

**Ein einfacher Zugang
zu (R)- γ -Amino- β -hydroxybuttersäure (GABOB)
aus natürlichem (2S, 4R)-4-Hydroxyprolin**

Kurze Mitteilung

Johannes Häusler

Institut für Organische Chemie, Universität Wien, A-1090 Wien, Österreich

(Eingegangen 15. Dezember 1986. Angenommen 7. Januar 1987)

A Convenient Synthesis of (R)- γ -Amino- β -hydroxybutanoic Acid (GABOB) from Natural (2S, 4R)-4-Hydroxyproline (Short Communication)

The oxidative decarboxylation sequence (**1a** \rightarrow **2a** \rightarrow **3a** \rightarrow **4a** \rightarrow **5a**) affording γ -aminobutanoic acid (**5a**) is adapted to the synthesis of its hydroxy derivative **5b**. A facile high yield conversion of (2S, 4R)-4-hydroxyproline-methylester-hydrochloride (**7**) to (R)-GABOB (**5b**) on a preparative scale is reported with the hydroxypyrrolidone **8** as the intermediate.

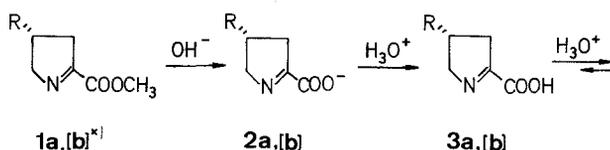
[*Keywords: Oxidation of amino acid derivatives; γ -Amino- β -hydroxybutanoic acid (GABOB); 1-Pyrroline-2-carboxylic acid derivatives*]

1-Pyrrolin-2-carbonsäure (**3a**) ist ein Intermediärprodukt des Prolinstoffwechsels [1]. In wäßriger Lösung steht sie in einem *pH*-abhängigen Gleichgewicht mit der 5-Amino-2-oxopentansäure (**4a**) [2]: Während ihre Salze **2a** ausschließlich cyclische Iminostruktur besitzen, überwiegt im Sauren die ringoffene Ketoform **4a**. Für die Hydroxysäure **3b**, die im Katabolismus des 4-Hydroxyprolins eine gewisse Rolle spielt [1], kann eine ähnlich gelagerte Gleichgewichtseinstellung zur Keto-Verbindung **4b** vermutet werden.

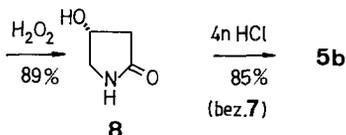
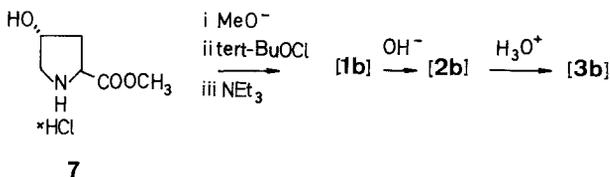
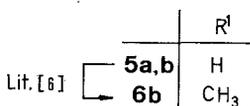
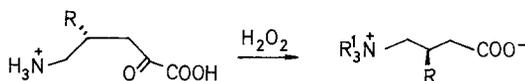
Ausgangspunkt der vorliegenden Untersuchung war ein analytischer Hinweis im Rahmen einer Prolinsynthese [3], nach dem Wasserstoffperoxid die Ketosäure **4a** oxidativ zu γ -Aminobuttersäure (GABA) (**5a**) decarboxyliert. Bereits erste eigene orientierende Versuche zur präparativen Nutzung dieser Umsetzung verliefen zufriedenstellend: In einer Eintropfreaktion konnte ausgehend von 1-

Pyrrolin-2-carbonsäuremethylester (**1a**) der Verseifungsschritt zu **2a**, die Ringöffnung zu **4a** durch Ansäuern, und schließlich der oxidative Abbau zu **5a** in einer Gesamtausbeute von 78–85% durchgeführt werden.

