

Zur Konformation geschützter Aminosäuren, IV¹⁾**NMR- und IR-Untersuchungen von Boc- ω -Aminosäuren**

Michael Branik und Horst Kessler*

Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt a. M., Laboratorium Niederrad,
D-6000 Frankfurt a. M. 70, Theodor-Stern-Kai 7

Eingegangen am 6. Februar 1975

Z,E-Isomerie wird in Boc- ω -Aminosäuren durch temperaturabhängige ¹H- und ¹³C-NMR- sowie IR-Spektroskopie beobachtet. Die bei tiefen Temperaturen in CDCl₃ bevorzugte *Z*-Konformation wird durch Wasserstoffbrücken stabilisiert. Boc-Methylamin liegt bevorzugt in der *Z*-Konformation vor; das *Z,E*-Gleichgewicht wird durch Zusatz von Lanthanoiden-Verschiebungsreagenz verändert und nachgewiesen.

Conformation of Protected Amino Acids, IV¹⁾**N. M. R. and I. R. Investigations of Boc- ω -Amino Acids**

Z,E-isomerism of Boc- ω -amino acids is observed by temperature dependent ¹H and ¹³C n.m.r. as well as i.r. spectra. At low temperatures the *Z*-conformation is stabilized by hydrogen bonds in CDCl₃. In Boc-methylamine the *Z*-conformation dominates, the *Z,E*-equilibrium is shifted and observed by adding lanthanide shift reagents.

NMR- und IR-Untersuchungen von Boc-Glycin²⁾ und Boc-L- α -Aminosäuren¹⁾ zeigten, daß das *Z,E*-Gleichgewicht der Urethan-Rotameren wesentlich durch die Bildung eines 7-Ringes in der *Z*-Konformation unter Ausbildung von Wasserstoffbrücken bestimmt wird. Um den Einfluß der Ringgröße auf die Ausbildung der intramolekularen Wasserstoffbrücke zu studieren, untersuchten wir Boc-Methylamin und Boc- ω -Aminosäuren (allgemeiner Strukturtyp: Boc-NH-[CH₂]_n-CO₂H; n = 1–5) durch ¹H-, ¹³C-NMR- und IR-Spektroskopie bei verschiedenen Temperaturen.

¹H-NMR-Spektren

Boc-Methylamin liegt wie andere Carbamate^{3–5)} überwiegend in der *Z*-Konformation vor. Übereinstimmend damit finden wir ein temperaturunabhängiges NMR-Spektrum in CDCl₃. Unter Zusatz von Eu(fod)₃, das nach unseren Erfahrungen⁶⁾ die *E*-Konfor-

¹⁾ III. Mitteil.: M. Branik und H. Kessler, Chem. Ber. 108, 2176 (1975).

²⁾ M. Branik und H. Kessler, Tetrahedron 30, 781 (1974).

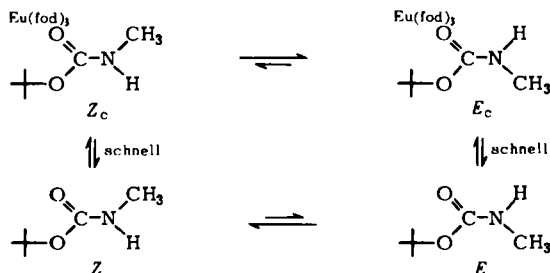
³⁾ M. Oki und H. Nakanishi, Bull. Chem. Soc. Japan 44, 3148 (1971).

⁴⁾ C. N. R. Rao, K. G. Rao, A. Goel und D. Balasubramanian, J. Chem. Soc. A 1971, 3077.

⁵⁾ M. S. Randhawa, K. G. Rao und C. N. R. Rao, Spectrochim. Acta 30 A, 1915 (1974).

⁶⁾ H. Kessler und M. Molter, Angew. Chem. 85, 1059 (1973); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 12, 1011 (1973).

mation aus sterischen Gründen bevorzugt komplexiert, beobachtet man beide Formen nebeneinander, d. h. temperaturabhängige Spektren.



