

Markierte Vertreter eines möglichen Zwischenprodukts der Biosynthese von Fosfomycin in *Streptomyces fradiae*: Darstellung von (*R,S*)-(2-Hydroxypropyl)-, (*R,S*)-, (*R*)-, (*S*)-(2-Hydroxy-[1,1-²H₂]propyl)- und (*R,S*)-(2-[¹⁸O]Hydroxypropyl)phosphonsäure

Friedrich Hammerschmidt

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

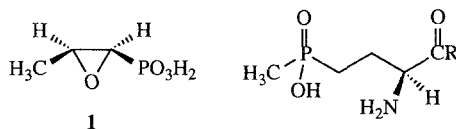
Labelled Representatives of a Possible Intermediate of Fosfomycin Biosynthesis in *Streptomyces fradiae*: Preparation of (*R,S*)-(2-Hydroxypropyl)-, (*R,S*)-, (*R*)- and (*S*)-(2-Hydroxy-[1,1-²H₂]propyl)- and (*R,S*)-(2-[¹⁸O]Hydroxypropyl)phosphonic Acid

Summary. Racemic methyl O-benzylactate was reduced to the alcohol, transformed into the bromide and reacted with triethylphosphite to give the diethylphosphonate. Removal of protecting groups afforded a phosphonic acid which was purified as its cyclohexylammonium salt. (*S*)-Ethyl and (*R*)-isobutyl O-benzylactate were reduced with LiAlD₄ to the corresponding dideuteriated alcohols, which were transformed in the same way as the racemic compound into the chiral (2-hydroxy-[1,1-²H₂]propyl)phosphonic acids. The optical purity of alcohols (*S*)- and (*R*)-**6b** was determined by derivatisation with (+)-*MTPA*-Cl and ¹H-NMR-spectroscopy to be 98%. Exchange of the carbonyl-16-oxygen atom of 2-oxopropylphosphonate for oxygen-18 from H₂¹⁸O, reduction with NaBH₄, deprotection and addition of cyclohexylamine yielded the salt (±)-**18** of (2-[¹⁸O]hydroxypropyl)phosphonic acid.

Keywords. (2-Hydroxypropyl)phosphonic acids; Deuterium-labelling of; ¹⁸O-labelling of; Chiral lactates.

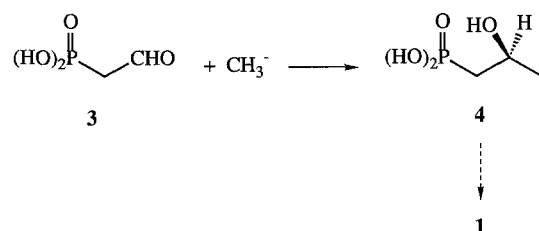
Einleitung

Fosfomycin ist ein klinisch verwendetes, von einigen *Streptomyceten*-Stämmen produziertes Antibiotikum der Struktur **1** [1]. Seine Wirkung beruht auf der Inhibierung der Zellwandbiosynthese von Bakterien durch Alkylierung einer SH-Gruppe



2a: R = OH
b: R = L-ala-L-ala

im aktiven Zentrum der Phosphoenolpyruvat: UDP-GlcNAc-enolpyruvyltransferase [2]. Es gehört zur kleinen Gruppe von Naturstoffen mit einer P-C-Bindung [3], so wie Phosphinothricin (**2 a**), welches ein Bestandteil des Tripeptids **2 b** ist [4]. Sowohl **2 a** als auch **2 b** werden als Herbizide eingesetzt. Fosfomycin wird aus einem P-C₂-Baustein, Phosphonoacetaldehyd (**3**), und einer Methylgruppe von *L*-Methionin, die formal als CH₃[−] übertragen wird – wahrscheinlich via methyliertes

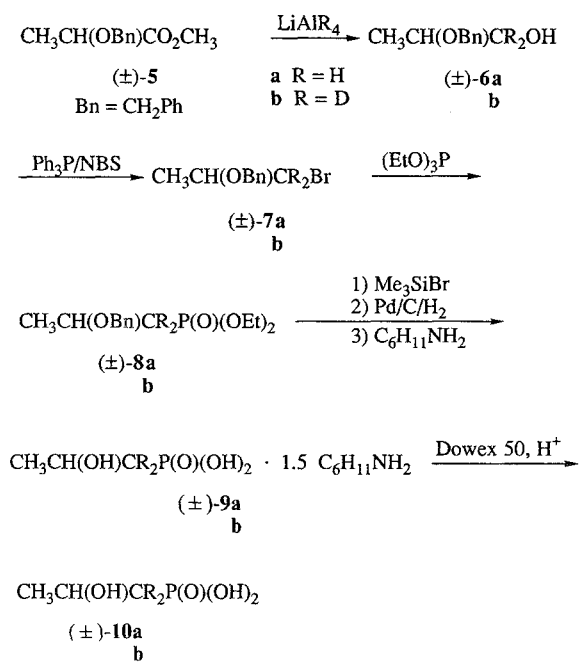


Corrin – aufgebaut [5]. Das Endprodukt dieser Methylierung wäre (2-Hydroxypropyl)phosphonsäure (**4**) mit vermutlich (*S*)-Konfiguration, die auf noch unbekannte Weise in Fosfomycin übergeführt wird. Das Oxiransauerstoff-Atom entstammt nicht dem Sauerstoff der Atmosphäre [6]. Um den Einbau von **4** in Fosfomycin in *Streptomyces fradiae* studieren zu können, sind markierte Vertreter von racemischem und chiralem **4** erforderlich.

