

## 12. Synthese von 'D-Isotreonin' und 'L-Alloisotreonin' aus L-Alanin

von Jean-Pierre Wolf<sup>1)</sup> und Hanspeter Pfander\*

Institut für Organische Chemie, Universität Bern, Freiestrasse 3, CH-3012 Bern

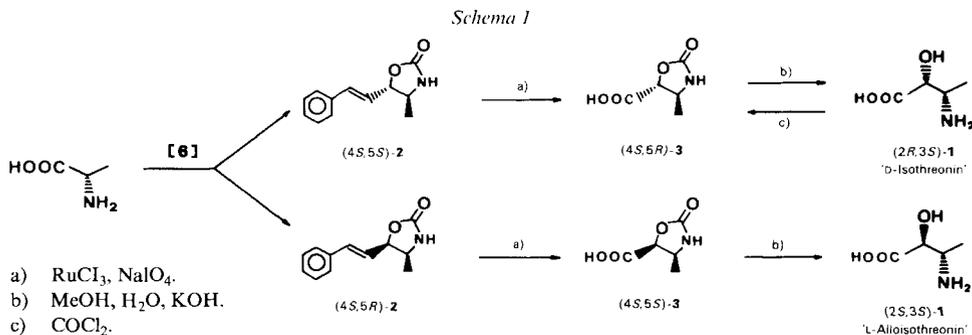
(12. XI. 86)

### Synthesis of 'D-Isotreonine' and 'L-Alloisotreonine' Starting from L-Alanine

Starting from L-alanine, 'D-isotreonine' (= (2*R*,3*S*)-3-amino-2-hydroxybutanoic acid) and 'L-alloisotreonine' (= (2*S*,3*S*)-3-amino-2-hydroxybutanoic acid) were synthesized.

**Einleitung.** – Die Bedeutung optisch aktiver  $\beta$ -Amino- $\alpha$ -hydroxycarbonsäuren liegt einerseits in ihrem Vorkommen als Bausteine biologisch aktiver Peptide [1] [2] und andererseits in der Möglichkeit, diese spezielle Gruppe von 'Isoamino-säuren' in der Synthese neuer pharmakologisch wirksamer Peptide einzusetzen. Synthesen optisch aktiver  $\beta$ -Amino- $\alpha$ -hydroxycarbonsäuren sind bekannt. Miyazawa *et al.* [3] erhielten 'L-Isoserin' (= (2*S*)-3-Amino-2-hydroxypropansäure) [1] ausgehend von L-Asparagin. Suda *et al.* [4] synthetisierten (2*S*,3*R*)-3-Amino-2-hydroxy-4-phenylbutansäure [2] aus D-Phenylalanin. Shimohigashi *et al.* [5] erhielten 'D-Isotreonin' (= (2*R*,3*S*)-3-Amino-2-hydroxybutansäure; (2*R*,3*S*)-1) und 'D-Isoserin' (= (2*R*)-3-Amino-2-hydroxypropansäure) durch doppelte *Walden*-Inversion ausgehend von L-Threonin bzw. L-Serin. Im Rahmen unserer kürzlich veröffentlichten Synthese von Merucathin (= (3*R*,4*S*)-4-Amino-1-phenyl-1-penten-3-ol) und Pseudomerucathin (= (3*S*,4*S*)-4-Amino-1-phenyl-1-penten-3-ol) [6] eröffnete sich ein Weg, das von Shimohigashi *et al.* beschriebene 'D-Isotreonin' ((2*R*,3*S*)-1) und das in der Literatur noch unbekannte 'L-Alloisotreonin' (= (2*S*,3*S*)-3-Amino-2-hydroxybutansäure; (2*S*,3*S*)-1) ausgehend von L-Alanin in hoher optischer Reinheit zu synthetisieren.

**Resultate und Diskussion.** – Wie im *Schema 1* gezeigt, wurden für die Synthese von 'D-Isotreonin' ((2*R*,3*S*)-1) und 'L-Alloisotreonin' ((2*S*,3*S*)-1) die Oxazolidinone



<sup>1)</sup> Teil der Dissertation von J.-P. Wolf.