Dieser Befund ist weniger in Hinblick auf eine Synthese von *GABA* selbst von Interesse, die ja anderweitig ökonomischer zugänglich ist, sondern vielmehr für die Gewinnung ihres β -Hydroxyderivates. Sowohl (*R*)- γ -Amino- β -hydroxybuttersäure (*GABOB*) (**5b**), als auch das aus ihr leicht zugängliche [4] Trimethylbetain Carnitin (**6b**) besitzen nämlich große pharmakologische Bedeutung [5]. Die Reaktionsschritte **1a** \rightarrow **5a** müßten bloß auf das entsprechende Hydroxyderivat **1b** übertragen werden, das aus natürlichem (2*S*, 4*R*)-4-Hydroxyprolin leicht zugänglich sein sollte.



a: R=H, b: R=OH



* Die Verbindungen mit in Klammern gesetzten Formelzeichen wurden nicht isoliert bzw. näher charakterisiert.

Eine vor kurzem publizierte [6] dreistufige Methode zur Darstellung von *GABOB* geht ebenfalls von dieser Aminosäure aus und beschreibt als Schlüsselschritt die elektrochemische Decarboxylierung von *N*-Acetyl-hydroxyprolin zum entsprechenden 2-Methoxy-pyrrolidinderivat.

Ausgehend von (2*S*, 4*R*)-4-Hydroxyprolin-methylester-hydrochlorid (**7**) ließ sich in Analogie zu **1a** [7] durch *N*-Chlorierung/Dehydrochlorierung (*tert*-Butylhypochlorit/Triethylamin) der 4-Hydroxy-1-pyrrolin-2-carbonsäure-methylester (**1b**) glatt erhalten. Versuche zur Gewinnung eines analysenreinen Präparates scheiterten an der leichten Eliminierung zum Pyrrol-2-carbonsäure-methylester, so daß auf eine nähere Charakterisierung verzichtet wurde. Im Eintopf der Reaktionsfolge **1b** \rightarrow **5b** unterworfen, wie vorher mit **1a** durchgeführt, lieferte er 29% *GABOB*, 31% Pyrrol-2-carbonsäure und aus der neutralen Fraktion 40% (*R*)-4-Hydroxy-2-pyrrolidon (**8**) an isolierten Produkten. Die nicht unbeträchtlichen Anteile Pyrrol-2-carbonsäure entstammen einer spontanen Eliminierung von Wasser aus der noch ungeöffneten Iminocarbonsäure **3b**.

Die Instabilität von **3b** im sauren aber sogar im neutralen Milieu war schon bei frühen biochemischen Studien [8] beobachtet worden und erweist sich als recht problematisch für die gegenständliche Synthese, bei der auf saure Bedingungen nicht verzichtet werden kann.

Andererseits wurde erkannt, daß das Pyrrolidon **8** durch oxidative Decarboxylierung auf der Stufe der Iminocarbonsäure **3b** entstanden sein mußte. Dem Rechnung tragend, wurden Lösungen von **2b** in Gegenwart von Wasserstoffperoxid allmählich angesäuert. Als praktisch einziges Produkt wurde so das Pyrrolidon **8** in 89% Ausbeute gewonnen; die anschließende Lactamöffnung zur *GABOB* konnte fast verlustfrei durchgeführt werden. Die einfache Durchführbarkeit der Reaktionsschritte **7** \rightarrow **8** \rightarrow **5b** bei gleichzeitig hoher Produktausbeute (84% bzgl. **7**) machen somit diesen neuen Zugang zur *GABOB* überaus attraktiv.

Auch (*R*)-4-Hydroxy-2-pyrrolidon (**8**) ist seinerseits von Interesse: erstmals als Inhaltsstoff von *Amanita muscaria* bekanntgeworden [9], war es bisher durch Ringschluß von *GABOB* [10] wie auch durch enantioselektive Reduktion entsprechender β -Oxoestervorstufen [11] zugänglich. Es wird als Ausgangsverbindung zur Synthese einer Reihe *N*-substituierter Hydroxypyrrolidone mit Aktivität auf kognitive Prozesse [12] benötigt.

Dank

Der Autor dankt dem Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekte Nr. 4009 und 5137).