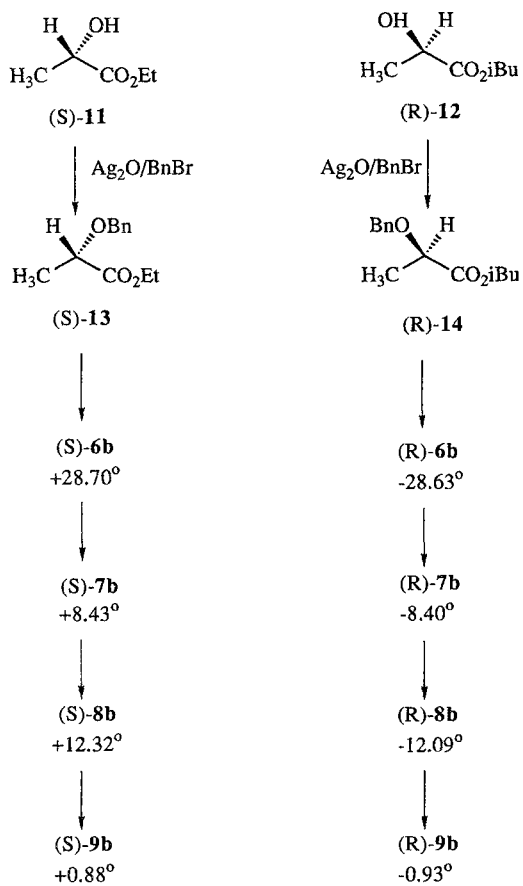
Ergebnisse und Diskussion

Darstellung der Cyclohexylammonium-Salze von nichtmarkierter und dideuterierter (2-Hydroxypropyl)phosphonsäure

Zur Optimierung der einzelnen Reaktionsschritte wurde zuerst die Synthese mit nichtmarkiertem, racemischem Material durchgeführt (Schema 1), ausgehend von Methyl-O-benzylactat ($\pm$)-(**5**), hergestellt durch Umsetzung von α -Brompropionsäure mit Natrium-Benzylalkoholat in Benzylalkohol [7] und Veresterung der erhaltenen Säure mit 2,2-Dimethoxypropan/*p*-Toluolsulfonsäure in Methanol. Die Reduktion der Estergruppe mit LiAlH₄ [8, 9] lieferte das geschützte 1,2-Propanediol ($\pm$)-**6 a**, dessen freie Hydroxylgruppe unter milden Bedingungen (−78 °C bis +35 °C) mit dem System Triphenylphosphin/*N*-Bromsuccinimid [10] in Dichlormethan in 95% Ausbeute gegen Brom ausgetauscht wurde. Damit stand eine gute Abgangsgruppe für die Arbusov-Reaktion mit Triethylphosphit zur Verfügung, bei der das Phosphonat ($\pm$)-**8 a** in 93% Ausbeute entstand. Die Abspaltung der beiden Ethylester-Gruppen erfolgte durch Dealkylierung mit überschüssigem Bromtrimethylsilan [11] bei 50 °C in Gegenwart von Allyltrimethylsilan als Fänger für Spuren freier HBr. Die Benzylgruppe wurde hydrogenolytisch an Palladium (10%)/Aktivkohle entfernt. Die freie (2-Hydroxypropyl)phosphonsäure wurde zur Reinigung mit Cyclohexylamin in das gut kristallisierende Salz ($\pm$)-**9 a** (Ausbeute für ($\pm$)-**8 a** → ($\pm$)-**9 a** 80% d.Th.) übergeführt. Die Elementaranalyse ergab für die Cyclohexylammonium-Salze ($\pm$)-**9 a** und ($\pm$)-**9 b** ein molares Verhältnis von Säure zu Amin von 1 : 1.5 (auf Grund der ¹H-NMR-Spektren sind für die Salze **9** Abweichungen von diesem Wert möglich). Die Freilegung der freien Phosphonsäuren **10** für biosynthetische Studien erfolgte mittels Dowex 50 W, H⁺. In gleicher Weise



Schema 1



Schema 2

wurde durch Reduktion des Esters ($\pm$)-**5** mit LiAlD_4 (99% D) und nachfolgende Umsetzungen wie für die nichtmarkierte Verbindung das Salz ($\pm$)-**9b** der an C-1 dideutierten, racemischen (2-Hydroxypropyl)phosphonsäure synthetisiert.

Zur Darstellung von (*R*)- und (*S*)-**9b** dienten die käuflichen chiralen Milchsäure-Derivate (*S*)-(-)-Ethyl- und (*R*)-(+)-Isobutylactat als Edukte (Schema 2).

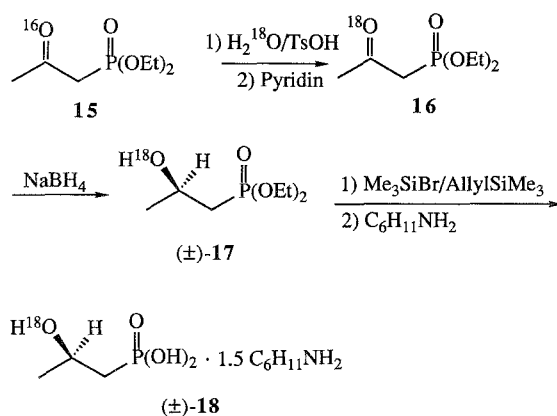
Die OH-Gruppe von (*S*)-**11** und (*R*)-**12** wurde mit Silberoxid/Benzylbromid [8, 9] in siedendem Ether zum bekannten O-Benzylactat (*S*)-**13** bzw. (*R*)-**14**, das erst jüngst [12] auf gleiche Weise hergestellt worden war, benzyliert. Die Reduktion mit LiAlD_4 (98% D) lieferte die enantiomeren Alkohole (*S*)- und (*R*)-**6b**, deren optische Reinheit durch Verestern mit (*S*)-(+)- α -Methoxy- α -(trifluormethyl)phenyllessigsäurechlorid (Mosher's Reagens) [13] und Analyse der ^1H -NMR-Spektren (250 MHz, C_6D_6) bestimmt wurde.

