

294. Eine neue Synthese des 3-[3,4-Dihydroxy-phenyl]-L-alanins (L-DOPA) aus L-Tyrosin

von **Hermann Bretschneider, Kraft Hohenlohe-Oehringen**

Institut für Organische und Pharmazeutische Chemie, Universität Innsbruck

Ado Kaiser und Uwe Wölcke

Chemische Forschungsabteilung der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co. Aktiengesellschaft*, Basel

(28. VIII 73)

Zusammenfassung. L-Tyrosin wird mit Acetylchlorid in Gegenwart von Aluminiumchlorid in 3-Acetyl-L-tyrosin übergeführt, das mit Wasserstoffperoxid in alkalischem Milieu zu L-DOPA oxydiert wird.

3-[3,4-Dihydroxy-phenyl]-L-analin (L-DOPA) (5) wurde erstmals 1913 von *Torquati* [1] aus Saubohnen (*Vicia Faba*) isoliert. Die Struktur wurde im selben Jahr von *Guggenheim* [2] aufgeklärt. Seit einigen Jahren wird die Verbindung mit grossem Erfolg bei der Therapie des *Parkinson*-Syndroms angewandt [3]. Einfache und billige Verfahren zur Herstellung des reinen L-Enantiomeren sind deshalb von grosser praktischer Bedeutung. Die meisten synthetischen Methoden benutzen als Ausgangsmaterial Dihydroxybenzaldehyd oder dessen Derivate, d.h. Substanzen, in denen die beiden orthoständigen Hydroxylgruppen bereits vorgebildet sind¹⁾. Im Gegensatz dazu haben wir nach einem Verfahren zur Überführung des aus natürlichem Material leicht zugänglichen L-Tyrosin (1) [5] in L-DOPA gesucht, um die – meist umständliche – Racematspaltung und Wiederverwendung des unerwünschten Antipoden zu vermeiden [4]²⁾. Die enzymatische bzw. mikrobiologische Hydroxylierung von L-Tyrosin (1) zu L-DOPA (5) im grossen Maßstab ist bereits in verschiedenen Veröffentlichungen beschrieben worden³⁾. Dagegen sind die von L-Tyrosin (1) ausgehenden chemischen Synthesen, die bis jetzt bekannt wurden, nicht ohne weiteres für die Herstellung grösserer Mengen geeignet. Zum ersten Mal wurde L-DOPA (5) von *Waser & Lewandowsky* [8] aus L-Tyrosin (1) durch Nitrierung, Reduktion, Diazotierung und Verkochung erhalten. *Raper* [9] isolierte beim Versuch, L-Tyrosin (1) mit Wasserstoffperoxid in Gegenwart von Eisen(III)salzen zu hydroxylieren, geringe Mengen L-DOPA (5) neben unverändertem Ausgangsmaterial und höher oxydierten Produkten. Von *Vorbrüggen & Krolakiewicz* [10] wurde kürzlich ein Verfahren zur Überführung von N-Acyl-L-tyrosin-estern mit Benzoylperoxid in die entsprechenden Derivate von L-DOPA beschrieben.

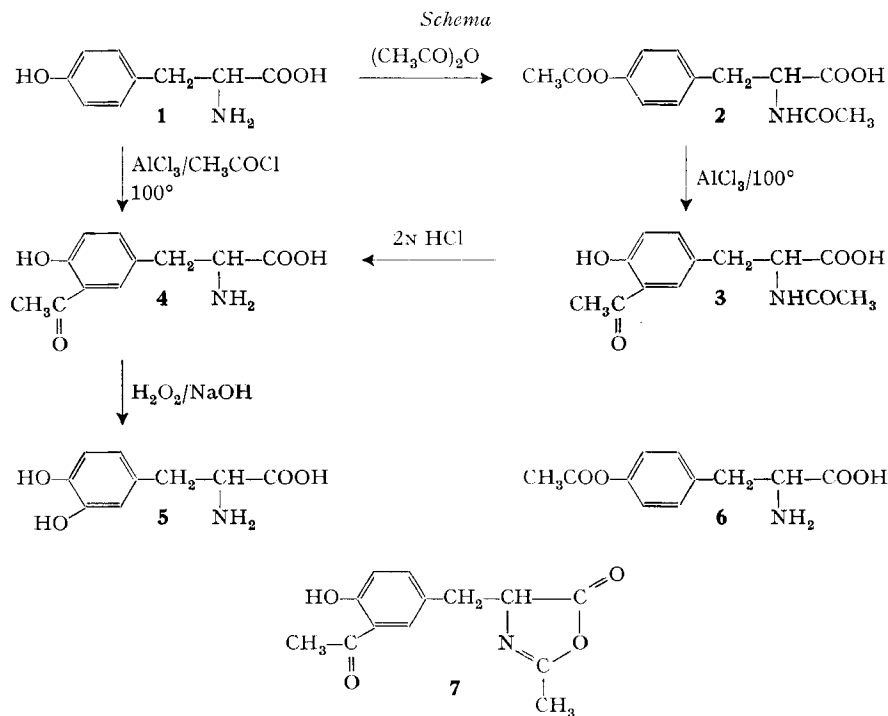
Unser Verfahren (Schema) führt von L-Tyrosin (1) über 3-Acetyl-L-tyrosin (4) zu L-DOPA. N,O-Diacetyl-L-tyrosin (2) – das aus L-Tyrosin durch Behandeln mit Acetanhydrid in praktisch quantitativer Ausbeute gewonnen werden kann [11] – lagert sich in Gegenwart von mindestens 3 mol Aluminiumchlorid in Nitrobenzol bei

