

Albomycine, III¹⁾

Synthese von *N*⁵-Acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithin aus L-Glutaminsäure

Günter Benz

Forschungslaboratorien der Bayer AG,
Postfach 10 17 09, D-5600 Wuppertal 1

Eingegangen am 9. Dezember 1983

Die Hydroxamsäure *N*⁵-Acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithin (**2a**) besitzt entscheidende Bedeutung für die biologische Wirkung der Siderochrome. Die preiswerte L-Glutaminsäure (**3**) kann nach Schutz der α -Aminosäuregruppierung selektiv an der γ -Carbonsäurefunktion derivatisiert werden. Ein orthogonales Schutzgruppenmuster ist Voraussetzung für selektive Spaltungen zu partial geschützten Aminosäuren und zur Hydroxamsäure **2a**.

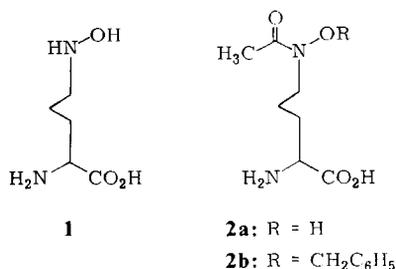
Albomycins, III¹⁾. – Synthesis of *N*⁵-Acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithine from L-Glutamic Acid

The hydroxamic acid *N*⁵-acetyl-*N*⁵-hydroxy-L-ornithine (**2a**) is of crucial importance for the biological activity of the siderochromes. L-Glutamic acid (**3**), a cheap and readily available starting material, can be modified selectively at the γ -carboxylic acid function after protection of the α -amino acid group. An orthogonal protecting group pattern is the precondition for selective cleavages to partially protected amino acids and to the hydroxamic acid **2a**.

Eisen spielt bei vielen Stoffwechselfvorgängen eine zentrale Rolle. Während der Evolution von einer anaeroben zu einer aeroben Atmosphäre wuchs der Bedarf an eisenkomplexierenden Substanzen, da Fe^{III} in wäßrigem Milieu nahezu unlöslich ist [$\text{Fe}(\text{OH})_3$; $K_{\text{So}} = 10^{-36}$]²⁾. Diese werden als Sekundärmetaboliten von Pilzen und Bakterien produziert und können als niedermolekulare nichtporphyrin- und nicht-proteinhaltige Substanzen selektiv Fe^{III} komplexieren. Eine besondere Rolle spielen dabei Hydroxamsäuren, die aufgrund ihrer rotbraunen Färbung (UV: 420–440 nm) Siderochrome genannt werden. Sie ermöglichen rezeptorabhängig den Eisentransport in die Zellen und können aufgrund ihrer biologischen Wirkung in Wachstumsförderer (Sideramine) und Antibiotika (Sideromycine) eingeteilt werden.

Eine umfassende Übersicht über natürlich vorkommende Hydroxamsäuren ist publiziert³⁾. Eine wichtige Stellung nehmen darin die Hydroxamsäurederivate ein, die von *N*⁵-Hydroxy-ornithin (**1**) abgeleitet werden können³⁾: Rhodotorulinsäure⁴⁾, Fusariningruppe^{3,5,6)}, Ferrichromgruppe^{3,7,8)} und Albomycine^{3,9,10)}. Die Synthese des Schlüsselbausteins **1** und seiner Derivate ist von verschiedenen Autoren beschrieben worden. Allerdings geht nur eine Synthese von optisch aktivem Material (L-Ornithin) aus¹¹⁾.

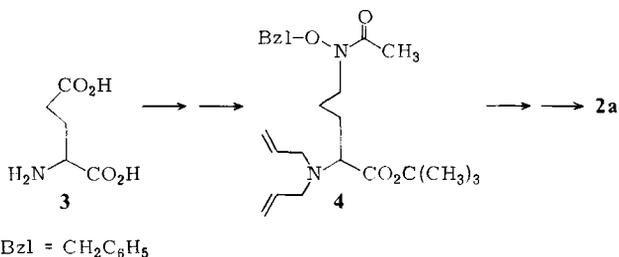
Eine kanadische Arbeitsgruppe hat auf Probleme, insbesondere Ringschlüsse bei unvorteilhafter Substitution und Reaktionsführung hingewiesen¹²⁾. Neiland und Mitarbeiter¹³⁾ überführten das (3-Brompropyl)hydantoin in die Nitroverbindung, die nach Reduktion und Säurespaltung