Das entsprechende Derivat von ($\pm$)-**6a** wies für die Methylgruppen des Propandiol-Teils der beiden diastereomeren Ester zwei Dubletts ($J = 6.4 \text{ Hz}$) bei $\delta = 0.94$ und 0.88 ppm mit einer Verschiebungsdifferenz von 16 Hz (0.064 ppm) auf. Im ^1H -NMR-Spektrum des Esters von (*S*)-**6b** ist das Dublett bei 0.94 ppm von sehr geringer Intensität, im Spektrum des Esters von (*R*)-**6b** das Dublett bei 0.88 ppm .

Der Enantiomerenüberschuß der beiden chiralen Alkohole (*S*)- und (*R*)-**6b** beträgt mindestens 98%. Die weitere Umfunktionalisierung war identisch mit der Umsetzung von **6a**. Da bei den nachfolgenden Reaktionsschritten die Stereochemie an C-2 nicht mehr geändert wurde, sollten die Endprodukte (*R*)- und (*S*)-**9b** ebenfalls eine optische Reinheit von mindestens 98% aufweisen. Die Drehwerte von Antipodenpaaren stimmen überein (siehe Schema 2).

*Darstellung des Cyclohexylammonium-Salzes von (*R, S*)-(2-[^{18}O]Hydroxypropyl)phosphonsäure*

Eine wichtige Frage bei der Biosynthese des Fosfomycins stellt die Herkunft des Oxiransauerstoff-Atoms dar. Es ist sehr wahrscheinlich, daß das Sauerstoffatom der OH-Gruppe an C-2 der (2-Hydroxypropyl)phosphonsäure zum Oxiransauerstoff-Atom wird. Dies läßt sich mit der entsprechenden ^{18}O -markierten Verbindung experimentell überprüfen. Das Carbonyl-Sauerstoffatom ^{16}O von (2-Oxopropyl)phosphonat **15** [20] wurde in *THF* mit H_2^{18}O (95% H_2^{18}O) unter Säurekatalyse bei Raumtemperatur gegen ^{18}O ausgetauscht [14]. Nach der Zugabe von Pyridin und wasserfreiem Ethanol wurde **16** mit NaBH_4 zum (2-[^{18}O]Hydroxypropyl)phosphonat ($\pm$)-**17** in 94% Ausbeute reduziert. Für Vergleichszwecke für die massenspektrometrische Bestimmung des ^{18}O -Gehalts wurde eine Probe von nicht-markiertem ($\pm$)-**17** nach dem gleichen Verfahren hergestellt, nur daß anstelle von markiertem Wasser nichtmarkiertes verwendet wurde. Sein ^1H -NMR- und IR-Spektrum sind praktisch identisch mit denen von ($\pm$)-**17**. Sein ^{18}O -Gehalt betrug 65% (MS). Austausch des Phosphoryl-Sauerstoffatoms ^{16}O gegen ^{18}O konnte nicht nachgewiesen werden. Die Entfernung der Ethyl-Schutzgruppen erfolgte mit Bromtrimethylsilan in Gegenwart von überschüssigem Allyltrimethylsilan, um die bei der Silylierung der OH-Gruppe des sekundären Alkohols frei werdende HBr unter Bildung von Propen und Bromtrimethylsilan abzufangen. Das Cyclohexylammonium-Salz ($\pm$)-**18** wurde in 98% Ausbeute isoliert. Das ^{13}C -NMR-Spektrum (100.6 MHz) von ($\pm$)-**18** weist für C-2 zwei, teilweise überlappende Dubletts



Schema 3

($J = 2.5$ Hz) mit einer Verschiebungsdifferenz von 2.5 Hz (0.025 ppm) auf, wobei das bei höherem Feld liegende Dublett durch einen durch Sauerstoff-18 induzierten Shift (α -Shift) zustande kommt [15].

Experimenteller Teil

DC: Fertigplatten (Fa. Merck), Kieselgel 60 F₂₅₄, Schichtdicke 0.25 mm. Die Markierung der Flecken erfolgte mittels UV-Licht, Besprühen mit einer 2% Cer(IV)-sulfat-Lösung in 2N H₂SO₄ und Erhitzen auf einer Heizplatte. Flash-Chromatographie [16]: Kieselgel 60 (Fa. Merck), Korngröße 0.04–0.063 mm. IR-Spektren: Perkin-Elmer 377. ¹H-NMR-Spektren: Bruker WM 250, AM 400 WB, interner Standard TMS; bei Verwendung von D₂O als Lösungsmittel wurde auf HDO (4.8 ppm) normiert. ¹³C-NMR-{¹H}-Spektren: Bruker AM 400 WB (100.614 MHz). Drehwerte: Polarimeter Perkin Elmer 141. Massenspektren: Varian MAT 311 A mit Datensystem Varian V 72. Schmelzpunkte: Kofler-Apparat (Thermometerablesung), nicht korrigiert. Das eingesetzte (*S*)-Ethyllactat (Schuchardt) und (*R*)-Isobutylactat (Fluka) waren Handelsprodukte. Das verwendete LiAlD₄ hatte einen Deuteriumgehalt von 98 oder 99%. (*S*)-(+)-MTPA-Cl (JPS-Chimie) hatte einen Drehwert von $[\alpha]_D^{20} = +135^\circ$ ($c = 5.2$, CCl₄), ee 99%.

(*R,S*)-Methyl-*O*-benzylactat (±)-(5)

(±)-*O*-Benzylmilchsäure [7] wurde in trockenem Methanol mit überschüssigem 2,2-Dimethoxypropan in Gegenwart katalytischer Mengen *p*-Toluolsulfonsäure-Hydrat durch Stehenlassen der Lösung bei Raumtemperatur für 18 h und nachfolgende Aufarbeitung in 95% Ausbeute durch Kugelrohrdestillation erhalten; Sdp. 60–80 °C/0.001 mm (Lit. [8] Sdp. 98.5–100 °C/1.5 mm).

