

ÜBER DEN STERISCHEN VERLAUF DER REAKTION VON OXAZOLONEN-(5) MIT AMINOSAÜREESTERN*

F. WEYGAND, W. STEGLICH UND X. BAROCIO DE LA LAMA
Organisch-Chemisches Institut der Technischen Hochschule München

(Received 12 May 1966)

Zusammenfassung—Bei der Reaktion von DL-Oxazolonen-(5) mit optisch aktiven Aminosäureestern bilden sich bevorzugt die "negativen" Diastereoisomeren. Die Grösse der Induktion lässt sich auf Grund des von Ruch und Ugi¹ angegebenen stereochemischen Modells berechnen, wenn das Diastereoisomerenverhältnis in einem Fall bestimmt worden ist.

OXAZOLONE-(5) spielen als optisch labile Zwischenstufen bei Peptidsynthesen eine wichtige Rolle.² Goodman und Levine³ konnten bei der Umsetzung optisch aktiver Oxazolone-(5) mit Aminosäureestern zeigen, dass die Racemisierung des Oxazolons viel schneller verläuft als die Aminolyse zum N-Acyldipeptidester.

Im Zusammenhang mit unseren Untersuchungen über die Racemisierung bei Peptidsynthesen⁴ haben wir die Frage untersucht, ob bei der Umsetzung eines racemischen Oxazolons mit einem optisch aktiven Aminosäureester eine asymmetrische Induktion eintritt.

Zu diesem Zweck wurde zunächst 4-Isopropyl-2-phenyl-oxazolone-(5) mit verschiedenen Aminosäureester-hydrochloriden in Gegenwart von Triäthylamin in Tetrahydrofuran bei Raumtemperatur umgesetzt. Das Diastereoisomerenverhältnis der entstandenen N-Benzoyl-dipeptidester wurde auf zwei verschiedene Weisen bestimmt. Einmal wurde die Drehung des Rohproduktes mit der der reinen L-L- und D-L-Diastereoisomeren verglichen (Methode A), zum anderen wurden die N-Benzoyl-dipeptidester verseift und nach elektrolytischer Entfernung des Benzoylrestes⁵ in bekannter Weise verestert und N-trifluoracetyliert.⁶ Das Verhältnis der diastereoisomeren N-TFA-Dipeptidmethylester wurde dann gaschromatographisch⁶ bestimmt (Methode B). Da alle Schritte ohne Kristallisation erfolgen, gibt das Verhältnis der Diastereoisomeren direkt die Grösse der asymmetrischen Induktion bei der Umsetzung des Oxazolons mit dem Aminosäureester an. Die bei der Bildung des N-Benzoyl-valyl-valin-methylesters nach beiden Methoden bestimmten Werte stimmen recht gut überein. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Danach tritt bei der Reaktion von 4-Isopropyl-2-phenyl-oxazolone-(5) mit Aminosäureestern eine überraschend hohe asymmetrische Induktion ein. Es entsteht vorwiegend das "negative"⁷ Diastereoisomere, im vorliegenden Fall der D-L-N-Benzoyl-

* Sir Robert Robinson zum 80. Geburtstag gewidmet.

¹ E. Ruch u. I. Ugi, *Theoretica Chimica Acta* **4**, 278 (1966).

² A. Neuberger, *Advances in Protein Chemistry* **4**, 359 (1948); M. Goodman u. K. C. Stueben, *J. org. Chem.* **27**, 3409 (1962); M. W. Williams u. G. T. Young, *J. chem. Soc.* 3701 (1964).

³ M. Goodman u. L. Levine, *J. Amer. Chem. Soc.* **86**, 2918 (1964).

⁴ F. Weygand, A. Prox u. W. König, *Chem. Ber.* **99**, 1451 (1966) und vorhergehende Arbeiten.

⁵ L. Horner, Privatmitteilung; H. Neumann, Dissertation Mainz 1964.

⁶ F. Weygand, A. Prox, L. Schmidhammer u. W. König, *Angew. Chem.* **75**, 282 (1963).