(4*S*, 5*S*)- bzw. (4*S*, 5*R*)-**2** (erhältlich aus L-Alanin in 4 Stufen [6]) mit RuCl<sub>3</sub>/NaIO<sub>4</sub> nach Sharpless und Mitarbeitern [7] zu den Säuren (4*S*, 5*R*)- bzw. (4*S*, 5*S*)-**3** gespalten. Auf Grund der ausserordentlich guten Löslichkeit von (4*S*, 5*R*)- und (4*S*, 5*S*)-**3** in H<sub>2</sub>O wurden die Verbindungen ohne Reinigung zur Öffnung der Oxazolidinon-Ringe in KOH/MeOH/H<sub>2</sub>O unter Rückfluss gekocht. Nach Reinigung an Dowex 50 W × 8 (H<sup>+</sup>-Form) und Kristallisation aus H<sub>2</sub>O/EtOH [5] wurde 'D-Isothreonin' ((2*R*, 3*S*)-**1**) und 'L-Alloisothreonin' ((2*S*, 3*S*)-**1**) in 42,5 bzw. 57% Ausbeute bezüglich (4*S*, 5*S*)- bzw. (4*S*, 5*R*)-**2** erhalten. Um bei der alkalischen Hydrolyse von (4*S*, 5*R*)- und (4*S*, 5*S*)-**3** eine Öffnung *via* S<sub>N</sub>2-Reaktion am C(5) auszuschliessen, wurde 'D-Isothreonin' ((2*R*, 3*S*)-**1**) mit Phosgen nach [5] und [8] wieder in das Oxazolidinon übergeführt. Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum zeigte Übereinstimmung mit (4*S*, 5*R*)-**3**.