(*S*)-(–)-Ethyl-*O*-benzylactat (*S*)-(13)

(*S*)-11 wurde nach [8, 9] benzyliert und zweimal fraktioniert destilliert. Die analytische Probe wurde durch Flash-Chromatographie (CH₂Cl₂/Hexan = 1 : 2, $R_f = 0.2$) von Verunreinigungen, unter anderem Dibenzylether, befreit und im Kugelrohr destilliert; Sdp. 70–80 °C/0.05 mm (Lit. [8] Sdp. 105.5–106 °C/1.5 mm), $\alpha_D^{20} = -75.62^\circ$ (in Substanz) {Lit. [18] $\alpha_D = +76.5^\circ$ (in Substanz) für (*R*)-Verbindung; Lit. [12] $[\alpha]_D^{21} = +75.84^\circ$ (in Substanz)}.

(*R*)-(+) -Isobutyl-*O*-benzylactat (*R*)-(14)

38.7 g (265 mmol, 39.9 ml) (*R*)-12, 78.5 g (459 mmol, 55.0 ml) Benzylbromid und 70.0 g frisch hergestelltes Silberoxid [18] wurden in Analogie zur Darstellung [8] des Methylesters umgesetzt. Das

Rohprodukt wurde zweimal über eine Spiegelkolonne fraktioniert destilliert; Ausbeute an (*R*)-**14**: 42.0 g (68% d.Th.); Sdp. 85–87 °C/0.001 mm (Lit. [12] Sdp. 125–130 °C/0.01 mm), verunreinigt mit 14 mol% Dibenzylether (¹H-NMR). Durch Flash-Chromatographie (CH₂Cl₂/Hexan = 1 : 2, *R_f* = 0.21) und Kugelrohrdestillation (Sdp. 90 °C/0.1 mm) wurde reines (*R*)-**14** erhalten; $\alpha_D^{20} = +73.51^\circ$ C (in Substanz) {Lit. [12] $[\alpha]_D^{21} = +66^\circ$ (in Substanz, korrigiert)}. IR (CH₂Cl₂): 3 055, 2 970, 1 745, 1 495, 1 470, 1 455, 1 202, 1 140 cm⁻¹. ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.32$ (m, 5 H, *Ph*), 4.58 (AB-System, *J* = 11 Hz, *PhCH*₂), 4.06 (q, *J* = 6.8 Hz, 1 H, CHO), 3.93 (AB-Teil eines ABX-Systems, *J_{A,B}* = 11 Hz, *J_{A,X}* = *J_{B,X}* = 6.5 Hz, CO₂CH₂), 1.96 (X-Teil des ABX-Systems, 1 H, CO₂-C-CH), 1.45 (d, *J* = 6.8 Hz, 3 H, CH₃), 0.94 (d, *J* = 7 Hz, 6 H, CMe₂) ppm. Analyse berechnet für C₁₄H₂₀O₃ (236.31): C 71.16, H 8.53; gef. C 71.17, H 8.66.

(*R,S*)-(2)-Benzyloxypropanol (±)-(6a)

Destilliertes (±)-**5** wurde mit LiAlH₄ analog zu [8] reduziert und im Kugelrohr destilliert (Sdp. 110–120 °C/1 mm); Ausbeute an (±)-**6a**: 90% d.Th.; die analytische Probe wurde durch Flash-Chromatographie (CH₂Cl₂/Ethylacetat = 10 : 1; *R_f* = 0.3) und Kugelrohrdestillation (Sdp. 90–100 °C/0.005 mm, Lit. [8] Sdp. 101–101.5 °C/1.5 mm) rein erhalten. IR (CH₂Cl₂): 3 580, 3 470, 3 050, 3 030, 2 970, 2 875, 1 495, 1 354, 1 146, 1 085, 1 043 cm⁻¹. ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.35$ (m, 5 H, *Ph*), 4.59 (AB-System, *J_{A,B}* = 11.5 Hz, *PhCH*₂), 3.68 (m, 1 H, CHO), 3.58 (AB-System, das mit H-2 koppelt, *J_{A,B}* = 11.5 Hz, *J* = 7 Hz, 3.5 Hz, CH₂O), 2.14 (br s, 1 H, OH), 1.18 (d, *J* = 6 Hz, 3 H, CH₃) ppm. EIMS (70 eV) *m/z* (%): 166 (4, *M*⁺), 148 (2, *M*⁺-H₂O), 135 (9, *M*⁺-CH₂OH), 91 (100).

(*R,S*)-(2)-Benzyloxy-[1,1-²H₂]propanol (±)-(6b)

Aus 18.0 g (93.16 mmol) destilliertem (±)-**5** und 3.0 g LiAlD₄ (99% D, 71.4 mmol) wurden nach [8] in trockenem THF und Kugelrohrdestillation (80 °C/0.001 mm; Lit. [8] Sdp. 88–89 °C/0.8 mm) 15.3 g (98% d.Th.) (±)-**6b** erhalten. Durch Flash-Chromatographie (CH₂Cl₂; *R_f* = 0.22) und abermalige Kugelrohrdestillation wurde analysenreines (±)-**6b** erhalten: IR (CH₂Cl₂): 3 590, 3 490, 3 060, 2 980, 2 880, 2 215, 2 100, 1 500, 1 455, 1 377, 1 110, 1 092, 1 052 cm⁻¹. ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.34$ (m, 5 H, *Ph*), 4.58 (AB-System, *J* = 11.5 Hz, *PhCH*₂), 3.66 (q, *J* = 6.2 Hz, 1 H, CHO), 2.24 (br s, 1 H, OH), 1.18 (d, *J* = 6.2 Hz, 3 H, CH₃) ppm. EIMS (70 eV) *m/z* (%): 168 (11, *M*⁺), 150 (6, *M*⁺-H₂O), 135 (24, *M*⁺-CD₂OH), 91 (100); d₂ ≥ 99%.