⁷ I. Ugi, *Z. Naturforsch.* **20b**, 405 (1965).

TABELLE 1. ASYMMETRISCHE INDUKTION BEI DER UMSETZUNG VON DL-4-ISOPROPYL-2-PHENYL-OXAZOLON-(5) MIT L-AMINOSÄURE-METHYLESTERN^a

N-Benzoyl-dipeptid-methylester	D-L (%)	L-L (%)	Induktion bestimmt nach Methode ^b
Bz-Val-Ala-OCH ₃	60.5	39.5	A
Bz-Val-Val-OCH ₃	83.4	16.6	A
	83.9	16.1	B
	82.1	17.9	B ^c
Bz-Val-Leu-OCH ₃	78.6	21.4	B
	79.8	20.2	B ^d
Bz-Val-Phe-OCH ₃	74.2	25.8	B

^a Aus L-Aminosäure-methylester + 1 Äquiv. Triäthylamin.

^b A: Direkter Vergleich mit der optischen Drehung der L-L- und D-L-N-Benzoyl-dipeptid-methylester. B: Gaschromatographische Bestimmung.

^c Benzoylrest durch saure Partialhydrolyse abgespalten.

^d Umsetzung mit freiem L-Leucin-methylester.

dipeptid-methylester. Die asymmetrische Lenkung zeigt eine deutliche Abhängigkeit von der Raumerfüllung der Alkylsubstituenten des Aminosäureesters und ist beim L-Valin-methylester am grössten.

Auch 2-Alkyl- und Peptid-oxazolone reagieren mit Aminosäureestern bevorzugt unter Bildung der "negativen" Diastereoisomeren. Zum Nachweis der asymmetrischen Induktion wurden die unter den oben beschriebenen Bedingungen erhaltenen N-Acyl-peptid-ester mit 8.5N methanolischer HCl hydrolysiert. Dabei entstehen vor allem sterisch gehinderte Dipeptide, die nach Trifluoracetylierung und Veresterung gaschromatographisch getrennt und auf ihre sterische Zusammensetzung hin untersucht wurden. Die beobachteten asymmetrischen Induktionen zeigt Tabelle 2.

TABELLE 2. ASYMMETRISCHE INDUKTION BEI DER UMSETZUNG VON 2-METHYL-4-ISOPROPYL-OXAZOLON-(5) UND PEPTID-OXAZOLONEN MIT L-AMINOSÄUREESTERN^a

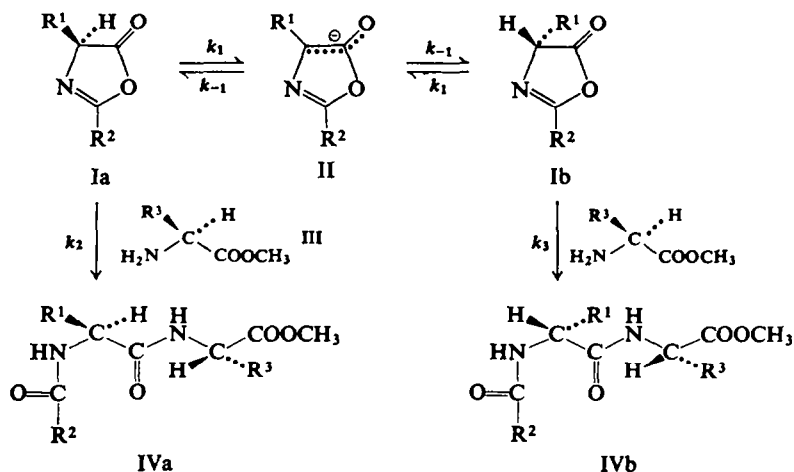
Oxazolone aus	Aminosäureester	Acyldipeptid-ester	D-L (%)	L-L (%)
Ac-Val-OH	L-Val-OCH ₃	Ac-Val-L-Val-OCH ₃	60.6	39.4
Z-Gly-Val-OH	L-Val-OCH ₃	Z-Gly-Val-L-Val-OCH ₃	67.3	32.7
Z-Gly-Val-OH	L-Phe-OCH ₃	Z-Gly-Val-L-Phe-OCH ₃	61.0	39.0
Z-L-Leu-L-Phe-Val-OH	L-Val-OCH ₃	Z-L-Leu-L-Phe-Val-L-Val-OCH ₃	71.1	28.9

^a Aus L-Aminosäure-methylester + 1 Äquiv. Triäthylamin.