in schlechter Ausbeute **1** ergab. – Die Alkylierung von *O*-Benzyl-*N*-tosylhydroxylamin mit 1,3-Dibrompropan, Kondensation mit Diethyl(acetamidomalonat) ergab nach mehreren Abbaustufen inklusive einer enzymatischen Racematspaltung enantiomerenreines **1** als HBr-Salz¹⁴⁾ (in Lit.¹⁴⁾ keine Ausbeuteangabe). – Methyl(2-acetamido-5-iodvalerat) wurde mit dem Thalliumsalz des *anti*-Benzaldoxims umgesetzt; die Hydrolyse des Zwischenprodukts ergab in mittleren Ausbeuten racemisches **1**¹⁵⁾. – Die partielle Reduktion von Methyl(2-acetamido-5-nitrovalerat) mit nachfolgender Hydrolyse führt ebenfalls zum Ziel¹⁶⁾. – Die *O*-benzylgeschützte Hydroxamsäure **2b** konnte durch Umsetzung von Diethyl[(3-brompropyl)(acetamido)malonat] mit *O*-Benzylhydroxylamin über mehrere Stufen, wobei als letzte eine enzymatische Racematspaltung durchgeführt wurde, erhalten werden¹⁷⁾. – Eleganter erscheint die Synthese von Keller-Schierlein¹¹⁾, der ausgehend von partiell geschütztem L-Ornithin über die Oxidation eines *N*⁵-Benzylidenderivates und Hydrolyse des Oxaziridins über mehrere Stufen enantiomerenreines **1** erhielt (als 2-Nitroindandion-Salz).

Alle hier zitierten Synthesen von **2a** eignen sich wenig für die Darstellung komplexer Naturstoffe, da die Gesamtausbeuten gering sind und die verwendeten Schutzgruppen nicht selektiv und unter milden Bedingungen entfernt werden können¹⁸⁾. Für unsere Synthese wurde als Ausgangssubstanz mit der richtigen Stereochemie und dem richtigen Kohlenstoffgerüst die preiswerte L-Glutaminsäure (**3**) gewählt.

Die Forderung einer orthogonalen Schutzgruppenkombination*) und die einer tertiären Substitution der α -Aminogruppe, um die Bildung von Pyroglutaminsäurederivaten zu verhindern, führte zur Synthese des totalgeschützten Ornithinderivates **4**.

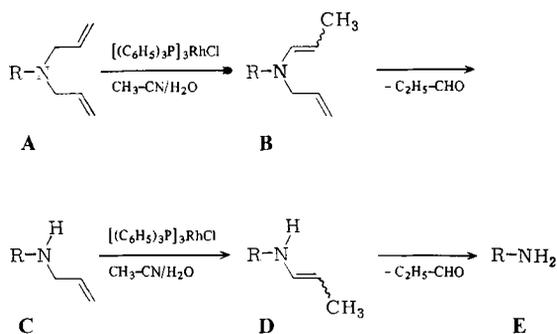


Die tert-Butylestergruppe von **4** wird mit Trifluoressigsäure und die Benzylgruppe wahlweise hydrogenolytisch oder mit Na/NH₃ gespalten.

*) Eine orthogonale Schutzgruppenkombination wird als ein Satz völlig unabhängiger Klassen von Schutzgruppen definiert. Darin kann jede Klasse von Schutzgruppen in beliebiger Reihenfolge und in Anwesenheit aller anderen Klassen entfernt werden¹⁹⁾.

Die *N,N*-Diallylschutzgruppe^{20,21)} ist säure- und basestabil und kann nicht durch Nucleophile angegriffen werden. Ihre Abspaltung verläuft über eine stufenweise Isomerisierung der Allylgruppen in **A** und **C** zu den entsprechenden Enaminen **B** und **D** mit Tris(triphenylphosphan)rhodiumchlorid (Wilkinson-Katalysator, Schema 1). In Acetonitril/Wasser werden die Enamine **B** und **D** schnell zu den Aminen **C** und **E** hydrolysiert. Ein kräftiger Inertgasstrom (z.B. Stickstoff) während dieser Deblockierungsstufen ist notwendig, um den entstehenden Propionaldehyd zu entfernen (Katalysatorgift).