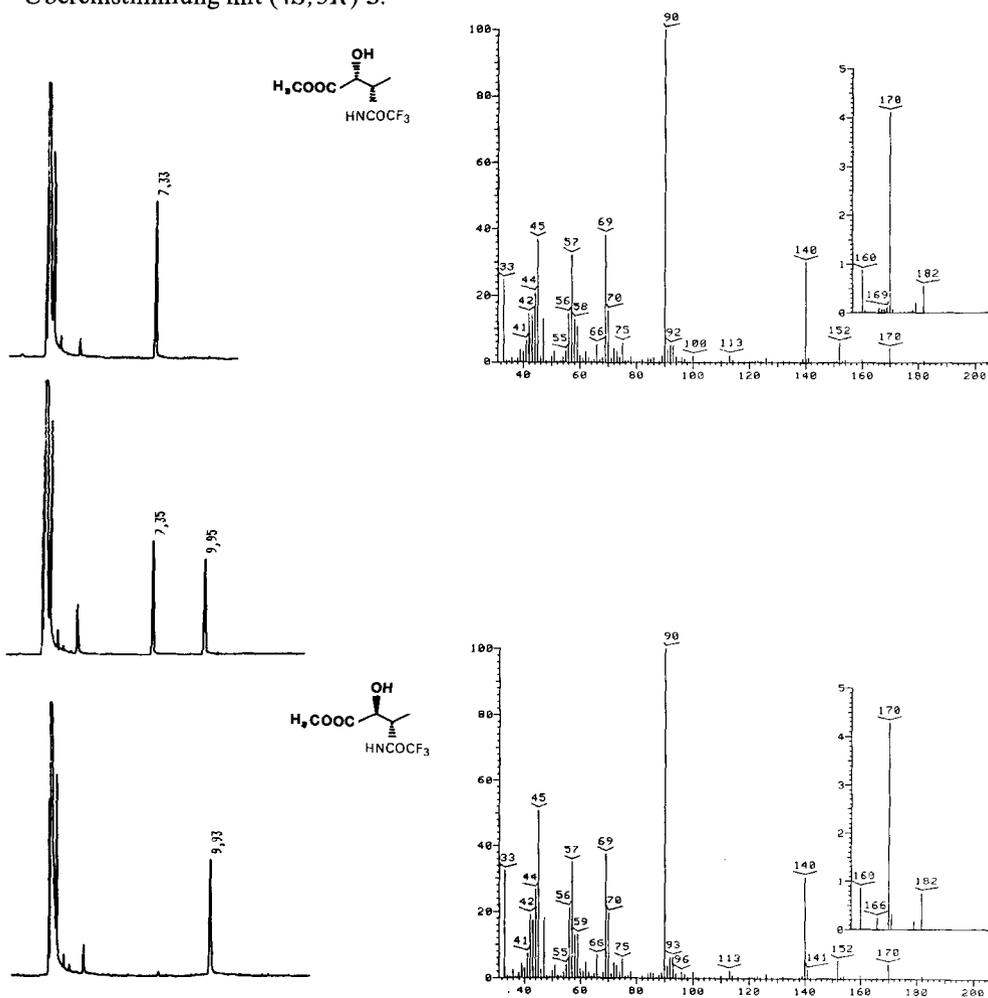


Fig. 1. GC/MS der N-Trifluoroacetyl-methylester von 'D-Isothreonin' ((2*R*, 3*S*)-**1**) und 'L-Alloisothreonin' ((2*S*, 3*S*)-**1**) zur Bestimmung des Diastereoisomerenüberschusses. Säule: Carbowax 20M, Länge 25 m, Innendurchmesser 0,3 mm. Injektortemp. 220°, Ofentemp. 180°, Detektortemp. 280°. Trägergas: Helium, 3,95 ml/min. Splitverhältnis 1:20.

Die physikalischen Daten (Schmp.,  $[\alpha]_D$ ,  $^1\text{H-NMR}$  und Elementaranalyse) von (2*R*, 3*S*)-1 stehen im Einklang mit den Angaben aus [5]. 'L-Alloisothreonin' ((2*S*, 3*S*)-1) besitzt einen spez. Drehwert von  $-26,15^\circ$  (gemessen in  $\text{H}_2\text{O}$ ). Die abs. Konfiguration von (2*R*, 3*S*)- und (2*S*, 3*S*)-1 wurde auf der Stufe der entsprechenden Oxazolidinone (4*S*, 5*R*)- und (4*S*, 5*S*)-3 bestimmt. Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum beträgt  $J$  für die in (4*S*, 5*R*)-3 *trans*-ständigen vicinalen H-C(4) und H-C(5) 5,8 Hz, für die in (4*S*, 5*S*)-3 *cis*-ständigen H-C(4) und H-C(5) jedoch 9 Hz. Aus [5] [8] ist bekannt, dass die  $J$ -Werte *trans*-ständiger vicinaler Protonen der 2-Oxazolidinon-Derivate von  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -hydroxycarbonsäuren  $5,0 \pm 1,0$  Hz und die  $J$ -Werte *cis*-ständiger vicinaler Protonen  $9,6 \pm 0,6$  Hz betragen. Für die 2-Oxazolidinon-Derivate von  $\beta$ -Amino- $\alpha$ -hydroxycarbonsäuren wurden die gleichen Beobachtungen gemacht [2] [5].

Zur Bestimmung der optischen Reinheit von 'D-Isothreonin' ((2*R*, 3*S*)-1) und 'L-Alloisothreonin' ((2*S*, 3*S*)-1) wurden die Verbindungen nach Weygand und Geiger [9] mit MeOH/HCl verestert und anschliessend mit  $\text{CF}_3\text{COOCH}_3$  in MeOH zum *N*-Trifluoracetyl-Derivat umgesetzt. Die GC/MS-Analyse (Fig. 1) zeigte für beide Derivate einen Diastereoisomerenüberschuss von 100%.

Die Bestimmung des Enantiomerenüberschusses erfolgte durch GC/MS-Vergleich der *N*-Trifluoracetyl-methylester der Enantiomeren 'L-Alloisothreonin' ((2*S*, 3*S*)-1) und

