

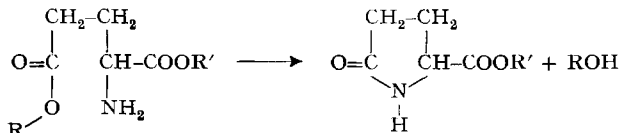
159. Le rôle du catalyseur dans la cyclisation des esters glutamiques¹⁾

par A. J. Hubert, R. Buyle et B. Hargitay

(18 II 63)

Introduction

La réaction de cyclisation des esters glutamiques en esters pyroglutamiques (γ -lactames) est un cas particulier d'aminolyse d'ester, une réaction abondamment étudiée²⁾.



Dans la littérature on rencontre de nombreux exemples de catalyse soit acide³⁾, soit basique⁴⁾ de cette réaction, mais le mécanisme exact de l'action des différents catalyseurs n'est pas établi avec certitude. D'autres auteurs, par contre, attribuent un rôle prépondérant au solvant et mettent en évidence un effet catalytique des solvants hydroxylés⁵⁾.

La grande variété des catalyseurs utilisables permet l'étude approfondie du mécanisme de cyclisation et en particulier la détermination des points d'attaque de ces catalyseurs. L'étude de ce système présente l'avantage de porter sur des produits de réaction simples et isolables. La réaction même est exempte de processus parasites et sa vitesse est aisément mesurable avec un appareillage simple.

L'étude systématique de l'influence du pH, de la température, de la structure chimique du catalyseur et de la substance à cycliser, nous permet de proposer le mécanisme de la catalyse et de l'effet inhibiteur exercés par les acides carboxyliques.

1. Cyclisation du glutamate de méthyle dans les solvants hydroxylés

Dans ce travail, l'influence des divers facteurs mentionnés sur la formation de pyroglutamate de méthyle est étudiée. Pour l'étude de l'influence du pH, nous

¹⁾ Communication présentée à l'assemblée générale de la Société Suisse de Chimie du 12 IX 1959 à Lausanne et publiée selon décision spéciale du Comité de rédaction.

²⁾ V. GRIGNARD, *Traité de Chimie Organique*, Vol. XIII (1950); S. GABRIEL, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **22**, 3398 (1899); **38**, 2412 (1905); S. GABRIEL & A. MAAS, *ibid.* **32**, 1271 (1899); E. ALDER-HALDEN & A. WEIL, *Z. physiol. Chem.* **74**, 459 (1911); F. W. FUREMAN, *Biochem. J.* **8**, 484 (1914); E. A. BELL, *J. chem. Soc.* **1958**, 2423.

³⁾ L. F. AUDRIETH & J. KLEINBERG, *J. org. Chemistry* **3**, 312 (1938); P. K. GLASOE & L. F. AUDRIETH, *ibid.* **4**, 34 (1939); C. SLOBUTSKY & L. F. AUDRIETH, *Proc. nat. Acad. Sci.* **23**, 611 (1937); L. L. FELLINGER & L. F. AUDRIETH, *J. Amer. chem. Soc.* **60**, 579 (1938); P. K. GLASOE, J. KLEINBERG & L. F. AUDRIETH, *ibid.* **61**, 2387 (1939); A. I. SHATENShteIN, *ibid.* **59**, 132 (1937).

⁴⁾ R. L. BETTS & L. P. HAMMETT, *J. Amer. chem. Soc.* **59**, 1568 (1937); R. BALTZLY, I. M. BERGER & A. A. ROTHSTEIN, *ibid.* **72**, 4149 (1950); J. H. GOUIN, *J. chem. Soc.* **1945**, 732; J. N. E. DAY & C. K. INGOLD, *Trans. Farad. Soc.* **37**, 690 (1941); P. B. RUSSEL, *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 1853 (1950).

⁵⁾ J. G. MILLER et collaborateurs, *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 1946 (1948); **71**, 1245 (1949); **72**, 5635 (1950); **73**, 5393 (1951); **75**, 953, 1150, 4664 (1951); **78**, 4372 (1956).

avons adopté le méthanol comme solvant, afin d'éviter les risques d'hydrolyse des groupements esters; des sels d'acides faibles ou certaines amines ont été choisis pour préparer des solutions de pH bien déterminé. Toutes les valeurs pH des solutions tamponnées ont été mesurées avec le couple d'électrodes classiques, électrode de verre et électrode de calomel. Les valeurs mesurées ont ensuite été corrigées par la méthode de DE LIGNY⁶⁾. Les valeurs de pH indiquées sont donc des grandeurs absolues dans le méthanol.

L'évolution de la réaction peut être suivie fort aisément par dosage acidimétrique, puisque la réaction s'accompagne d'une disparition des groupements aminés.

Pour faciliter la comparaison des différents effets, toutes nos expériences ont été effectuées sur des solutions à concentration initiale en glutamate de méthyle [DMG]₀ de 0,1 N.

a) *Influence des bases.* A un pH déterminé, la réaction de cyclisation du glutamate de méthyle (abréviation: DMG) en pyroglutamate de méthyle est d'ordre *un* par rapport à la concentration de l'ester glutamique [DMG], car sa vitesse obéit à la relation (1), où k' est la constante cinétique correspondante:

$$-\frac{d[\text{DMG}]}{dt} = k' [\text{DMG}] \quad (1)$$

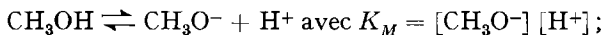
ou
$$[\text{DMG}] = [\text{DMG}]_0 e^{-k't}. \quad (2)$$

Pour des milieux tamponnés de pH 11 à 14, la relation entre $\log k'$ et le pH est linéaire (fig. 1). La pente de la droite est voisine de 1.

On peut donc dire que:

$$\log k' = \text{const.} + \text{pH}. \quad (3)$$

Pour le méthanol on a:



(3) peut donc se mettre sous la forme:

$$k' = \text{const.} [\text{CH}_3\text{O}^-]/K_M.$$

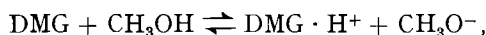
La relation (1) devient alors:

$$-\frac{d[\text{DMG}]}{dt} = \frac{\text{const.}}{K_M} [\text{DMG}] [\text{CH}_3\text{O}^-] = k'' [\text{DMG}] [\text{CH}_3\text{O}^-]; \quad (4)$$

k'' est la constante cinétique propre de la réaction, dont l'ordre global est 2.

En milieu tamponné, où $[\text{CH}_3\text{O}^-]$ reste constant, on peut dire que la réaction de cyclisation subit une catalyse basique par les ions CH_3O^- . Il en résulte que la réaction est de premier ordre si la concentration en ion catalyseur reste constante.