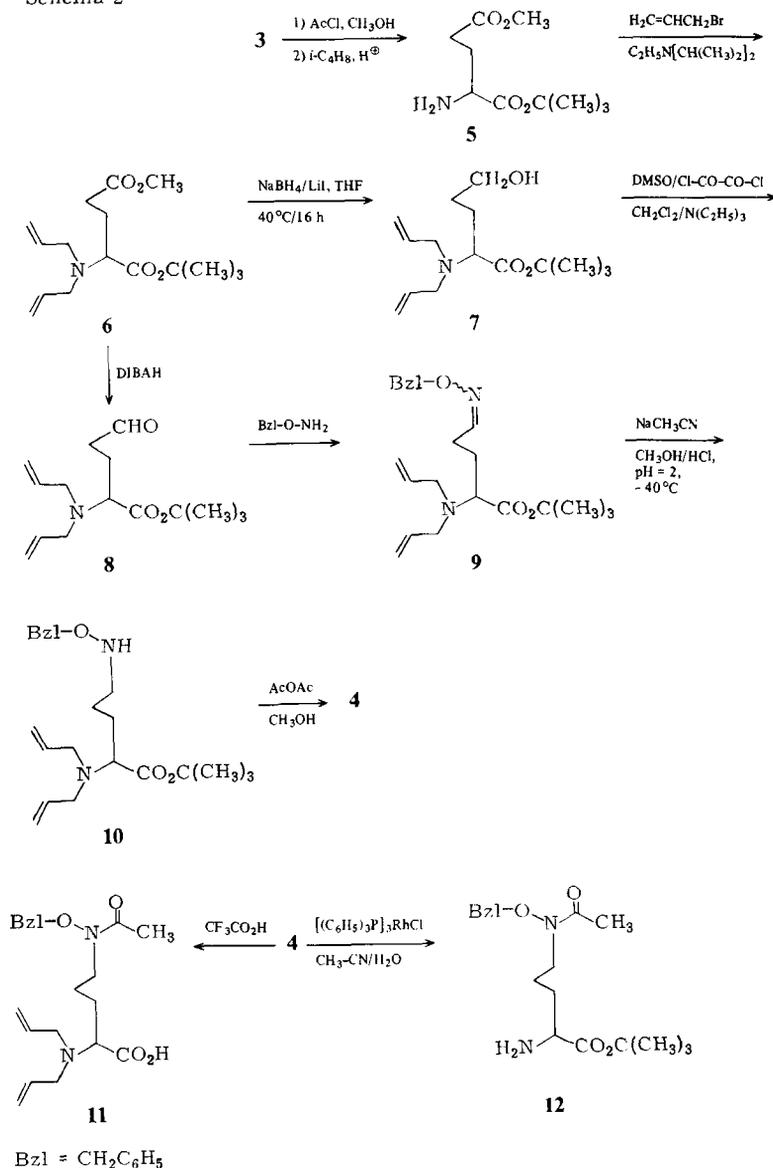
Schema 1



Ausgehend von dem literaturbekannten^{22,23)} α -*tert*-Butyl- γ -methylglutamat (**5**) wird die dreifach geschützte Glutaminsäure **6** durch Reaktion mit Allylbromid (Überschuß als Lösungsmittel) sowie Diisopropylethylamin erhalten (Schema 2) und kann sowohl durch Filtration über Kieselgel als auch durch Destillation gereinigt werden. Die DIBAH-Reduktion²⁴⁾ des γ -Methylesters in **6** zum Aldehyd **8** gelingt nur in schlechten Ausbeuten (13 %). Daher wird zuerst der γ -Methylester in **6** mit Natrium-tetrahydroborat/Lithiumiodid zum Alkohol **7** reduziert, der nachfolgend quantitativ nach der Pfitzner-Moffatt-Methode²⁵⁾ zum Aldehyd **8** dehydriert wird. Das *E/Z*-Gemisch des Oxims **9** wird durch einstündiges Kochen mit *O*-Benzylhydroxylamin in Methanol erhalten; es fällt nahezu rein an und kann ohne weitere Reinigungsoperation weiter verwendet werden.

Die Reduktion des Oxims **9** mit Natrium-cyanotrihydroborat in Methanol/Salzsäure ergibt in guten Ausbeuten das *N*⁵-Hydroxyornithinderivat **10**, das leicht zum Hydroxamsäurederivat **4** acetyliert wird. Auf dieser Stufe ist eine „Flash“-Chromatographie²⁶⁾ an Kieselgel erforderlich. Die Spaltung des *tert*-Butylesters in **4** erfolgt mit Trifluoressigsäure bei 25 °C und führt zur hygroskopischen Carbonsäure **11**. Die *N,N*-Diallylschutzgruppe kann wie geplant unter Verwendung von Tris(triphenylphosphan)rhodium(I)-chlorid glatt abgespalten werden. Die Reaktion verläuft über das Monoallylderivat und benötigt ca. 0.2–0.35 Moläquivalente des Katalysators. Durch einfache Säure-Base-Trennung kann das primäre Amin **12** in guten Ausbeuten erhalten werden.

