

Synthese von [10-¹³C]Secologanin^[**]

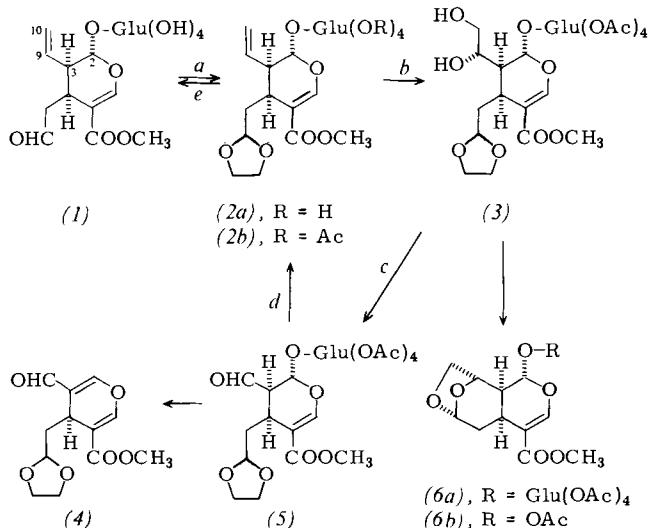
Von Lutz-F. Tietze und Stephan Henke^[*]

Professor Oskar Glemser zum 70. Geburtstag gewidmet

Das Monoterpenglycosid Secologanin (1) nimmt eine Schlüsselstellung in der Biogenese der Indol-, Cinchona-, Ipecacuanha- und Pyrrolochinolin-Alkaloide^[1] sowie der Secoiridoide^[2] ein. Die Biosynthese-Untersuchungen wurden hierbei überwiegend mit [³H]- und [¹⁴C]-markierten Vorstufen durchgeführt. Eine Identifizierung nicht isolierter Zwischenstufen ist mit dieser Methode jedoch im allgemeinen nicht möglich. Hierzu ist es erforderlich, die Umsetzungen [¹³C]-markierter Vorstufen mit zellfreien Enzymsystemen oder isolierten Enzymen ¹³C-NMR-spektroskopisch zu verfolgen^[3].

Wir beschreiben nun ein Verfahren zur Synthese von [10-¹³C]Secologanin [10-¹³C]-⁽¹⁾ aus natürlichem Secologanin (⁽¹⁾)^[4]. Für die Markierung wurde C-10 gewählt, da dieses Zentrum bei den meisten biologischen Umwandlungen von (⁽¹⁾) beteiligt ist.

Säure-katalysierte Reaktion von (⁽¹⁾) mit Ethylenglycol zu (^(2a)) und nachfolgende Acetylierung mit Acetanhydrid/Pyridin ergeben nahezu quantitativ das peracetylierte Acetal (^(2b)). Das analog hergestellte Dimethylacetal ist für die weiteren Umsetzungen nicht stabil genug. Oxidation von (^(2b)) mit äquimolaren Mengen Osmiumtetraoxid^[5] in Pyridin führt in 31% Ausbeute zum Diol (⁽³⁾). Das andere Diastereomer entsteht nicht. Zusätzlich werden 30% Tetraacetylglucose^[6], 3% (^(6a)) und 29% Edukt (^(2b)) isoliert. Zur Bestimmung der Konfiguration an C-9 wandelt man (⁽³⁾) mit Perchlorsäure/Essigsäure in den Tricyclus (^(6a)) um (75% Ausbeute), der durch Solvolyse, Glycosidspaltung und Acetylierung mit 82% Gesamtausbeute das Acetat (^(6b)) ($F_p = 119^\circ\text{C}$) ergibt. (^(6b)) wird durch Vergleich mit authentischem Material identifiziert^[7].



