

12. Synthese von 'D-Isothreonin' und 'L-Alloisothreonin' aus L-Alanin

von Jean-Pierre Wolf¹⁾ und Hanspeter Pfander*

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

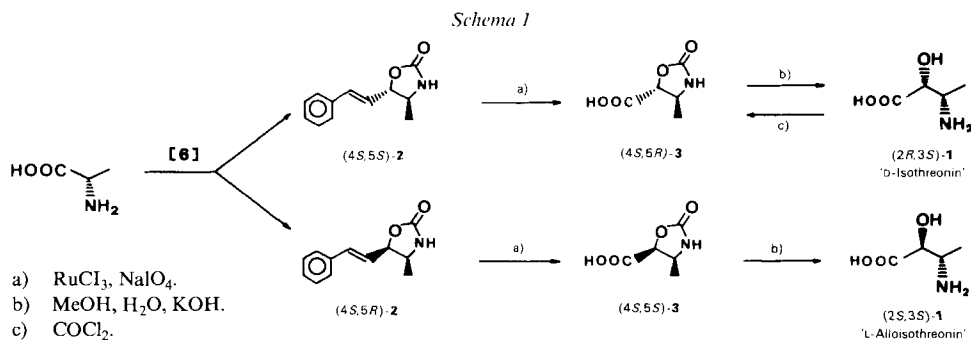
(12. XI. 86)

Synthesis of 'D-Isothreonine' and 'L-Alloisothreonine' Starting from L-Alanine

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

Einleitung. – Die Bedeutung optisch aktiver β -Amino- α -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 β -Amino- α -hydroxycarbonsäuren sind bekannt. Miyazawa *et al.* [3] erhielten 'L-Iso-serin' (= (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-Isothreonin' (= (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-Isothreonin' ((2*R*,3*S*)-1) und das in der Literatur noch unbekannte 'L-Alloisothreonin' (= (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-Isothreonin' ((2*R*,3*S*)-1) und 'L-Alloisothreonin' ((2*S*,3*S*)-1) die Oxazolidinone



¹⁾ 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 RuCl₃/NaIO₄ 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 H₂O wurden die Verbindungen ohne Reinigung zur Öffnung der Oxazolidinon-Ringe in KOH/MeOH/H₂O unter Rückfluss gekocht. Nach Reinigung an Dowex 50 W × 8 (H⁺-Form) und Kristallisation aus H₂O/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_N2-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 ¹H-NMR-Spektrum zeigte Übereinstimmung mit (4*S*, 5*R*)-**3**.