Cette hypothèse est d'ailleurs confirmée par le fait qu'à la température ordinaire le glutamate de méthyle, stable à l'état pur, se cyclise lentement en solution dans le méthanol. En solution non tamponnée, l'ordre de la réaction par rapport à [DMG] est ici nettement supérieur à 1; ceci a comme raison le fait que le glutamate de méthyle en tant qu'amine est générateur de CH_3O^- , dont la concentration n'est plus constante puisque celle du glutamate diminue:



ce qui entraîne

$$[\text{CH}_3\text{O}^-]^2 \sim [\text{DMG}] [\text{CH}_3\text{OH}],$$

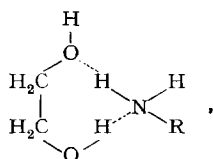
⁶⁾ L. DE LIGNY & P. F. M. ZUYKX, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 77, 154 (1958).

et comme $\text{DMG} + \text{CH}_3\text{O}^- \xrightarrow{k''} \text{ester pyroglutamique} + \text{CH}_3\text{O}^- + \text{CH}_3\text{OH}$, on trouve que

$$-\frac{d[\text{DMG}]}{dt} \sim [\text{DMG}]^{3/2},$$

ce qui justifie l'ordre supérieur à 1 observé.

Nous avons appliqué au glutamate de méthyle les expériences de MILLER⁵⁾, qui a mis en évidence la catalyse de l'aminolyse des esters par les solvants hydroxylés. Le mécanisme proposé par cet auteur fait appel à la formation de liaisons hydrogène entre solvant et amine; par exemple l'éthylèneglycol, par suite de formation de complexes cycliques du type



aurait un effet catalytique particulièrement marqué. Or dans le cas du glutamate de méthyle, la cyclisation en présence soit de méthanol soit d'éthylèneglycol à concentrations identiques en groupements hydroxylés – le diluant étant le dioxanne – se fait pratiquement à la même vitesse, qui est petite. Le rôle particulier de l'interaction amine-solvant dans la catalyse est donc négligeable dans le cas de la cyclisation du glutamate de méthyle. Si l'interaction postulée existe dans la solution de glutamate de méthyle non tamponnée, son effet catalytique est largement inférieur à celui de la catalyse basique proprement dite.

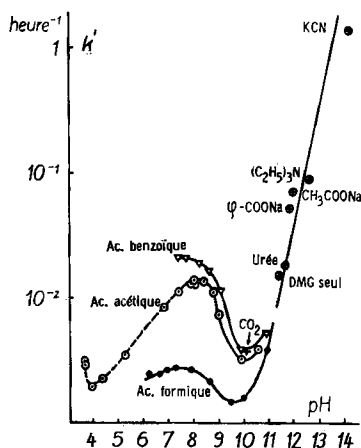


Fig. 1. Influence du pH sur la vitesse de cyclisation du glutamate de méthyle en ester pyroglutamique dans le méthanol à 25°

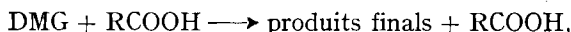
b) *Influence des acides.* Dans le cas de la cyclisation du glutamate de méthyle en présence d'acides carboxyliques, l'ordre de la réaction est également *un* par rapport à cet ester. Mais ici, la relation entre le logarithme de la constante cinétique k' et le pH a un aspect particulier (fig. 1). Pour les faibles teneurs en acide la constante de vitesse augmente lorsque le pH diminue, c'est-à-dire que l'acide exerce une

action catalytique sur la cyclisation. Lorsque le pH diminue encore, la courbe passe par un maximum, puis k' décroît. Cette courbe peut aisément s'interpréter si l'on admet qu'à côté de l'action catalytique se produit un *effet inhibiteur* qui l'emporte à forte concentration en acide.

Cet effet inhibiteur semble pouvoir être attribué à la neutralisation de l'amine par l'acide, c'est-à-dire que l'ion $\text{DMG} \cdot \text{H}^+$ serait incapable de se cycliser. En effet, le chlorhydrate du glutamate de méthyle en solution alcoolique est stable. JAUNIN⁷⁾ observe un effet similaire dans l'étude de l'aminolyse d'amide catalysée par les acides carboxyliques.

L'action catalytique des acides est plus complexe. La fig. 1 montre que pour un même pH la constante de vitesse dépend de la nature de l'acide utilisé; ce n'est donc pas l'ion H^+ qui catalyse. Il faut alors envisager la catalyse soit par l'anion RCOO^- soit par la molécule non-dissociée RCOOH .

Dans le cas de la catalyse par la *molécule* non dissociée RCOOH , l'étape déterminante doit être



puisque nous avons vu que le cation $\text{DMG} \cdot \text{H}^+$ était incapable de se cycliser.

La relation de vitesse devient alors:

$$-\frac{d[\text{DMG}]}{dt} = k'' [\text{DMG}] [\text{RCOOH}]. \quad (5)$$

Expérimentalement on a trouvé:

$$-\frac{d[\text{DMG}]}{dt} = k' [\text{DMG}_{\text{tot}}], \quad (6)$$

puisque la technique de mesure dose simultanément le glutamate de méthyle libre et salifié:

$$[\text{DMG}] + [\text{DMG} \cdot \text{H}^+] = [\text{DMG}_{\text{tot}}]. \quad (7)$$

En combinant (5) et (6), il vient:

$$k' [\text{DMG}_{\text{tot}}]/[\text{DMG}] = k'' [\text{RCOOH}]. \quad (8)$$

Les diverses concentrations mentionnées dans l'équation (8) peuvent aisément être calculées par les formules classiques de HENDERSON:

$$\log \frac{[\text{DMG}]}{[\text{DMG}_{\text{tot}}] - [\text{DMG}]} = \log \frac{[\text{DMG}]}{[\text{DMG} \cdot \text{H}^+]} = \text{pH} - \text{pK}_a^{\text{DMG}} \quad (9)$$

et

$$\log \frac{[\text{RCOOH}_{\text{tot}}] - [\text{RCOOH}]}{[\text{RCOOH}]} = \log \frac{[\text{RCOO}^-]}{[\text{RCOOH}]} = \text{pH} - \text{pK}_a^{\text{RCOOH}}. \quad (10)$$

Les valeurs de pK_a pour le glutamate de méthyle et les divers acides ont été mesurées dans le méthanol; les concentrations $[\text{RCOOH}_{\text{tot}}]$ et $[\text{DMG}_{\text{tot}}]$ sont connues; il suffit donc de mesurer le pH pour pouvoir résoudre les équations d'HENDERSON et obtenir les concentrations $[\text{DMG}]$ et $[\text{RCOOH}]$.

Dans le domaine qui est le plus intéressant – pour lequel $[\text{RCOOH}_{\text{tot}}]$ est beaucoup plus grand que $[\text{DMG}_{\text{tot}}]$ – on peut admettre que la cyclisation du glutamate de méthyle entraînant la disparition des fonctions amines modifie peu le pH. On observe d'ailleurs expérimentalement que même lorsque les concentrations en RCOOH et DMG sont voisines, le pH ne varie que légèrement, du moins pendant le premier

⁷⁾ R. JAUNIN, M. B. PICCOLI & T. CHARALAMBOUS, Helv. 37, 216 (1954).

tiers de la réaction. Pour plus de facilité, nous utilisons donc les concentrations initiales et le pH au temps zéro pour la résolution des équations (8), (9) et (10).

La fig. 2 montre qu'il existe une relation linéaire entre $k'[\text{DMG}_{\text{tot}}]/[\text{DMG}]$ et $[\text{RCOOH}]$; l'équation (8) est donc vérifiée et le catalyseur est la molécule non dissociée RCOOH . Si le catalyseur était l'anion RCOO^- , on aboutirait par un raisonnement analogue à l'équation:

$$k' [\text{DMG}_{\text{tot}}]/[\text{DMG}] = k'' [\text{RCOO}^-] \text{ ou } [\text{RCOO}^-] [\text{DMG}]/[\text{DMG}_{\text{tot}}] = \text{constante.}$$

On constate que cette relation ne convient pas.

