

Über Aminosäuren und Peptide, XIII*

**Cis-Cycloprolylprolin-Anion —
ein konfigurationsstabiles Carbanion****

Zur Racemisierung von *cyclo*-(L-Pro—L-Pro)***

Von

Ulrich Schmidt* und **Alexej Nikiforov**

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Wien, Österreich

Mit 2 Abbildungen

(Eingegangen am 3. Januar 1975)

*On Amino Acids and Peptides, XIII.:
Configuration Stability of cis-cycloprolylproline Anion.
The Racemisation of cyclo-(L-Pro—L-Pro)*

The racemisation of *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) (**2**) with metal amides in liq. ammonia was examined. The K-kation causes more extensive racemisation than Na-kation, which in turn is more effective than Li⁺. This, the racemisation of **2** in *t*-butyl alcohol with K⁺C₆H₅O⁻ and the data gained from corresponding deuterated medium show that the racemisation of **2** proceeds in two steps: in the first, the less stable *trans-cyclo*-(L-Pro—D-Pro) (**3**) is formed, followed by the rapid conversion of **3** to a mixture of *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) and *cyclo*-(D-Pro—D-Pro) in the second step.

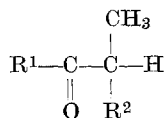
Über konfigurationsstabile Carbanionen und metallorganische Verbindungen ist mehrfach berichtet worden¹⁻³. Der Carbeniatkohlenstoff ist dabei meist von Schwefel oder Phosphor flankiert, oder leitet sich von einer Kohlenstoffsäure ab, deren CH-Bindung stärkeren s-Charakter hat³ (z. B. Cyclopropan). Über ein konfigurationsstabiles *ambidentes* Carbanion ist u. W. nichts bekannt. Carbonylverbindungen

* Herrn Prof. Dr. K. Kratzl mit den besten Wünschen gewidmet.

** XII. Mitt.: Elisabeth Öhler, A. Perco und Ulrich Schmidt, Chem. Ber. **107**, 2816 (1974).

*** Die cyclischen Dipeptide wurden nach der in der Peptidchemie üblichen Weise bezeichnet: *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) ist das opt. akt. *cis*-Isomere. *Cyclo*-(L-Pro—L-Pro) + *cyclo*-(D-Pro—D-Pro) ist die *rac.-cis*-Verbindung. *Cyclo*-(L-Pro—D-Pro) stellt die *meso-trans*-Verbindung dar.

des Typs **1** ergaben bei kinetischen Untersuchungen k_e/k_α -Werte von **1** (k_e = Geschwindigkeitskonstante für H—D-Austausch; k_α = Geschwindigkeitskonstante für Racemisierung)⁴.



1

$\text{R}^1 = \text{C}_6\text{H}_5, t\text{-buO}, (\text{CH}_3)_2\text{N}$

$\text{R}^2 = \text{C}_6\text{H}_5, \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$

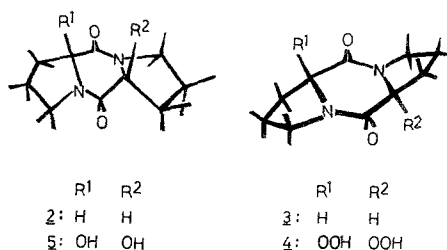
Über die Konfigurationsstabilität von cyclischen prolinhaltigen Dipeptiden liegen einige Beobachtungen vor, die bei der Strukturauflärung und Synthese der Mutterkorn-Alkaloide gemacht wurden⁵⁻⁸. Enthält das cyclische Dipeptid *einen* Prolinrest, so setzt am asymmetrischen Prolinkohlenstoffatom die Inversion bzw. Racemisierung an, und im Gleichgewicht ist die *trans*-Verbindung meist die Hauptkomponente.