Die sterische Lenkung ist hier etwas geringer als beim 4-Isopropyl-2-phenyl-oxazolone-(5). Wiederum ist die Induktion beim L-Valin-methylester höher als beim L-Phenylalanin-Derivat.

Die bei Peptidsynthesen auftretende Racemisierung setzt sich also aus zwei Anteilen zusammen: Dem Grad der Oxazolombildung und der zusätzlichen Racemisierung bei der Öffnung des Oxazoloninges durch den L-Aminosäureester. Beide Anteile wachsen mit zunehmender sterischer Hinderung der Peptidbildung an.

Wie schon erwähnt wurde, verläuft die Racemisierung der Oxazolone viel schneller als die Aminolyse.² Man kann daher annehmen, dass unter den Reaktionsbedingungen die beiden Enantiomeren Ia (L-Form) und Ib (D-Form) in einem raschen Gleichgewicht stehen, wobei das Anion II als Zwischenstufe durchlaufen wird. Durch Reaktion mit dem L-Aminosäureester III entstehen dann die L-L- und die D-L-N-Acyl-dipeptidmethylester IVa und IVb.



Da $k_1 + k_{-1} \gg k_3 > k_2$, hängt das Verhältnis $Q = \frac{k_2}{k_3}$ der Diastereoisomeren direkt vom Unterschied der freien Enthalpien der Übergangszustände ab (Curtin-Hammett-Prinzip)⁸. Für solche korrespondierenden Reaktionspaare gilt nach I. Ugi⁷ die Beziehung $\log Q = \chi \cdot \delta_p \cdot \tau$.

Wendet man die Gleichung auf die Reaktion von 4-Isopropyl-2-phenyl-oxazolone-(5) (I, $R^1 = \text{CH}(\text{Me})_2$, $R^2 = \text{Ph}$) mit L-Alanin-methylester (III, $R^3 = \text{Me}$) an, so ergibt sich aus dem Diastereoisomerenverhältnis $Q = 0.653$ und aus dem aus den Ligandenkonstanten $\lambda[\text{H}] = 0.07$, $\lambda[\text{CH}_3] = 1.00$ und $\lambda[\text{COOCH}_3] \sim 0.88$ erhaltenen Chiralitäts-Parameter $\chi = 0.106$ mit dem Antisymmetrierungsfaktor $\delta_p = -1$ ein τ -Wert von 1.75. Der aus der Umsetzung von L-Valinmethylester mit $Q = 0.192$ und $\lambda[\text{CH}(\text{Me})_2] = 1.27$ erhaltene τ -Wert von 1.65 stimmt damit gut überein.

Mit einem mittleren τ -Wert von 1.70 lassen sich aus den Diastereoisomerenverhältnissen für die Reaktionen mit L-Leucin- und L-Phenylalanin-methylester Ligandenkonstanten für den Isobutyl- ($\lambda = 1.20$) und Benzylrest ($\lambda = 1.15$) berechnen, die sich gut in die von Ugi angegebene Tabelle einfügen.

Aus dem Diastereoisomerenverhältnis $Q = 0.486$ erhält man für die Reaktion von Z-Gly-Val-Oxazolone mit L-Valinmethylester einen τ -Wert von 0.721. Zusammen mit der oben berechneten Ligandenkonstante für den Benzylrest kann daraus das Diastereoisomerenverhältnis für die Reaktion des Peptid-oxazolons mit L-Phenylalanin-

⁸ E. L. Eliel, *Stereochemistry of Carbon Compounds* S. 151. McGraw-Hill, New York (1962).

methylester vorausberechnet werden. Der berechnete Wert von 61·0% D-L-Verbindung stimmt mit dem experimentell gefundenen (61·0%) überein.