Schema 1. a: 1. HOCH₂CH₂OH, CH₃CN, IR 120 (H^a), Na₂SO₄, 5°C/24 h, 94% (^(2a)); 2. Ac₂O/Pyridin, 20°C/24 h, 91% (^(2b)), $F_p = 131.5^\circ\text{C}$. – b: OsO₄/Pyridin, 20°C/72 h; NaHSO₃, 5 min, 31% (⁽³⁾), $F_p = 138^\circ\text{C}$; 30% Tetraacetylglucose; 29% (^(2b)); 3% (^(6a)). – c: Pb(OAc)₄, CHCl₃, 60°C, 30 min, 96% (⁽⁵⁾), $F_p = 145^\circ\text{C}$. – d: Ph₃PCH₃ I⁻, nBuLi, Tetrahydrofuran, –30°C/30 min, 20°C/3 h, 60°C/12 h, 12% (⁽⁴⁾). $F_p = 131.5^\circ\text{C}$; 48% (⁽⁴⁾). – e: 1. MeOH/NaOMe, 20°C/6 h, 96% (^(2a)); 2. H₂O, CH₃CN, IR 120 (H^a), 5°C/6 d, 81% (⁽¹⁾). – Die Ausbeuten beziehen sich auf isolierte und analysenreine Produkte.

[*] Prof. Dr. L.-F. Tietze, Dipl.-Chem. S. Henke
Organisch-chemisches Institut der Universität
Tammannstraße 2, D-3400 Göttingen

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt.

Oxidative Spaltung von (⁽³⁾) mit Bleitetraacetat führt in 96% Ausbeute zum Aldehyd (⁽⁵⁾), der sehr leicht unter Eliminierung von Tetraacetylglucose das Pyran (⁽⁴⁾) bildet. Zur Einführung der markierten C₁-Einheit wird (⁽⁵⁾) mit (Triphenylphosphonio)[¹³C]methanid umgesetzt, das sich leicht aus Triphenylphosphoran und [¹³C]H₃I herstellen lässt^[8]. Das gewünschte [10-¹³C]-^(2b) kann allerdings auch bei breiter Variation der Reaktionsbedingungen nur mit 20% Ausbeute erhalten werden; als Hauptprodukt entsteht stets das Pyran (⁽⁴⁾). Basische Solvolyse der Acetatgruppen in [10-¹³C]-^(2b) und nachfolgende säurekatalysierte Spaltung des Acetals ergibt mit 78% Ausbeute [10-¹³C]Secologanin [10-¹³C]-⁽¹⁾ (Schema 1).

Die Einführung der C₁-Einheit^[9] in (⁽⁵⁾) gelingt auch mit 45% Ausbeute über eine Grignard-Reaktion mit Methylmagnesiumiodid. Der gebildete sekundäre Alkohol reagiert jedoch nach Umwandlung in das Methansulfonat mit 1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-en nur zu einem *E*-konfigurierten Isomer von (^(2b)) mit Doppelbindung zwischen C-3 und C-9 (38% Ausbeute).

Eingegangen am 31. März 1981 [Z 889 b]

- [1] G. A. Cordell, Lloydia 37, 219 (1974), zit. Lit.; A. R. Batterby, R. J. Parry, Chem. Commun. 1971, 901; C. R. Hutchinson, A. H. Heckendorf, P. E. Daddona, E. Hagaman, E. Wenkert, J. Am. Chem. Soc. 96, 5609 (1974).
- [2] H. Inouye, S. Ueda, Y. Takeda, Heterocycles 4, 527 (1976).
- [3] U. Séquin, A. J. Scott, Science 186, 101 (1974); M. Tanabe, Spec. Period. Rep. Biosynthesis 4, 204 (1976), Chem. Soc. London.
- [4] Secologanin wurde aus *Symporicarpus rivularis* isoliert.
- [5] Oxidation mit katalytischen Mengen OsO₄ in Gegenwart von KClO₃ führte nur zu 11% (⁽³⁾).
- [6] Die Bildung der Tetraacetylglucose lässt sich über eine Reaktion von OsO₄ an der CC-Doppelbindung im Dihydropyran-Ring erklären. Tetraacetylglucose ließ sich schwer nachweisen, da sie bei Chromatographie an Silicagel in nahezu allen Laufmittelsystemen die gleichen R_f-Werte wie (^(2b)) ergab. Die Trennung gelang mit *tert*-Butyl(methyl)ether/Cyclohexan (3 : 1).
- [7] L.-F. Tietze, K.-H. Glüsenkamp, unveröffentlicht.
- [8] Zur Ausarbeitung der Methode wurde Methyltriphenylphosphoniumiodid mit natürlichem Isotopengehalt verwendet.
- [9] Versuche, mit metalliertem Chlormethyltrimethylsilan die C₁-Einheit einzuführen, ergaben nicht die gewünschten Produkte; D. J. Peterson, J. Org. Chem. 33, 780 (1968); T. H. Chan, E. Chang, ibid. 39, 3264 (1974).