Eine klare thermodynamische Bevorzugung der *cis*-Verbindung wird dagegen beim *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) (**2**) beobachtet^{9, 10}. Die *cis*-Verbindung wirkt schon im Modell viel weniger gespannt; die N—CH₂-Protonen und die N—CH—CO-Protonen erscheinen im NMR-Spektrum¹¹ je als Pseudo-Triplett. Die entsprechenden Signale bei der *trans*-Verbindung sind infolge eingeschränkter Beweglichkeit Multiplette. An Hand der NMR-Spektren läßt sich die Zusammensetzung von Mischungen aus *cis*- und *trans-cyclo*-(Pro—Pro) abschätzen. Jedoch treten auch im Bereich von $\delta = 3-4,5$, wo sich die größten Unterschiede im NMR-Spektrum ergeben, Überlagerungen auf, so daß die Konzentrationsangaben von **3** (in den graphischen Darstellungen) eine Fehlerbreite von etwa $\pm 10\%$ einschließen.

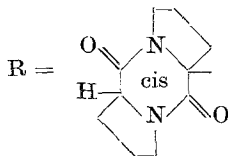
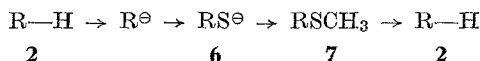
Das stärker gespannte *trans-cyclo*-(L-Pro—D-Pro) (**3**) lagert sich schon in Gegenwart von Natriumäthylsulfid in Alkohol zur *cis*-Verbindung **2** um¹². Auch bei *Monosubstitution* des *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) haben wir nie das Auftreten von *trans*-Verbindungen bei thermodynamisch kontrollierten Prozessen beobachtet. Bei den disubstituierten Verbindungen hängt die Stabilität infolge der 1,4-Wechselwirkung sehr stark von Raumerfüllung und Polarität der Substituenten ab: bei den Dihydroperoxyverbindungen ist z. B. die *trans*-Verbindung **4**, dagegen bei den Dihydroxyverbindungen die *cis*-Verbindung **5** thermodynamisch stabiler¹².

Über die Konfigurationsstabilität des *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) (**2**) hatten wir berichtet⁹. Die Bildung seines Natriumsalzes aus Natrium-

amid in flüssigem Ammoniak und die anschließende Reprotonierung mit Ammoniumchlorid ergab ein Präparat zurück, das noch 85% des Drehungswertes vom Ausgangsmaterial aufwies. Auch bei der



Reaktionsfolge über das Carbanion, das Mercaptid **6**, den Thioäther **7** und dessen Raney-Nickel-Entschwefelung zum Prolyl-prolinanhydrid **2** zurück trat nur 15% Racemisierung ein¹³.



Wir hatten als Ursache für die Konfigurationsstabilität des *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) carbanions diskutiert⁹:

1. Die Ausbildung eines nichtebenen Carbanions.
2. Die Bildung eines ebenen, aber unsymmetrisch solvatisierten Carbanions und
3. die Annäherung des Protons an das ebene Carbanion bevorzugt von einer Seite infolge asymmetrischer Induktion durch das zweite Asymmetriezentrum.

Das zweite Argument — Ausbildung eines ebenen, aber unsymmetrisch solvatisierten Carbanions — ließ sich entkräften, als wir die Lösung/Suspension des *cyclo*-(L-Pro—L-Pro)-Mononatriumsalzes in flüssigem Ammoniak eindampften und die Lösungsmittelreste im Vak. abpumpten. Auch bei der Reprotonierung dieses Präparates wurden 85% Retention beobachtet. Titration der Lösung zeigte, daß kein Ammoniak im Präparat als Solvat vorhanden war.

Da die Acidität des *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) (**2**) etwa der vergleichbarer tertiärer Carbonsäureamide entspricht, die ebene ambidente

und damit mesomeriestabilisierte Anionen ausbilden können, ist auch bei der Carbanionbildung am *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) mit der Ausbildung eines mesomeren, ambidenten Anions zu rechnen. Dazu ist aber wohl nicht die vollständige Einebnung der drei Substituenten am Carbanion nötig, die — zumindest im Modell — nur unter sehr starker Spannung möglich ist.