¹⁾ Vgl. z.B. [4].

²⁾ Eine asymmetrische Synthese von L-DOPA aus Vanillin wurde vor Kurzem in [6] beschrieben.

³⁾ Vgl. z. B. [7].

100° ohne feststellbare Racemisierung in 3,N-Diacetyl-L-tyrosin (**3**) um. Erst bei Temperaturen oberhalb 130° wird – möglicherweise über das intermediär gebildete Oxazolinon **7** [12] – ein teilweise racemisiertes Produkt gebildet. Die Hydrolyse des Umlagerungsproduktes **3** mit verdünnter wässriger Salzsäure führt in sehr guter Ausbeute zum 3-Acetyl-L-tyrosin (**4**). Das Acetylderivat **4** kann auch in einer Stufe aus L-Tyrosin (**1**) hergestellt werden. L-Tyrosin (**1**) bildet nämlich mit 1 mol Aluminiumchlorid einen in Nitrobenzol zu mehr als 10% löslichen Komplex, der mit Acetylchlorid in Gegenwart von weiteren 2 mol Aluminiumchlorid bei 100° zu **4** reagiert. Die Reaktion verläuft über O-Acetyl-L-tyrosin (**6**), das beim Arbeiten unter milden Bedingungen isoliert werden kann.



Eine Verminderung des Molverhältnisses von Aluminiumchlorid zu O-Acetyl-Verbindung unter 3:1 hat sowohl bei der *Fries*-Umlagerung von O,N-Diacetyl-L-tyrosin wie bei der einstufigen Acylierung von L-Tyrosin (d. h. der *Fries*-Umlagerung von O-Acetyl-L-tyrosin) eine drastische Verminderung der Ausbeute zur Folge. Offensichtlich wird bei beiden Reaktionen durch die Carboxyl- und durch die Amino- bzw. Acetylamino-Gruppe je ein mol der *Lewis*-Säure als Katalysator inaktiviert.

3-Acetyl-L-tyrosin (**4**) reagiert in alkalischem Milieu mit Wasserstoffperoxid glatt unter Bildung von L-DOPA, wobei überraschenderweise nur minimale Mengen an gefärbten, höher oxydierten Produkten gebildet werden. Erwartungsgemäss verläuft auch die *Dakin*-Oxydation ohne Racemisierung.

Das durch die oben beschriebenen Reaktionen erhaltene Produkt war mit kommerziell erhältlichem L-DOPA identisch.

Für die Aufnahme und Diskussionen der Spektren sowie die Ausführung der Mikroanalysen danken wir Frl. Dr. M. Grosjean sowie den Herren Dr. W. Arnold, Dr. W. Vetter, W. Meister, Dr. K. Noack und Dr. A. Dirscherl.

