

224. Herstellung von *ar*-Pentafluor-L-phenylalanin

von **Jean-Luc Fauchère** und **Robert Schwyzer**

Institut für Molekularbiologie und Biophysik,
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, 8049 Zürich

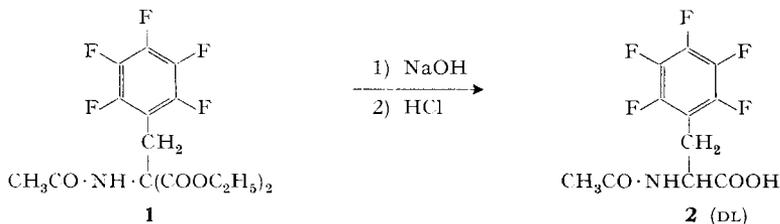
(25. VIII. 71)

Summary. An enzymatic resolution of *ar*-pentafluoro-DL-phenylalanine is described. The L antipode has been isolated and its N^α-*t*-butoxycarbonyl derivative prepared.

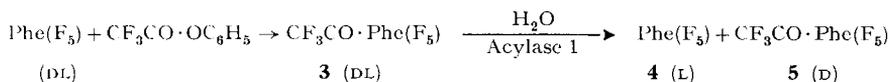
Wir beschreiben erstmals die Herstellung von *ar*-Pentafluor-L-phenylalanin (oder β-(2,3,4,5,6-Pentafluorphenyl)-L-alanin), Phe(F₅)¹.

Diese, bisher nur als Racemat bekannte Aminosäure wollen wir für Untersuchungen mit ¹⁹F-NMR. verwenden: Ersetzt man in einem Polypeptid L-Phenylalanin durch Pentafluor-L-phenylalanin (und bleibt dabei die biologische Aktivität erhalten [1]), so sollten Wechselwirkungen zwischen dem betreffenden Peptid und seinen biologischen Rezeptoren (Hormon-Rezeptoren, Enzyme, Antikörper etc.) in einem NMR.-Bereich beobachtbar werden, in welchem störende Resonanzen anderer Kerne nicht auftreten («NMR.-Fenster» [2]).

Racemisches Phe(F₅) erhielten wir nach *Filler & Gustowski* [3] durch Kondensation von Acetamidomalonsäure-diäthylester mit 2,3,4,5,6-Pentafluorbenzylbromid und anschliessende Hydrolyse. Die Racematspaltung gelang durch asymmetrische Hydrolyse von N-Acylderivaten des DL-Phe(F₅) mittels Acylase 1 aus Schweinenieren, wie sie von *Greenstein & Mitarbeitern* [4] zur Darstellung natürlicher Aminosäuren verwendet wurde. Der enzymatische Angriff auf DL-N-Acetyl-pentafluorphenylalanin (2), welches wir durch milde Verseifung des Kondensationsproduktes 1 aus der Malonestersynthese hergestellt hatten, verlief für präparative Zwecke zu langsam. Hingegen liess sich das racemische Trifluoracetylderivat 3 (nach der allgemeinen



Vorschrift von *Weygand & Geiger* [5] hergestellt) sehr wohl asymmetrisch hydrolysieren. Diese Beobachtung stimmt mit den kinetischen Untersuchungen von *Fones & Lee* [6] an anderen Aminosäuren überein.



¹) Abkürzungen entsprechend den Empfehlungen der IUB-IUPAC-Kommission, vgl. *European J. Biochemistry* 1, 375 (1967).

Versuche, dieselben Substrate mit Carboxypeptidase C zu spalten, ergaben kleinere Hydrolysegeschwindigkeiten als mit Acylase 1. Diese, nach den Erfahrungen von *Fones & Lee* [6] ungewöhnliche Beobachtung lässt sich wohl dadurch erklären, dass die 5 Fluoratome die Elektronenverteilung des Phenylkernes so stark beeinflussen, dass er sich nicht mehr wie ein typischer aromatischer Kern verhält (vgl. *Sheppard* [7]).

Wir isolierten L-Phe(F₅) durch fraktionierte Kristallisation des Hydrolysats bei pH 5 und kristallisierten es aus Wasser um. Bei zwei unabhängig ausgeführten Racematspaltungen der Acetyl- und der Trifluoracetyl-Verbindung ergaben sich gleiche Werte der optischen Drehung.

Das D-Enantiomer wurde nicht isoliert, sondern mittels Trifluoracetanhydrid in alkalischem Milieu racemisiert und das erhaltene **3** zur Herstellung von weiteren Mengen von **4** angesetzt.