Der Zerfall der Gelben Form des Thiamins^[**]

Von Rudolf F. W. Hopmann und Gian Pietro Brugnoni^[*]

Wird Thiamin (Vitamin B₁) in stark alkalischer Medium gelöst, tritt sofort Gelbfärbung ein; es bildet sich die „Gelbe Form“ YF[⊖], die spektroskopisch^[1] und kinetisch^[2] untersucht worden ist^[3]. Wir schlagen einen neuen Mechanismus für die Alkali-induzierte Transformation des Thiamins vor.

Innerhalb weniger Minuten entfärbt sich die gelbe Lösung, ein Verhalten, das sich auch in den zeitabhängigen UV-Spektren (Abb. 1) darstellt. Mit A1 ist das Spektrum von YF[⊖], mit A9 jenes der Thiolform TS[⊖] bezeichnet. TS[⊖] ist das in alkalischen Lösungen thermodynamisch stabile Produkt der Alkali-induzierten Transformationen von Thiamin, dessen Spektrum Kurve B in Abbildung 1 zeigt. Die zeitabhängigen UV-Spektren laufen durch isosbestische

- [*] Dr. R. F. W. Hopmann
Abt. Biophysikalische Chemie, Biozentrum der Universität
Klingelbergstraße 70, CH-4065 Basel (Schweiz)
- Dr. G. P. Brugnoni
Department für Pflanzenphysiologie, Ciba-Geigy AG
Schwarzwaldallee 215, CH-4058 Basel (Schweiz)
- [**] Thiamin-Katalyse, 3. Mitteilung. – 2. Mitteilung: [2].

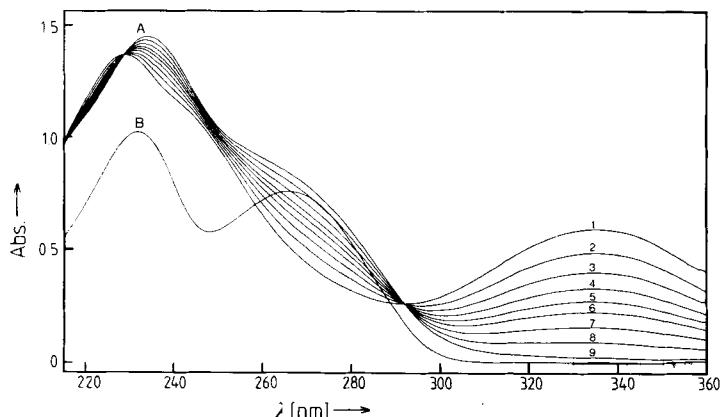


Abb. 1. Zeitabhängige UV-Spektren für den Zerfall der Gelben Form des Thiamins. Thiaminkonzentration: 9.3×10^{-5} M in 0.1 N NaOH, pH = 12.61. Kurven A1–A9: Registrierbeginn nach 0, 100, 200, 300, 400, 500, 700, 1000 bzw. 1750 s (Vor- und Rücklauf dauern zusammen 100 s). Kurve B: Thiamin gleicher Konzentration in $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$ -Puffer, pH = 6.95. Temperatur: 22.5°C; Dämpfung 1 s, 2 nm s⁻¹, 0.5 mm Spaltbreite, Autogain mit dem Cary 118 CX.