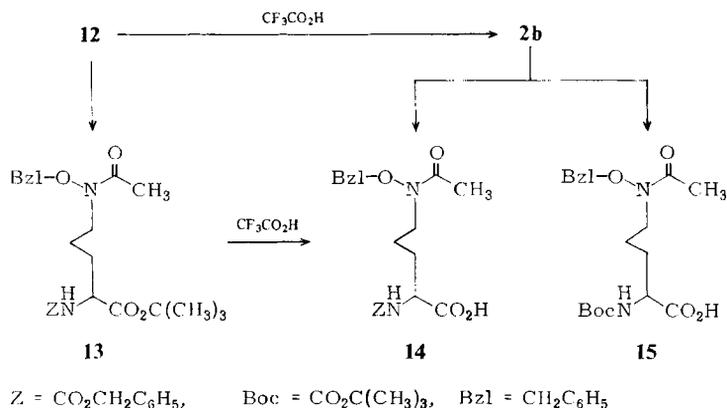
Schema 2



Um für den Aufbau von Peptiden Kopfkomponenten zu erhalten, deren α -N-Schutzgruppe hydrogenolytisch oder sauer zu spalten sind, werden die Z- und Boc-Aminosäurederivate **14** und **15** (Schema 3) synthetisiert. Dazu werden die komplett geschützte Aminosäure **13** und das *N*⁵-Acetyl-*N*⁵-benzyloxy-L-ornithin¹⁷⁾ (**2b**) aus dem Amin **12** dargestellt. Aus beiden Derivaten kann die Z-Aminosäure **14** erhalten werden. Der Weg über **2b** ist jedoch überlegen, da diese Aminosäure am Adsorberharz Lewatit

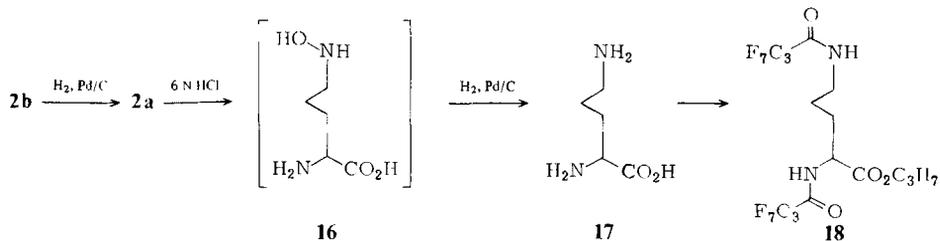
OC 1031^{®*}) einfach gereinigt und anschließend kristallisiert werden kann. Außerdem kann aus **2b** die Boc-Aminosäure **15** erhalten werden.

Schema 3



Die Hydrogenolyse von **2b** über Palladium/Kohle führt zum N^5 -Acetyl- N^5 -hydroxy-L-ornithin (**2a**) (Schema 4), das dünnschichtchromatographisch, $^1\text{H-NMR}$ -, massenspektroskopisch und laut Analyse mit dem aus der enzymatischen Spaltung der Albomycine erhaltenen **2a** übereinstimmt.

Schema 4



Zur Festlegung der enantiomeren Reinheit wird **2a** nach Hydrolyse und Hydrogenolyse in Ornithin (**17**) übergeführt, das als N^2, N^5 -Bis(heptafluorbutyryl)ornithin-propylester (**18**) gaschromatographisch an einer chiralen Trennflüssigkeit²⁷⁾ untersucht wurde. Es konnte gezeigt werden, daß **18** dem L-Ornithin (**17**) mit 94.5% ee entspricht. Die Nachweisgrenze eines Enantiomeren im Gemisch liegt bei 98% ee.

*) Adsorptionsharz der Bayer AG.

Experimenteller Teil

UV-Spektren: UV-Spektrophotometer 554 der Fa. Perkin-Elmer. – IR-Spektren: IR-Spektrophotometer 281 der Fa. Perkin-Elmer. – $^1\text{H-NMR}$ -Spektren: Spektrometer WP 200 SY und W 250 der Fa. Bruker (sofern nicht anders angegeben, Tetramethylsilan als interner Standard). – Massenspektren: Gerät MS 30 der Fa. Kratos-AEI und Gerät CH 5 DF der Fa. Varian-MAT [Elektronenstoßionisation 70 eV; Quelltemp. 200 °C; Direkteinlaß; Proben temp. 120 – 180 °C; Auflösung ca. 1000 bzw. 1200 (10% Tal) bei Hochauflösung mit dem Gerät CH 5 D nach der „Peakmatching“-Methode]. – Optische Drehungen: Polarimeter MC 241 der Fa. Perkin-Elmer. – Dünnschichtchromatographie: DC-Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄ Nr. 5719 (Schichtdicke 0.25 mm; 5 × 10 cm) und DC-Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄ Nr. 5744 (Schichtdicke 0.5 mm; 20 × 20 cm) der Fa. Merck. – Säulenchromatographie: Kieselgel 60 Nr. 7734 (0.063 – 0.2 mm) und Nr. 9385 (0.040 – 0.063 mm) der Fa. Merck. – Schmelzpunkte (nicht korrigiert): Apparat nach Dr. Tottoli der Fa. Büchi.