Pour confirmer ces premiers résultats, nous avons étudié la cyclisation du glutamate par l'acide acétique en présence de CH_3COONa ou de NaBr .

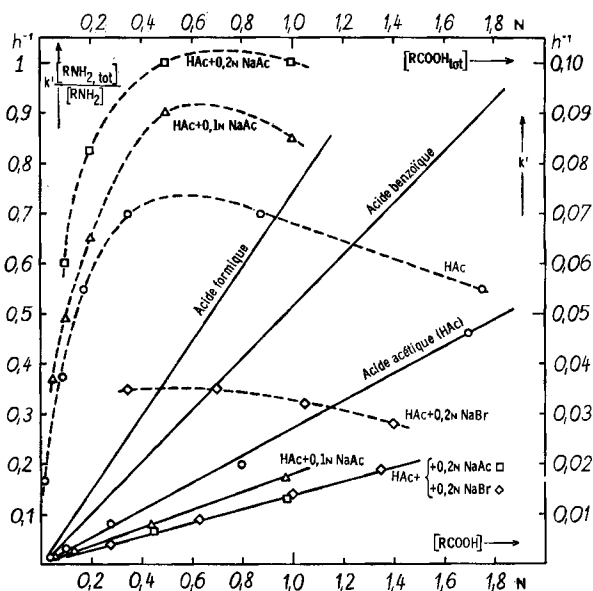


Fig. 2. Vitesse normalisée de cyclisation du glutamate de méthyle dans le méthanol, à 25°, en fonction de la teneur en acide catalyseur non dissocié (libre)

Pour comparaison, les constantes de vitesse non normalisées (échelle à droite) sont portés en traits interrompus en fonction de la concentration totale en acide catalyseur (échelle supérieure). On remarque par ailleurs que les valeurs normalisées de la constante de vitesse en présence de NaBr (\diamond) et d'acétate de sodium (\square) tombent sur la même droite.

Lorsqu'on ajoute une quantité déterminée d'acétate à une solution de glutamate de méthyle contenant une certaine concentration d'acide acétique, la vitesse de cyclisation de l'ester glutamique augmente. Seulement les vitesses avec ou sans acétate ne sont pas immédiatement comparables, puisque l'addition de CH_3COONa entraîne une modification du pH, et en conséquence du rapport $[\text{DMG}_{\text{tot}}]/[\text{DMG}]$. L'application des équations (8), (9) et (10), en normalisant l'effet du pH, permet la comparaison.

Cette normalisation faite, on constate que la pente k'' de $k' [\text{DMG}_{\text{tot}}]/[\text{DMG}]$ en fonction de $[\text{RCOOH}]$ diminue quand on ajoute de l'acétate de sodium. Or, la même

diminution est provoquée par une concentration équivalente de NaBr, ce qui prouve que mise à part l'alcalinisation du milieu par l'acétate de sodium, son effet se borne à un effet de sel négatif. Ceci indique que l'ion acétate n'est pas le catalyseur.

L'agent catalyseur est donc dans le cas de la cyclisation du glutamate de méthyle la molécule d'acide non dissociée. CONNANT & BARTLETT⁸⁾ ont mis en évidence un phénomène semblable dans le cas de l'action catalytique des acides carboxyliques sur la réaction de formation des semicarbazones.

En résumé, l'activité des acides carboxyliques sur la réaction de cyclisation du glutamate de méthyle dans l'alcool est à la fois une catalyse et une inhibition. L'action catalytique est due à la molécule d'acide non dissociée agissant sur la molécule de l'ester glutamique, tandis que l'inhibition résulte de la formation de l'ion $\text{DMG} \cdot \text{H}^+$, qui ne se cyclise pas. Comme ici la catalyse fait appel à des molécules plutôt qu'aux ions, il semble intéressant d'étudier le comportement de la cyclisation du glutamate de méthyle dans les solvants non polaires.

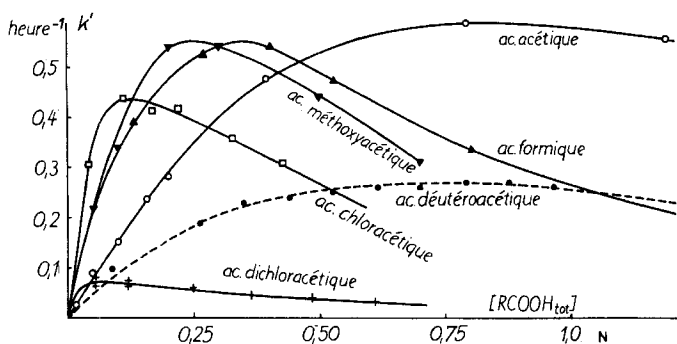


Fig. 3a

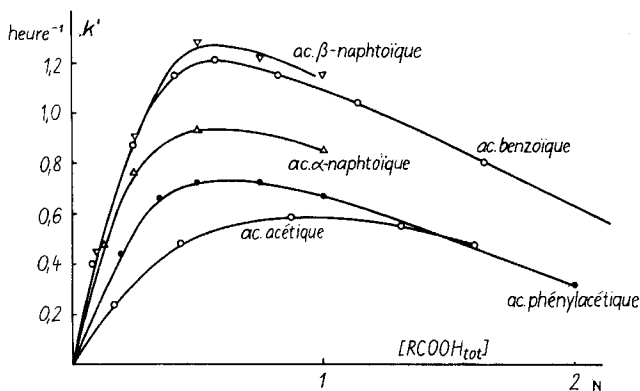


Fig 3b

Fig. 3a et b. Influence de la concentration de différents acides carboxyliques sur la constante de vitesse de la cyclisation du glutamate de méthyle dans le dioxanne à 25°

k'_{\max} représente la valeur maximum de la constante, $[\text{RCOOH}]_{\max}$ la concentration conjuguée en acide et k_0'' la pente initiale de ces « courbes catalytiques ».

⁸⁾ J. B. CONANT & P. D. BARTLETT, J. Amer. chem. Soc. 54, 2882 (1932).

2. Cyclisation du glutamate de méthyle dans les solvants non hydroxylés

Une solution de glutamate de méthyle dans un solvant non hydroxylé tel que le dioxanne est stable à température ordinaire. L'introduction de base (par exemple, *n*-hexylamine ou triéthylamine) n'apporte aucune modification. Par contre, l'addition d'une faible quantité d'acide carboxylique entraîne la disparition progressive de la fonction amine du glutamate de méthyle par suite de la formation du pyroglutamate de méthyle.

La cinétique de la réaction, comme dans le cas des solvants hydroxylés, est suivie par dosage acidimétrique. Ici également l'ordre de la réaction en glutamate de méthyle est *un*: la relation $-d[\text{DMG}]/dt = k'[\text{DMG}]$ est vérifiée dans tout le domaine de concentration en acide étudié.

La courbe (Fig. 3) qui représente la variation de la constante cinétique mesurée en fonction de la concentration en acide a une allure comparable à celle obtenue pour l'influence des acides dans les solvants hydroxylés (Fig. 1). En effet, pour les faibles teneurs en acide, nous observons une action *catalytique* de l'acide sur la réaction de cyclisation, et un effet *inhibiteur* pour les concentrations plus importantes en acide.