Als Derivat beschreiben wir die N-*t*-Butoxycarbonylverbindung, welche (z. B. nach der Dicyclohexylcarbodiimid-Hydroxybenztriazol-Methode [8]) zur Peptid-synthese verwendet werden kann.

Experimentelles. – Smp. sind unkorrigiert (offene Kapillare). NMR.-Spektren wurden mit einem Spektrometer *Varian* T60 mit Tetramethylsilan als interner Referenz gemessen. Optische Drehungen wurden mit einem *Perkin-Elmer*-Polarimeter 141 bestimmt. Dünnschichtchromatographie (DC.) wurde auf käuflichen Kieselgelplatten *Merck* F254 (mit Fluoreszenzindikator) im System *n*-Butanol-Eisessig-Wasser (100:10:30, Vol.-Teile) ausgeführt. Acylase 1 mit 900 E/mg wurde von *Schuchardt*, München, bezogen.

DL-*Ac*·Phe(F₅) (**2**). 6 g (15 mMol) **1** wurden mit 30 ml 1,25N NaOH (37,5 mMol) bei 80° während 4 Std. verseift, wobei sich das Edukt langsam löste. Dann wurde mit 1N HCl auf pH 2,5 eingestellt und 1 Std. weiter erhitzt. Kühlen auf 0° und Fällung des Produktes mit 1N HCl. Umkristallisieren aus 90-proz. Äthanol ergab DC.-reines **2**. Ausbeute 91%; Smp. 162°. NMR. in Dimethylsulfoxid: δ (ppm): 1,76 (CH₃); 3,01/3,12 (CH₂); 4,20/4,41/4,53/4,66 (CH); 8,09/8,21 (NH).

DL-*Tfa*·Phe(F₅) (**3**). 2,55 g (10 mMol) DL-Phe(F₅) [**3**] wurden mit 2,85 g (15 mMol) frisch destilliertem Trifluoressigsäure-phenylester und 5 g Phenol unter Rühren auf 140° erhitzt, wobei eine klare Lösung entstand. Nach 1 Std. wurde auf 20° gekühlt und die erstarrte Masse mit CCl₄ verrieben (Entfernung des Phenols). Der feste Rückstand wurde abfiltriert, in Äther gelöst und mehrmals mit 0,1N HCl und Wasser ausgeschüttelt. Trocknen und Verdampfen der Äther-Lösung ergab DC.-reines **3**. Umkristallisieren aus heissem CCl₄-Petroläther. Ausbeute 72%. Smp. 184°. NMR. in Dimethylsulfoxid: δ (ppm) = 3,20/3,32 (CH₂); 4,35/4,50/4,60/4,72 (CH); 9,80/9,97 (NH).

L-Phe(F₅) (**4**). Enzymlösung: 50 mg Acylase 1 pro ml einer 0,05M KH₂PO₄-Lösung, die mit 1N LiOH auf pH 7,0 eingestellt worden war. Asymmetrische Hydrolyse: 14,4 g (40 mMol) DL-*Tfa*·Phe(F₅) (**3**) wurden in Wasser gelöst. Die Lösung wurde mit LiOH auf pH 7,0 gebracht und mit Wasser auf 400 ml (0,1M **3**) verdünnt. Zugabe von 79 mg NH₄HCO₃ und 16 ml Enzymlösung. Nach 36 Std. bei 38° konnte mit DC. reichliche Hydrolyse festgestellt werden. Ansäuern mit 1N HCl auf pH 5, Entfernen von Acylase 1 durch Filtration über Celite, Eindampfen und fraktionierte Kristallisation des Rückstands ergab reines **4**. Ausbeute 26% bezogen auf **3** (52% des L-Enantiomeren). Smp. 261° (Zers.). $[\alpha]_D^{25} = +22,4^\circ$ ($c = 1$ in H₂O).

C₉H₆F₅NO₂ (255,142) Ber. C 42,37 H 2,37 N 5,49% Gef. C 42,24 H 2,39 N 5,49%

Boc·Phe(F₅)·OH(L). 765 mg (3 mMol) **4** wurden mit 472 mg (3,3 mMol) Kohlensäure-mono-*t*-butylester-azid in 12 ml Dioxan-Wasser (1:1, *v/v*) bei pH 10 und Zimmertemperatur umgesetzt (pH-Stat, vgl. *Schnabel* [9]). Nach 24 Std. wurde das überschüssige Azid mit Äther extrahiert und die wässrige Phase mit 1N H₂SO₄ auf pH 2,5 angesäuert. Nach Extraktion des Produktes mit Äther und Essigester wusch man die vereinigten organischen Phasen 3mal mit Wasser, trocknete sie mit MgSO₄ und dampfte sie im Vakuum ab. Der Rückstand wurde aus CCl₄-Petroläther umkristallisiert. DC. in CHCl₃-Methanol-Eisessig (95:5:3 *v/v*). Ausbeute 72%. Smp. 111°. $[\alpha]_D^{25} =$