Die Einstellung des Komplexbil dungsgleichgewichts $Z \rightleftharpoons Z_c$ bzw. $E \rightleftharpoons E_c$ ist bei den angewandten Temperaturen im Sinne der NMR-Zeitskala schnell. Man findet daher auch bei „eingefrorener“ Rotation um die Urethanbindung nur jeweils zwei Methyl-, *tert*-Butyl- und NH-Signale. Der Anteil der *E*-Konformation steigt mit zunehmender Konzentration an Lanthanoiden-Verschiebungs-Reagens (LSR). Die induzierten Verschiebungen (LIS) sind folglich von der Konzentration an LSR nicht linear abhängig⁶⁾; das Verhältnis der Verschiebungen $\Delta_{\text{CH}_3}/\Delta_{t\text{-Bu}}$ ist jedoch für die *Z*-Konformation (= 3.5 bei einem LSR-Zusatz von 59 Mol-%, bez. auf Substrat) größer als für die *E*-Konformation (= 0.38). Da man annehmen kann, daß die Komplexbil dung am Urethan-Carbonyl-Sauerstoff⁷⁾ stattfindet und die *tert*-Butylgruppe in der *E*- und der *Z*-Form etwa gleich stark verschoben wird, ist damit die Zuordnung auf unabhängigem Wege bestätigt. Die Extrapolation der Konzentrationsverhältnisse bei den verschiedenen LSR-Konzentrationen auf Null⁶⁾ ergab einen Anteil von ca. 7% *E*-Isomeren am Gleichgewicht.

Boc-Glycin (1), das erste Glied der homologen Reihe, haben wir bereits früher ausführlich beschrieben^{1, 2)}.

Boc- ω -Aminocarbonsäuren zeigen alle beim Abkühlen die Verdoppelung der NH-Signale durch gehinderte Rotation um die C–N-Bindung (Tab. 1). Die *tert*-Butylgruppe spaltet lediglich in *Boc- β -Alanin* (2) und *Boc- γ -Aminobuttersäure* (3) um 1.7 bzw. 2.0 Hz auf.

Analog zum Verhalten der *Boc-L- α -Aminosäuren*^{1, 2)} ist die chemische Verschiebung des NH-Signals der *E*-Konformation (bei hohem Feld) weitgehend von der Temperatur und Struktur⁸⁾ unabhängig, während das *Z*-NH-Signal mit sinkender Temperatur zu tiefem Feld verschoben wird. Folglich deutet sich auch in diesen Verbindungen eine intramolekulare Wasserstoffbrücke (Cyclisierung) an. Jedoch ergibt die quantitative Auswertung, daß die Signalintensitäten von der Temperatur weitaus geringer abhängig sind als bei *Boc-L- α -Aminosäuren*. Die daraus erhaltenen thermodynamischen Daten für das *Z,E*-Gleichgewicht (Tab. 2) (kleine ΔH^0 - und ΔS^0 -Werte)⁹⁾ sind kleiner als bei den

⁷⁾ H. Kessler und M. Molter, *Angew. Chem.* **86**, 553 (1974); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **13**, 538 (1974).

⁸⁾ Eine Ausnahme bildet β -Alanin, dessen *E*-NH-Signal bei etwas tieferem Feld liegt (Tab. 1).

⁹⁾ Die Temperaturabhängigkeit der chemischen Verschiebung konnte hier nicht zur Auswertung herangezogen werden, weil selbst bei tiefen Temperaturen noch ein erheblicher Temperaturgradient vorhanden ist und damit δ_{z} (s. l. c.²⁾) nicht bestimmbar ist.