Über weitere Beobachtungen, die schon l. c.⁹ angekündigt waren, soll hier berichtet werden:

Tabelle 1. *Racemisierung von cyclo*-(L-Pro—L-Pro) in flüssigem Ammoniak mit verschiedenen Metallamiden

Metallamid (Mol%)	$[\alpha]_{20}^D$ von 2 in CHCl ₃ nach Reprotonierung (Drehung des eingesetzten 2 : 112°)	Racemisierung, %
NaNH ₂ (0,1)	10,3	91
NaNH ₂ (0,5)	36,1	67
NaNH ₂ (1,0)	78,5	29,5
NaNH ₂ (1,5—2)	102,3	9
LiNH ₂ (1,0)	100,5	10
LiNH ₂ (1,5—2)	103,3	8
KNH ₂ (1,0)	3,1	97
KNH ₂ (1,5—2)	31,7	72

Die Racemisierung des *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) (**2**) erfolgte unter Übergang in das *cis*-Racemat *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) + *cyclo*-(D-Pro—D-Pro) — und nicht unter Bildung der energiereicheren *trans-meso*-Verbindung (**3**) — und muß unter Inversion an *beiden* asymmetrischen Kohlenstoffatomen ablaufen. Zwei Wege sind denkbar:

1. Die Racemisierung verläuft über zwei nacheinander erfolgende Inversionen, also primär über die Reprotonierung des Monocarbanions zur energiereichen *meso-trans*-Verbindung, deren De- und Reprotonierung unter neuerlicher Inversion zum *cis*-Racemat führt.

2. Der Ablauf führt über ein Dicarbanion.

Ein Argument für den zweistufigen Ablauf bildet die sehr schnelle Umlagerung der *trans*-Verbindung¹². Allerdings konnte neben der *cis*-Verbindung die *trans*-Verbindung nach der Reprotonierung des *cyclo*-(L-Pro—L-Pro)-Natriumsalzes niemals nachgewiesen werden. Sie ist allerdings auch NMR-spektroskopisch in *cis*—*trans*-Gemischen mit weniger als 10% *trans*-Verbindung schwer zu erkennen. — Gegen den Ablauf über ein Dicarbanion spricht weiterhin die Tatsache, daß in flüssigem Ammoniak die Racemisierung bei 10 Mol% Natriumamid

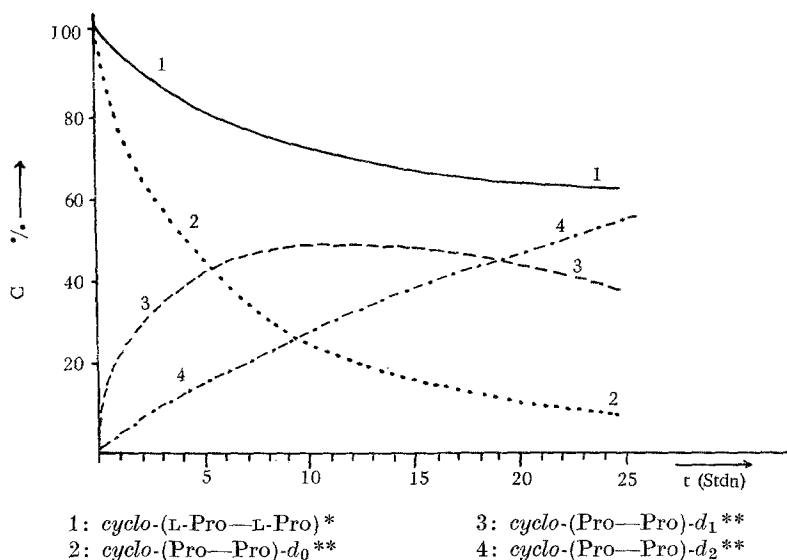


Abb. 1. Deuterierung und Racemisierung von *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) in *t*-Butylalkohol -*d*₁ mit $K^+C_6H_5O^-$