–9,7° ($c = 1$, Methanol). NMR. in Dimethylsulfoxid: δ (ppm) = 1,28 (CH₃); 3,01/3,13 (CH₂); 3,94/4,08/4,20/4,33 (CH); 7,09/7,22 (NH).

C₁₄H₁₄F₃NO₄ (355,260) Ber. C 47,33 H 3,97 N 3,94% Gef. C 47,34 H 4,23 N 3,81%

Finanzielle Unterstützung verdanken wir dem *Schweiz. Nationalfonds*.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. Schwyzer & P. W. Schiller, *Helv.* **54**, 897 (1971).
 [2] R. Schwyzer & U. Ludescher, *Biochemistry* **7**, 2514 (1968).
 [3] R. Filler & W. Gustowski, *Nature* **205**, 1105 (1965); R. Filler, N. Ayyangar, W. Gustowski & H. Kang, *J. org. Chemistry* [3] **34**, 534 (1969).
 [4] S. Birnbaum, L. Lewintow, R. Kingsley & J. P. Greenstein, *J. biol. Chemistry* **194**, 455 (1952).
 [5] F. Weygand & R. Geiger, *Chem. Ber.* **89**, 647 (1956).
 [6] W. Fones & M. Lee, *J. biol. Chemistry* **201**, 847 (1953).
 [7] W. Sheppard, *J. Amer. chem. Soc.* [18] **92**, 5419 (1970).
 [8] W. König & R. Geiger, *Chem. Ber.* **103**, 788 (1970).
 [9] E. Schnabel, *Liebigs Ann. Chem.* **702**, 188 (1967).

225. 2 β , 13-Oxido-apotrichothecane: Synthese, chemische und physikalische Eigenschaften

Verrucarine und Roridine, 23. Mitteilung [1]

von R. Schumacher, J. Gutzwiller und Ch. Tamm

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

(13. VIII. 71)

Summary. Starting from the 12,13-epoxy-trichothecanes roridin C (trichodermol) (**1**), verrucarol (**15**) and trichothecolone (**25**), the isomeric 2 β , 13-epoxy-apotrichothecanes **9**, **20** and **33** have been synthesized. In these compounds the oxetane group proved to be unexpectedly stable to mineral acids and complex metal hydrides, probably due to its fusion to a cyclopentane ring. The IR. and NMR. spectra of the oxetanes are discussed.

1. Einleitung. – Während der letzten zehn Jahre sind aus Kulturen verschiedenster Mikroorganismen als Stoffwechselprodukte zahlreiche Ester von Sesquiterpenalkoholen isoliert worden, denen das tricyclische Grundgerüst des Trichothecans gemeinsam ist [2]. Zu dieser Klasse von Naturstoffen, die sich durch antibiotische, antifungische und zum Teil durch cytostatische Aktivität auszeichnen, gehören Trichothecin [3], Crotochin [4], Roridin C (Trichodermol), sowie der Antibiotica-Komplex der Roridine und Verrucarine [5], Trichodermin [6], Diacetoxy-scirpenol (B-24-Toxin) [7], T-2-Toxin [8], 3 α , 7 α -Dihydroxy-4 β , 15-diacetoxy-12, 13-epoxy-9-trichothecen-8-on [9], 3 α , 4 β , 15-Triacetoxy-7 α -hydroxy-12, 13-epoxy-9-trichothecen-8-on [10], Diacetyl-verrucarol [11], Nivalenol und Fusarenon [12], 3 α -Hydroxy-4 β , 7 α , 15-triacetoxy-12, 13-epoxy-9-trichothecen-8-on [13], sowie 3 α , 7 α -Dihydroxy-4 β , 8 α , 15-triacetoxy-12, 13-epoxy-9-trichothecen [14].

Die Sesquiterpenalkohole werden durch basische Hydrolyse der Metabolite gewonnen, wobei keine Sekundärreaktionen eintreten. Alle Vertreter dieser Stoffklasse besitzen eine terminale 12, 13-Epoxygruppe [15]. Diese lässt sich durch LiAlH₄ selekt-