(*S*)-(+) -Benzyloxy-[1,1-²H₂]propanol (*S*)-(6b)

25.0 g (120 mmol) destilliertes (*S*)-**13** wurde in trockenem Ether mit 4.0 g LiAlD₄ (98% D, 95 mmol) analog zu (±)-**5** reduziert, aufgearbeitet und im Kugelrohr destilliert (Sdp. 90 °C/0.1 mm); Ausbeute: 17.3 g (86% d.Th.) (*S*)-**6b**; $\alpha_D^{20} = +28.70^\circ$ (in Substanz) [Lit. [8] $\alpha_D^{28} = +28.6^\circ$ (in Substanz)]; ee ≥ 98%. Das IR-, ¹H-NMR- und EIMS-Spektrum sind identisch mit den Spektren von (±)-**6b**.

(*R*)-(–)-2-Benzyloxy-[1,1-²H₂]propanol (*R*)-(6b)

Aus 22.0 g (93.1 mmol) destilliertem (*R*)-**14** und 3.2 g LiAlD₄ (98% D, 76.2 mmol) wurden analog zu (±)-**6b** 14.3 g (91% d.Th.) (*R*)-**6b** hergestellt; $\alpha_D^{20} = -28.63^\circ$ (in Substanz). Das IR-, ¹H-NMR- und EIMS-Spektrum sind identisch mit den Spektren von (±)-**6b**.

Darstellung der MTPA-Ester von (±)-, (*R*)- und (*S*)-(6b)

Eine Lösung von ca. 50 mg Alkohol in 2 ml trockenem Pyridin wurde mit 1 ml einer Lösung von (+)-MTPA-Cl in CH₂Cl₂ (1.0 g (+)-MTPA-Cl wurde mit trockenem CH₂Cl₂ auf 5 ml aufgefüllt)

versetzt und 18 h bei Raumtemperatur stehen gelassen. Flüchtige Anteile wurden im Vakuum (0.001 mm/bis 40 °C) entfernt. Der Rückstand wurde mit CH₂Cl₂ und Wasser versetzt und wie üblich aufgearbeitet. Das Rohprodukt wurde durch Filtration durch 15 g Kieselgel (CH₂Cl₂/Hexan = 1 : 2 *R_f* = 0.3 für alle Derivate) von polaren Verunreinigungen befreit. ¹H-NMR (250 MHz, C₆D₆): Die Methylgruppen des 2-Benzylxypropanol-Restes der diastereomeren Ester liegen bei δ = 0.94 und 0.88 (je ein d, *J* = 6.4 Hz). Das Dublett bei höherem Feld ist dem *MTPA*-Ester von (*R*)-**6b** zuzuordnen, das bei tieferem Feld dem von (*S*)-**6b**. Die diastereomeren Ester sind jeweils nur in Spuren feststellbar. Der ee-Wert für (*S*)- und (*R*)-**6a** beträgt somit mindestens 98%.

(*R,S*)-2-Benzylxy-1-brompropan (±)-(7a)

Eine Lösung von 3.77 g (14.36 mmol) Triphenylphosphin in 25 ml trockenem CH₂Cl₂ wurde in 10 min zu einer gerührten Mischung von 2.56 g (14.36 mmol) *NBS* in 25 ml trockenem CH₂Cl₂ bei –78 °C im Dunkeln unter Argon zugetropft. Nach 10 min hatte sich das *NBS* aufgelöst und es wurde eine Lösung von 1.94 g (11.67 mmol) (±)-**6a** (chromatographiert und im Kugelrohr destilliert) in 30 ml trockenem CH₂Cl₂ tropfenweise zugefügt. Anschließend wurde 1 h bei Raumtemperatur und 45 min bei 35 °C (Badtemperatur) gerührt. 2 ml trockenes Methanol und 30 ml Toluol wurden zugesetzt. Nach dem Entfernen der Lösungsmittel im Vakuum wurde der Rückstand durch Flash-Chromatographie (CH₂Cl₂/Hexan = 1 : 1; *R_f* = 0.7) und Kugelrohrdestillation (Sdp. 70–75 °C/0.001 mm; Lit. [19] Sdp. 124–125 °C/8 mm) gereinigt; Ausbeute an (±)-**7a** 2.547 g (95% d.Th.), farblose Flüssigkeit. IR (CH₂Cl₂): 3030, 2975, 2865, 1495, 1453, 1377, 1235, 1090, 1070 cm^{–1}; ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ = 7.35 (m, 5 H, *Ph*), 4.9 (s, 2 H, *PhCH*₂), 3.75 (X-Teil eines ABX-Systems, CHO), 3.43 (AB-Teil des ABX-Systems, *J*_{AB} = 10.5 Hz, *J* = 5.7 Hz, 4.9 Hz, CH₂Br), 1.32 (d, *J* = 6.2 Hz, 3 H, CH₃) ppm. EIMS (70 eV) *m/z* (%): 230 und 228 (0.78 und 0.92, *M*⁺), 135 (12, *M*⁺–CH₂Br), 91 (100). Analyse berechnet für C₁₀H₁₃BrO (229.12): C 52.42, H 5.72, Br 34.88; gef. C 51.96, H 5.60, Br 34.81.

(*R,S*)-2-Benzylxy-1-brom-[1,1-²H₂]propan (±)-(7b)

Aus 2.1 g (12.48 mmol) (±)-**6b** wurden in Analogie zu (±)-**7a** 2.3 g (80% d.Th.) (±)-**7b** erhalten; Sdp. 75–80 °C/0.05 mm. IR (CH₂Cl₂): 3030, 2980, 2870, 1496, 1453, 1377, 1322, 1152, 1100, 1058 cm^{–1}. ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ = 7.35 (m, 5 H, *Ph*), 4.59 (s, 2 H, *PhCH*₂), 3.75 (br q, *J* = 6.2 Hz, 1 H, CHO), 1.33 (d, *J* = 6.2 Hz, 3 H, CH₃) ppm. EIMS (70 eV) *m/z* (%): 232 und 230 (0.68 und 0.71, *M*⁺), 135 (13, *M*⁺–CD₂Br), 91 (100). Analyse berechnet für C₁₀H₁₁D₂BrO (231.13): C 51.97, H 4.80, D 1.74; gef. C 51.82, H 4.81, D 1.75.

