

Friedrich Weygand und Franz Mayer

## Synthese von $\gamma$ . $\delta$ . $\delta'$ -Trihydroxy-L-leucin

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München

(Eingegangen am 22. Dezember 1967)

■  
Ausgehend von dem früher aus L-Asparaginsäure gewonnenen *N*-Trifluoracetyl- $\delta$ -acetoxy- $\gamma$ -oxo-L-norvalin-äthylester (**1**)<sup>4)</sup> wird durch Epoxidierung mit Oxo-dimethyl-sulfonium-methyloid, Abspaltung der Schutzgruppen mit verd. Alkali und Öffnung des Epoxidringes mit einem sauren Ionenaustauscher das  $\gamma$ . $\delta$ . $\delta'$ -Trihydroxy-L-leucin (**4**) in der Gesamtausbeute von 32% erhalten. In kristallisierter Form ist das Salz des  $\gamma$ -Lactons mit *p*-Hydroxy-azobenzol-*p'*-sulfonsäure sowie das *N*-[2.4-Dinitro-phenyl]-Derivat erhältlich.

■  
In der Natur kommen neben zahlreichen Monohydroxy- $\alpha$ -aminosäuren auch wenige Dihydroxy- $\alpha$ -aminosäuren<sup>1)</sup> vor. In letzter Zeit haben *Wieland* und Mitarbb.<sup>2)</sup> sogar eine Trihydroxy- $\alpha$ -aminosäure im Phallisin aufgefunden. Nach dem Perjodatabbau, der Asparaginsäure liefert, und der ockergelben Farbreaktion des Lactons, handelt es sich um das  $\gamma$ . $\delta$ . $\delta'$ -Trihydroxy-leucin, dessen Konfiguration bisher nicht bestimmt worden ist.

Wir beschreiben nachstehend die Synthese dieser Aminosäure mit L-Konfiguration wobei von L-Asparaginsäure ausgegangen wurde.

Bereits im Zusammenhang mit einer Synthese von 6-Diazo-5-oxo-L-norleucin<sup>3)</sup> haben wir auch *N*-Trifluoracetyl- $\delta$ -acetoxy- $\gamma$ -oxo-L-norvalin-äthylester (**1**) hergestellt<sup>4)</sup>. Nun sollte analog der Synthese der Apiose<sup>5)</sup> mit Diazomethan das Epoxid **2** gewonnen werden. Während diese Methode bei der Apiosesynthese in 67proz. Ausbeute das Epoxid lieferte, reagierte **1** nur sehr langsam mit Diazomethan, und selbst nach 2 Tagen lag noch ein Gemisch vor, das noch viel Ausgangsmaterial enthielt. Dies dürfte darauf beruhen, daß die Gruppierung  $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}-\text{COCF}_3)-\text{CO}_2\text{R}$  das Kohlenstoffatom der Ketogruppe viel weniger stark positiviert als die Gruppierung  $-\text{CH}(\text{OCOCH}_3)-\text{CH}(\text{OCOCH}_3)-\text{CO}_2\text{R}$ , die bei der seinerzeitigen Apiosesynthese vorhanden war. Bekanntlich erfolgt die Epoxidbildung um so leichter je stärker elektronenziehend die Reste R eines Ketons sind<sup>6)</sup>.

1) *Th. Wieland* und *W. Schön*, Liebigs Ann. Chem. **593**, 157 (1955); *Th. Wieland* und *H. W. Schnabel*, ebenda **657**, 218 (1962); *Th. Wieland* und *U. Gebert*, ebenda **700**, 157 (1966); *A. L. Müller* und *K. Usseimo*, Acta chem. scand. **19**, 1987 (1965), C. A. **64**, 11307 (1966).

2) *Th. Wieland*, *U. Gebert* und *H. Boehringer*, Liebigs Ann. Chem. **705**, 227 (1967).

3) *F. Weygand*, *H. J. Bestmann* und *E. Klieger*, Chem. Ber. **91**, 1037 (1958).

4) *F. Weygand*, *P. Klinke* und *I. Eigen*, Chem. Ber. **90**, 1896 (1957).