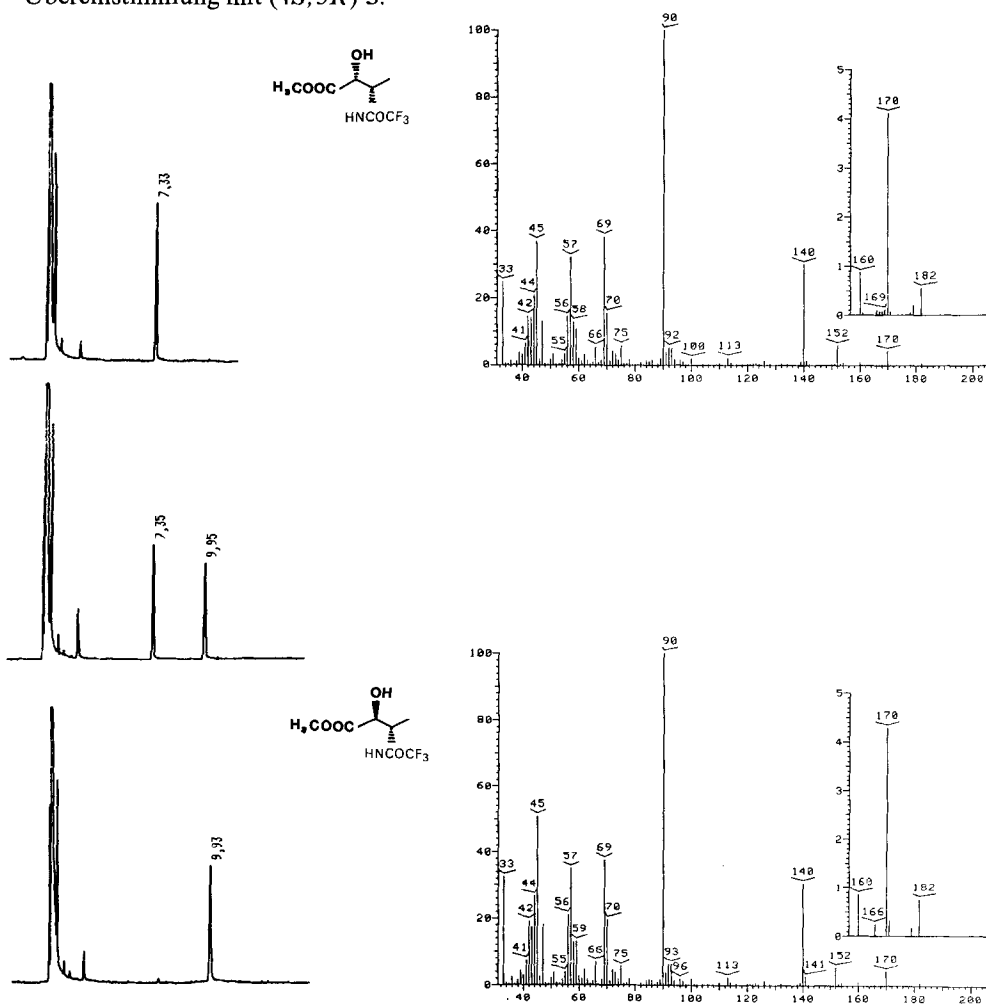


Fig. 1. GC/MS der N-Trifluoroacetyl-methylester von 'D-Isothreonin' ((2*R*, 3*S*)-**1**) und 'L-Alloisothreonin' ((2*S*, 3*S*)-**1**) zur Bestimmung des Diastereoisomerenüberschusses. Säule: Carbowax 20M, Länge 25 m, Innendurchmesser 0,3 mm. Injektortemp. 220°, Ofentemp. 180°, Detektortemp. 280°. Trägergas: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

Die physikalischen Daten (Schmp., $[\alpha]_D$, $^1\text{H-NMR}$ und Elementaranalyse) von $(2R, 3S)$ -**1** stehen im Einklang mit den Angaben aus [5]. 'L-Alloisothreonin' ($(2S, 3S)$ -**1**) besitzt einen spez. Drehwert von $-26,15^\circ$ (gemessen in H_2O). Die abs. Konfiguration von $(2R, 3S)$ - und $(2S, 3S)$ -**1** wurde auf der Stufe der entsprechenden Oxazolidinone ($4S, 5R$)- und $(4S, 5S)$ -**3** bestimmt. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum beträgt J für die in $(4S, 5R)$ -**3** *trans*-ständigen vicinalen $\text{H-C}(4)$ und $\text{H-C}(5)$ 5,8 Hz, für die in $(4S, 5S)$ -**3** *cis*-ständigen $\text{H-C}(4)$ und $\text{H-C}(5)$ jedoch 9 Hz. Aus [5] [8] ist bekannt, dass die J -Werte *trans*-ständiger vicinaler Protonen der 2-Oxazolidinon-Derivate von α -Amino- β -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 β -Amino- α -hydroxycarbonsäuren wurden die gleichen Beobachtungen gemacht [2] [5].

Zur Bestimmung der optischen Reinheit von 'D-Isothreonin' ($(2R, 3S)$ -**1**) und 'L-Alloisothreonin' ($(2S, 3S)$ -**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' ($(2S, 3S)$ -**1**) und