Experimentelles. - Die Smp. sind nicht korrigiert. Die UV.-Spektren wurden mit einem Beckmann DK2, die Massenspektren mit einem MS 9 und die NMR.-Spektren mit einem Varian A-60-Spektrometer aufgenommen. Die Spektren sind in folgender Weise beschrieben: UV. (Lösungsmittel): λ_{\max} in nm; NMR. (Lösungsmittel, Temp.): Chemische Verschiebung in ppm (Multiplizität, Aufspaltung in Hz, Anzahl der Protonen). Die τ -Werte beziehen sich auf Tetramethylsilan als inneren Standard. Es bedeuten: *s* = Singulett, *d* = Dublett, *m* = Multiplett. Massenspektren: Massenzahl in *m/e* (relative Intensität).

N,O-Diacetyl-L-tyrosin (2) [11]. Zu einer Suspension von 45 g (0,25 mol) L-Tyrosin (1) in 128 ml 2N Natronlauge werden unter Rühren und Kühlung mit Eiswasser gleichzeitig 71,5 g (0,7 mol) Acetanhydrid und ca. 500 ml 2N Natronlauge innerhalb 1 Std. so getropft, dass ein pH von 6,6-7,5 eingehalten wird. Anschliessend wird das Gemisch 30 Min. bei Raumtemperatur weitergerührt, dann auf 5° abgekühlt und mit wässriger Salzsäure auf pH 2 gebracht. Nach etwa 30 Min. werden die Kristalle abfiltriert, mit wenig kaltem Wasser gewaschen und über P₂O₅/KOH getrocknet: 47g, Smp. 169-171°; $[\alpha]_D^{25} = +40,6^\circ$ (*c* = 1%, H₂O). (Lit. [11] Smp. 171-172°; $[\alpha]_D^{25} = +40,4^\circ$ (*c* = 0,5%, H₂O)). Das Filtrat wird bei 40°/11 Torr eingedampft. Der Rückstand wird mit Aceton extrahiert. Aus dem nach Eindampfen des Acetons zurückbleibenden Öl werden durch Umkristallisieren aus Wasser weitere 7 g 2 isoliert. Gesamtausbeute 54 g (82%).

3,N-Diacetyl-L-tyrosin (3). Ein Gemisch von 21,2 g (0,08 mol) N,O-Diacetyl-L-tyrosin (2), 160 ml Nitrobenzol und 40 g (0,3 mol) wasserfreiem Aluminiumchlorid werden unter Rühren 6 Std. auf 100° (Innentemperatur) erhitzt. Der ursprünglich flüssige Ansatz erstarrt nach einiger Zeit beim Erhitzen. Nach dem Abkühlen zersetzt man das Reaktionsgemisch mit 40 ml konzentrierter Salzsäure und 400 g Eis. Es wird mit Natriumchlorid gesättigt und einmal mit 800 ml Essigester und dann nochmal mit 400 ml Essigester extrahiert. Die Essigesterauszüge schüttelt man mit 80 ml 2N Natronlauge und dann mit 20 ml 2N Natronlauge aus und wäscht die vereinten alkalischen Lösungen mit 500 ml Petroläther zurück. Beim Ansäuern der alkalischen Lösung unter Eiskühlung auf pH 1 mit konzentrierter Salzsäure scheidet sich ein hellbraunes Öl ab, das alsbald kristallisiert. Die Kristalle werden abfiltriert und mit wenig kaltem Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Phosphorpentoxid erhält man 16 g (75%) 3,N-Diacetyl-L-tyrosin (3), Smp. 142-144°. Eine Probe wurde aus Wasser unter Zusatz von Aktivkohle umgelöst. Farblose Kristalle, Smp. 143-144°; $[\alpha]_D^{20} = +22,1^\circ$ (*c* = 1% Aceton). - UV. (H₂O): 255, 330. - NMR. (CDCl₃ + DMSO-d₆): 1,87 (*s*, -NCOCH₃); 2,62 (*s*, -COCH₃); ~3,0 (*m*, -CH₂-); ~4,5 (*m*, -N-CH-); 6,80 (*d*, *J* = 8,5 Hz, arom. Protonen); 7,35 (*d* × *d*, *J* = 8,5 Hz, *J* = 2 Hz, arom. Protonen); 7,70 (*d*, *J* = 2 Hz, arom. Protonen); 7,99 (*d*, breit, *J* = 8 Hz, -NH); 12,00 (*s*, -OH). - MS.: 265 (1%, *M*); 206 (62%, *M*-CH₃CONH₂), 191 (25%); 149 (100%); 131 (37%); 45 (15%); 43 (45%).