Damit ist experimentell bewiesen, dass bei Gültigkeit des Curtin-Hammett-Prinzips die von Ugi⁷ an anderen Reaktionstypen abgeleiteten Ligandenkonstanten auch für die Berechnung des Diastereoisomerenverhältnisses bei der Umsetzung optisch labiler Verbindungen mit einem optisch aktiven Reaktionspartner verwendet werden können.

Man kann somit die Grösse der asymmetrischen Induktion bei der Aufspaltung von Oxazolonen mit optisch aktiven Aminosäureestern berechnen, wenn man den τ -Wert der jeweiligen Reaktion an einem Beispiel bestimmt hat. Auf Grund der hohen τ -Werte und der leichten Zugänglichkeit der beiden Reaktionspartner scheint uns diese Reaktion für die Bestimmung der Ligandenkonstanten besonders geeignet zu sein. Ermittelt man das Diastereoisomerenverhältnis auf gaschromatographischem Wege, so benötigt man dazu nicht einmal optisch aktive Aminosäureester.

Für Sachbeihilfen danken wir EURATOM (Vertrag Nr. 065-64-RISD) und der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die benötigten Oxazolone-(5) wurden aus N-Acylaminosäuren auf üblichem Wege mit Acetanhydrid dargestellt, die N-Acylpeptidoxazolone mit Acetanhydrid in Dioxan.⁹

Umsetzung von 4-Isopropyl-2-phenyl-oxazolone-(5) mit L-Aminosäuremethylestern.

Das L-Aminosäure-methylester-hydrochlorid und die äquiv. Menge 4-Isopropyl-2-phenyl-oxazolone-(5) wurden in abs. THF langsam mit 0·98 Äquiv. Triäthylamin versetzt und 12 Stdn. bei Raumtemperatur gerührt. Nach Absaugen des Triäthylammoniumchlorids und Verdampfen des Lösungsmittels i. Vak. wurde der Rückstand in Essigester aufgenommen und mit verd. Salzsäure, ges. Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen mit Natriumsulfat hinterblieb beim Eindampfen der N-Benzoyl-dipeptid-methylester, der stimmende C,H,N-Analysen lieferte.

Bestimmung der asymmetrischen Induktion.

Methode A. Bei dieser Methode wurde die optische Drehung des bei der Umsetzung erhaltenen N-Benzoyl-dipeptid-methylesters direkt bestimmt:

N-Benzoyl-Val-L-Ala-OCH₃: $[\alpha]_{D}^{25}$: -36·4° ($c = 1$ in MeOH), Schmp. 167-169°.

N-Benzoyl-Val-L-Val-OCH₃: $[\alpha]_{D}^{25}$: +1·49° ($c = 1$ in Chf), Schmp. 162-163°.

Die zum Vergleich benötigten optisch reinen N-Benzoyl-dipeptid-methylester wurden aus den entsprechenden N-Benzoyloxycarbonyl-dipeptid-methylestern durch Abspaltung des Z-Restes mit Trifluoressigsäure und Umsetzung mit Benzoylchlorid in Gegenwart von Natriumhydrogencarbonat gewonnen. Sie sind in Tabelle 3 aufgeführt.

TABELLE 3. N-BENZOYL-DIPEPTID-METHYLESTER

N-Benzoyl-methylester von	Schmp.	$[\alpha]_{D}^{25}$	c	Lösungsmittel
L-Val-L-Ala	173-174°	-51·5°	1	MeOH
D-Val-L-Ala	148-149°	-27·0°	1	MeOH
L-Val-L-Val	171° ^a	-1·04°	1	Chf
D-Val-L-Val ^a	187-187·5°	+2·00°	1	Chf

^a J. W. Hinman, E. L. Caron u. H. N. Christensen, *J. Amer. Chem. Soc.* **72**, 1620 (1950).