L'étude de cette courbe, que nous appellerons par la suite «courbe catalytique», permet la détermination de *trois* grandeurs: la valeur maximum k'_{max} de la constante cinétique, la concentration en acide $[\text{RCOOH}]_{max}$ pour laquelle cette constante cinétique atteint sa valeur maximum et la pente k_0'' de la courbe catalytique pour les faibles teneurs en acide.

$[\text{RCOOH}]_{max}$ reflète en quelque sorte l'efficacité de l'effet inhibiteur: à cette concentration critique l'effet inhibiteur commence à l'emporter sur l'effet catalytique. k_0'' (en litre mole⁻¹ heure⁻¹) peut être considéré comme étant le pouvoir catalytique intrinsèque de l'acide, puisqu'en première approximation aux faibles concentrations en acide l'effet inhibiteur est négligeable. La relation cinétique pour ce domaine serait alors:

$$-\frac{d[\text{DMG}]}{dt} = k_0'' [\text{RCOOH}] [\text{DMG}],$$

avec $k' = k_0'' [\text{RCOOH}]^9$

Les grandeurs k'' et $[\text{RCOOH}]_{max}$ dépendent du solvant et de l'acide utilisés.

a) *Influence de la structure chimique et de la force de l'acide catalyseur.* L'étude systématique d'un grand nombre d'acides carboxyliques aliphatiques et aromatiques dans le dioxanne a démontré que la force de l'acide agit sur les trois caractéristiques de la courbe catalytique (Fig. 3 et tableau I). Lorsque la force de l'acide augmente (diminution du $\text{p}K_a^{10}$): a) la pente initiale k_0'' augmente; b) la valeur $[\text{RCOOH}]_{max}$ diminue; c) la valeur k'_{max} diminue.

⁹⁾ La courbe catalytique peut être exprimée avec une bonne approximation par la relation empirique: $k' = k_0'' [\text{RCOOH}] \exp. \left[-\frac{[\text{RCOOH}]}{[\text{RCOOH}]_{max}} \right]$; celle-ci peut se mettre sous la forme $\log \frac{k'}{[\text{RCOOH}]} = \log k_0'' - \frac{[\text{RCOOH}]}{[\text{RCOOH}]_{max}}$. Connaissant k' et $[\text{RCOOH}]$, il est simple de déterminer graphiquement k_0'' et $[\text{RCOOH}]_{max}$.

¹⁰⁾ Toutes les valeurs de $\text{p}K_a$ que nous utilisons dans le cas des solvants non hydroxylés sont celles indiquées pour l'eau. Elles n'ont donc qu'une valeur comparative.

Pour une valeur donnée du pK_a , le pouvoir catalytique des acides aromatiques ou des acides non saturés est supérieur à celui des acides aliphatiques saturés.

Les figures 4a et 4b, qui représentent respectivement le logarithme des pentes initiales k_0'' et le logarithme de $[RCOOH]_{max}$ en fonction du pK_a pour les divers acides étudiés, montrent clairement ce phénomène.

Le cas de l'acide deutéroacétique CH_3COOD est assez particulier. En effet, l'activité catalytique k_0'' de cet acide est normale, compte tenu qu'il s'agit d'un acide aliphatique (Fig. 4a), mais par contre l'effet inhibiteur caractérisé par $[RCOOH]_{max}$ est anormalement exalté (Fig. 4b) en comparaison avec un acide hydrogéné de même force.

Tableau I. Cyclisation du glutamate de méthyle (0,1N dans le dioxanne à 25°) catalysée par divers acides carboxyliques

Valeurs de l'activité catalytique intrinsèque (k_0'') et de la concentration optimale en acide catalyseur ($[RCOOH]_{max}$) pour laquelle la constante cinétique atteint sa valeur maximale (k'_{max}).

Acide catalyseur	pK_a (dans l'eau)	k_0'' l/mole·h	$[RCOOH]_{max}$ mole/l		k'_{max} h ⁻¹
			observé	calculé *)	
dichloracétique	1,29	(3)	(0,05)	(0,07)	0,08
monochloracétique	2,86	9,6	0,12	0,125	0,44
méthoxyacétique	3,53	5,2	0,28	0,28	0,54
formique	3,76	4,2	0,34	0,34	0,53
acétique	4,76	1,6	0,94	0,99	0,58
phénylacétique	4,31	3,0	0,6	0,65	0,72
α -naphthoïque	3,69	4,8	0,5	0,52	0,93
<i>m</i> -hydroxybenzoïque	4,08	5,0	0,51	0,48	0,89
β -naphthoïque	4,17	5,4	0,6	0,65	1,30
benzoïque	4,20	5,4	0,6	0,61	1,21
<i>p</i> -hydroxybenzoïque	4,54	3,7	0,6	0,59	0,80
acrylique	4,28	3,7	0,75	0,69	0,94
méthacrylique	4,68	3,2	0,9	0,95	1,12
diméthyl-2, 2-acrylique	5,25	1,3	1,46	0,15	0,72
CH_3COOD	5,28	1,0	0,79	0,735	0,27

*) voir note ^b).

Déjà la présence de deuterium mobile provoque l'inhibition de la réaction de cyclisation. La fig. 5 montre qu'une dilution de l'acide acétique catalyseur par 10% H_2O diminue son activité de seulement 3-4% tandis que la dilution par 10% D_2O provoque une chute de 31% de la vitesse de réaction.

b) *Influence de la structure et du caractère nucléophile de l'aminoester.* Les esters glutamiques se cyclisent à des vitesses qui dépendent entre autres de la nature du reste alcool de la molécule. Le tableau II résume les résultats obtenus avec divers esters glutamiques dans des conditions par ailleurs identiques. Il a été montré que la nature du groupement ester en α influence peu la vitesse de cyclisation¹¹⁾. Dès

¹¹⁾ A. J. HUBERT, R. BUYLE & B. HARGITAY, *Nature* 782, 259 (1958); B. HARGITAY, A. J. HUBERT & R. BUYLE, *Makromol. Chem.* 56, 104 (1962).

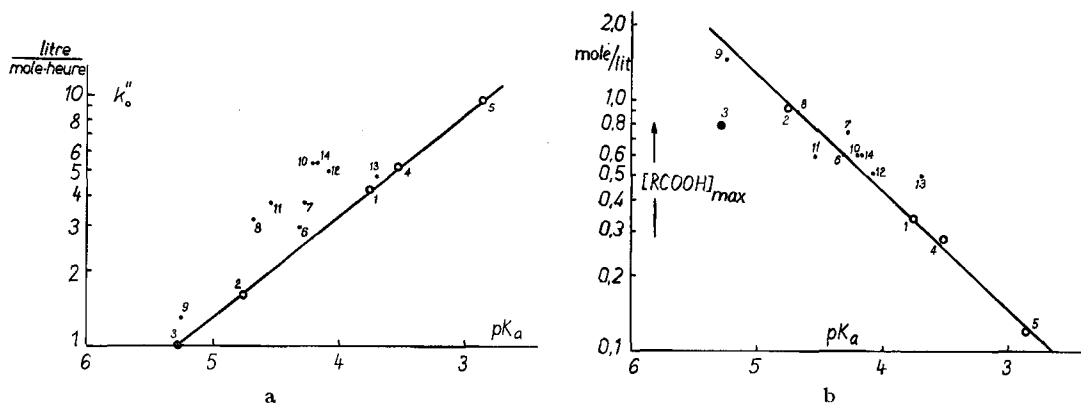


Fig. 4a et b. Pouvoir catalytique (k_0'') et effet inhibiteur caractérisé par $[RCOOH]_{max}$ pour différents acides dans le dioxane à 25°, et leur pK_a mesuré dans l'eau