Experimenteller Teil

Schmp. wurden auf einem Heitzischmikroskop nach *Kofler* bestimmt; für die optischen Drehungen diente ein Polarimeter 241 der Fa. Perkin-Elmer; für das ^1H -

NMR-Spektrum fand ein Bruker WM-250-Spektrometer [Meßtemperatur 293 K; Lösungsmittel D₂O mit Natrium-(3-trimethylsilyl-1-propansulfonat)(DSS) als innerem Standard] Verwendung. Zur Dünnschichtchromatographie von **5 a**, **b** und **8** diente das Laufmittelsystem Butanol/Eisessig/Wasser (8 : 2 : 2) auf Kieselgel 60 (Fa. Merck).

4-Aminobutansäure (**5 a**)

Zu 5.08 g (40 mmol) **1 a** [7] werden unter Magnetrührung 41 ml 1 N Natronlauge und nach ca. 3 min 6.0 ml 10 N Schwefelsäure zugesetzt. Unter Wasserkühlung und Kontrolle der CO₂-Entwicklung fügt man 4.1 ml (40 mmol) 30proz. Wasserstoffperoxid (Fa. Merck, p.A.) in einigen Portionen zu, erwärmt bis zum gänzlichen Abklingen der Gasentwicklung 45 min auf 40 °C und zerstört restliches Peroxid durch Zugabe einiger Spatelspitzen Natriumsulfit (negative Reaktion mit Iodid-Stärke-Papier). Nach Abdampfen ca. eines Viertels des Volumens im Rotavapor und Entsalzen (Dowex 50 WX8, Säulendimension 180 × 30 mm; Eluans 1 N Ammoniaklösung) wird die Lösung im Vak. bis fast zur Trockene eingedampft und der Rückstand unter Zusatz von Aktivkohle aus wenig Wasser/Ethanol umkristallisiert. Es fallen 3.21—3.51 g (78—85%) farblose Spieße vom Schmp. 205—208 °C (Zers.) an. Die Aminosäure ist chromatographisch wie spektroskopisch mit käuflichem Material identisch.

(*R*)-4-Hydroxy-2-pyrrolidon (**8**)

7.24 g (40 mmol) scharf getrocknetes (2*S*, 4*R*)-4-Hydroxyprolinmethylesterhydrochlorid (**7**) werden unter Umschwenken des Kolbens mit 40.0 ml einer 1 N Lösung von Natriummethoxid in wasserfreiem Methanol versetzt; die Suspension wird im Rotavapor (Badtemp. bis 25 °C) bis zur öligen Konsistenz des Rückstandes eingengt. Man nimmt diesen in 120 ml einer Mischung (2 : 1) aus absol. Tetrahydrofuran und absol. Diethylether auf und versetzt unter Magnetrührung bei —40 °C mit 4.40 g (40.5 mmol) frisch dest. *tert*-Butylhypochlorit. Innerhalb 45 min läßt man die Lösung auf —20 °C kommen und fügt 5.7 ml (41 mmol) wasserfreies Triethylamin zu. Der Ansatz wird 1 h bei dieser Temperatur belassen und über Nacht im Kühlschrank (ca. +5 °C) aufbewahrt. Das auskristallisierte Triethylaminhydrochlorid und das Natriumchlorid werden abgesaugt, mit frischem Lösungsmittelgemisch gewaschen, und die Filtrate im Vak. schonend eingengt. Das zurückbleibende Öl, (*R*)-4-Hydroxy-1-pyrrolin-2-carbonsäuremethylester (**1 b**) [*R*_f = 0.36, Laufmittel: Chloroform/Methanol (9 : 1) auf Kieselgel 60] wird ohne Reinigung rasch weiter verarbeitet: man versetzt mit 41 ml 1 N Natronlauge, 4.1 ml (40 mmol) 30proz. Wasserstoffperoxid (Fa. Merck, p.A.), tropft während 20 min 4.5 ml 10 N Schwefelsäure zu und läßt noch 45 min bei 40 °C abreagieren, bevor durch Zugabe von wenig Natriumsulfit restliches Peroxid zerstört wird. Die im Vak. etwas eingengte Lösung wird durch Behandeln mit Dowex 50 W × 8 (H⁺-Form) und Dowex I (OH⁻-Form) (Säulendimension je 180 × 30 mm) entsalzen. Die neutralen Eluate werden im Vak. bis zur Trockene abgedampft, der Rückstand mehrmals in absol. Ethanol aufgenommen und wieder eingengt, um restliches Wasser zu entfernen und schließlich mit abs. Diethylether angerieben. Die zunächst erhaltenen 3.67 g (91%) Produkt werden im Hochvak. sublimiert (Kugelrohr, Luftbadtemp. 150—160 °C). Ausbeute 3.60 g (89%) farblose Kristalle vom Schmp. 156—158 °C (Lit. [10], 157—158 °C); [α]_D²⁰: + 59.5° (*c* = 1.14, H₂O) [Lit. [10], [α]_D²⁰: + 57.3° (*c* = 1.40, H₂O)].