Punkte, was darauf hindeutet, daß kein Intermediat in größerer Konzentration auftritt.

Die Umwandlung von YF^\ominus in TS^\ominus ist eine pseudo-unimolekulare Reaktion. Bei Auftragung der logarithmierten Geschwindigkeitskonstanten k_{obs} gegen den pH-Wert entsteht in Übereinstimmung mit den früheren Befunden^[1] eine Lorentz-Kurve (Abb. 2, unterer Teil). Die Deutung, daß die Geschwindigkeit der Transformation bei niedrigem pH durch die Konzentration der OH^\ominus -Ionen, bei hohem pH durch die der H^\oplus -Ionen limitiert sei, trägt nicht der gut untersuchten Thiazoliumhydrolyse^[4] bei pH-Werten zwischen 9.0 und 11.5 Rechnung.

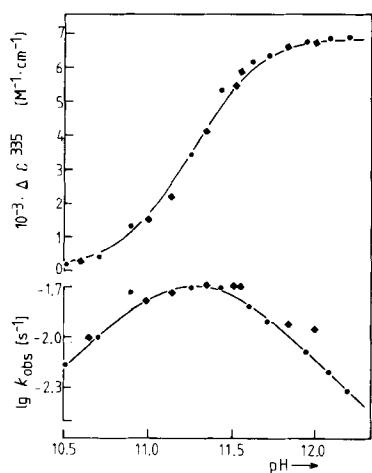


Abb. 2. pH-Geschwindigkeitsprofil und Amplituden des Zerfalls der Gelben Form des Thiamins. Puffer: ◆ Borat, ● Glycinat, Ionenstärke 0.1 M, 22°C. $\Delta\epsilon^{335}$ ist die Änderung der Extinktion ($\Delta\epsilon = \epsilon_{\text{Produkt}} - \epsilon_{\text{Edukt}}$) bei 335 nm.

Die Lorentz-Kurve muß daher als Änderung des Reaktionsmechanismus gedeutet werden. Als einzige Information über den Zerfall von YF^\ominus bei hohem pH-Wert läßt sich aus dem abfallenden Ast der Lorentz-Kurve eine Geschwindigkeitskonstante von $8 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ableiten, die einer diffusionskontrollierten Protonenübertragungsreaktion entsprechen würde^[5]. Die beobachteten Amplituden (Abb. 2, oberer Teil) liefern keine Information über diesen

Reaktionsschritt, da sie der viel rascheren Bildung von YF^\ominus zuzuordnen sind.

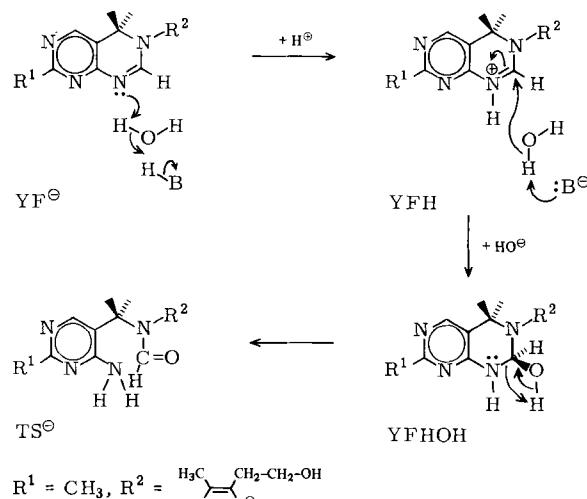
Die Reaktion ist kaum von der Pufferkonzentration abhängig, jedoch von der Ionenkonzentration. Unter Zugrundelegung der Gleichung^[6]