C₁₃H₁₅O₅N (265,26) Ber. C 58,86 H 5,70 N 5,28% Gef. C 58,79 H 5,69 N 5,22%

3-Acetyl-L-tyrosin (4) aus 3. 8,8 g (0,0332 mol) N,3-Diacetyl-L-tyrosin (3) werden in 100 ml 5N wässriger Salzsäure in einer Inertgas-Atmosphäre 40 Min. unter Rückfluss erhitzt. Beim Abkühlen auf 0° kristallisiert das 4-Hydrochlorid aus. Die Kristalle werden abfiltriert und aus 5N Salzsäure umkristallisiert: 7,0 g (81%), Smp. 221-225° (Zers.); $[\alpha]_D^{25} = -3,2^\circ$ (*c* = 1%, H₂O). - UV. (H₂O): 258, 329. - NMR. (DMSO-d₆): 2,67 (*s*, CH₃CO-); 3,18 (~*d*, *J* = 6 Hz, -CH₂-); 4,18 (~*t*, breit, *J* ~ 6 Hz, -CH-N); 6,97 (*d*, *J* ~ 8 Hz, arom. Protonen); 7,48 (*d* × *d*, *J* ~ 8 Hz, *J* ~ 2 Hz, arom. Protonen); 7,95 (*d*, *J* ~ 2 Hz, arom. Protonen); ~ 8,75 (sehr breit, -NH₂, -COOH, HCl); ~ 12,1 (breit, phenol. OH). - MS.: 223 (15%, *M*); 178 (3,5%, *M*-COOH); 149 (100%); 131 (35%); 107 (10%); 45 (31%); 44 (67%); 43 (30%); 38 (35%); 36 (100%).

C₁₁H₁₃NO₄ · HCl (259,69) Ber. C 50,88 H 5,43 N 5,39% Gef. C 50,78 H 5,32 N 5,39%

3-Acetyl-L-tyrosin (4) aus L-Tyrosin (1). In eine Suspension von 29 g (0,16 mol) L-Tyrosin (1) in 700 ml Nitrobenzol werden innerhalb von 5 Min. 84,8 g (0,63 mol) wasserfreies Aluminiumchlorid portionenweise eingetragen, wobei die Temperatur auf 52° ansteigt und alles in Lösung

geht. Anschliessend werden 15 g (0,191 mol) Acetylchlorid auf einmal zugegeben. Die gelbe klare Lösung wird 6 Std. bei 100° Innentemperatur gerührt. Danach wird die gallertige Reaktionsmasse auf ein Gemisch von 1 kg Eis und 160 ml konz. wässrige Salzsäure gegossen. Nach Abtrennen des Nitrobenzols wird die wässrige Phase 2mal mit je 400 ml Essigester extrahiert und dann bei 40°/12 Torr auf ca. 500 ml eingengt. Die konzentrierte Lösung wird 3 Std. bei 0° stehengelassen. Die Kristalle werden abfiltriert und aus 5N wässriger Salzsäure umkristallisiert. Das so erhaltene 4-Hydrochlorid (37,26 g, 89%) ist mit dem aus 3,N-Diacetyl-L-tyrosin (3) erhaltenen Produkt (vgl. oben) identisch.

3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-L-alanin (L-DOPA) (5). Die Reaktion wird unter Inertgas durchgeführt. Zu einer auf –10° abgekühlten Lösung von 10 g (0,038 mol) 3-Acetyl-L-tyrosin-Hydrochlorid (4) in 30 ml Wasser und 30 ml (0,5 mol) 5N Natronlauge werden auf einmal 5 ml (0,048 mol) 30proz. Wasserstoffperoxid gegeben. Das Gemisch färbt sich braun und die Temperatur steigt rasch auf etwa 44° an. Nach ca. 5 Min. beginnt die Temperatur wieder zu fallen. Das Kühlbad wird entfernt und die Lösung noch 30 Min. bei etwa 35° weitergerührt. Anschliessend wird das überschüssige Wasserstoffperoxid durch Einleiten von Schwefeldioxid reduziert. Dann wird auf 0° abgekühlt und mit konz. Salzsäure auf pH 5 angesäuert. Nach 2stdg. Stehen bei 5° werden die Kristalle abfiltriert und mit wenig kaltem Wasser gewaschen. Das rohe L-DOPA (5) wird in 20 ml siedendem Wasser unter Zusatz von 1,2 ml konz. Salzsäure und 0,1 g Natriumsulfid gelöst und nach Zugabe von 1,5 g Aktivkohle 30 Min. am Rückfluss erhitzt. Danach wird das heisse Gemisch filtriert. Das klare, fast farblose Filtrat wird nach Abkühlen auf 0° durch Zugabe von Triäthylamin auf pH 5 gebracht. Nach etwa 14 Std. bei 0° werden die Kristalle abfiltriert, mit wenig Eiswasser, dann mit Methanol und schliesslich mit Äther gewaschen; 5,6 g (75%), Smp. 278° (Zers.); $[\alpha]_D^{25} = -12,3^\circ$ ($c = 1\%$, 1N HCl) (Lit. [13] $[\alpha]_D^{20} = -11,7^\circ$ ($c = 1\%$, 1N HCl)).