$^1\text{H-NMR}$: $\delta = 2.26$ (dd, $J = 1.7, 17.9$ Hz; CO—CH), 2.77 (dd, $J = 6.3, 17.9$ Hz; CO—CH), 3.32 (dd, $J = 0.9, 11.5$ Hz; N—CH), 3.70 (dd, $J = 5.4, 11.5$ Hz; N—CH), 4.61 (dddd, $J = 0.9, 1.7, 5.4, 6.3$ Hz; O—CH). Die Werte sind im Einklang mit dem in Lit. [9] abgebildeten Spektrum.

(R)-4-Amino-3-hydroxybutansäure (**5b**)

Eine Lösung von 3.60 g (35.6 mmol) **8** in 60 ml 4 N Salzsäure wird 4 h unter Rückfluß erhitzt. Das Hydrolysat wird im Vak. fast vollständig eingedampft, und der Rückstand durch wiederholtes Lösen in Wasser sowie Eindampfen von überschüssiger Salzsäure befreit. Nach Entsalzen mittels Ionenaustauschers (Dowex 50 WX8, Säulendimension 180 \times 30 mm; Eluans 1 N Ammoniaklösung) wird das Eluat im Vak. eingedampft und der Rückstand unter Zusatz von Aktivkohle aus Wasser/Ethanol kristallisiert. Ausbeute 3.98 g (94%) farbloses Produkt vom Schmp. 213—215 °C (Zers.) (Lit. [6], 213—214 °C); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: -20.5° ($c = 2.08, \text{H}_2\text{O}$) [Lit. [6], $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: -20.5° ($c = 1.75, \text{H}_2\text{O}$)].

Literatur

- [1] Adams E, Frank L (1980) Ann Rev Biochem 49: 1005
- [2] Macholán L, Vencálková J (1963) Chem Ber 96: 237
- [3] Hasse K, Wieland A (1960) Chem Ber 93: 1686
- [4] Kaneko T, Yoshida R (1962) Bull Chem Soc Jpn 35: 1153
- [5] Bzgl. der Synthesemöglichkeiten und therapeutischen Eigenschaften dieser Aminosäuren siehe die Zusammenstellung in Lit. [6] als auch: Rajashekhar B, Kaiser ET (1985) J Org Chem 50: 4580
- [6] Renaud Ph, Seebach D (1986) Synthesis 1986: 424
- [7] Häusler J, Schmidt U (1979) Liebigs Ann Chem 1979: 1881
- [8] Radhakrishnan AN, Meister A (1957) J Biol Chem 226: 559
- [9] Matsumoto T, Trueb W, Gwinner R, Eugster CH (1969) Helv Chim Acta 52: 716
- [10] Pellegata R, Pinza M, Pifferi G (1978) Synthesis 1978: 614
- [11] Santaniello E, Casati R, Milani F (1984) J Chem Res (S) 1984: 132
- [12] Banfi S, Fonio W, Allievi E, Pinza M, Dorigotti L (1984) Farmaco Ed Sci 39: 16, und dort zit. Lit.