N^2, N^2 -Diallyl-L-glutaminsäure-1-tert-butyl-5-methylester (6): 19.1 g (75.0 mmol) L-Glutaminsäure-1-tert-butyl-5-methylester-hydrochlorid²³⁾ (5 · HCl) werden in 250 ml 3-Brom-1-propen suspendiert. Bei 0 °C werden 51 ml (300 mmol) Diisopropylethylamin zugetropft, und es wird 0.5 h bei 25 °C und 1.5 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen wird vom Diisopropylethylammoniumbromid abfiltriert, das Filtrat eingengt und der Rückstand in Diethylether aufgenommen. Nach Waschen mit 0.2 M Citronensäure wird die organische Phase mit MgSO_4 getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt (22 g) wird durch 100 g Kieselgel (Laufmittel Diethylether) filtriert. Es werden 19.7 g (88%) eines leicht gelben Öles erhalten. Alternativ kann das Rohprodukt im Kugelrohr destilliert werden, Sdp. 135 – 140 °C/0.5 Torr. – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 200 MHz): δ = 1.48 [s; 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.85 – 2.02 (m; 2H, β - CH_2), 2.34 – 2.48 (m; 2H, γ - CH_2), 3.04 (dd, J = 15 Hz, J = 8 Hz; 2H, $\text{CH}_2 = \text{CHCH}_2\text{N}$), 3.28 – 3.42 [m; 3H, $(\text{CH}_2 = \text{CHCH}_2)_2\text{NCH}$], 3.68 (s; 3H, OCH_3), 5.05 – 5.26 (m; 4H, $\text{CH}_2 = \text{CH}$), 5.63 – 5.86 (m; 2H, $\text{CH}_2 = \text{CH}$). – MS (70 eV): m/z = 297 (0.7% M^+), 238 (28%), 196 (100%), 182 (53%), 41 (83%). – Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = – 58.04 (c = 0.504, CHCl_3).

$\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{NO}_4$ (297.4) Ber. C 64.62 H 9.15 N 4.71 O 21.52 Gef. C 64.2 H 9.2 N 4.5 O 21.5

tert-Butyl-[2-(diallylamino)-5-hydroxyvalerat] (7): 5.00 g (5.05 mmol) 6, 3.84 g (101 mmol) Natrium-tetrahydroborat und 34.34 (202 mmol) Lithiumiodid-dihydrat werden in 300 ml Tetrahydrofuran suspendiert und 16 h bei 40 °C gerührt. Nach Zugabe von weiteren 1.92 g (50.5 mmol) Natrium-tetrahydroborat wird 6 h bei der gleichen Temperatur gerührt. Nach Abkühlen wird die Reaktionsmischung langsam in eisgekühlte 1 N HCl (4 °C) zur Zerstörung des überschüssigen Natrium-tetrahydroborats gegeben. Nach Extraktion mit Diethylether wird die wäßrige saure Phase mit 2 N NaOH unter Eiskühlung auf pH = 8 eingestellt. Die erhaltene Emulsion wird 3mal mit Diethylether extrahiert. Nach Trocknen (MgSO_4) und Eindampfen wird das Rohprodukt durch 200 g Kieselgel filtriert (Laufmittel Diethylether/Petrolether, 1:1). Es werden 9.3 g (69%) farbloses Öl erhalten. – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 250 MHz): δ = 1.46 [s; 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.57 – 1.91 (m; 4H, β -, γ - CH_2), 3.02 (dd, J = 15 Hz, J = 8 Hz; 2H, $\text{CH}_2 = \text{CHCH}_2\text{N}$), 3.25 – 3.67 [m; 6H, $(\text{CH}_2 = \text{CHCH}_2)_2\text{NCH}$ und CH_2OH], 5.03 – 5.20 (m; 4H, $\text{CH}_2 = \text{CH}$), 5.65 – 5.85 (m; 2H, $\text{CH}_2 = \text{CH}$). – MS (70 eV): m/z = 228 (0.2%), 168 (100%), 41 (43%). – Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = – 81.167 (c = 0.97, CHCl_3).

$\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{NO}_3$ (269.4) Ber. C 66.88 H 10.10 N 5.20 Gef. C 66.2 H 10.3 N 5.1

tert-Butyl-[2-(diallylamino)-4-formylbutyrat] (8): 1.48 ml (16.8 mmol) Oxalylchlorid werden in 60 ml wasserfreiem Dichlormethan auf – 60 °C gekühlt. Dazu werden 2.38 ml (33.6 mmol) Dimethylsulfoxid in 15 ml wasserfreiem Dichlormethan getropft und anschließend innerhalb von 5 min bei der gleichen Temperatur 3.0 g (11.2 mmol) 7 in 20 ml wasserfreiem Dichlormethan ge-

ben. Nach 15 min werden 7.75 ml (56 mmol) Triethylamin schnell zugetropft. Man entfernt die Kühlung und läßt den Ansatz auf 25°C erwärmen. Nach Zugabe von 100 ml Wasser wird die organische Phase isoliert und mit 0.2 M Citronensäure sowie gesättigter Hydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Nach Trocknen (MgSO₄) und Eindampfen wird das Rohprodukt im Kugelrohr destilliert, Sdp. 140°C/0.1 Torr. Es werden 3.396 g (97%) leicht gelbes Öl erhalten. – ¹H-NMR (CDCl₃, 250 MHz): δ = 1.47 [s; 9H, C(CH₃)₃], 1.95 (q, J = 7.5 Hz; 2H, β-CH₂), 2.48 (t, J = 7.5 Hz; 2H, γ-CH₂), 3.02 (dd, J = 14 Hz, J = 8 Hz; 2H, CH₂ = CHCH₂N), 3.16–3.40 [m; 3H, CH₂CH(CH₂)₂NCH], 5.02–5.13 (m; 4H, CH₂ = CH), 5.58–5.80 (m; 2H, CH₂ = CH), 9.66 (s; 1H, CHO).