$$\lg k_{\text{obs}} = \lg k^0 + 1.018 z_A z_B A / \mu$$

wobei k^0 die auf die Ionenstärke 0 extrapolierte Geschwindigkeitskonstante, z_A und z_B die jeweilige Ladung der Reaktanden und A eine Konstante ist, fanden wir: $k^0 = 0.0254 \text{ s}^{-1}$, $z_A z_B = -1$ und $A = 0.115$ (Arsenatpuffer, 4×10^{-4} M, pH 11.55, μ eingestellt mit NaCl/H₂O bei konstanter Pufferkonzentration). Da $z_A z_B$ negativ ist, muß aufgrund der negativen Ladung von YF^\ominus der Reaktionspartner positiv geladen sein: Es ist das Proton. Durch Synthese des Ringgerüstes von YF^\ominus , $R^1 = R^2 = \text{CH}_3$, durch seine Methylierung und Bestimmen der pK-Werte dieser und anderer Verbindungen konnte wahrscheinlich gemacht werden^[7], daß der Stickstoff N1 des Dihydropyrimidinringes der Protonenacceptor ist. Es wurde ein pK-Wert von 6.38 gefunden, während die pK-Werte des Pyrimidinringes von TS und Thiamin bei 6.13^[7] bzw. 4.85^[8] liegen.

Es war angenommen worden, daß YF^\ominus das kinetisch, TS^\ominus das thermodynamisch kontrollierte Produkt der Transformationen sei, wobei Thiamin mit YF^\ominus im Gleichgewicht stehe ($pK_{\text{av}} = 11.4$) und Thiamin bei jedem pH-Wert durch die hydrolytische Öffnung seines Thiazoliumringes in TS^\ominus umgewandelt werde^[11]. Wir postulieren, daß YF^\ominus in einer säurekatalysierten Reaktion unmittelbar in TS^\ominus umgewandelt werden kann (Schema 1). Aus den pK-Werten der in Frage kommenden protolytischen Reaktionen läßt sich eine Verteilung der sich im Gleichgewicht befindenden Reaktanden Thiamin, YF^\ominus und YFH bei gegebenen pH-Wert berechnen, und mit entsprechenden Geschwindigkeitskonstanten die Reaktionsgeschwindigkeiten für die von Maier und Metzler^[11] sowie von uns vorgeschlagenen Reaktionswege abschätzen^[9]. Es ergibt sich ein Verhältnis von ca. $10^{-10}:1$, wobei die berechnete Umwandlungsgeschwindigkeit für den direkten Zerfall von YF^\ominus zu TS^\ominus mit der gemessenen (Abb. 2) in der Größenordnung gut übereinstimmt, ein unsere Annahme stark stützendes Ergebnis.

Da TS^\ominus und YF^\ominus negativ geladen sind, YF^\ominus aber zu YFH protoniert wird, muß der Protonierung eine Deprotonierung folgen. Dem entspricht formal auch die Anlagerung eines OH^\ominus -Ions (Bildung der Pseudobase YFH^\ominus). YF^\ominus zerfällt also über eine ähnliche Ringöffnung wie die



Schema 1.

Thiazoliumsalze. Tatsächlich wird beim Dihydropyrimido-pyrimidin der Dihydropyrimidinring hydrolytisch leicht geöffnet^[7].

Wegen der geringen Basizität und Nucleophilie der NH_2 -Gruppe in TS^\ominus ist die Rückbildung von Thiamin aus TS^\ominus via YF^\ominus nicht möglich. Die Sequenz $\text{YF}^\ominus \rightarrow \text{TS}^\ominus$ ist deshalb irreversibel.

