

# CHEMISCHE BERICHTE

In Fortsetzung der

BERICHTE DER DEUTSCHEN CHEMISCHEN GESELLSCHAFT

herausgegeben von der

GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

104. Jahrg. Nr. 3

S. 687—973

Wolfgang Steglich, Erich Frauendorfer und Friedrich Weygand †

Asymmetrische Synthesen mit 2-Trifluormethyl- $\Delta^3$ -oxazolinonen-(5), II<sup>1)</sup>

## Umwandlung von *racem. tert.*-Leucin in das L-Enantiomere

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Universität München

(Eingegangen am 18. November 1970)

Am Beispiel des *tert.*-Leucins (**1**) wird eine Methode zur Umwandlung von DL- $\alpha$ -Aminosäuren in die D- oder L-Enantiomeren aufgezeigt. Kernstück der Reaktionsfolge ist die Umsetzung von 2-Trifluormethyl- $\Delta^3$ -oxazolinon **2** mit L-Glutaminsäure-dimethylester, bei der unter hoher asymmetrischer Induktion vorzugsweise der N-Trifluoracetyl-L-L-dipeptid-ester **3** entsteht. Die Gesamtausbeute der Überführung von DL-**1** in die L-Form beträgt über 60%.

**Asymmetric Synthesis with 2-(Trifluoromethyl)-3-oxazolin-5-ones, II<sup>1)</sup>**

**Conversion of Racemic *tert.*-Leucine into the L-Enantiomer**

A method for the conversion of DL- $\alpha$ -amino acids into the D- and L-enantiomers is demonstrated with *tert.*-leucine (**1**). The main step is the reaction of 2-(trifluoromethyl)-3-oxazolinone **2** with dimethyl glutamate leading to the N-(trifluoroacetyl)-L-L-dipeptide ester **3** with high asymmetric induction. The overall yield for the conversion of DL-**1** into the L-form is more than 60%.

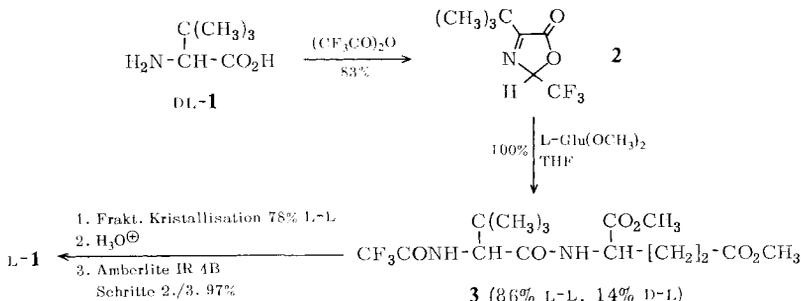
Zur Spaltung von racemischen  $\alpha$ -Aminosäuren in die Enantiomeren wurden bisher chemische und enzymatische Verfahren angewandt. Damit können in einem Schritt maximal 50% der DL-Aminosäure in ein Enantiomeres übergeführt werden.

Nutzt man die bei der Umsetzung von 2-Trifluormethyl- $\Delta^3$ -oxazolinonen-(5) mit chiralen  $\alpha$ -Aminosäureestern auftretende hohe asymmetrische Induktion aus<sup>1)</sup>, so ist prinzipiell eine mehr als 50prozentige Umwandlung von racemischen Aminosäuren in die D- oder L-Formen möglich. Die Anwendung des neuen Verfahrens sei am Beispiel des *tert.*-Leucins (**1**) demonstriert.

<sup>1)</sup> 1. Mittel.: W. Steglich, D. Mayer, X. Barocio de la Lama, H. Tanner und F. Weygand, Proc. of the 8th European Peptide Symposium, Noordwijk 1966, S. 67, Amsterdam, North-Holland Publishing Co. 1967.

L-1 wurde bereits durch Racematspaltung des *N*-Formyl-Derivats<sup>2)</sup> oder des Methyl-esters<sup>3)</sup> und durch bevorzugte Spaltung des *L*-Amids mit Schweinenieren-Amidase<sup>4)</sup> dargestellt. Es verdient als Bestandteil von Peptidantibiotika Interesse<sup>5)</sup>.

