Am. Chem. Soc., 72, 4578 (1950). ⁶ Е. А. Шилов, ДАН, 18, 643 (1938); Е. А. Шилов и И. В. Смирнов-Замков, ДАН, 67, 671 (1949); 73, 723 (1950); Докл. АН УССР, № 2, 87 (1951); Изв. АН СССР, ОХН, 32 (1951). ⁷ C. Swain, Journ. Am. Chem. Soc., 70, 1119, 2989 (1948).