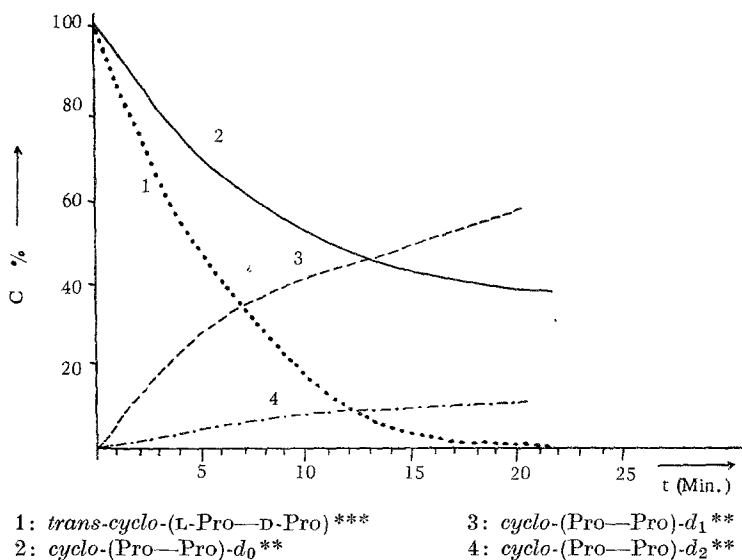


Abb. 2. Deuterierung und Umlagerung von *trans-cyclo*-(Pro—Pro) in *t*-Butanol-*d*₁ mit $K^+C_6H_5O^-$ in *rac. cis-cyclo*-(Pro—Pro) in Minutenmaßstab

* Polarimetrisch bestimmt.

** Massenspektrometrisch bestimmt.

*** NMR-spektroskopisch bestimmt.

viel größer ist, als bei 1 oder 1,5—2 Molen Base (vgl. Tab. 1). Entscheidend ist also bei der Racemisierung über das Natriumsalz eine schnelle Reprotonierung durch überschüssige C—H-Verbindung.

Die Abhängigkeit der Racemisierung vom Kation — Lithiumsalz bewirkt stärkere Retention als Natriumsalz, beim Kaliumsalz wird stärkere Racemisierung als beim Natriumsalz beobachtet (vgl. Tab.) — und die schnelle und vollständige Racemisierung des Natrium-*cyclo*-(L-Pro—L-Pro) in Dimethylsulfoxyd entsprechen der Erwartung.

Kalium-*t*-butylat in *t*-Butylalkohol führt nach einigen Stunden zur vollständigen Racemisierung des *cyclo*-(L-Pro—L-Pro). Auch in Gegenwart von Natriummercaptid in *t*-Butanol läuft die Reaktion ähnlich schnell ab. Erst mit Natriumphenolat in *t*-Butylalkohol (≈ 16 Mol%) wird die Reaktionszeit so ausgedehnt, daß Racemisierung und Deuterierung¹⁴ miteinander verglichen werden können. Wie Abb. 1 zeigt¹⁵, beträgt unter diesen Bedingungen die Halbwertszeit der Deuterierung für die *cis*-Verbindung etwa 5 Stdn. Nach dieser Zeit sind aber noch 85% der ursprünglichen Drehung vorhanden.

Abb. 2 zeigt die Racemisierung und Deuterierung des *trans-cyclo*-(Pro—Pro) unter den gleichen Bedingungen im „Minutenmaßstab“: Schon nach etwa 15 Min. ist annähernd die Hälfte monodeuteriert¹⁶, aber schon alles in die *cis*-Verbindung umgelagert¹⁷. Diese Umlagerung der *trans*- in die *cis*-Verbindung verläuft also nur zur Hälfte unter H—D-Austausch am Umlagerungszentrum. Eine Deprotonierung muß jedoch jeder Umlagerung vorausgehen, denn nur starke Basen katalysieren die *trans-cis*-Umlagerung (tertiäre Amine lagern nicht um). Da annähernd jede zweite *trans-cis*-Umlagerung aber ohne Deuterierung abläuft, muß also etwa jede zweite De—Re-Protonierung innerhalb eines engen Carbanion—Phenol-Komplexes erfolgen. Es ist vorstellbar, daß die Reprotonierung auch durch ein zweites Molekül *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) erfolgt. Da das deuterierte Lösungsmittel aber viel acider (um mindestens 5 Zehnerpotenzen) und außerdem in wesentlich größerer Konzentration vorhanden ist, ist ein derartiger Ablauf sehr unwahrscheinlich, wenn man nicht zusätzlich eine Bildung besonders fester Assoziate aus *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) und *cyclo*-(L-Pro—L-Pro)-Anion annimmt.