(*S*)-(+) - und (*R*)-(–)-2-Benzylxy-1-brom-[1,1-²H₂]propan [(*S*)- und (*R*)-**7b**]

(*S*)- und (*R*)-**6b** wurden analog zu (±)-**7a** in jeweils 98% Ausbeute in (*S*)- bzw. (*R*)-**7b** übergeführt. Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen von (±)-**7b** überein. (*S*)-**7b**: [α]_D²⁰ = +8.43° (*c* = 3 in CH₂Cl₂). (*R*)-**7b**: [α]_D²⁰ = –8.40° (*c* = 2.87 in CH₂Cl₂).

(*R,S*)-Diethyl-(2-benzylxypropyl)phosphonat (±)-(8a)

2.175 g (9.49 mmol) (±)-**7a** und 3.8 ml destilliertes Triethylphosphit wurden 4.5 h in einem Rundkolben, versehen mit einem Luftkühler, im Ölbad (165 °C) unter Rühren erhitzt. Der Luftkühler wurde alle 30 min für wenige Sekunden entfernt, um das entstandene Bromethan entweichen zu lassen. Nach dem Abkühlen wurde (±)-**8a** durch Kugelrohrdestillation (Sdp. 125–130 °C/0.01 mm) als farblose, ölige Flüssigkeit (2.53 g, 93% d.Th.) erhalten. IR (CH₂Cl₂): 3030, 2980, 1453, 1392, 1235, 1055, 1028, 963 cm^{–1}. ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ = 7.31 (m, 5 H, *Ph*), 4.51 (AB-System, *J* = 11.5 Hz, *PhCH*₂), 4.06 (m, 4 H, 2 × POCH₂), 3.95 (m, 1 H, OCH), 2.23 (ddd, *J* = 9.5 Hz, 7.5 Hz, 3 Hz, 1 H, PCH), 1.92 (ddd, *J* = 9 Hz, 7.5 Hz, 3.5 Hz, 1 H, PCH), 1.35 (dd, *J* = 6.2 Hz, 1 Hz, 3 H, CH₃),

1.30 und 1.27 (zwei t, $J=7.5$ Hz, je 3 H, $2 \times \text{POCCH}_3$) ppm. EIMS (70 eV) m/z (%): 241 (1, $M^+-\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$), 180 (67, $M^+-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}$), 138 (100), 111 (51), 91 (90). Analyse berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{O}_4\text{P}$ (286.31): P 10.82; gef. P 10.93.

(R,S)-Diethyl-(2-benzyloxy-[1,1- $^2\text{H}_2$]propyl)phosphonat ($\pm$)-(8b)

2.0 g (8.65 mmol) ($\pm$)-7b wurden in Analogie zur Darstellung von ($\pm$)-8a umgesetzt. Nach dem Entfernen flüchtiger Anteile im Vakuum (1 mm/bis 70 °C) wurde das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Ethylacetat}=5:1$, $R_f=0.29$) und Kugelrohrdestillation (Sdp. 115–120 °C/0.001 mm) gereinigt; Ausbeute 2.3 g (92% d.Th.) ($\pm$)-8b. IR (CH_2Cl_2): 3045, 2981, 1455, 1392, 1237, 1052, 1026, 965 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): $\delta=7.32$ (m, 5 H, Ph), 4.54 (AB-System, $J=11.5$ Hz, PhCH_2), 4.06 (m, 4 H, $2 \times \text{POCH}_2$), 3.93 (dq, $J=9$ Hz, 6.2 Hz, 1 H, OCH), 1.35 (dd, $J=6.2$ Hz, 1 Hz, 3 H, CH_3), 1.30 und 1.27 (zwei t, $J=7.5$ Hz, je 3 H, $2 \times \text{POCCH}_3$) ppm. EIMS (70 eV) m/z (%): 243 (1, $M^+-\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$), 182 (70, $M^+-\text{C}_7\text{H}_6\text{O}$), 138 (100), 111 (52), 91 (91); $d_2 \geq 98\%$. Analyse berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{D}_2\text{O}_4\text{P}$ (288.32): P 10.74; gef. P 10.83.

(S)-(+)- und *(R)*-(-)-Diethyl-(2-benzyloxy-[1,1- $^2\text{H}_2$]propyl)phosphonat [(S)- und (R)-8b]

(S)- und (R)-7b wurden analog zur Darstellung von ($\pm$)-8b zu (S)-8b (91% d.Th.) bzw. (R)-8b (94% d.Th.) umgesetzt. (S)-8b: $[\alpha]_{\text{D}}^{20}=+12.32^\circ$ ($c=2.8$ in CH_2Cl_2); d_2 98% (MS). (R)-8b: $[\alpha]_{\text{D}}^{20}=-12.09^\circ$ ($c=2.3$ in CH_2Cl_2); $d_2 \geq 98\%$. Die spektroskopischen Daten von (S)-8b und (R)-8b sind identisch mit denen von ($\pm$)-8b.

(R,S)-(2-Hydroxypropyl)phosphonsäure · 1.5 Cyclohexylamin ($\pm$)-(9a)