Tab. 1. ¹H-NMR-Daten von Boc- ω -Aminosäuren ($t\text{-C}_4\text{H}_9\text{OCO-NH-}[\text{CH}_2]_n\text{-CO}_2\text{H}$) und Boc-Methylamin
(90 MHz, 0.2 M in CDCl₃ bei -30°C)

Nr.	n	Verbindung Boc-X	Boc	NH	Chemische Verschiebungen δ [ppm]					Isomeren Verhältnis		
					α -CH	β -CH	γ -CH	δ -CH	ϵ -CH	CO ₂ H	Z	E
1	1	-Gly	1.47	E 5.15 Z 7.68	3.95					12.5	89	11
2	2	- β -Ala	E 1.46 Z 1.48	E 5.35 Z 6.62	2.57	3.4				11.44	38	62
3	3	- γ -Amino- buttersäure	E 1.44 Z 1.46	E 4.9 Z 6.64	2.4	1.9	3.14			11.8	40	60
4	4	- δ -Amino- valeriansäure	1.44	E 4.82 Z 6.67	2.41	1.44	1.44	3.12		11.82	40	60
5	5	- ϵ -Amino- capronsäure	1.47	E 4.8 Z 6.54	2.37	1.47	1.47	1.47	3.11	11.79	38	62
		-Methylamin	1.44	4.91							93	7
									N-CH ₃ 2.77			

Tab. 2. Thermodynamische Werte für das Z, E-Gleichgewicht von Boc- ω -Aminosäuren in CDCl₃

Aminosäure	ΔH^0 [kcal/mol]	ΔS^0 [Clausius]
Boc-Gly	-7.0 ¹⁾	-25 ¹⁾
Boc- β -Ala	-1.6	-7
Boc- γ -Aminobuttersäure	-1.6	-6
Boc- δ -Aminovaleriansäure	-1.4	-6
Boc- ϵ -Aminocapronsäure	-1.8	-8

Boc-L- α -Aminosäuren, woraus man sieht, daß das Ausmaß der Cyclisierung in den Verbindungen 2–5 bedeutend geringer ist. Offenbar wird die Cyclisierung durch die Bildung von thermodynamisch ungünstigen mittleren Ringen erschwert.

Die korrigierte¹⁰⁾ $C_{\alpha}H-NH$ -Kopplungskonstante beträgt in der *E*- und der *Z*-Konformation in allen Boc- ω -Aminosäuren zwischen 5.5 und 6.3 Hz. Ohne Modellberechnungen sind Schlußfolgerungen auf die Konformation aus diesen Werten nicht möglich.

Die Aufspaltung des Signals der *tert*-Butylgruppe in 2 und 3 wurde benutzt, die Rotationsbarriere um die Urethanbindung abzuschätzen. Eine Linienformanalyse war wegen der geringen Tieftemperaturaufspaltung nicht möglich, jedoch liegen die aus den Koaleszenztemperaturen erhaltenen freien Aktivierungsenthalpien im normalen Bereich von Rotationen um Urethanbindungen^{1, 2, 11, 12)} ($\Delta G^{\ddagger} = 15.1 \pm 0.5$ kcal/mol).

¹³C-NMR-Spektren

Die Rotation um die Urethanbindung spiegelt sich auch in den temperaturabhängigen ¹³C-NMR-Spektren wider. Aufspaltungen bei Temperaturen um 0°C und tiefer werden nur an den Signalen für den Urethancarbonyl-, den C_{α} - und den quartären Kohlenstoff der *tert*-Butylgruppe gefunden. Lediglich bei Boc- β -Alanin spaltet auch das Signal des Carboxylkohlenstoffs auf. Die Zuordnung zu den jeweiligen Isomeren wurde wie früher^{1, 2)} durch den Vergleich der Intensitätsänderung bei den verschiedenen Temperaturen in Anlehnung an die ¹H-NMR-Spektren getroffen. Auch hier liegen die Signale für die *Z*-Konformation außer dem Signal des Carboxyl-Kohlenstoffs bei tieferem Feld als die Signale der *E*-Konformation (Tab. 3).