C₁₅H₂₅NO₃ (267.4) Ber. C 67.38 H 9.43 N 5.24 O 17.95
Gef. C 67.0 H 9.5 N 5.2 O 17.5

tert-Butyl-[5-(benzyloxyimino)-2-(diallylamino)valerat] (9): 13.8 g (51.7 mmol) **8** werden mit 9.90 g (62.2 mmol) *O*-Benzylhydroxylamin-hydrochlorid und 5.09 (62.2 mmol) Natriumacetat in 200 ml Methanol 1 h unter Rückfluß erhitzt. Der Ansatz wird eingeeengt, der Rückstand in 300 ml Wasser aufgenommen und 3mal mit Diethylether extrahiert. Nach Trocknen (MgSO₄) und Eindampfen wird das Rohprodukt (17.9 g) an 350 g Kieselgel „flash“-chromatographiert (Laufmittel Diethylether/Hexan, 1:1). Es werden 15.4 g (80%) eines *E/Z*-Isomerengemisches (57:43) erhalten. – ¹H-NMR (DMSO, 200 MHz): δ = 1.43 [s; 9H, C(CH₃)₃], 1.63–1.85 (m; 2H, β-CH₂), 2.09–2.41 (m; 2H, γ-CH₂), 2.93–3.10 (m; 2H, CH₂ = CHCH₂N), 3.18–3.40 [m; 3H, (CH₂ = CH-CH₂)₂NCH], 5.00, 5.06 (s, s; 2H, N–O–CH₂), 4.99–5.25 (m; 4H, CH₂ = CH), 5.61–5.85 (m; 2H, CH₂ = CH), 7.35 (mc; 5H, Aromat), 6.79, 7.48 (t, J = 5 Hz; 1H, O–N = CH).

C₂₂H₃₂N₂O₃ (372.5) Ber. C 70.94 H 8.66 N 7.52 Gef. C 70.4 H 8.7 N 7.6

*N*²,*N*²-Diallyl-*N*⁵-benzyloxy-*L*-ornithin-*tert*-butylester (10): 50.0 g (0.134 mol) **9** werden in 1 l Methanol gelöst und mit 200 ml 1 N HCl/CH₃OH bei –40°C auf pH = 1–2 eingestellt. Jeweils 9.28 g (0.147 mol) Natrium-cyanotrihydroborat werden am Anfang der Reaktion, nach 0.5 h, 1 h und 2 h zugegeben, und es wird 20 h bei –40°C gerührt. Nach Einengen des Ansatzes wird der Rückstand in kaltem Wasser aufgenommen und mit 1 N HCl auf pH = 1.5 eingestellt. Die saure wäßrige Phase wird 3mal mit Diethylether extrahiert und anschließend mit 2 N NaOH unter Eiskühlung auf pH = 8.5 eingestellt. Die Emulsion wird 3mal mit Diethylether extrahiert, und nach Trocknen (MgSO₄) und Einengen (Ölpumpenvak.) werden 35.8 g (71%) farbloses Öl erhalten. – ¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 1.39 [s; 9H, C(CH₃)₃], 1.34–1.71 (m; 4H, β-, γ-CH₂), 2.84 (t, J = 6 Hz; 2H, NCH₂), 2.95 (dd, J = 15 Hz, J = 8 Hz; 2H, CH₂ = CHCH₂N), 3.16–3.36 [m; 3H, CH₂ = CH(CH₂)₂NCH], 4.62 (s; 2H, N–O–CH₂), 4.96–5.19 (m; 4H, CH₂ = CH), 5.56–5.81 (m; 2H, CH₂ = CH), 7.27 (mc; 5H, Aromat). – MS (70 eV): *m/z* = 374 (2.4%, M⁺), 176 (90%), 91 (100%).