- | | | |
|--------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| 1. Ac. formique | 6. Ac. phénylacétique | 11. Ac. <i>p</i> -hydroxybenzoïque |
| 2. Ac. acétique | 7. Ac. acrylique | 12. Ac. <i>m</i> -hydroxybenzoïque |
| 3. Ac. O-deutéroacétique | 8. Ac. méthacrylique | 13. Ac. α -naphtoïque |
| 4. Ac. méthoxyacétique | 9. Ac. diméthyl-2,2-acrylique | 14. Ac. β -naphtoïque |
| 5. Ac. chloracétique | 10. Ac. benzoïque | |

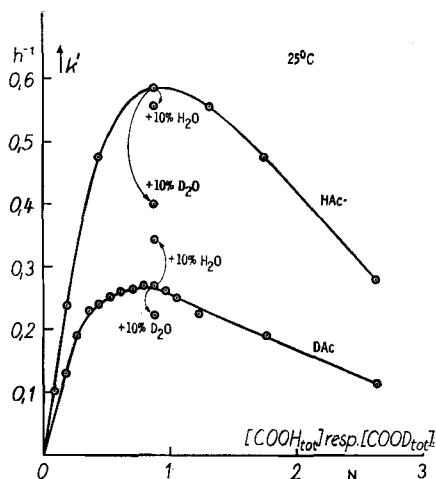


Fig. 5. Effets catalytiques des acides acétique et deutéroacétique dans le dioxane à 25° sur la cyclisation du glutamate de méthyle

On remarque que la présence de faibles teneurs en H_2O influence peu, celle de D_2O par contre influence très fortement la vitesse

lors on peut admettre l'ordre de réactivité suivant pour les fonctions γ -esters qui seules participent à la réaction:

benzyle > méthyle > éthyle > isopropyle.

Cet ordre correspond à celui généralement observé pour la réactivité de ces esters vis-à-vis de l'hydrolyse et de l'aminolyse^{5) 12)}.

¹²⁾ J. MATHIEU & A. ALLAIS, Principes de Synthèse Organique, p. 387 (1957).

Tableau II. Constantes de vitesse pour la cyclisation d'esters glutamiques $R_\alpha OOC-CH(NH_2)-CH_2-CH_2-COOR_\gamma$ ($c_0 = 0,1N$), catalysée par l'acide acétique (0,875M) dans le dioxanne à 25°

R_α	$-CH_3$	$-CH_3$	$-C_2H_5$	$-CH(CH_3)_2$
R_γ	$-CH_2-C_6H_5$	$-CH_3$	$-C_2H_5$	$-CH(CH_3)_2$
k' (h ⁻¹)	0,70	0,58	0,27	0,065

Par contre, le remplacement de la fonction α -ester par une fonction amide influence nettement la réactivité (Fig. 6). Ici c'est la basicité du groupement amino qui se trouve modifiée. On observe que, lorsque la basicité de l'amino augmente, les valeurs de k_0'' augmentent et le maximum se déplace vers les faibles teneurs en catalyseur. Les deux effets: catalyse et inhibition pour les acides carboxyliques, sont favorisés par le caractère nucléophile de l'azote amino.

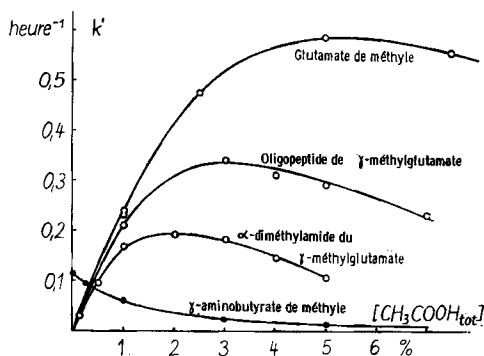


Fig. 6. Vitesses de cyclisation de divers acides γ -aminobutyriques γ -substitués (solvant: dioxanne) à 25° (catalyseur: acide acétique)

Les résultats obtenus avec le γ -aminobutyrate de méthyle (pas de substituant α) montrent que cette substance se cyclise déjà sans catalyseur et que les acides carboxyliques ont uniquement un effet inhibiteur. Il faut en chercher la raison dans le caractère basique très marqué (pK_a : 9,5) de cet aminoacide et admettre que si la catalyse et l'inhibition par les acides sont influencées par la basicité de l'amino, l'effet inhibiteur l'emporte nettement.

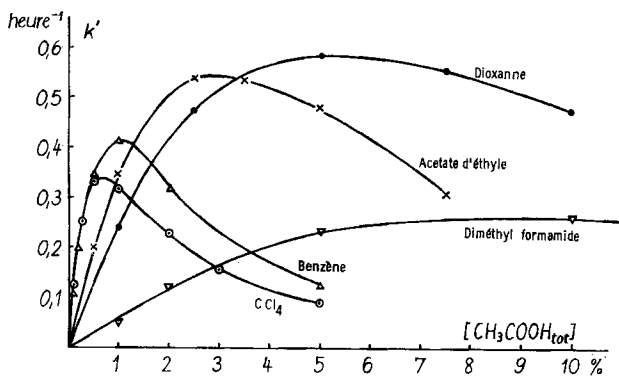


Fig. 7. « Courbes catalytiques » obtenues à 25° avec l'acide acétique dans différents solvants aprotiques

c) *Influence de la nature du solvant.* La courbe catalytique est fortement influencée par la nature du solvant (v. Fig. 7). Il semble que l'influence du solvant sur la vitesse réactionnelle dépende de l'interaction de ce solvant avec l'acide catalyseur. En effet, le degré d'interaction de ces solvants avec les protons a été déterminé par l'étude du déplacement $\Delta\lambda$ de la bande O–D dans le spectre IR. du méthanol deutéré¹³⁾. En portant les valeurs de ce déplacement $\Delta\lambda$ en fonction de k_0'' et $[\text{RCOOH}]_{\text{max}}$ trouvés pour les divers solvants (Fig. 8), les courbes obtenues indiquent que la pente initiale k_0'' décroît et que la concentration $[\text{RCOOH}]_{\text{max}}$ augmente lorsque la «basicité» du solvant augmente.