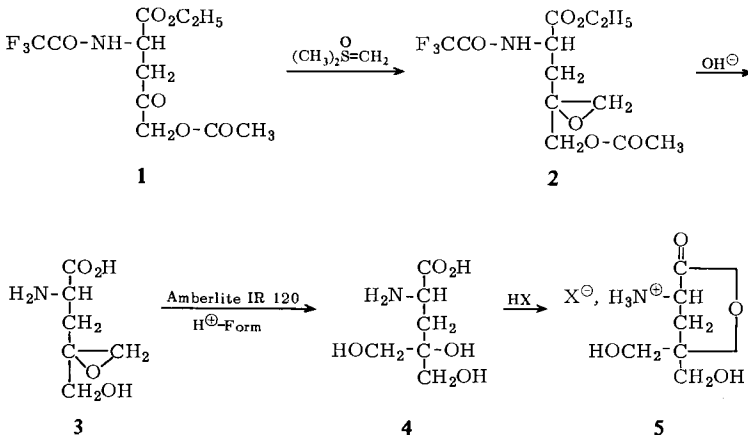
5) *F. Weygand* und *R. Schmiechen*, Chem. Ber. **92**, 535 (1959).

6) *F. Arndt* und *B. Eistert*, Ber. dtsh. chem. Ges. **61**, 1119 (1928); *F. Arndt*, *J. Amende* und *W. Ender*, Mh. Chem. **59**, 202 (1931).

Daher wurde die Epoxidierung nach einer von *Corey* und *Chaykowsky*<sup>7)</sup> entwickelten Methode vorgenommen, bei der die Umsetzung mit Oxo-dimethyl-sulfonium-methylid erfolgt. Auf diese Weise wurde das Epoxid **2** in 50proz. Ausbeute erhalten. Es gab einen positiven *Ross*-Test<sup>8)</sup> auf Epoxide, und die spektralen Eigenschaften sowie das Massenspektrum sind mit der Struktur im Einklang.

Die alkalische Hydrolyse, die mit wäßrig-methanolischer KOH bei Raumtemperatur in drei Stdn. vollständig war, lieferte das Epoxid **3**, das nicht in reiner Form isoliert wurde. Auf dem stark sauren Ionenaustauscher Amberlite IR 120 ließ es sich öffnen. worauf mit wäßrigem Ammoniak das  $\gamma$ . $\delta$ . $\delta'$ -Trihydroxy-L-leucin (**4**) eluiert wurde. Es fiel zunächst als bräunliches, stark hygroskopisches Pulver an. Durch Abbau mit Natriumperjodat entstand erwartungsgemäß Asparaginsäure, die im zweidimensionalen Dünnschichtchromatogramm indentifiziert wurde. Mit freier Perjodsäure fand kein Abbau statt, was auf die  $\gamma$ -Lactonbildung hinweist. Im  $\gamma$ -Lacton **5** liegt keine  $\alpha$ -Glykolgruppierung mehr vor. Mit Ninhydrin zeigt das Salz mit Perjodsäure dieselbe ockergelbe Färbung und denselben  $R_F$ -Wert wie das Lactonhydrochlorid, das durch Eindampfen mit verd. Salzsäure aus der Aminosäure erhalten wurde. Das IR-Spektrum (KBr) des Hydrochlorids (**5**, X = Cl) zeigt eine charakteristische Bande bei 1790/cm, die eindeutig das Vorliegen eines  $\gamma$ -Lactons beweist<sup>9)</sup>.

Ein elektrophoretischer Vergleich mit dem aus Phallisin isolierten Lacton<sup>2)</sup> zeigte keinen Unterschied in der Wanderungsgeschwindigkeit, auch die Farbreaktionen mit Ninhydrin (ockergelb) stimmen überein<sup>10)</sup>.



Da das Hydrochlorid des Lactons **5** zwar kristallisierte, sich aber nicht umkristallisieren ließ, haben wir nach anderen kristallisierten Verbindungen gesucht. Das Salz

7) *E. J. Corey* und *M. Chaykowsky*, *J. Amer. chem. Soc.* **87**, 1353 (1965).

8) *W. C. J. Ross*, *J. chem. Soc. [London]* **1950**, 2257.