Eine Lösung von 2.1 g (7.33 mmol) ($\pm$)-8a, 4.49 g (29.34 mmol, 3.8 ml) Bromtrimethylsilan und 0.5 ml Allyltrimethylsilan in 20 ml trockenem CCl_4 wurde 2.5 h bei 50 °C unter Feuchtigkeitsausschluß gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden flüchtige Anteile im Vakuum (0.1 mm/bis 40 °C) entfernt. Der Rückstand wurde mit einer Mischung aus Wasser/Ethanol = 1 : 1 versetzt, am Rotationsverdampfer eingeeengt, mit Wasser versetzt und abermals eingeeengt. Der ölige Rückstand wurde in 75 ml trockenem Ethanol an 300 mg Pd (10%)/Aktivkohle 2 h bei 3.4 bar in einer Parr-Apparatur hydrogenolysiert. Der Katalysator wurde abfiltriert. Das eingeeengte Filtrat wurde in wenig Ethanol mit 2.182 g (22 mmol, 2.5 ml) Cyclohexylamin versetzt. Nach dem Einengen wurde der kristalline Rückstand 2 h bei 45 °C/0.005 mm getrocknet. Die Kristalle wurden in der Siedehitze in Ethanol gelöst, durch Zugabe von Ether ausgefällt und 2 h bei 60 °C/0.005 mm getrocknet; Ausbeute an ($\pm$)-9b 1.7 g (80% d.Th.); Schmp. 170–175 °C. IR (Nujol): Breite Bande von 3600–2300, 2220, 1630, 1556, 1140, 1124, 1040 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, D_2O): $\delta=4.05$ (sept, $J=6.6$ Hz, 1 H, PCCH), 3.10 (m, 1.5 H, $1.5 \times \text{NCH}$), 2.05–1.10 (m, 17 H, Cyclohexyl H, PCH_2), 1.2 (dd, $J=6$ Hz, 0.8 Hz, 3 H, CH_3) ppm. Analyse berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{28.5}\text{N}_{1.5}\text{O}_4\text{P}$ (288.84): C 49.90, H 9.95, N 7.24; gef. C 49.57, H 10.06, N 7.36.

(R,S)-(2-Hydroxy-[1,1- $^2\text{H}_2$]propyl)phosphonsäure · 1.5 Cyclohexylamin ($\pm$)-(9b)

Aus 2.1 g (7.28 mmol) ($\pm$)-8b wurden in Analogie zur Darstellung von ($\pm$)-9a 1.85 g (87% d.Th.) ($\pm$)-9b erhalten; Schmelzbereich 170–180 °C. IR (Nujol): Breite Bande von 3600–2300, 2200, 1630, 1555, 1140, 1126, 1040 , 1020 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, D_2O): $\delta=4.05$ (pseudoquint, $J=6.5$ Hz, 1 H, PCCH), 3.09 (m, 1.5 H, $1.5 \times \text{NCH}$), 2.01–1.03 (m, 15 H, Cyclohexyl H), 1.19 (dd, $J=6.5$ Hz, 0.8 Hz, 3 H, CH_3) ppm. Analyse berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{26.5}\text{D}_2\text{N}_{1.5}\text{O}_4\text{P}$ (290.85): C 49.55, H 9.18, D 1.38, N 7.22; gef. C 49.06, H 9.34, D 1.41, N 7.19.

(*S*)-(+)- und (*R*)-(–)-(2-Hydroxy-[1,1-²H₂]propyryl)phosphonsäure · 1.5 Cyclohexylamin [(*S*)- und (*R*)-(**9b**)]

(*S*)- und (*R*)-**8b** wurden in Analogie zur Darstellung von (±)-**9a** in (*S*)-**9b** (84% d.Th.) bzw. (*R*)-**9b** (88% d.Th.) übergeführt. (*S*)-**9b**: Schmelzbereich 175–189 °C; enthält 4% Verunreinigung (³¹P-NMR); $[\alpha]_D^{20} = +0.88^\circ$ ($c = 2.17$ in H₂O). (*R*)-**9b**: Schmelzbereich 175–182 °C; $[\alpha]_D^{20} = -0.93^\circ$ ($c = 2.16$ in H₂O). Die ¹H-NMR-Spektren von (*S*)- und (*R*)-**9b** sind identisch mit dem von (±)-**9b**. Die IR-Spektren (Nujol) von (*S*)- und (*R*)-**9b** sind identisch und unterscheiden sich praktisch nicht von dem von (±)-**9b**.

(*R,S*)-Diethyl-(2-[¹⁸O]hydroxypropyl)phosphonat (±)-(**17**)

Zu einer Lösung von 0.7 ml H₂¹⁸O (95% H₂¹⁸O) und 95 mg *p*-Toluolsulfonsäure-Monohydrat in 7 ml trockenem THF (von Kalium/Benzophenon destilliert) wurden 1.94 g (10 mmol) Diethyl-(2-oxopropyl)phosphonat (**15**) [20] zugespritzt und 20 min bei Raumtemperatur unter Feuchtigkeitsausschluß gerührt. Nach der Zugabe von 2 Tropfen trockenem Pyridin und 7 ml trockenem Ethanol wurde die Lösung auf –30 °C (Badtemperatur) abgekühlt und mit 200 mg (5.3 mmol) NaBH₄ versetzt und 10 min bei –30 °C und 45 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 10 ml Wasser und festes CO₂ zugegeben, bis die Lösung neutral reagierte. Es wurde auf ca. ¼ des Volumens eingeeengt und das Produkt 2 h kontinuierlich mit Ether extrahiert. Durch Flash-Chromatographie, wobei zuerst mit CH₂Cl₂/Ethylacetat = 1 : 1 eine Verunreinigung mit $R_f = 0.7$ [(±)-**17**: $R_f = 0.15$] und anschließend mit Ethylacetat das Produkt eluiert wurde, und durch Kugelrohrdestillation (Sdp. 80 °C/0.005 mm) wurde (±)-**17** als farblose Flüssigkeit (1.84 g, 94% d.Th.) erhalten. IR (CH₂Cl₂): 3 590, 3 460, 2 980, 1 391, 1 224, 1 054, 1 024, 965 cm^{–1} (praktisch identisch mit dem Spektrum der nichtmarkierten Verbindung). ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): $\delta = 4.22 - 3.98$ (m, 5 H, 2 × POCH₂ und PCCH), 3.36 (br s, 1 H, OH), 1.88 (m, 2 H, PCH₂), 1.283 und 1.280 (zwei t, $J = 7$ Hz, je 3 H, 2 × POCCH₃), 1.23 (dd, $J = 6.3$ Hz, 2.3 Hz, 3 H, PCCCH₃) ppm; identisch mit nichtmarkierter Verbindung. EIMS (70 eV) m/z (%): 183 [30, $M(^{18}\text{O})^+ - \text{CH}_3$], 181 [16, $M(^{16}\text{O})^+ - \text{CH}_3$], 154 (1), 152 (59), 127 (51), 125 (100), 123 (29); Sauerstoff-18-Gehalt: 65%.