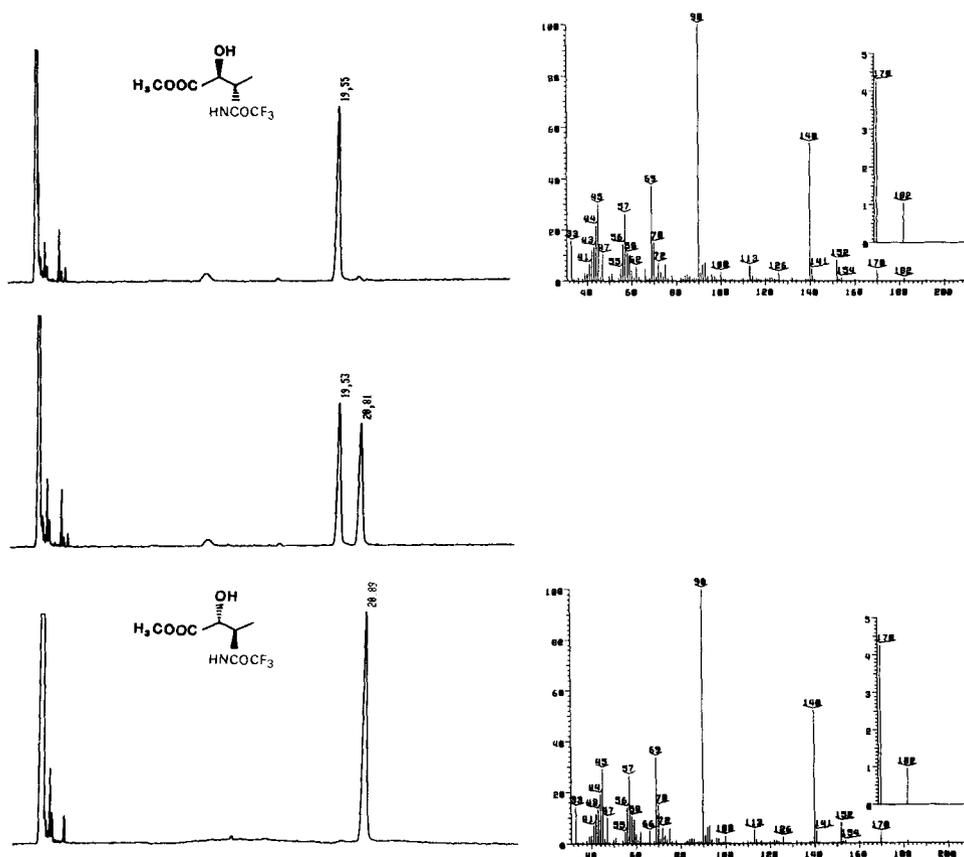
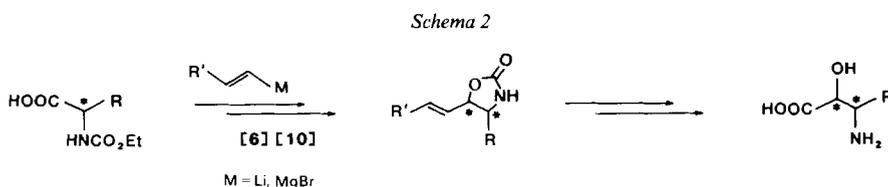


Fig. 2. GC/MS der *N*-Trifluoroacetyl-methylester von 'L-Alloisothreonin' ((2*S*, 3*S*)-1) und 'D-Alloisothreonin' ((2*R*, 3*R*)-1) zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses. Säule: SP 300, Länge 20 m, Innendurchmesser 0,3 mm. Injektortemp.  $220^\circ$ , Ofentemp.  $120^\circ$ , Detektortemp.  $280^\circ$ . Trägergas: Helium, 1,02 ml/min. Splitverhältnis 1:20.

‘D-Alloisothreonin’ ((2*R*,3*R*)-1)<sup>2)</sup> auf chiraler GC-Phase (Fig.2). Die Analyse ergab für beide Verbindungen einen Enantiomerenüberschuss von  $\geq 97\%$ .

Mit der Synthese von ‘D-Isothreonin’ und ‘L-Alloisothreonin’ aus L-Alanin wurde ein Weg aufgezeichnet, der es ermöglicht, ausgehend von einer optisch reinen  $\alpha$ -Aminosäure die um ein C-Atom verlängerten diastereoisomeren  $\beta$ -Amino- $\alpha$ -hydroxycarbonsäuren zu erhalten. Durch entsprechende Wahl des Ausgangsproduktes (Aminosäure) [10] ist die Möglichkeit zur Synthese verschiedener optisch aktiver  $\beta$ -Amino- $\alpha$ -hydroxycarbonsäuren gegeben (Schema 2).