9) Vgl. *A. D. Gross*, *Introduction to Practical Infra-Red Spectroscopy*, S. 64, Butterworth, London 1960.

10) Herrn Prof. *Th. Wieland*, Frankfurt am Main, danken wir für den vorgenommenen Vergleich.

mit *p*-Hydroxy-azobenzol-*p'*-sulfonsäure ließ sich aus Wasser umkristallisieren. Ebenfalls kristallisierte das  $\gamma,\delta,\delta'$ -Trihydroxy-*N*-[2,4-dinitro-phenyl]-L-leucin- $\gamma$ -lacton, das aus Methanol umkristallisierbar ist.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für eine Sachbeihilfe und Herrn Dr. A. Prox für die Aufnahme eines Massenspektrums.

## Beschreibung der Versuche

*N*-Trifluoracetyl- $\delta$ -acetoxy- $\gamma,\delta'$ -epoxy-L-leucin-äthylester (2): Zu 128 ccm einer 0.35 *m* Lösung von *Oxo-dimethyl-sulfonium-methylid*<sup>7)</sup> in Tetrahydrofuran ließ man unter Stickstoff und unter starkem Rühren die Lösung von 9.5 g (32 mMol) *N*-Trifluoracetyl- $\delta$ -acetoxy- $\gamma$ -oxo-L-norvalin-äthylester (1)<sup>4,11)</sup> bei Raumtemperatur tropfen. Anschließend wurde noch 2 Stdn. bei 50° weitergerührt. Dabei schied sich allmählich ein braunes Öl ab, von dem nach dem Abkühlen dekantiert wurde. Die THF-Phase dampfte man i. Vak. bis auf 30 ccm ein und versetzte sie mit 120 ccm Wasser. Dann wurde 5 mal mit je 60 ccm Äther ausgeschüttelt, worauf die vereinigten Ätherauszüge 2 mal mit je 50 ccm Wasser gewaschen wurden. Nach dem Behandeln mit Aktivkohle, wobei die Lösung heller wurde, trocknete man sie mit Natriumsulfat und dampfte i. Vak. ein. Das Epoxid hinterblieb als bräunliches Öl. Ausb. 5.0 g (49%),  $[\alpha]_{546}^{19}$ :  $-19.3^\circ$  ( $c = 1.1$  in absol. Tetrahydrofuran).

IR (Film)<sup>12)</sup>:  $-\text{NH}-$  3300 (m); Epoxid 3050 (w), 1040 (m);  $-\text{CO}-$  1760–1700 (ss); Amid II 1550/cm (m).

PMR<sup>13)</sup> (in  $\text{CCl}_4$ ): t 1.27 [3]; s 2.04 [3]; m 2.3 [2]; s 2.68 [2]; m 4.2 [2]; q 4.18 ( $J = 7\text{Hz}$ ), breites m 4.66 [1]; breites d 7.9 [1].

Massenspektrum<sup>14)</sup>: *m/e* 327 (M) (16.5); 297 (M –  $\text{CH}_2\text{O}$ ) (2); 267 (17.5); 255 (27); 254 (M –  $\text{CH}_3-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-$ ) (23); 240 (68); 212 (M –  $\text{CH}_3-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{CH}_2$ ) (59); 194 (48); 182 (20); 176 (36); 164 (47); 99 (32); 81 (76); 69 (36); 43 (100).

### $\gamma,\delta,\delta'$ -Trihydroxy-L-leucin (4)

a)  $\delta$ -Hydroxy- $\gamma,\delta'$ -epoxy-L-leucin (3): 4.1 g 2 wurden mit dem fünffachen Überschuß an wäßr. methanolischer (1:1 vol.) KOH bei Raumtemperatur 3 Stdn. lang gerührt. Dann wurde mit verd. Essigsäure neutralisiert und i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde ohne Reinigung weiter verarbeitet.

b)  $\gamma,\delta,\delta'$ -Trihydroxy-L-leucin (4): Der nach a) erhaltene Rückstand wurde in Wasser auf eine Säule ( $1 \times 30$  cm) mit Amberlite IR ( $H^\oplus$ -Form) gebracht. Mit Wasser wurde so lange gewaschen, bis die abfließende Lösung neutral reagierte. Anschließend wurde mit 1 *n* Ammoniak eluiert und das Filtrat i. Vak. eingedampft. Es hinterblieb ein bräunliches, stark hygroskopisches Pulver. Ausb. 1.4 g (65%),  $[\alpha]_{546}^{20}$ :  $-15.8^\circ$  ( $c = 0.8$  in  $\text{H}_2\text{O}$ ),  $R_F$  auf Kieselgel G (Äthanol/ $\text{H}_2\text{O}$ , 1:1 vol.) 0.73, (n-Butanol/Eisessig/Wasser, 4:1:1 vol.) 0.02.