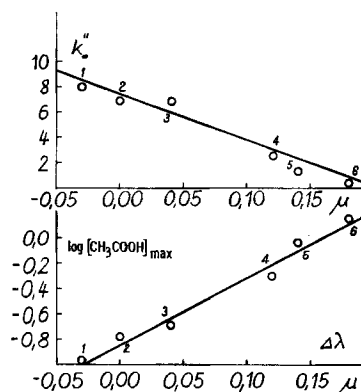


Fig. 8. Effets catalyseur (k_0'') et inhibiteur ($\log [\text{CH}_3\text{COOH}]_{\text{max}}$) de l'acide acétique en fonction de la basicité du solvant (caractérisée par le déplacement de la longueur d'onde $\Delta\lambda$ (en μ) de la bande O–D stretching observé pour CH_3OD dans les solvants correspondants)

1. CCl_4 ; 2. Benzène; 3. Nitrobenzène; 4. Acétate d'éthyle; 5. Dioxanne; 6. Acétone

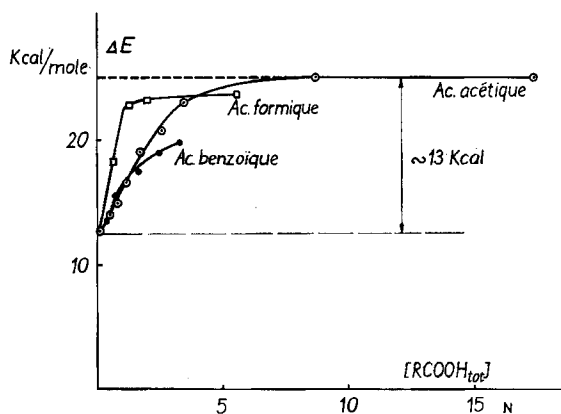


Fig. 9. Enthalpie d'activation de la cyclisation du glutamate de méthyle en fonction de la concentration en acides dans le dioxanne

d) *Influence de la température.* Si l'on porte les valeurs de $\log k'$ en fonction de $1/T$ on obtient une droite pour chaque concentration en catalyseur. Les relations classiques sont donc vérifiées et il est aisé de déterminer pour chaque concentration

¹³⁾ W. GORDY & S. C. STANFORD, J. chem. Physics 8, 170 (1940).

en acide les énergies et entropies d'activation. Il n'est pas possible de mesurer le coefficient de température en l'absence de tout catalyseur: la cyclisation libère une molécule de méthanol capable d'influencer la réaction. En fait, à 100° C la réaction démarre sans catalyseur et est autocatalytique.

Les valeurs ΔE et ΔS croissent en fonction de la concentration en acide pour atteindre un palier (Fig. 9 et 10). La hauteur de ce palier est pour l'acide acétique et l'acide formique du même ordre de grandeur. Dans le cas de l'acide benzoïque, on est limité par sa faible solubilité dans le dioxanne.

Cette variation des grandeurs thermodynamiques en fonction de la concentration en acide sera discutée par la suite.

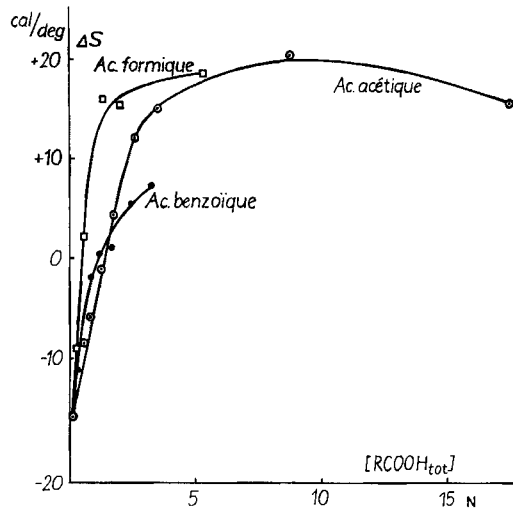
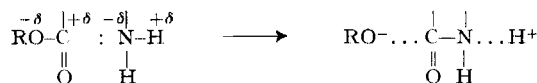


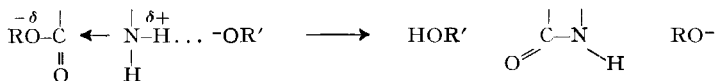
Fig. 10. Entropie d'activation de la cyclisation du glutamate de méthyle en fonction de la concentration en acides dans le dioxanne

Discussion

L'ester- γ -aminobutyrique se cyclise en pyrrolidone, même sans catalyseur, dans les solvants hydroxylés ainsi que dans les solvants aprotiques par substitution nucléophile.



La présence d'un groupe électrophile en position α par rapport à l'azote diminue la basicité de l'amine, et la cyclisation ne se produit plus à la température ambiante sans catalyseur. Le rôle de celui-ci est d'augmenter le caractère nucléophile de la fonction amine. Une base forte, telle qu'un anion $\text{R}'\text{O}^-$, produira un tel effet en arrachant un proton de l'amine.



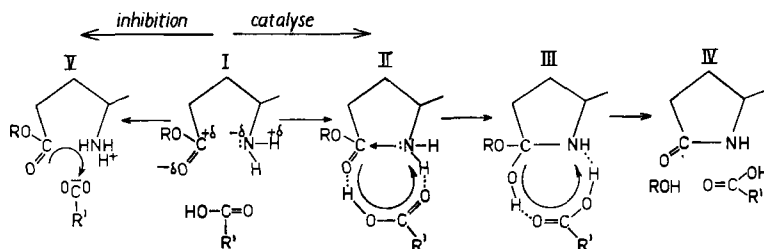
Une base faible par contre, par exemple une amine en milieu aprotique, ne sera pas efficace, mais dans un solvant hydroxylé cette amine pourra catalyser la cyclisation

en donnant naissance à une faible concentration d'anions $R'O^-$. La relation entre la vitesse de cyclisation et le pH des solutions alcooliques est conforme à cette hypothèse. En conséquence, on peut affirmer que dans les solvants protiques la cyclisation est soumise à une catalyse basique spécifique par les ions alcoolates.

L'anion carboxylate, qui est une base beaucoup plus faible qu'un alcoolate, ne parvient pas à catalyser la réaction. L'expérience montre qu'à pH constant l'augmentation de la concentration en ion acétate n'accélère pas la vitesse de réaction (Fig. 2).

La présence des acides carboxyliques a un effet fortement catalytique. Le fait qu'à un pH égal les acides minéraux ne sont pas catalyseurs, mais uniquement inhibiteurs, fait tomber toute hypothèse reliant l'activité catalytique au proton H^+ . On a montré plus haut qu'on doit admettre la catalyse par le groupe $COOH$ non dissocié. Comment peut-on envisager la polarisation du substrat par cette particule non chargée ?

La formation de la liaison entre l'azote et le groupe carbonyle nécessite la migration d'une paire d'électrons dans le sens $N \rightarrow C$. Cette migration crée temporairement un fort dipole, dont l'énergie est fournie par la basicité de l'azote. Si la tendance nucléophile de cet azote est diminuée, un anion RO^- peut suppléer à la polarisation. On peut cependant provoquer la migration des charges sans pour cela augmenter l'énergie du dipole. Le schéma suivant propose un mécanisme de décharge du dipole, l'acide carboxylique servant d'agent de court-circuit.



Dans l'étape de départ (I) une polarisation du substrat a lieu, mais elle est insuffisante pour que l'aminolyse se produise. Dans l'étape II, le catalyseur s'attache au substrat par l'intermédiaire de deux ponts d'hydrogène. Sans qu'il y ait augmentation de l'énergie du dipole, un courant circulaire (courant négatif dans le sens inverse des aiguilles d'une montre) nous amène à l'étape III dans laquelle la nouvelle liaison C-N est déjà formée. Le catalyseur a échangé son proton et se détache (étape IV) ainsi que l'alcool formé.