⁹ M. Goodman u. W. J. McGahren, *J. Amer. Chem. Soc.* **87**, 3028 (1965).

Daraus ergibt sich für die Umsetzung von 4-Isopropyl-2-phenyl-oxazon-(5) mit L-Alanin-methylester bzw. mit L-Valin-methylester die Bildung von 60·5% N-Benzoyl-D-Val-L-Ala-OCH₃ bzw. 83·4% N-Benzoyl-D-Val-L-Val-OCH₃.

Methode B. Der erhaltene N-Benzoyl-dipeptid-methylester (10 mMol) wurde in 50 ml Dioxan gelöst und nach Zugabe von 10 ml 1 n NaOH zwecks Verseifung 3 Stdn. stehen gelassen. Nun wurde mit 0·5 N HCl neutralisiert, das Dioxan i.Vak. abdestilliert, mit 0·5 N HCl angesäuert und das N-Benzoyl-dipeptid mit Essigester ausgeschüttelt. Die Lösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet und i.Vak. eingedampft. Dünnschichtchromatographisch war kein Ausgangsmaterial mehr nachzuweisen.

Zur Abspaltung des Benzoylrestes wurden nach Horner⁵ 5 mMol N-Benzoyl-dipeptid in 35 ml MeOH unter Zusatz von 3·3 g Tetramethylammoniumchlorid an der Quecksilberkathode reduziert (15 V, 0·5 Amp), bis nach ca 1 Stde. merkliche Wasserstoffentwicklung einsetzte. Die Reduktion wurde fortgesetzt, bis sich etwa 100 ml Wasserstoff entwickelt hatten. Die Lösung zeigte pH 8 und wurde i.Vak. zur Trockne eingedampft. Den Rückstand löste man in 10 ml 0·5 N methanolischer Salzsäure, liess 24 Stdn. bei Raumtemperatur stehen, engte i.Vak. ein und löste das Dipeptidmethylester-hydrochlorid in 2 ml MeOH und 4 ml Trifluoressigsäuremethylester. Nun versetzte man mit Triäthylamin bis zur basischen Reaktion und liess über Nacht stehen. Nach Eindampfen i.Vak. wurde der Rückstand in Essigester aufgenommen und mit 0·5 N HCl, ges. NaHCO₃ und Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und i.Vak. eingedampft. Die gaschromatographische Diastereoisomerenbestimmung erfolgte in üblicher Weise.^{4,6}

Umsetzung von 2-Methyl-4-isopropyl-oxazon-(5) und N-Acetylpeptid-oxazolonen-(5) mit Aminosäureestern und Bestimmung des Diastereoisomerenverhältnisses.

Die Reaktionen wurden wie oben beschrieben durchgeführt. Ein Teil der erhaltenen N-Acylpeptid-ester (ca. 0·1 mMol) wurde mit 8·5 N methanolischer HCl im Bombenrohr 24 Stdn. auf 70–80° erhitzt. Dann wurde i.Vak. zur Trockne eingedampft, zweimal abs. Toluol nachdestilliert und der Rückstand bei 0° zweimal mit je 2 ml Trifluoressigsäureanhydrid–Trifluoressigsäure (1:9 vol) 1 Min lang behandelt. Nach dem Eindampfen i.Vak. und zweimaligem Nachdestillieren von Toluol wurde mit 2 ml Trifluoressigsäureanhydrid und 0·5 ml abs. Äther bei 0° 4 Min lang geschüttelt. Nach dem Eindampfen i.Vak. wurde der Rückstand in Essigester gelöst und der gaschromatographischen Bestimmung der Diastereoisomeren^{4,6} unterworfen.

Auf analoge Weise konnte auch beim N-Benzoyl-Val-L-Val-OCH₃ der Benzoylrest partialhydrolytisch entfernt werden.

Die Resultate sind in Tabelle 1 und 2 aufgeführt.