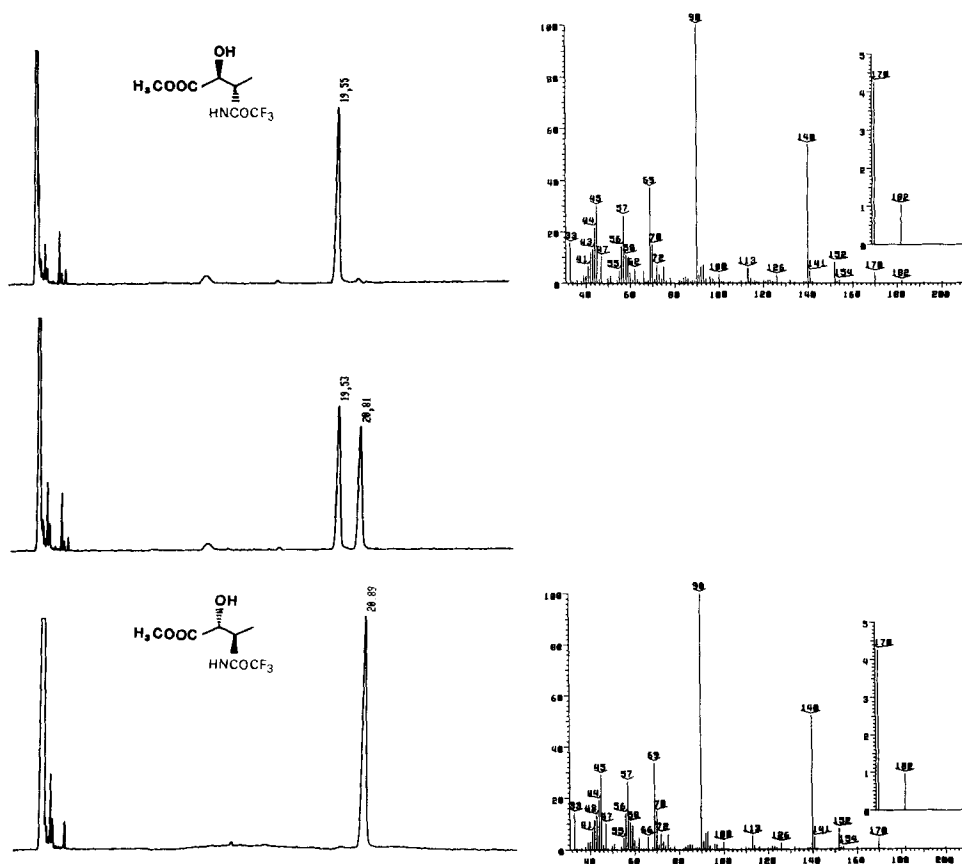
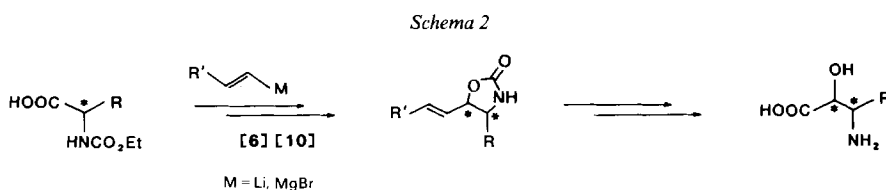


Fig. 2. GC/MS der *N*-Trifluoroacetyl-methylester von 'L-Alloisothreonin' ($(2S, 3S)$ -**1**) und 'D-Alloisothreonin' ($(2R, 3R)$ -**1**) zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses. Säule: SP 300, Länge 20 m, Innendurchmesser 0,3 mm. Injektortemp. 220° , Ofentemp. 120° , Detektortemp. 280° . Trägergas: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

‘D-Alloisothreonin’ ((2*R*,3*R*)-1)²⁾ 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 α -Aminosäure die um ein C-Atom verlängerten diastereoisomeren β -Amino- α -hydroxycarbonsäuren zu erhalten. Durch entsprechende Wahl des Ausgangsproduktes (Aminosäure) [10] ist die Möglichkeit zur Synthese verschiedener optisch aktiver β -Amino- α -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. ¹H-NMR: *EM 360 L* (*Varian*) bei 60 MHz; bei D₂O, 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) NaIO₄ in 21 ml H₂O/CCl₄/CH₃CN 3:2:2 wurden unter kräftigem Rühren 15 mg (2,2 mol-%) RuCl₃ · H₂O in einer Portion zugegeben. Nach 1 h wurde die grün-braune Lsg. zwischen 160 ml H₂O/CH₂Cl₂ 1:1 verteilt. Die nur Benzoesäure und Nebenprodukte enthaltende org. Phase wurde verworfen und die grüne H₂O-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. ¹H-NMR (60 MHz, CD₃OD): 1,39 (*d*, *J* = 6, CH₃-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. ¹H-NMR (60 MHz, CD₃OD): 1,24 (*d*, *J* = 6,5, CH₃-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/H₂O 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⁺-Form; Säule 1,5 \times 10 cm; Probe mit 120 ml H₂O gewaschen und anschliessend mit 120 ml 2*N* NH₄OH eluiert) gereinigt [5]. Das Eluat wurde eingedampft und der

²⁾ 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 H₂O/EtOH umkristallisiert: 148 mg (42,5% bzgl. (4*S*,5*S*)-2) feine Nadeln vom Schmp. 215–217°. [α]_D²⁰ = +22,2° (*c* = 0,46, H₂O). ¹H-NMR (60 MHz, D₂O, 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*⁺ – 45), 57 (9), 44 (100), 28 (4), 18 (20). Anal. ber. für C₄H₉NO₃: 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. [α]_D²⁰ = –26,15° (*c* = 1,1, H₂O). ¹H-NMR (60 MHz, D₂O, 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*⁺ – 45), 57 (5), 44 (100), 28 (5), 18 (12). Anal. ber. für C₄H₉NO₃: 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.