Il est essentiel dans ce mécanisme que l'acide carboxylique s'attache en position bien déterminée, ce qui justifie la valeur fort négative de l'entropie d'activation de -15 à -20 U.E. Cependant, l'interaction du catalyseur avec le substrat peut aussi se réaliser dans une orientation opposée (stade V; à gauche dans le schéma). Le proton de l'acide se fixe alors sur l'amine du diester. On peut prévoir que cette orientation mène à une inhibition d'autant plus marquée que la basicité de l'amine et la force de l'acide catalyseur seront plus importantes.

Ici encore, l'expérience confirme que lorsque l'acidité du catalyseur est forte (acide formique et acides chloracétiques), la zone d'inhibition se déplace vers les

basses concentrations. De même, lorsque la basicité de l'amine est suffisamment forte, comme pour l'acide γ -aminobutyrique, l'inhibition l'emporte dès les plus faibles concentrations en acide (0,04M), utilisées dans les mesures cinétiques.

L'inhibition est due au changement de polarisation mutuelle des groupements ester et amine. En fait, par l'attachement du proton à l'amine, le groupe $-\text{NH}_3$ acquiert une charge nette positive qui provoque le mouvement électronique inverse (c'est-à-dire dans le sens des aiguilles d'une montre) à celui qui intervient dans le processus de catalyse.

Cette interprétation rend donc compte des conclusions déjà formulées, que 1° le proton est un inhibiteur, 2° l'anion carboxylate est inactif, 3° l'acide non dissocié est l'espèce catalytique.

L'étude comparative de l'action catalytique des divers acides justifie encore ces conclusions. En effet, la structure du complexe réactionnel II permet de prévoir que l'efficacité catalytique des acides est liée à leur tendance à former des ponts d'hydrogène. Or, cette tendance est parallèle au caractère acide du composé. Le graphique 4a montre que la puissance catalytique des acides est inversement proportionnelle à leur pK_a , du moins pour les acides aliphatiques saturés.

L'exaltation de l'effet catalytique pour les acides aromatiques et les acides non saturés n'a rien de surprenant. Il ne manque pas d'exemples où le comportement de la liaison O-H des divers acides carboxyliques n'est relié de façon continue à leur pK_a que pour des séries étroitement apparentées¹⁴).

D'autre part, l'augmentation de la constante de dissociation de l'acide favorise aussi la quaternisation du groupement aminé du substrat par salification et entraîne une inhibition de la réaction de cyclisation, déjà aux faibles concentrations en acide. Le graphique 4b montre clairement cet antagonisme.

La résultante de ces deux effets, catalytique et inhibiteur, est la courbe observée, qui montre d'abord une augmentation de la vitesse de réaction avec l'augmentation de la concentration en catalyseur, puis, aux concentrations plus élevées en acide, l'inhibition l'emporte et la vitesse diminue¹⁵).

La pente initiale de la courbe catalytique est d'autant plus raide que l'acide est plus fort, mais parallèlement, la position du maximum se déplace vers les faibles teneurs en acide.

On peut s'attendre à ce que tout autre effet à même d'empêcher la formation des stades II et III du schéma entraîne une inhibition. C'est le cas des solvants «basiques» capables de former des ponts d'hydrogène. Ils peuvent s'attacher, soit à l'acide catalyseur, soit à l'amine, et empêcher la formation du court-circuit (étapes II et III). Le parallélisme entre le pouvoir inhibiteur des solvants et leur tendance à accepter un proton, mesuré par IR., est clairement démontré dans la fig. 8.

Aux basses concentrations en acide catalyseur, l'énergie d'activation est de l'ordre de 12 à 13 Kcal/mole, valeur qui correspond à celle souvent observée pour les aminolyses d'esters⁵⁾¹⁶).

¹⁴) J. D. S. GOULDEN, *Spectrochimica Acta* 6, 132 (1954).

¹⁵) Des acides très faibles tels que les acides carbamiques catalysent également la cyclisation des diesters glutamiques¹¹), mais l'effet inhibiteur n'a pas été observé. Les concentrations en acides carbamiques étudiées sont trop faibles pour que l'inhibition se manifeste.

¹⁶) P. S. REES, D. P. TONY & G. T. YOUNG, *J. chem. Soc.* 1954, 662.

A de plus hautes concentrations en catalyseur acide, c'est-à-dire dans le domaine où l'inhibition devient importante, l'énergie d'activation observée augmente et atteint 20 à 25 Kcal/mole.

Selon le schéma proposé, l'inhibition consiste en une neutralisation de l'amine par l'acide. Or, la chaleur de neutralisation d'une amine est de l'ordre de 10 à 13 Kcal/mole¹⁷⁾. Lorsque la concentration de l'acide catalyseur est faible, sa conformation efficace (stade II) avec le substrat est aisée puisque ce dernier reste sous forme d'amine libre, et l'énergie d'activation est normale. Par contre, lorsqu'il y a suffisamment d'acide présent, l'amine est neutralisée, et pour que la cyclisation puisse s'effectuer il est nécessaire de revenir au stade amine libre. Dans ce cas, l'énergie d'activation observée sera la somme de l'énergie de neutralisation et de l'énergie d'activation d'aminolyse proprement dite.

Un raisonnement analogue permet d'expliquer les variations de l'entropie d'activation en fonction de la concentration en acide.

En effet, aux faibles concentrations en acide, la catalyse est le seul phénomène important et la configuration spécifique du stade II peut expliquer la valeur de -15 à -20 U.E. observée pour l'entropie d'activation.

D'un autre côté, aux fortes concentrations en acide, l'entropie d'activation observée est la résultante de deux effets: la libération de l'amine d'une part et la catalyse d'autre part.

Or, la libération de l'amine au départ du sel, non dissocié dans un milieu tel que le dioxanne, provoque la récupération d'un grand nombre d'unités entropiques. La juxtaposition des deux effets explique les valeurs observées.

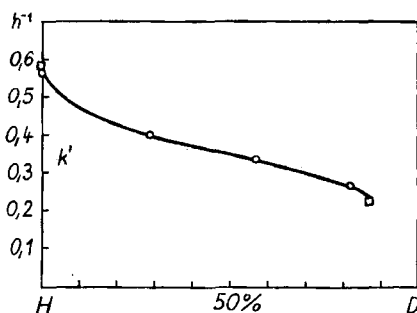


Fig. 11. Vitesse k' de la cyclisation du glutamate de méthyle catalysée par l'acide acétique, en fonction de la teneur en D de l'hydrogène mobile présent

Température: 25°. □ Conditions anhydres, ○ présence d'eau (voir fig. 5)

La comparaison de l'action d'un acide et de son analogue deutéré illustre bien le rôle du proton comme inhibiteur et celui de l'acide non dissocié comme catalyseur. LEWIS & SCHULTZ¹⁸⁾ ont montré que l'énergie nécessaire pour arracher par ionisation un ion deutérium est toujours plus grande que celle pour arracher un ion hydrogène. L'acide deutéroacétique CH_3COOD est donc un acide plus faible que l'acide acétique. Mais le même phénomène existe pour la liaison N-D, liaison qui, dans le cas de

¹⁷⁾ W. S. FYFE, J. chem. Soc. 1955, 1347.