C₂₂H₃₄N₂O₃ (374.5) Ber. C 77.55 H 9.15 N 7.48 Gef. C 70.6 H 9.2 N 7.5

*N*⁵-Acetyl-*N*²,*N*²-diallyl-*N*⁵-benzyloxy-*L*-ornithin-*tert*-butylester (4): 35.8 g (95.6 mmol) **10** werden in 750 ml wasserfreiem Methanol gelöst. Bei 0°C werden 10.8 ml (114.7 mmol) Essigsäureanhydrid zugetropft, und es wird 3 h bei 0°C gerührt. Anschließend werden 350 ml 10proz. Ammoniak/Methanol-Lösung zugetropft, und es wird 0.5 h gerührt. Nach Einengen wird der Rückstand in Wasser aufgenommen, mit 1 N NaOH auf pH = 8 eingestellt und mehrmals mit Dichlormethan extrahiert. Nach Trocknen (MgSO₄) und Einengen wird das Rohprodukt (37.2 g) „flash“-chromatographiert [930 g Kieselgel (0.04–0.063 mm); Laufmittel Diethylether/Hexan, 1:1; Fließrate 50 ml/min; Fraktionsgröße 100 ml]. Es werden 27.7 g (70%) farbloses Öl erhalten. – ¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz): δ = 1.46 [s; 9H, C(CH₃)₃], 1.54–1.88 (m; 4H, β-, γ-CH₂), 2.10 (s; 3H, COCH₃), 2.95–3.13 (m; 2H, CH₂ = CHCH₂N), 3.25–3.46 [m; 3H, (CH₂ = CHCH₂)₂NCH], 3.65 (mc; 2H, NCH₂), 4.83 (s; 2H, N–O–CH₂), 5.04–5.26 (m; 4H,

$\text{CH}_2=\text{CH}$), 5.66–5.90 (m; 2H, $\text{CH}_2=\text{CH}$), 7.40 (s; 5H, Aromat). – MS (70 eV): $m/z = 416$ (1.2%, M^+), 315 (100%), 136 (80%).

$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_4$ (416.6) Ber. C 69.20 H 8.71 N 6.73 Gef. C 69.2 H 8.6 N 6.6

*N*⁵-Acetyl-*N*²,*N*²-diallyl-*N*⁵-benzyloxy-*L*-ornithin (**11**): 5.0 g (12.0 mmol) **4** werden in 50 ml Trifluoressigsäure 3 h bei 0°C gerührt. Die entstandene Lösung wird eingengt und in 100 ml gesättigter Hydrogencarbonat-Lösung aufgenommen. Nach Extraktion mit Diethylether wird die wäßrige Phase mit 1 N HCl auf pH = 3 eingestellt und 3mal mit Essigester extrahiert. Nach Trocknen mit Magnesiumsulfat wird der im Rotationsverdampfer erhaltene Rückstand durch 100 g Kieselgel filtriert (Laufmittel Dichlormethan/Methanol, 7:3). Es werden 4.00 g (93%) hygroskopisches Öl erhalten. – ¹H-NMR (DMSO, 200 MHz): $\delta = 1.51\text{--}1.80$ (m; 4H, β -, γ - CH_2), 2.01 (s, 3H, COCH_3), 3.20–3.70 [m; 7H, ($\text{CH}_2=\text{CHCH}_2$)₂N, NCH_2 und NCH], 4.89 (s; 2H, N–O– CH_2), 5.16–5.40 (m; 4H, $\text{CH}_2=\text{CH}$), 5.70–5.98 (m; 2H, $\text{CH}_2=\text{CH}$), 7.45 (m; 5H, Aromat). – MS (70 eV): $m/z = 360$ (1.3%, M^2), 91 (100%), 69 (91%), 45 (100%).

*N*⁵-Acetyl-*N*⁵-benzyloxy-*L*-ornithin-*tert*-butylester (**12**): 27.7 g (66.5 mmol) **4** werden in 400 ml Acetonitril/Wasser (84:16) gelöst und 6.15 g (6.65 mmol) Tris(triphenylphosphan)rhodium(I)-chlorid zugegeben. Die Lösung wird unter Rückfluß erhitzt (Badtemp. 120°C), wobei ein starker Stickstoffstrom zum Austreiben des entstandenen Propionaldehyds durch die Lösung geleitet wird. Teilweise abdestilliertes Lösungsmittel wird durch kontinuierliches Zutropfen des Acetonitril/Wasser-Gemisches ersetzt. nach 1.5stdg. Reaktion wird erneut die gleiche Menge an Katalysator zugefügt. Nach insgesamt 3stdg. Reaktion wird der Ansatz eingengt und der Rückstand in 400 ml Dichlormethan aufgenommen. Unter Eiskühlung wird für 5 min Kohlenmonoxid durch die Lösung geleitet, wobei der Carbonylkomplex des Katalysators teilweise ausfällt. Nach kurzem Durchleiten von Stickstoff wird der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat eingengt. Der Rückstand wird in 300 ml Essigester aufgenommen und 5mal mit eiskalter 1 N HCl extrahiert. Unter Eiskühlung wird die saure wäßrige Phase mit 2 N NaOH auf pH = 8.5 eingestellt (die Lösung wird durch Emulsionsbildung milchig) und 4mal bei diesem pH-Wert mit Essigester extrahiert. Nach Trocknen mit Magnesiumsulfat wird die Lösung eingengt und i. Hochvak. getrocknet. Es werden 18.8 g (84%) DC-reines, schwach gelbes Öl erhalten. – ¹H-NMR (DMSO, 200 MHz): $\delta = 1.35$ [s; 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.28–1.65 (m; 4H, β -, γ - CH_2), 2.01 (s; 3H, COCH_3), 3.18 (mc; 1H, H_2NCH), 3.61 (t, $J = 6$ Hz; 2H, NCH_2), 4.88 (s; 2H, N–O– CH_2), 7.44 (mc; 5H, Aromat). – MS (70 eV): $m/z = 280$ (10%), 91 (100%), 43 (43%).