O-Acetyl-L-tyrosin (6)[13]. Zu einer Suspension von 72,4 g (0,4 mol) L-Tyrosin (1) in 600 ml Nitrobenzol werden 122,4 g (0,92 mol) wasserfreies Aluminiumchlorid portionsweise zugegeben. Nachdem alles in Lösung gegangen ist, werden 31,4 g (0,4 mol) Acetylchlorid und 40,8 g (0,31 mol) wasserfreies Aluminiumchlorid, gelöst in 120 ml Methylenchlorid, unter Rühren im Verlauf von 30 Min. zugetropft. Nach der Zugabe wird noch 30 Min. bei Raumtemperatur weitergerührt. Die sirupartige Masse wird dann langsam unter externer Kühlung auf 800 g Eis und 150 ml konz. Salzsäure gegossen. Die erhaltene Emulsion wird 20 Min. bei 0–5° gerührt und dann filtriert. Die Kristalle werden in 400 ml Aceton aufgeschlämmt, filtriert und aus Methanol/Äther umkristallisiert; (85 g, 82%); Smp. 223° (Zers.); $[\alpha]_D^{25} = -11,64^\circ$ ($c = 5\%$, H₂O). (Lit. [14]: Smp. 222–223° (Zers.); $[\alpha]_D^{20} = 11,0^\circ$ ($c = 12,9\%$, H₂O)).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] T. Torquati, Arch. Farmacol. sper. 15, 308 (1913); Chem. Zbl. 84/II, 517 (1913).
- [2] M. Guggenheim, Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. 88, 276 (1913).
- [3] W. Birkmayer & O. Hornykiewicz, Wien. Klin. Wsch. 73, 787 (1961); M. D. Yahr, R. C. Duvoisin, M. J. Scheur, R. E. Barrett & M. M. Hoehn, Arch. Neurol. (Chic.) 21, 343–354 (1969).
- [4] C. Funk, J. chem. Soc. 99, 554 (1911); K. Vogler & H. Baumgartner, Helv. 35, 1776 (1952); R. H. Barry, A. M. Matlocks & W. H. Hartung, J. Amer. chem. Soc. 70, 693 (1948), S. Yamada, T. Fujii & T. Shioiri, Chem. pharm. Bull. (Tokyo) 10, 693 (1962).
- [5] J. P. Greenstein & H. Winitz, Chem. of Aminoacids S. 2348, J. Wiley, New York 1961.
- [6] W. S. Knowles, M. J. Sabacky & B. D. Vineyard, Chem. Commun. 1972, 10.
- [7] S. Amao, M. Nii, T. Kobayashi, K. Hoshi & K. Ishibashi, Ann. Sankyo Res. Lab. 23, 249–255 (1971); Ch. J. Sih, P. Foss, J. Rosazza & M. Lemberger, J. Amer. chem. Soc. 91, 6204 (1969); K. Haneda, S. Watanabe & J. Takeda, Appl. Microbiology 22, 721 (1971).
- [8] E. Waser & M. Lewandowski, Helv. 4, 657 (1921).
- [9] H. S. Raper, Biochem. J. 21, 89 (1926).
- [10] H. Vorbrüggen & K. Krolkiewicz, Chem. Ber. 105, 1168 (1972).
- [11] R. R. Sealock, J. biol. Chemistry 166, 1 (1946).
- [12] G. V. Boyd & P. H. Weight, J. chem. Soc. (Perkin) I 1972, 909.
- [13] D. D. Appleby & Wm. Mitchell, Chem. & Industry 1971, 461.
- [14] H. Breitschneider & K. Biemann, Mh. Chem. 81, 647 (1950).