Die nichtmarkierte Probe wurde auf gleiche Weise wie (±)-**17** hergestellt, nur daß nichtmarkiertes Wasser verwendet wurde, Ausbeute: 89% d.Th. EIMS (70 eV) m/z (%): 181 (34, M^+), 154 (1), 152 (49), 125 (100), 123 (27).

(*R,S*)-(2-[¹⁸O]Hydroxypropyl)phosphonsäure · 1.5 Cyclohexylamin (±)-(**18**)

1.23 g (6.27 mmol) (±)-**17**, 3.84 g (25.08 mmol, 3.3 ml) Bromtrimethylsilan und 1.14 g (10 mmol, 1.6 ml) Allyltrimethylsilan in 10 ml trockenem CCl₄ wurden 2.5 h bei 50 °C analog zur Darstellung von (±)-**9a** umgesetzt, wobei der Hydrogenolyseschnitt entfiel; Ausbeute: 1.79 g (98% d.Th.) (±)-**18**; Schmelzbereich 175–183 °C. Das IR- und ¹H-NMR-Spektrum sind identisch mit denen von (±)-**9a**. ¹³C-NMR (100.6 MHz, D₂O, ¹H breitbandentkoppelt): 69.4753, 69.4487 und 69.4244 (Linien der zwei überlappenden Dubletts von C-2, $J = 2.5$ Hz, Signalhöhe von nichtmarkierter zu markierter Verbindung 14 : 31), 54.87 (s, C-N), 42.44 (d, $J = 42.7$ Hz, C-1), 34.86, 28.80 und 28.30 (dreis, Cyclohexyl-C), 27.70 (d, $J = 11$ Hz, C-3) ppm.

Dank

F. H. dankt Herrn Prof. E. Zbiral für seine Unterstützung, dem Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung für Mittel im Rahmen der Projekte Nr. P7183-CHE, 6537C und 4009. Herrn Mag. H. Kählig wird für die Aufnahme von NMR-Spektren, Herrn H. Bieler für die Aufnahme von EIMS-Spektren und Herrn S. Frenczko für die Durchführung der Elementaranalysen gedankt.

Literatur

- [1] Hendlin D., Stapley E. O., Jackson M., Wallick H., Miller A. K., Wolf F. J., Miller T. W., Chaiet L., Kahan F. M., Foltz E. L., Woodruff H. B., Mata J. M., Hernandez S., Mochales S. (1969) *Science* **166**: 122; Christensen B. G., Leanza W. J., Beattie T. R., Patchett A. A., Arison B. H., Ormond R. E., Kuehl Jr. F. A., Albers-Schonberg G., Jardetzky O. (1969) *Science* **166**: 123
- [2] Kahan F. M., Kahan J. S., Cassidy P. J., Kropp H. (1974) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **235**: 364
- [3] Hori T., Horiguchi M., Hayashi A. (1984) *Biochemistry of Natural C-P Compounds*. Maruzen, Kyoto; Hilderbrand R. L. (1983) *The Role of Phosphonates in Living Systems*. CRC Press, Boca Raton, Florida
- [4] Bayer E., Gugel K. H., Hägele K., Hagenmaier H., Jessipow S., König W. A., Zähler H. (1972) *Helv. Chim. Acta* **55**: 224; Kondo Y., Shomura T., Ogawa Y., Tsuruoka T., Watanabe H., Totsukawa K., Suzuki T., Moriyama C., Yoshida J., Inouye S., Niida T. (1973) *Sci. Reports of Meiji Seika Kaisha* **13**: 34
- [5] Hammerschmidt F., Kählig H. (im Druck) *J. Org. Chem.*
- [6] Hammerschmidt F., Bovermann G., Bayer K. (1990) *Liebigs Ann. Chem.*: 1055
- [7] Feldmann L., Fischer H. O. L. (1947) *Arch. Biochem.* **14**: 117
- [8] Mislow K., O'Brien R. E., Schaefer H. (1962) *J. Am. Chem. Soc.* **84**: 1940
- [9] Abbott S. J., Jones S. R., Weinman S. A., Bockhoff F. M., McLafferty F. W., Knowles J. R. (1979) *J. Am. Chem. Soc.* **101**: 4323
- [10] Bose A. K., Lal B. (1973) *Tetrahedron Lett.*: 3937
- [11] Schmidt A. H. (1981) *Aldrichim. Acta* **14**: 31
- [12] Hoppe D., Tarara G., Wilckens M. (1989) *Synthesis*: 83; der für (*R*)-(+) -Isobutyl-O-benzylactat angegebene Drehwert $[\alpha]_{\text{D}}^{21}$ sollte α_{D}^{21} sein (persönliche Mitteilung von Prof. D. Hoppe)
- [13] Dale J. A., Dull D. L., Mosher H. S. (1969) *J. Org. Chem.* **34**: 2543
- [14] Byrn M., Calvin M. (1966) *J. Am. Chem. Soc.* **88**: 1916
- [15] Vederas J. C. (1987) *Nat. Prod. Rep.* **4**: 277
- [16] Still W. C., Kahn M., Mitra A. (1978) *J. Org. Chem.* **43**: 2923
- [17] Hanessian S., Kloss J. (1985) *Tetrahedron Lett.* **26**: 1261
- [18] Helferich B., Klein W. (1926) *Liebigs Ann. Chem.* **450**: 219
- [19] Laboratoire Analyses et de Recherches Biologiques Mauvernay, Centre Europeen de Recherches Mauvernay (C.E.R.M.), Belg. Pat. 666,985, Nov. 16, 1965; *Chem. Abstr.* (1966) **65**: P 7192c
- [20] Jacobson H. I., Griffin M. J., Preis S., Jensen E. V. (1957) *J. Am. Chem. Soc.* **79**: 2608

Eingegangen 20. September 1990. Angenommen 11. Oktober 1990