Wir danken der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co. AG*, Basel, für die Unterstützung dieser Arbeit. Herrn Prof. *U. P. Schlunegger* und seinen Mitarbeitern danken wir für die Aufnahme der Massenspektren und Herrn Dr. *A. Dirscherl* (*F. Hoffmann-La Roche & Co. AG*, Basel) für die Ausführung der Elementaranalysen. Spezieller Dank gebührt den Herren *A. Saxer* und *H. Gfeller* (Institut für Organische Chemie, Bern) und Herrn Dr. *R. Däppen* (*Ciba-Geigy AG*, Basel) für die Ausführung der GC und GC/MS-Analysen.

### Experimenteller Teil

*Allgemeines.* S. [6] [11]. Ausserdem und abweichend davon: Ionenaustauschchromatographie: *Dowex 50 W*  $\times 8$ , 50–100 mesh; stark saurer Kationenaustauscher mit Sulfonsäuren als funktionelle Gruppen. GC: *Hewlett-Packard HP 5794* mit Flammenionisationsdetektor (FID) und Quarz-Kapillarsäule (Länge 25 m,  $\varnothing$  0,3 mm) mit *Carbowax 20 M* (chem. gebunden) für die Diastereoisomerentrennung; *Hewlett-Packard HP 5890* mit FID und *Duranglas-Kapillarsäule* (Länge 20 m,  $\varnothing$  0,3 mm) mit *SP 300* (*N-n*-Lauroyl-*N*-*L*-valin-*tert*-butylamid) für die Enantiomerentrennung. <sup>1</sup>H-NMR: *EM 360 L* (*Varian*) bei 60 MHz; bei D<sub>2</sub>O, Verwendung von Natrium-3-(trimethylsilyl)propan-sulfonat (DSS) als interner Standard (= 0 ppm). MS: *MAT 44S* (Fa. *Varian*), ‘open-split coupling’, Ionisationsenergie 70 eV.

(4*S*,5*R*)-4-Methyl-2-oxooxazolidin-5-carbonsäure ((4*S*,5*R*)-3). Zu einer Lsg. von 600 mg (2,96 mmol) (4*S*,5*S*)-2 [6] und 2,6 g (12,14 mmol) NaIO<sub>4</sub> in 21 ml H<sub>2</sub>O/CCl<sub>4</sub>/CH<sub>3</sub>CN 3:2:2 wurden unter kräftigem Rühren 15 mg (2,2 mol-%) RuCl<sub>3</sub> · H<sub>2</sub>O in einer Portion zugegeben. Nach 1 h wurde die grün-braune Lsg. zwischen 160 ml H<sub>2</sub>O/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:1 verteilt. Die nur Benzoesäure und Nebenprodukte enthaltende org. Phase wurde verworfen und die grüne H<sub>2</sub>O-Phase nach Filtration i. RV. eingedampft. Der resultierende grüne, feste Rückstand wurde in 30 ml MeOH aufgenommen und durch *Celite* filtriert. Nach Eindampfen verblieb ein gelber klebriger Rückstand, welcher ohne Reinigung weiter umgesetzt wurde. <sup>1</sup>H-NMR (60 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 1,39 (*d*, *J* = 6, CH<sub>3</sub>-C(4)); 3,98 (*m*, H-C(4)); 4,58 (*d*, *J* = 5,8, H-C(5)).

(4*S*,5*S*)-4-Methyl-2-oxooxazolidin-5-carbonsäure ((4*S*,5*S*)-3). Analog zu (4*S*,5*R*)-3 wurde (4*S*,5*S*)-3 aus (4*S*,5*R*)-2 [6] erhalten. <sup>1</sup>H-NMR (60 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 1,24 (*d*, *J* = 6,5, CH<sub>3</sub>-C(4)); 4,24 (*m*, H-C(4)); 5,08 (*d*, *J* = 9, H-C(5)).