Die Umwandlung von DL-1 in die *L*-Form ist aus folgendem Schema ersichtlich:



DL-1 wird zunächst mit Trifluoressigsäure-anhydrid in das 2-Trifluormethyl- $\Delta^3$ -oxazolinon **2** verwandelt<sup>6)</sup>. Da **2** durch Destillation leicht zu reinigen ist, kann hierbei das bei der Synthese von **1** anfallende Rohprodukt<sup>7)</sup> eingesetzt werden. Die Umsetzung von **2** mit *L*-Glutaminsäure-dimethylester in Tetrahydrofuran liefert in quantitativer Ausbeute ein Gemisch der diastereomeren *N*-Trifluoracetyl-dipeptidester **3**, das aus 86% *L-L*- und 14% *D-L*-Verbindung besteht. Ein Zusatz von Brucin<sup>1)</sup> erhöht den Anteil der *L-L*-Verbindung nur unwesentlich. Fraktionierte Kristallisation der Diastereomeren **3** aus Essigester/Hexan unter gaschromatographischer Kontrolle der einzelnen Fraktionen auf optische Reinheit<sup>8)</sup> führt zur Abtrennung von 78% *L-L*-Dipeptidester. Er wird durch Erhitzen mit 6*n* HCl hydrolysiert. Nach Eindampfen und Entfernen der Säuren mit einem schwach basischen Ionenaustauscher erhält man reines *L-1* mit 97% Ausbeute.

Zum Beweis der optischen Reinheit wurde eine Probe bei 0° trifluoracetyliert<sup>9)</sup> und mit *L*-Valin-*tert.*-butylester nach der Dicyclohexylcarbodiimid/Hydroxysuccinimid-Methode<sup>10)</sup> in den *N*-Trifluoracetyl-*L-tert.*-leucyl-*L*-valin-*tert.*-butylester verwandelt. Nach Abspaltung der Estergruppe mit Trifluoressigsäure und Veresterung mit Diazomethan zeigte das Gaschromatogramm nur den Peak des *L-L*-Diastereoisomeren.

2) E. Aberhalden, W. Faust und E. Haase, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **228**, 187 (1934).

3) H. Pracejus und S. Winter, Chem. Ber. **97**, 3173 (1967).

4) N. Izumija, S.-C. J. Fu, S. M. Birnbaum und J. P. Greenstein, J. biol. Chemistry **205**, 221 (1953).

5) Vgl. z. B. S. Nakamura, N. Tanaka und H. Umezawa, J. Antibiot. [Tokyo] Ser. A, **19**, 10 (1966).

6) F. Weygand und U. Glöckler, Chem. Ber. **89**, 653 (1956); F. Weygand, W. Steglich, D. Mayer und W. v. Philipsborn, ebenda **97**, 2023 (1964).

7) F. Knoop und G. Landmann, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **89**, 157 (1914); J. P. Greenstein und M. Winitz, Chemistry of the Amino Acids, Vol. 3, S. 2581, J. Wiley & Sons, Inc., New York 1961.

8) F. Weygand, A. Prox, L. Schmidhammer und W. König, Angew. Chem. **75**, 282 (1963); Angew. Chem. internat. Edit. **2**, 183 (1963).

9) F. Weygand und R. Geiger, Chem. Ber. **89**, 647 (1956).

10) E. Wünsch und F. Drees, Chem. Ber. **99**, 110 (1966); F. Weygand, D. Hoffmann und E. Wünsch, Z. Naturforsch. **21b**, 426 (1966).

Der präparativ interessante L-tert.-Leucin-tert.-butylester kann ohne Schwierigkeiten über die *N*-Benzyloxycarbonyl-Verbindung durch Umsetzen mit Isobuten und anschließende hydrogenolytische Abspaltung der *N*-Schutzgruppe dargestellt werden. Dabei tritt keine Racemisierung ein.

Die bei der Überführung von DL-1 in L-1 erzielte Gesamtausbeute beträgt 63%. Die neue Methodik ist auch bei anderen  $\alpha$ -Aminosäuren anwendbar<sup>11)</sup>, vor allem, wenn sie eine sterisch anspruchsvolle Seitenkette besitzen. Um D-Aminosäuren herzustellen, muß anstelle des L- der D-Glutaminsäure-dimethylester eingesetzt werden.

Dem Bundesministerium für Wissenschaft und Bildung danken wir für die Förderung dieser Arbeit.

### Beschreibung der Versuche

Die gaschromatographische Diastereoisomerentrennung erfolgte an einer 50-m-Stahlkapillarsäule OS-138 von Perkin-Elmer mit Stickstoff als Trägergas, Einspritzblocktemperatur 300° und Detektor FID. Die Kieselgel-G-Dünnschichtchromatogramme wurden durch Behandeln mit Cl<sub>2</sub> und anschließendes Besprühen mit KJ/Stärke-Lösung entwickelt.