¹⁸⁾ G. N. LEWIS & P. W. SCHULTZ, J. Amer. chem. Soc. 56, 1913 (1934).

l'ester glutamique, peut se former par salification et par échange. On peut donc s'attendre à ce que l'acide deutéroacétique soit d'une part moins bon catalyseur par suite de son pK_a plus élevé et d'autre part un meilleur inhibiteur puisqu'il faut rompre une liaison N-D pour contrecarrer l'inhibition.

L'influence du rapport D/H sur la vitesse de cyclisation est clairement mise en évidence par la fig. 11.

En conclusion, tous les faits expérimentaux nous amènent à considérer que dans ce cas particulier d'aminolyse d'ester, la réaction est catalysée dans les milieux alcooliques par l'ion RO^- et que dans la catalyse acide c'est la molécule d'acide carboxylique non dissociée qui par un effet «push-pull» provoque l'accélération de la réaction. La présence dans le milieu réactionnel d'une quantité importante d'acide inhibe la réaction.

La force de l'acide carboxylique utilisé et surtout sa concentration sont donc d'une importance primordiale dans l'utilisation de ce catalyseur dans des réactions de ce type. La basicité de l'amine et le choix du solvant doivent également être considérés.

Techniques expérimentales. – *Mesures cinétiques.* La solution 0,1N du diester glutamique contenant des quantités déterminées de catalyseur est placée dans un thermostat; à des intervalles de temps convenables, les concentrations en amine sont déterminées sur des prélèvements.

Dosage de l'amine libre: Le titrage potentiométrique, à l'aide d'une électrode de verre (Radiometer G 202 B), est effectué par l'acide perchlorique (0,1N dans le dioxanne), dans le méthanol comme solvant (15 ml pour 1 ml d'échantillon). Pour les réactions rapides et surtout pendant la phase initiale du dosage, on pourrait douter de la précision de la méthode, parce que la réaction se poursuit même pendant le titrage. Néanmoins, dans le cas où le catalyseur est un acide et le solvant le dioxanne, la réaction se ralentit subitement au moment de la dilution par l'alcool, parce que les vitesses de réaction étant beaucoup plus faibles dans ce dernier solvant. Par contre, dans le cas de la catalyse basique dans le méthanol, la dilution ne ralentit pas suffisamment la réaction aux $pH > 11$ pour rendre le dosage direct précis. Pour cette raison, on ajoute l'échantillon au méthanol contenant déjà la majeure partie de l'acide perchlorique nécessaire pour neutraliser l'amine libre et le catalyseur. Avec cette méthode, les mesures sont précises et reproductibles. Le saut dans la courbe de pH est très net si la constante de dissociation de l'acide catalyseur ne dépasse pas 10^{-3} , ce qui est le cas dans les systèmes étudiés, à l'exception de l'acide dichloracétique ($5 \cdot 10^{-2}$).

Les mesures de pH s'effectuent à l'aide d'un potentiomètre électronique Radiometer 22 avec électrode de verre Radiometer G 202 B opposée à une électrode de calomel saturée. Dans le méthanol, les lectures directes n'ont qu'une signification relative et on a recours à la méthode de DE LIGNY¹⁰) qui utilise comme tampons standards: (A) ac. salicylique 0,01N + salicylate de sodium 0,01N ($pH = 7,48$ dans le méthanol), et (B) ac. oxalique 0,01N + hydrogène-oxalate de sodium 0,01N ($pH = 5,72$ dans le méthanol). Ayant retrouvé avec l'électrode de verre les mêmes valeurs que DE LIGNY avec l'électrode d'hydrogène et sachant que la courbe de potentiel de l'électrode de verre en fonction du pH en milieu alcoolique est linéaire entre $pH = 4$ et 10^{10}), on peut calculer le vrai pH de la solution méthanolique (pH_x) en se basant sur les valeurs pH_{st} et E_{st} (f. e. m.) obtenues avec un des standards (A) ou (B). On a pour $25^\circ C$:

$$pH_x = pH_{st} + \frac{(E_x - E_{st}) \text{ (mV)}}{0,059}$$

Néanmoins, on peut s'attendre à des déviations du comportement théorique aux pH élevés ($pH > 10$). Il en va de même lorsque la concentration en acide catalyseur est trop importante (changement du milieu).

La préparation des produits de départ a été récemment décrite par les auteurs¹¹).

¹⁰) N. A. IZMAÏLOV & A. M. ALEXANDRA, Trudy Kominii anal. Khim. Akad. Nauk S.S.S.R., Otdel Khim. Nauk 4 (7), 149 (1952); Chem. Abstr. 48, 1857 d (1954).

SUMMARY

Lactam formation from glutamic acid diesters is subject to catalysis by carboxylic acids in general and to base catalysis in alcohols. Kinetic measurements prove that catalysis by carboxylic acids is based on a push-pull mechanism provoked by the undissociated acid molecule and that the base catalysed reaction is due to the alcoholate anion and is therefore absent in aprotic solvents. Carboxylic acids exhibit catalysis as well as – at higher concentration – inhibition.

The effects are analysed and a self-consistent picture of the mechanism is presented. For the acids, the catalyst concentration of maximum activity depends on their strength, on the basicity of the substrate and on the solvent.

Union Carbide European Research Associates
95, rue Gatti de Gamond, Bruxelles 18

160. Etude de structures peptidiques à l'aide de phénylthiocyanate IV¹)
Note sur la préparation et la purification des phénylthiohydantoïnes
dérivées de divers acides aminés

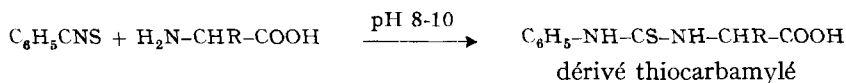
par **Emile Cherbuliez, J. Marszalek et J. Rabinowitz**

(18. IV. 63)

Une des méthodes de détermination de la séquence des acides aminés d'une molécule peptidique consiste à la mettre en réaction avec l'isothiocyanate de phényle selon EDMAN²)³), ce qui permet de détacher à chaque cycle d'opérations l'acide aminé N-terminal sous forme d'une phénylthiohydantoïne substituée, que l'on identifie facilement à l'échelle micro par chromatographie⁴) (soit sur papier⁵), soit sur couche mince de silice⁶)), surtout si on dispose de substances de référence.

Toutes les phénylthiohydantoïnes dérivées d'acides α -aminés décrites dans la littérature ont été préparées précisément selon la méthode d'EDMAN²)³), applicable aussi aux acides aminés eux-mêmes; elle comporte les deux étapes suivantes qu'on peut parcourir sans isoler le produit intermédiaire:

1) thiocarbamylation:



¹) IIIe Communication: *Helv.* 44, 319 (1961).

²) G. EDMAN, *Acta chem. scand.* 4, 283 (1950).

³) *Methods of biochemical analysis*, Vol. 2, 391.

⁴) Voir p. ex. E. CHERBULIEZ, BR. BAEHLER, M. C. LEBEAU, A. R. SUSSMANN & J. RABINOWITZ, *Helv.* 43, 896 (1960).

⁵) J. SJÖQUIST, *Acta chem. scand.* 7, 447 (1953).

⁶) Voir E. CHERBULIEZ, BR. BAEHLER & J. RABINOWITZ, *Helv.* 43, 1871 (1960).