(2*R*,3*S*)-3-Amino-2-hydroxybutansäure (= ‘D-Isothreonin’; (2*R*,3*S*)-1). Rohes (4*S*,5*R*)-3 wurde in 40 ml MeOH/H<sub>2</sub>O 3:1 und 890 mg (15,9 mmol) KOH über Nacht unter Rückfluss gekocht. Das MeOH wurde abdestilliert und der Rückstand an *Dowex 50 W*  $\times 8$  (H<sup>+</sup>-Form; Säule 1,5  $\times$  10 cm; Probe mit 120 ml H<sub>2</sub>O gewaschen und anschliessend mit 120 ml 2*N* NH<sub>4</sub>OH eluiert) gereinigt [5]. Das Eluat wurde eingedampft und der

<sup>2)</sup> In analoger Weise wurde ausgehend von D-Alanin ‘L-Isothreonin’ ((2*S*,3*R*)-1) und ‘D-Alloisothreonin’ ((2*R*,3*R*)-1) hergestellt.

feste, leicht gelbe Rückstand aus H<sub>2</sub>O/EtOH umkristallisiert: 148 mg (42,5% bzgl. (4*S*,5*S*)-2) feine Nadeln vom Schmp. 215–217°. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +22,2° (*c* = 0,46, H<sub>2</sub>O). <sup>1</sup>H-NMR (60 MHz, D<sub>2</sub>O, DSS): 1,31 (*d*, *J* = 6,5, 3H-C(4)); 3,55 (*m*, H-C(3)); 3,99 (*d*, *J* = 5, H-C(2)). MS: u. a. 74 (5, *M*<sup>+</sup> – 45), 57 (9), 44 (100), 28 (4), 18 (20). Anal. ber. für C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>: C 40,33, H 7,62, N 11,76; gef.: C 40,55, H 7,81, N 12,04.

(2*S*,3*S*)-3-Amino-2-hydroxybutansäure (= 'L-Alloisothreonin'; (2*S*,3*S*)-1). Analog der Herstellung von (2*R*,3*S*)-1 wurde (2*S*,3*S*)-1 aus (4*S*,5*S*)-3 in 57% Ausbeute (bzgl. (4*S*,5*R*)-2) als feine Nadeln vom Schmp. 242–243° erhalten. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = –26,15° (*c* = 1,1, H<sub>2</sub>O). <sup>1</sup>H-NMR (60 MHz, D<sub>2</sub>O, DSS): 1,21 (*d*, *J* = 7, 3H-C(4)); 3,70 (*m*, H-C(3)); 4,21 (*d*, *J* = 4, H-C(2)). MS: u. a. 74 (2, *M*<sup>+</sup> – 45), 57 (5), 44 (100), 28 (5), 18 (12). Anal. ber. für C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>: C 40,33, H 7,62, N 11,76; gef.: C 40,50, H 7,49, N 11,67.

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] G. Roncori, Z. Kurylo-Borowska, L. C. Craig, *Biochemistry* **1963**, *5*, 2153.
- [2] H. Suda, T. Takita, T. Aoyagi, H. Umezawa, *J. Antibiot.* **1976**, *29*, 100.
- [3] T. Miyazawa, E. Akita, T. Ito, *Agric. Biol. Chem.* **1976**, *40*, 1651.
- [4] H. Suda, T. Takita, T. Aoyagi, H. Umezawa, *J. Antibiot.* **1976**, *29*, 600.
- [5] Y. Shimohigashi, M. Waki, N. Izumiya, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, *52*, 949; Y. Shimohigashi, M. Waki, N. Izumiya, *Memoirs of the Faculty of Science, Kyushu University* 1978, Ser. C, Vol. 11 (2), S. 217.
- [6] J. P. Wolf, H. Pfander, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 918.
- [7] P. H. J. Carlsen, T. Katsuki, V. S. Martin, K. B. Sharpless, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3936.
- [8] S. Futagawa, T. Inui, T. Shiba, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1973**, *46*, 3308.
- [9] F. Weygand, R. Geiger, *Chem. Ber.* **1959**, *92*, 2099.
- [10] C. G. Knudsen, H. Rapoport, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 2260.
- [11] D. Berset, H. Pfander, *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 1149.