2-Trifluormethyl-4-tert.-butyl- $\Delta^3$ -oxazolinon-(5) (2): 9.8 g (75 mMol) DL-tert.-Leucin (DL-1)<sup>7)</sup> und 27 ccm Trifluoressigsäure-anhydrid werden in einem Kolben mit Intensivkühler und Trockenrohr 2 Stdn. auf 90° erhitzt. Destillation bei 100 Torr liefert eine Fraktion vom Sdp. 100°, die durch Aufnehmen in Äther und zweimaliges Ausschütteln mit eiskalter Natriumhydrogencarbonatlösung von Trifluoressigsäure befreit wird. Trocknen über Natriumsulfat, Abziehen des Äthers und Destillation ergibt 13.0 g (83%), Sdp.<sub>100</sub> 100°.

IR (Film): 1800 (sst), 1635/cm (m).

NMR (CCl<sub>4</sub>):  $\delta$  1.37 (s) [9]; 6.05 (q, *J* = 4 Hz) [1].

C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (209.2) Ber. C 45.94 H 4.82 N 6.70 Gef. C 45.67 H 4.89 N 6.38

*N*-Trifluoracetyl-L-tert.-leucyl-L-glutaminsäure-dimethylester (L-L-3)

a) Diastereoisomerengemisch: 12.0 g (57.5 mMol) 2 und 12.7 g (57.5 mMol) L-Glutaminsäure-dimethylester-hydrochlorid werden in 300 ccm absol. Tetrahydrofuran tropfenweise mit 8 ccm Triäthylamin versetzt und 84 Stdn. gerührt. Nach Eindampfen i. Vak. wird der Rückstand zwischen 0.5*n* HCl und Essigester verteilt und die organische Phase mit Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser ausgeschüttelt. Eindampfen der getrockneten Lösung i. Vak. liefert 22.0 g (99.7%) dünn-schichtchromatographisch reines Diastereoisomerengemisch. Es besteht nach dem Gaschromatogramm aus 86% L-L- und 14% D-L-Verbindung (Trägergas 2.3 Nccm N<sub>2</sub>/Min., Säulentemp. 218°, Auflösung 100%, Teilungsverhältnis 1 : 35). Retentionszeiten: Myristinsäure-methylester (innerer Standard) 9.5 Min., L-L-3 31.8 Min., D-L-3 35.2 Min.

b) L-L-3: 22.0 g des Diastereoisomerengemischs werden in Hexan suspendiert und in der Siedehitze solange mit Essigester versetzt, bis eine klare Lösung entsteht. Beim Abkühlen kristallisiert die reine L-L-Verbindung aus (gaschromatographische Kontrolle!<sup>8)</sup>). Eindampfen der Mutterlauge und mehrfache Wiederholung der Prozedur ergibt 17.2 g (78%) farblose Kristalle von L-L-3, Schmp. 124–126°, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>: –36.0° (*c* = 1, in Methanol).

C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (384.4) Ber. C 46.86 H 6.05 N 7.30 Gef. C 46.92 H 6.15 N 7.20

<sup>11)</sup> W. Steglich, H. U. Heininger, H. Dworschak und F. Weygand, Angew. Chem. 79, 822 (1967); Angew. Chem. internat. Edit. 6, 807 (1967).

*L-tert.-Leucin (L-1)*: 16 g *L-1-3* werden in einem Bombenrohr mit 160 ccm 6*n* HCl 30 Stdn. auf 110° erhitzt. Nach Abkühlen und Abdampfen der Salzsäure wird über KOH i. Hochvak. getrocknet, in 10 ccm Wasser aufgenommen und die Lösung über eine Säule aus 200 ccm Amberlite IR-4B (OH-Form) geschickt. Elution mit viel dest. Wasser ergibt nach dem Eindampfen 5.3 g (97%) dünnschichtchromatographisch einheitliche farbl. Kristalle. Sublimiert ab 250°,  $[\alpha]_{546}^{20}$ :  $-10.9^{\circ}$  ( $c = 2$ , in Wasser) (Lit.:  $[\alpha]_{D}^{20}$ :  $-10.1^{\circ}$ <sup>2)</sup>;  $[\alpha]_{D}^{25}$ :  $-9.7^{\circ}$ <sup>4)</sup>;  $[\alpha]_{D}^{15}$ :  $-9.4^{\circ}$ <sup>3)</sup>).