Experimenteller Teil

Die NMR-Spektren wurden mit einem XL-100 Spektrometer der Fa. Varian in CDCl_3 mit *TMS* als innerem Standard registriert, die Massenspektren und der Deuterierungsgrad wurden mit einem CH-7 Massenspektrometer der Fa. Varian MAT bei einer Elektronenenergie von 70 eV mit Direkt einlaßsystem gemessen. Die Drehungswerte wurden mit einem Perkin-Elmer Polarimeter 141 in CHCl_3 bestimmt.

*Versuche zur Racemisierung von cis-cyclo-(L-Pro—L-Pro)**Racemisierung in flüssigem Ammoniak — allgemeine Arbeitsvorschrift.*

Die gewünschte molare Menge von Metallamid [in bezug auf *cis-cyclo-(L-Pro—L-Pro)*] wurde in 20 ml trockenem NH_3 unter Zusatz von $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ gebildet und 1,94 g *cyclo-(L-Pro—L-Pro)* von $[\alpha_D]_{20}^{\text{CHCl}_3} = 112^\circ$ wurden zugesetzt. Nach 30 Min. Rühren haben wir einen Überschuß an NH_4Cl eingerührt, das NH_3 abgedampft und den Rückstand in 50 ml $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ (1 : 1) aufgenommen. Die org. Phase wurde mit H_2O gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach Einengen haben wir etwa 80% des eingesetzten *cyclo-(Pro—Pro)* isoliert.

Racemisierungsversuch mit $\text{C}_2\text{H}_5\text{S}^- \text{K}^+$

40 mg (0,2 mMol) *cyclo-(L-Pro—L-Pro)* in 0,4 ml *t*-Butylalkohol wurden mit 0,4 ml (etwa 0,4 mMol *t*-BuO $^-$ K $^+$) eines Reagens, bestehend aus 20 ml *t*-Butylalkohol, 2,26 g (20 mMol) K-*t*-butoxyolat und 1,75 ml ($d = 1,43$; 2,5 g, 40 mMol) $\text{C}_2\text{H}_5\text{SH}$, versetzt und nach 14 Stdn. aufgearbeitet (Aufarbeitung s. kinet. Untersuchungen). Das isolierte *cyclo-(Pro—Pro)* erwies sich als vollständig racemisiert.

Racemisierung von 2 mit $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}^- \text{K}^+$

1 g *cyclo-(L-Pro—L-Pro)* (51 mMol) wurde mit 8 ml eines Reagens aus 20 ml *t*-buOD ($-d_1 = 97\%$, aus MS), 0,78 K (19,5 mMol) und 3,7 g $\text{C}_6\text{H}_5\text{OD}$ ($-d_1 = 92\%$ aus MS) bei 52°C versetzt (8 mMol buOK). Nach 1, 2,5, 5, 7,5 und 24 Stdn. wurden je 0,8 ml entnommen. Bei der Aufarbeitung dieser Proben wurden je Probe 0,15 ml CH_3COOH und 3 ml H_2O zugesetzt und anschließend mit 2 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die org. Phase wurde mit gesätt. NaHCO_3 -Lsg. gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Von diesen Proben wurden Drehungswerte gemessen; die Einwaage wurde jeweils auf den NMR-spektroskopisch ermittelten Gehalt von *cyclo-(Pro—Pro)* in der Probe korrigiert (eine vollständige Abtrennung von Phenol konnte nicht erreicht werden). Durch die Aufnahme der Massenspektren konnte der Deuterierungsgrad bestimmt werden. Die Ausgangsdrehung des eingesetzten *cis-cyclo-(L-Pro—L-Pro)* betrug 138° . Eine vergleichende Messung wurde mit *trans-cyclo-(Pro—Pro)* vorgenommen.

Eine entsprechende Messung wurde mit *trans-cyclo-(Pro—Pro)* bei 32°C wiederholt. Hierbei wurden Proben nach 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 und 70 Min. entnommen. Neben der massenspektrometrisch bestimmten Deuterierung konnte aus den NMR-Spektren das Verhältnis von *trans/cis-cyclo-(Pro—Pro)* abgeschätzt werden¹¹.

