

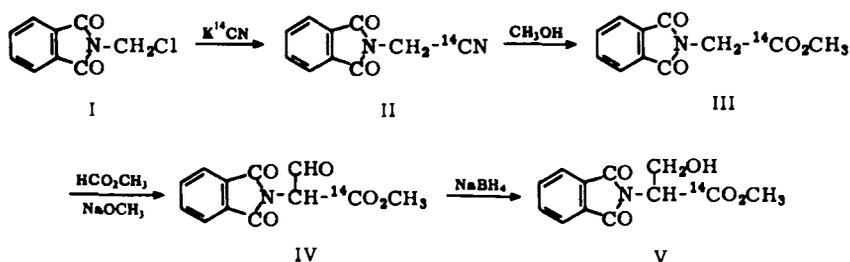
## ALFONS SCHÖBERL und CHRISTA-VERA PAPE

Notiz zur Darstellung von [1-<sup>14</sup>C]Serin

Aus dem Chemischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover

(Eingegangen am 23. Juli 1964)

Für Stoffwechseluntersuchungen in Bäckerhefe benötigten wir L-, DL- und D-[1-<sup>14</sup>C]Serin. Als Ausgangsmaterial sollte [<sup>14</sup>C]Kaliumcyanid eingesetzt werden. Aus *N*-Chlormethylphthalimid (I) und [<sup>14</sup>C]Kaliumcyanid wurde Phthalyl-glycin-[<sup>14</sup>C]nitril (II)<sup>1)</sup> erhalten. Die Darstellung des Esters III gelang glatt in Methanol durch Behandlung mit Chlorwasserstoff. Auch die Formylierung mit Ameisensäure-methylester zum Phthalimido-formyl-[1-<sup>14</sup>C]essigsäure-methylester (IV) verlief ohne Schwierigkeiten. Diese Verbindung war auch als Zwischenprodukt einer Penicillinsynthese<sup>2)</sup> angefallen. Die selektive Reduktion zum  $\alpha$ -Phthalimido- $\beta$ -hydroxy-[1-<sup>14</sup>C]propionsäure-methylester (V) wurde mit NaBH<sub>4</sub> vorgenommen. Die notwendige Hydrolyse erfolgte mit Salzsäure.



Die Synthese zeichnet sich durch glatten Verlauf aus und kann daher empfohlen werden. Sie erscheint einfacher und übersichtlicher als die von P. KOURIM und J. ZIKMUND<sup>3)</sup> etwas abgeänderte Methode von C. E. REDEMAN und R. N. ICKE<sup>4)</sup>, die vom Methoxyacetaldehyd ausgeht. Auch wurden hier bei kleineren Aktivitäten die Zwischenprodukte weder isoliert noch gereinigt.

Für die Spaltung in die optischen Antipoden wurde das DL-[1-<sup>14</sup>C]Serin in *N*-Chloracetyl-DL-[1-<sup>14</sup>C]serin übergeführt und mit Acylase I gespalten<sup>5)</sup>. Durch Aufnahme der IR-Spektren<sup>6)</sup> wurde die Vollständigkeit der Spaltung bewiesen.

Die DEUTSCHE FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT und das BUNDESMINISTERIUM FÜR WISSENSCHAFTLICHE FORSCHUNG, Bad Godesberg, förderten diese Untersuchungen.

<sup>1)</sup> S. GABRIEL, Ber. dtsch. chem. Ges. **41**, 242 [1908].

<sup>2)</sup> J. SHEEHAN und D. JOHNSON, J. Amer. chem. Soc. **76**, 158 [1954].

<sup>3)</sup> Collect. czechoslov. chem. Commun. **26**, 717 [1961].

<sup>4)</sup> J. org. Chemistry **8**, 159 [1943].

<sup>5)</sup> S. BIRNBAUM, L. LEVINTOW, R. KINGSLEY und J. GREENSTEIN, J. biol. Chemistry **194**, 455 [1962].