Eingegangen am 15. Dezember 1980,
in geänderter Form am 29. Juli 1981 [Z 892]

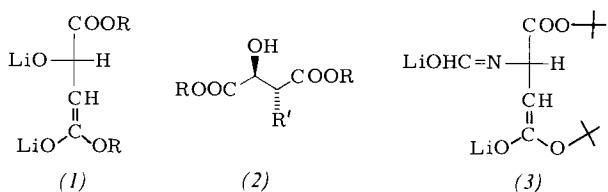
- [1] G. D. Maier, D. E. Metzler, J. Am. Chem. Soc. 79, 4386 (1957).
 - [2] R. Hopmann, G. P. Brugnoni, B. Fol, J. Am. Chem. Soc., im Druck.
 - [3] Zur Struktur vgl. Y. Asahi, E. Mizuta, Talanta 19, 567 (1972).
 - [4] A. Watanabe, Y. Asahi, J. Pharm. Soc. 75, 1050 (1955); P. Haake, J. M. Duclos, Tetrahedron Lett. 1970, 461; Y. Asahi, M. Nagaoka, Chem. Pharm. Bull. 19, 1017 (1971); H. Nogami, J. Hasegawa, T. Rikihisa, ibid. 21, 858 (1973); J. M. Duclos, P. Haake, Biochemistry 13, 5358 (1974).
 - [5] M. Eigen, Angew. Chem. 75, 489 (1963); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 3, 1 (1964).
 - [6] C. Capellos, B. H. J. Bielski: Kinetik Systems, Wiley-Interscience, New York 1972, S. 119 ff.
 - [7] R. Hopmann, B. Fol, noch unveröffentlicht.
 - [8] A. M. Chauvet-Monges, Y. Martin-Borret, A. Creval, J. Fournier, Biochimie 56, 1269 (1974).
 - [9] R. Hopmann, Ann. N. Y. Acad. Sci., im Druck.

Alkylierung von Aminosäuren ohne Verlust der optischen Aktivität: α - und β -Alkylierung eines Asparaginsäure-Derivates

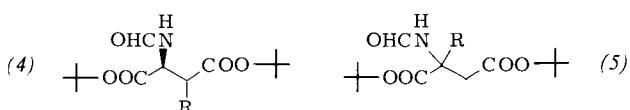
Von Dieter Seebach und Daniel Wasmuth^[1]

Professor Leopold Horner zum 70. Geburtstag gewidmet

Äpfelsäuremethyl- oder -ethylester wird durch zwei Äquivalente Lithiumdiisopropylamid (LDA) zum Dilithium-Derivat (1) doppelt deprotoniert; dessen Umsetzung mit verschiedenenartigen Elektrophilen führt zu *erythro*-konfigurierten Produkten (2)^[1].



Um diese α -Alkylierung β -heterosubstituierter Carbonylverbindungen auf Asparaginsäure zu übertragen, versuchten wir, den (*S*)- oder L-(+)-*N*-Formyl-asparaginsäure-*tert*-butylester¹²⁾ zu (3) doppelt zu deprotonieren. Während dies mit LDA nur sehr schlecht gelang, erhielten wir durch Einwirkung von Lithiumdiethylamid (THF, -78 °C, 2 h) und Alkylierung mit Iodmethan, Iodethan, Allylbromid, oder Benzylbromid (-78 °C, 12 h) jeweils ein Gemisch aus β - und α -substituiertem Asparaginsäure-Derivat (4) bzw. (5) im Verhältnis von ca. 7 : 2 und in Gesamtausbeuten zwischen 60 und 70%. Die Isomerenpaare (4)/(5) lassen sich



(a), R = H; (b), R = CH₃; (c), R = C₂H₅; (d), R = CH₂CH=CH₂; (e), R = CH₂C₆H₅

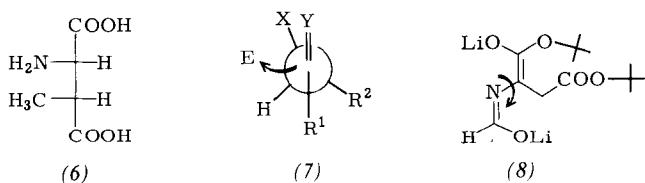
chromatographisch (Silicagel, Diethylether/Pentan) trennen. Die β -alkylierten α -Aminosäureester (4b)–(4e) sind nach ihrem chromatographischen Verhalten, ihrem Schmelzpunkt und/oder spezifischem Drehwert sowie ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren diastereomeren- und enantiomerenrein, liegen in Lösung aber – wie das Edukt (4a) selbst – in zwei rotameren Formen vor^[3]. – Zu unserer Überraschung sind auch die α -alkylierten α -Aminosäureester (5b)–(5e) optisch aktiv. Durch fraktionierende Kristallisation konnte bei (5c)–(5e) ein Enantiomer angereichert werden; aus den so maximal erreichbaren Drehwerten und aus ^1H -NMR-Messungen mit chiralem Verschiebungsgrens $\text{Eu}(\text{tfc})_3$ schließen wir auf einen Enantiomerenüberschuß von ca. 60% in den ursprünglich gebildeten Estern (5). – In Tabelle 1 sind einige charakteristische Daten der Verbindungen (4) und (5) angegeben.