Die Zuordnung der Signale der Carboxyl-, Urethan- und der *tert*-Butylgruppe ist aufgrund der chemischen Verschiebung sofort möglich. Sie gelingt auch für die Kohlenstoff-Signale der Methylengruppen mit Hilfe der in der Literatur angegebenen Verschiebungswerte für die homologen Carbonsäuren und Amine¹³⁾. Unter der Annahme von konstanten Verschiebungsinkrementen für die Substituenten CO_2H , NH_2 und $NHCO_2C_4H_9$, erhalten wir Werte für die einzelnen Signale, die innerhalb eines ppm mit den beobachteten Signallagen übereinstimmen. Auf diese Weise konnten wir die Verschiebungseffekte für die Boc-NH-Substitution in der *Z*-Konformation ermitteln¹⁴⁾: $\alpha = +26.5$ ¹⁵⁾; $\beta = +6.6$; $\gamma = -5.5$ und $\delta, \epsilon < 1$ ppm.

In der Literatur war unseres Wissens bisher nur das ¹³C-Spektrum von Boc- ϵ -Aminocaprinsäure in $[D_6]$ DMSO bekannt¹⁶⁾. Die dort berichteten Werte stimmen jedoch mit den von uns gefundenen Verschiebungen (auch in $[D_6]$ DMSO) nicht überein (Tab. 3).

¹⁰⁾ V. F. Bystrov, V. T. Ivanov, S. L. Portnova, T. A. Balashova und Yu. A. Ovchinnikov, Tetrahedron 29, 873 (1973).

¹¹⁾ E. Lustig, W. R. Benson und N. Duy, J. Org. Chem. 32, 851 (1967).

¹²⁾ C. H. Yoder, A. Komoryia, J. E. Kochanowski und F. H. Suydam, J. Amer. Chem. Soc. 93, 6515 (1971).

¹³⁾ J. B. Stothers, Carbon-13 NMR Spectroscopy, S. 147, 152, Academic Press, New York, London 1972.

¹⁴⁾ Selbstverständlich sind diese Werte mit Fehlern behaftet, da Verschiebungen in verschiedenen Lösungsmitteln verglichen worden sind.

¹⁵⁾ Für das erste Glied der Reihe (Boc-Gly) beträgt der α -Effekt nur 22.2 ppm.

¹⁶⁾ W. Voelter, G. Jung, E. Breitmaier und E. Bayer, Z. Naturforsch. 26 B, 213 (1971).

Tab. 3. ^{13}C -NMR-Verschiebungen (in δ von internem TMS) von Boc- ω -Aminosäuren und Boc-Methylamin in CDCl_3 bei -40°C (1 – 1.2 M)

n	Aminosäure	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3-\text{C}-\text{O}-\text{C}^1-\text{NH}-(\text{C}^2-\text{H}_2)_n-\text{C}^3-\text{O}_2\text{H} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{O} \end{array}$										C- α	C- β	C- γ	C- δ	C- ϵ	
		C-1	C-2	C-3	C-4	C- α	C- β	C- γ	C- δ	C- ϵ							
1	Boc-Gly	E 80.2	E 156.2	E 174.9	E 41.1												
		Z 81.6	Z 157.3	Z 173.5	Z 43.4												
2	Boc- β -Ala ^{a)}	E 79.8	E 156.1	E 177.7	34.3	E 35.5											
		Z 81.4	Z 158.1	Z 176.6		Z 36.8											
3	Boc- γ -Aminobuttersäure	E 79.4	E 156.2	178.6	31.1	24.7	E 39.4										
		Z 81.1	Z 158.3				Z 40.3										
4	Boc- δ -Aminovaleriansäure	E 79.3	E 156.1	178.7	33.5	21.6	29.4	E 39.7									
		Z 80.6	Z 158.3					Z 40.8									
5	Boc- ϵ -Aminocapronsäure	E 79.3	E 156.2	179.3	34.1	24.3	26.1	E 40.3									
		Z 80.8	Z 158.5					Z 41.3									
	Boc-Methylamin ^{a)}	28.3	78.8	157.1	NCH_3 27.0												

^{a)} Bei -30°C .Tab. 4. IR-Schwingungsfrequenzen der Boc- ω -Aminosäuren und von Boc-Methylamin (ca. 0.2 M in CDCl_3) bei verschiedenen Temperaturen (in cm^{-1})