11) Die inzwischen gegenüber l.c.<sup>4)</sup> erfolgte verbesserte Darstellung von *N*-Trifluoracetyl-L-asparaginsäure- $\alpha$ -äthylester wurde berücksichtigt: F. Weygand und H. Fritz, Chem. Ber. 98, 72 (1965).

12) Die IR-Spektren der kristallisierten Verbindungen wurden an KBr-Preßlingen aufgenommen, die der Flüssigkeiten als Film. Zur Aufnahme diente ein Infracord-Gerät von Perkin-Elmer. Für die Bandenintensitäten wurden die üblichen Abkürzungen verwendet.

13) Das PMR-Spektrum wurde mit dem Varian A 60-Gerät aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm gegen Tetramethylsilan ( $\delta = 0.00$ ) angegeben, die Kopplungskonstanten *J* in Hz. Die relativen Intensitäten sind in eckigen Klammern beigefügt.

14) Atlas CH 4-Gerät. In Klammern sind die relativen Intensitäten, bezogen auf die intensivste Linie (100%), angegeben.

*Salze des  $\gamma,\delta,\delta'$ -Trihydroxy-L-leucin- $\gamma$ -lactons (5)*

a) *Hydrochlorid*: **4** wurde in *n HCl* gelöst, worauf i. Vak. eingedampft wurde. Methanol wurde nachdestilliert. Beim Aufbewahren im Eisschrank oder im Vakuumexsikkator über KOH kristallisierte die Verbindung.  $R_F$  (Äthanol/Wasser, 4:1 vol.) 0.83.

IR (KBr)<sup>12</sup>: —OH 3330 (s);  $\text{NH}_3^{\oplus}$  2860 (s)—2500 (w); —COO— 1790/cm (ss).

b) *p-Hydroxy-azobenzol-p'-sulfonsaures Salz*: 100 mg *Hydrochlorid* wurden in 5 ccm Wasser und 0.5 ccm Methylcellosolve mit 5 ccm einer kalt gesättigten Lösung der *Sulfonsäure* versetzt und kurz auf 60° erwärmt. Beim Abkühlen schied sich das Salz in gelben Nadelchen aus. Ausb. 175 mg (77%). Aus Wasser Schmp. 214° (Zers.).

IR (KBr)<sup>12</sup>: —OH, — $\text{NH}_3^{\oplus}$  3400—2400; —COO— 1770/cm (s).

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{NO}_4$ ] $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$  (439.4) Ber. C 49.19 H 4.81 N 9.56 Gef. C 48.87 H 4.77 N 9.25

*$\gamma,\delta,\delta'$ -Trihydroxy-N-[2,4-dinitro-phenyl]-L-leucin- $\gamma$ -lacton*: 120 mg **4** und 147 mg Natriumcarbonat in 4 ccm Wasser wurden unter heftigem Rühren mit 125 mg *2,4-Dinitrofluorbenzol* versetzt. Nach einer Stde. säuerte man mit Salzsäure an und schüttelte 4 mal mit Essigester aus. Nach dem Trocknen der Essigesterlösung mit Natriumsulfat wurde i. Vak. weitgehend eingedampft und mit Petroläther verrieben. Es schieden sich zitronengelbe Nadelchen (131 mg, 60%) aus, die zur Analyse mehrfach aus Methanol umkristallisiert wurden. Schmp. 146°.

IR (KBr)<sup>12</sup>: —OH, NH 3450—3200 (s); —COO— 1760/cm (s).

$\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_8$  (327.2) Ber. C 44.04 H 4.00 N 12.87 Gef. C 43.98 H 4.04 N 12.66

[577/67]