C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub> (131.2) Ber. C 54.94 H 9.99 N 10.68 Gef. C 54.81 H 9.91 N 10.82

*Prüfung des L-tert.-Leucins auf optische Reinheit*: 50 mg *L-tert.-Leucin* werden in 0.5 ccm absol. Trifluoressigsäure bei 0° mit 0.08 ccm Trifluoressigsäure-anhydrid versetzt<sup>9)</sup>. Nach 4 Stdn. wird i. Vak. eingedampft und die Trifluoracetylierung wiederholt. Entfernen der Trifluoressigsäure i. Vak., dreimaliges Nachdestillieren mit Toluol und Trocknen über KOH i. Hochvak. liefert 82 mg *N-TFA-Aminosäure*. Sie wird in Methylenchlorid bei 0° mit 83 mg *L-Valin-tert.-butylester*, 52 mg *N-Hydroxy-succinimid* und 93 mg *Dicyclohexylcarbodiimid* versetzt. Nach 16 Stdn. wird wie bei **3** aufgearbeitet. Abspaltung der Estergruppe mit Trifluoressigsäure und Veresterung mit Diazomethan ergibt auf übliche Weise den *N-Trifluoracetyl-L-tert.-leucyl-L-valin-methylester*. Er zeigt im Gaschromatogramm nur den Peak der *L-L-Verbindung* (Säulentemperatur 186°, 0.8 Nccm N<sub>2</sub>/Min., Teilungsverhältnis 1 : 15, Auflösung 100%). Retentionszeiten: Myristinsäure-methylester (innerer Standard) 42 Min., *L-L-Verbindung* 29.6 Min., *D-L-Verbindung* (Vergleich) 33.6 Min.

*N-Benzoyloxycarbonyl-L-tert.-leucin-tert.-butylester*

a) Zu 5.2 g (39.6 mMol) *L-tert.-Leucin* in 39.6 ccm 1*n* NaOH werden unter Eiskühlung und Rühren gleichzeitig 8.1 g (47.5 mMol) *Chlorameisensäure-benzylester* und 47.5 ccm 1*n* NaOH getropft. Man läßt noch 2 Stdn. rühren, schüttelt viermal mit Äther aus, säuert mit Salzsäure an und extrahiert mehrmals mit Methylenchlorid. Nach Eindampfen der getrockneten Extrakte hinterbleiben 8.5 g (81%) Öl, das ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt wird.

b) Das unter a) erhaltene *N-Benzoyloxycarbonyl-L-tert.-leucin* wird in 60 ccm Methylenchlorid mit 0.6 ccm konz. Schwefelsäure versetzt. Man kondensiert 100 ccm *Isobuten* auf und läßt 5 Tage in einem verschlossenen Gefäß stehen. Nach Ablassen des Isobutens bei schwachem Vakuum wird die Lösung mit Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser ausgeschüttelt, getrocknet und eingedampft. Ausb. 9.2 g (89%) Öl.  $[\alpha]_{546}^{20}$ :  $-14.3^{\circ}$  ( $c = 3$ , in Methanol).

C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>4</sub> (321.4) Ber. C 66.83 H 8.29 N 4.44 Gef. C 67.30 H 8.47 N 4.36

*L-tert.-Leucin-tert.-butylester*: 9.2 g *N-Benzoyloxycarbonyl-L-tert.-leucin-tert.-butylester* werden in 100 ccm Äthanol mit 1 g Pd/C (10proz.) katalytisch hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators wird i. Vak. destilliert. 4.4 g (82%), farblose Flüssigkeit, Sdp.<sub>0.6</sub> 42°,  $[\alpha]_{546}^{20}$ : 70.2° ( $c = 1$ , in Methanol).

C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub> (187.3) Ber. C 64.1 H 11.3 N 7.48 Gef. C 64.3 H 11.2 N 7.67

*Prüfung des L-tert.-Leucin-tert.-butylesters auf optische Reinheit*: 18.7 mg *L-tert.-Leucin-tert.-butylester* werden mit 31.0 mg *N-Trifluoracetyl-L-valin-[N-hydroxy-succinimidester]*<sup>12)</sup> in 2 ccm Methylenchlorid bei 0° umgesetzt. Nach 24 Stdn. wird wie bei **3** aufgearbeitet, die *tert.-Butylester-Gruppe* mit Trifluoressigsäure abgespalten und mit Diazomethan methyliert. Im Gaschromatogramm tritt nur der Peak des *N-Trifluoracetyl-L-valyl-L-tert.-leucin-methylesters* auf (Säulentemperatur 190°, 0.8 Nccm N<sub>2</sub>/Min., Teilungsverhältnis 1 : 15, Auflösung 100%). Retentionszeiten: Myristinsäure-methylester 35.4 Min., *L-L-Verbindung* 27 Min., *D-L-Verbindung* (Vergleich) 30.4 Min.

<sup>12)</sup> F. Weygand † und E. Frauendorfer, Chem. Ber. **103**, 2437 (1970).