Aminosäure	T [$^\circ\text{C}$]	Z-NH	E-NH	C=O ^{a)}	T [$^\circ\text{C}$]	Z-NH	E-NH	Carboxyl	Urethan
Boc-Gly	52	3300	3445	1710	-60	3300	3445	1715	1650
Boc- β -Ala	43		3450	1705	-57	3320	3450	1700	1650 ^{b)}
Boc- γ -Aminobuttersäure	42		3440	1700	-60	3330	3440	1695	1640 ^{b)}
Boc- δ -Aminovaleriansäure	42		3450	1700	-57	3300	3440	1695	1640 ^{b)}
Boc- ϵ -Aminocapronsäure	47		3445	1700	-51	3300	3440	1690	1640 ^{b)}
Boc-Methylamin	50	3450		1700	-52	3450			1695

^{a)} Urethan- und Carboxylschwingungen (s. Text).^{b)} Schulter.

IR-Spektren

Wir haben schon in unserer früheren Mitteilung Tieftemperatur-IR-Spektren zum Nachweis der Ausbildung intra- und intermolekularer Wasserstoffbrücken benutzt¹¹. Im IR-Spektrum von Boc-Methylamin tritt auch bei tiefer Temperatur nur eine Bande für die NH-Valenzschwingung bei 3450 cm^{-1} auf, die einem *nicht*wasserstoffbrücken-gebundenen Proton entspricht. Die Carbonyl-Urethan-Schwingung liegt unabhängig von der Meßtemperatur und Konzentration bei 1700 cm^{-1} . Boc-Methylamin assoziiert demnach nicht. Üblicherweise bilden Urethane keine Wasserstoffbrücken¹⁰. Die Ausnahme stellen daher die *Z*-Boc-Aminosäuren dar, in denen die erhöhte Neigung, H-Brücken auszubilden, auf der intramolekularen „Protonierung“ durch die *Z*-ständige Carboxylgruppe beruht. Im IR-Spektrum drückt sich dies durch die Verschiebung der NH-Bande und der Urethan-Carbonyl-Bande zu „kleineren“ Wellenzahlen aus. Diese Tendenz ist auch bei den Boc- ω -Aminosäuren zu erkennen (Tab. 4).

Das Intensitätsverhältnis der NH-Schwingungen hat sich auch bei tiefen Temperaturen nicht so stark zu Gunsten des gebundenen NH-Signals verschoben wie bei den Boc- α -Aminosäuren. Die IR-Messungen bestätigen damit die oben geschilderten NMR-Resultate. Überraschenderweise verhindert auch die Bildung mittlerer Ringe die Ausbildung von Wasserstoffbrücken nicht völlig.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* für Sachbeihilfen. Herrn Dipl.-Ing. Y. A. Bara danken wir für Zurverfügungstellung von Boc- γ -Aminobuttersäure, - δ -Aminovaleriansäure und - ϵ -Aminocapronsäure. Der *Höchst-AG* danken wir für die Ausführung der Elementaranalyse.

Experimenteller Teil

Die Aufnahme der Spektren erfolgte wie früher¹¹.

N-(*tert*-Butyloxycarbonyl)methylamin: 21.1 g Methylamin-hydrochlorid werden in 100 ml Wasser gelöst, mit 150 ml Äther vermischt und auf -5°C gekühlt. Unter Rühren werden 14.3 g *tert*-Butyloxycarbonylazid in 100 ml 4 N NaOH so zugegeben, daß die Temperatur der Reaktionsmischung unter 0°C bleibt. Nach der Zugabe wird noch 15 min unter Kühlung gerührt, auf Raumtemp. gebracht, der Äther abrotiert und die wäßr. Phase 5 mal mit 50 ml Äther extrahiert. Der Äther wird gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, abrotiert und der ölige Rückstand an der Drehbandkolonne destilliert. Sdp. $75^\circ\text{C}/17\text{ Torr}$, Ausb. 5.1 g (42%).

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$ (131.2) Ber. C 54.94 H 10.09 N 10.71 O 24.41
Gef. C 54.5 H 10.0 N 10.9 O 24.7

[51/75]