<sup>6)</sup> Vgl. H. BROCKMANN und H. MUSSO, Chem. Ber. **89**, 241 [1956]. Die IR-Spektren wurden im Perkin-Elmer-IR-Spektralphotometer 221 an KBr-Preßlingen aufgenommen.

## BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

*Phthalyl-[1-<sup>14</sup>C]glycin-nitril (II)*: 2.8 mg [<sup>14</sup>C]Kaliumcyanid<sup>7)</sup>, Radioaktivität 1 mC = 23 mC/mMol, 98-proz., wurden mit inaktivem KCN auf 30.8 mg (0.46 mMol) verdünnt und in 10 ccm absol. Methanol gelöst. Zu dieser Lösung gab man 100 mg *N-Chlormethyl-phthalimid (I)* (0.5 mMol) in 5 ccm absol. Dioxan. Nach 16stdg. Belassen bei 5° wurde der Niederschlag abzentrifugiert, 2 mal mit 3 ccm absol. Dioxan gewaschen, die klaren Filtrate sodann i. Vak. eingedampft. Farbloser, krist. Rückstand. Ausb. 88 mg (quantitat.).

*Phthalyl-[1-<sup>14</sup>C]glycin-methylester (III)*: In die Lösung von 88 mg *II* (0.46 mMol) in 5 ccm *Methanol* wurde unter Erwärmen 10 Stdn. *Chlorwasserstoff* eingeleitet. Der Ester schied sich über Nacht ab. Die Mischung wurde i. Vak. zur Trockne gedampft und der Rückstand in 5 ccm Äther und 3 ccm 0.1 *n* Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> aufgenommen. Die Ätherschicht wurde abgetrennt, die wäbr. Schicht 5 mal mit 10 ccm Äther extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden nach Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eingedampft. Ausb. 98.2 mg (98%). Schmp. 112° (farblose Nadeln aus Wasser).

C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub> (219.2) Ber. N 6.39 Gef. N 6.48

*Phthalimido-formyl-[1-<sup>14</sup>C]essigsäure-methylester (IV)*: 98 mg *III* (0.45 mMol) wurden in 5 ccm absol. *Ameisensäure-methylester* unter Eiskühlung mit 0.5 ccm einer Suspension von 5 mMol *Natriummethylat* in 2.5 ccm absol. Xylol versetzt. Die orangefarbene Lösung wurde 16 Stdn. bei 5° stehengelassen, anschließend versetzte man mit 5 ccm absol. Benzol und 0.1 ccm Eisessig, rührte 5 Min. und gab noch 8 ccm 1 *n* HCl zu. Die Benzolschicht wurde abgetrennt, die wäbr. Schicht noch 3 mal mit 10 ccm Benzol extrahiert. Die vereinigten Benzolextrakte wurden 2 mal mit 10 ccm Wasser durchgeschüttelt, mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und i. Vak. eingedampft. Ausb. 99.6 mg (87%). Schmp. 141° (blaßgelbe Kristalle aus absol. Benzol).

C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>5</sub> (247.2) Ber. N 5.67 Gef. N 5.81

*α-Phthalimido-β-hydroxy-[1-<sup>14</sup>C]propionsäure-methylester (V)*: Zur Lösung von 96 mg *IV* (0.39 mMol) in 25 ccm 80-proz. wäbr. Dioxan wurden unter Rühren 16.3 mg *NaBH<sub>4</sub>* (0.4 mMol) in 10 ccm 80-proz. Dioxan innerhalb von 30 Min. zugetropft. Nach 2stdg. Rühren wurde mit 2 *n* HCl zersetzt, wobei die gelbgefärbte Lösung farblos wurde. Unter anteilweiser Zugabe von 7 ccm Wasser dampfte man i. Vak. ein. Der krist. Rückstand wurde 12 Stdn. mit 10 ccm absol. Benzol geschüttelt und nach Abzentrifugieren noch 3 mal mit 2 ccm Benzol ausgewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden i. Vak. eingedampft. Ausb. 93.7 mg (82%). Schmp. 160–162° (blaßgelbe Kristalle aus absol. Benzol).