Tabelle 1. Charakteristische physikalische Daten der umkristallisierten oder destillierten, analysenreinen β - und α -alkylierten Asparaginsäure-Derivate (4) bzw. (5). Außer bei (5b) sind die spezifischen Drehungen der Produkte (5) nach Abtrennung des racemischen Anteils angegeben.

| Verbindung | Kp [°C/Torr] [a] Fp [°C] | $[\alpha]_D^{20}$ (c, CHCl3) |
|--------------------|-----------------------------|------------------------------|
| (4a) \equiv (5a) | 130/0.01 | + 44.4 (1.14) |
| (4b) | 84-85 | + 16.8 (1.22) |
| (5b) | 140/0.01 | - 15.3 (1.27) [b] |
| (4c) | 150/0.005 | + 1.0 (1.36) |
| (5c) | 150/0.01 | - 17.0 (1.07) |
| (4d) | 140/0.005 | + 24.6 (1.05) |
| (5d) | 77-78 | + 17.2 (1.00) |
| (4e) | 102-103 | + 43.0 (1.45) |
| (5e) | 106 | + 61.1 (1.05) |

[a] Luftbadtemperatur bei Kugelrohrdestillation. [b] Ohne Enantiomerenanreicherung, nach Chromatographie (farbloses Öl).

Die Konfiguration des Methyl-Derivats (4b) haben wir bewiesen: Hydrolyse der *tert*-Butylester- und der Formamidgruppe liefert *erythro*- oder (*2S,3R*)-3-Methylasparaginsäure (6) ($[\alpha]_D^{20} + 38.7$ ($c = 1.83$, 5 N HCl; Lit. $[\alpha]_D^{24} + 35$ ($c = 2$, 5 N HCl))). Wir nehmen an, daß alle Alkylierungsprodukte (4) *erythro*-konfiguriert sind; dies läßt sich mit der von uns für andere Reaktionen aufgestellten Regel^[1a, 5] erklären (vgl. (7), $R^1 = H$, $R^2 = CO_2C_2H_5$).



X = NCHOLi, Y = C(OLi)(O-*t*Bu)). – Aus der α -Alkylierung des *N*-Formyl-asparaginsäureesters folgt, daß sich neben dem gewünschten Enolat (3) auch das Dilithium-Derivat (8) gebildet haben muß. Ob (8), das man als 6-Atom-8-Elektronen- π -System auffassen kann^[6], aufgrund axialer Chiralität – siehe die durch einen Pfeil hervorgehobene Bindung –, oder aber weil es mit dem chiralen (3) gemischte Aggregate^[7] bildet, zu optisch aktiven α -Alkylierungsprodukten führt, muß durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Falls die zuerst genannte Deutung sich als richtig erweisen sollte, könnten auch einfache Aminosäuren über Derivate vom Typ (8) (R statt CH₂CO₂-*t*Bu) ohne Racemisierung alkylierbar sein^[8].

Eingegangen am 19. Juni 1981 [Z 894]

- [1] a) D. Seebach, D. Wasmuth, *Helv. Chim. Acta* 63, 197 (1980); M. Züger, T. Weller, D. Seebach, *ibid.* 63, 2005 (1980); b) vgl. auch G. Fräter, *ibid.*