Wir danken dem Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung für die Beistellung eines CH-7-Massenspektrometers und eines XL-100-Kernresonanzspektrometers.

Literatur

- ¹ Z. B.: T. Durst, R. Viau und M. R. McClory, J. Amer. Chem. Soc. **93**, 3077 (1971), dort auch weitere Literatur.
- ² A. A. Hartmann und E. L. Eliel, l. c. **93**, 2572 (1971); E. L. Eliel, A. Abatjoglav und A. A. Hartmann, l. c. **94**, 4786 (1972); **96**, 1807 (1974).

- ³ Zusammenfassende Darstellung: *D. J. Cram*, Fundamentals of Carbanion Chemistry. New York: Academic Press. 1965.
- ⁴ *D. J. Cram* und *L. Gosser*, *J. Amer. Chem. Soc.* **86**, 2950 (1964); *D. J. Cram*, *C. A. Kingsbury* und *P. Haberfield*, *l. c.* **83**, 3678 (1961).
- ⁵ Lit. 1—4 von *J. Vičar* und *K. Bláha*¹⁰.
- ⁶ Lit. 1—4 von *J. Vičar* und *K. Bláha*¹⁰.
- ⁷ Lit. 1—4 von *J. Vičar* und *K. Bláha*¹⁰.
- ⁸ Lit. 1—4 von *J. Vičar* und *K. Bláha*¹⁰.
- ⁹ *H. Poisel* und *U. Schmidt*, *Chem. Ber.* **105**, 625 (1972).
- ¹⁰ *J. Vičar* und *K. Bláha*, *Collect. Czech. Commun.* **38**, 3307 (1973).
- ¹¹ *P. E. Young*, *V. Madison* und *E. R. Blout*, *J. Amer. Chem. Soc.* **95**, 6142 (1973).
- ¹² *E. Öhler*, *F. Tataruch* und *U. Schmidt*, *Chem. Ber.* **106**, 165 (1973).
- ¹³ *F. Tataruch* und *U. Schmidt*, *Mh. Chem.* **104**, 1530 (1973).
- ¹⁴ Die Deuterierung von *cyclo*-(L-Pro—L-Pro) wurde von *J. Vičar* und *K. Bláha*¹⁰ und in 0,1 m-NaOD untersucht. Nach 15 Min. waren alle Wasserstoffe an α -C-Atomen (zwei) ausgetauscht.
- ¹⁵ Die Kurven ließen sich nicht kinetisch auswerten. Möglicherweise konkurrieren mit der Racemisierung schon die Ringöffnung und andere basenverbrauchende Reaktionen.
- ¹⁶ Die kinetische Acidität der *trans*-Verbindung ist also größer als die der *cis*-Verbindung. Halbwertszeit der Deuterierung bei der *cis*-Verbindung etwa 5 Stdn. bei der *trans*-Verbindung etwa 15 Min.
- ¹⁷ Schon nach 10 Min. ist im NMR-Spektrum des Reaktionsproduktes die *trans*-Verbindung nicht mehr zu erkennen.

Korrespondenz und Sonderdrucke:

Prof. Dr. U. Schmidt
Organisch-Chemisches Institut
Universität Wien
Währinger Straße 38
A-1090 Wien
Österreich

Eigentümer: Österreichische Akademie der Wissenschaften, Dr. Ignaz Seipel-Platz 2, A-1010 Wien. — Herausgeber: Österreichische Akademie der Wissenschaften, Dr. Ignaz Seipel-Platz 2, A-1010 Wien, und Verein Österreichischer Chemiker, Eschenbachgasse 9, A-1010 Wien. — Verlag: Springer-Verlag, Mölkerbastei 5, A-1011 Wien. — Für den Textteil verantwortlich: Prof. Dr. Friedrich Kuffner, Währinger Straße 38, A-1090 Wien. — Für den Anzeigenteil verantwortlich: Bruno Schweder, Mölkerbastei 5, A-1011 Wien. — Druck: Adolf Holzhausens Nachfolger, Kandlgasse 19-21, A-1070 Wien

Printed in Austria