C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub> (249.2) Ber. N 5.62 Gef. N 5.34

*DL-[1-<sup>14</sup>C]Serin*: 94 mg *V* (0.38 mMol) wurden mit 10 ccm 20-proz. *Salzsäure* unter Rückfluß 16 Stdn. auf 110° erhitzt. Nach Abkühlen wurde von der Phthalsäure abzentrifugiert, die Lösung i. Vak. auf 3 ccm eingeengt und mittels einer Säule Dowex 50×8 gereinigt (H<sup>+</sup>-Form, 200–400 mesh, 6×0.5 cm). Das Eluat mit 0.2 *n* Ammoniak wurde i. Vak. eingedampft. Ausb. 31 mg (64%).

Die Reinheitsprüfung erfolgte durch Hochspannungselektrophorese<sup>8)</sup> und Ausmessung des Pherogramms im Papierchromatographen FH 452<sup>9)</sup>.

*N-Chloracetyl-DL-[1-<sup>14</sup>C]serin*: 31 mg *DL-[1-<sup>14</sup>C]Serin* wurden mit 19 mg inaktivem *DL-Serin* auf 50 mg (0.47 mMol) verdünnt und in 1 ccm 1 *n* KOH gelöst. Zu dieser Lösung wurden

<sup>7)</sup> Fa. THE RADIOCHEMICAL CENTRE, Amersham, England.

<sup>8)</sup> TH. WIELAND und G. PFLEIDERER, *Angew. Chem.* **67**, 257 [1955].

<sup>9)</sup> Fa. FRIESEKE & HOEFFNER, Erlangen-Bruck.

unter Eiskühlung und Schütteln abwechselnd 250 mg *Chloressigsäureanhydrid* (1.46 mMol) und 1 ccm 1 *n* KOH gegeben. Die Lösung wurde 2 Stdn. bei 5° stehengelassen, dann auf eine Säule Dowex 50 × 8 (H<sup>⊖</sup>-Form, 200–400 mesh, 15 × 0.5 cm) gegeben. Der saure Ausfluß wurde i. Vak. zur Trockne gedampft und nach Trocknen über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in 2 ccm absol. Essigester gelöst. Durch Zugabe von Petroläther wurde das *N-Chloracetyl-DL-[1-<sup>14</sup>C]serin* ausgefällt, abzentrifugiert und mit Petroläther gewaschen. Ausb. 64 mg (74%).

C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>ClNO<sub>4</sub> (181.6) Ber. N 7.71 Gef. N 7.69

*Spaltung von DL-Serin*: Die Lösung von 60 mg *N-Chloracetyl-DL-[1-<sup>14</sup>C]serin* (0.33 mMol) in 2 ccm Wasser wurde mit 2 *n* Ammoniak auf pH 7.5 eingestellt und mit 2 mg *Acyase I* aus Schweinenieren, Aktivität 5023 Mol/Stde., in 1 ccm Wasser versetzt. Nach 12stdg. Erwärmen auf 38° war der pH-Wert auf 7.2 gesunken. Nach Ansäuern mit verd. Essigsäure auf pH 5.0 wurde mit Carboraffin geschüttelt, das *L-[1-<sup>14</sup>C]Serin* an einer Säule Dowex 50 × 8 abgetrennt. Ausb. 16.6 mg (96%).

Das *N-Chloracetyl-D-[1-<sup>14</sup>C]serin* im sauren Filtrat wurde nach Eindampfen i. Vak. mit 5 ccm 2 *n* HCl 2 Stdn. auf 110° erhitzt und das *D-[1-<sup>14</sup>C]Serin* mittels einer Säule, Dowex 50 × 8, abgetrennt. Ausb. 16.9 mg (98%).

Die Reinheitsprüfung erfolgte wie beim DL-[1-<sup>14</sup>C]Serin.

---