$\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ (336.4) Ber. C 64.26 H 8.39 N 8.33 Gef. C 63.6 H 8.3 N 8.2

*N*⁵-Acetyl-*N*⁵-benzyloxy-*N*²-(benzyloxycarbonyl)-*L*-ornithin-*tert*-butylester (**13**): 0.77 g (2.29 mmol) **12** werden in 20 ml Dioxan gelöst und 0.4 ml (2.52 mmol) Chlorameisensäure-benzylester sowie 0.28 ml (2.52 mmol) *N*-Methylmorpholin zugegeben. Es wird 75 min bei 25°C gerührt, das *N*-Methylmorpholinchlorid abfiltriert und das Filtrat eingengt. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen und nacheinander mit kalter 1 N HCl, gesättigter Hydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Nach Trocknen mit Magnesiumsulfat wird eingengt und i. Hochvak. getrocknet. Es werden 0.81 g (75%) amorphes **13** erhalten. – ¹H-NMR (DMSO, 200 MHz): $\delta = 1.36$ [s; 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.50–1.70 (m; 4H, β -, γ - CH_2), 2.01 (s; 3H, COCH_3), 3.61 (mc; 2H, δ - CH_2), 3.93 (mc; 1H, NHCH), 4.88 (s; 2H, OCH_2), 5.04 (s; 2H, OCH_2), 7.29–7.50 (m; 10H, Aromat), 8.66 (d, $J = 9$ Hz; 1H, CONH). – MS (70 eV): $m/z = 470$ (1%, M^+), 91 (100%), 57 (65%).

$\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6$ (470.6) Ber. C 66.36 H 7.28 N 5.95 Gef. C 65.8 H 7.2 N 5.8

*N*⁵-Acetyl-*N*⁵-benzyloxy-*N*²-(benzyloxycarbonyl)-*L*-ornithin (**14**): 3.84 g (13.7 mmol) *N*⁵-Acetyl-*N*⁵-benzyloxy-*L*-ornithin¹⁷⁾ (**2b**) [s. unten] werden unter Eiskühlung und kräftigem Rühren mit 2.33 ml (16.5 mmol) Chlorameisensäure-benzylester und 13.7 ml 1 N NaOH innerhalb von 30 min

behandelt. Nach Ansäuern der Reaktionsmischung mit 2 N HCl wird das ausgefallene Produkt in Essigester aufgenommen, mit verd. HCl und Wasser gewaschen und anschließend mehrmals mit Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert. Die wäßrige basische Phase wird mit 2 N HCl auf pH = 2–3 eingestellt und mit Essigester extrahiert. Nach Waschen mit verd. HCl sowie Wasser und Trocknen mit Magnesiumsulfat wird i. Vak. zur Trockne eingedampft. Es werden 4.4 g (78%) amorphes **14** erhalten. – ¹H-NMR (DMSO, 200 MHz): δ = 1.48–1.76 (m; 4H, β-, γ-CH₂), 2.01 (s; 3H, COCH₃), 3.60 (mc; 2H, NCH₂), 3.94 (mc; 1H, NHCH), 4.86 (s; 2H, OCH₂), 5.03 (s; 2H, OCH₂), 7.25–7.50 (m; 10H, Aromat). – MS (70 eV): m/z = 108 (100%), 91 (84%), 79 (91%).

C₂₂H₂₆N₂O₆ (414.5) Ber. C 63.76 H 6.32 N 6.76 O 23.16
Gef. C 63.1 H 6.4 N 6.5 O 23.3

*N*⁵-Acetyl-*N*⁵-benzyloxy-*N*²-(*tert*-butoxycarbonyl)-*L*-ornithin (**15**): 2.99 g (10.7 mmol) *N*⁵-Acetyl-*N*⁵-benzyloxy-*L*-ornithin¹⁷⁾ (**2b**) [s. unten] werden mit 1.42 ml (12.84 mmol) *N*-Methylmorpholin und 2.95 ml (12.84 mmol) Di-*tert*-butyl-dicarbonat 5 h bei 5 °C in 50 ml Dioxan/Wasser (1 : 1) gerührt. Nach erneuter Zugabe der gleichen Menge *N*-Methylmorpholin und Di-*tert*-butyl-dicarbonat wird 16 h bei 25 °C gerührt. Der Ansatz wird eingeeengt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit festem Hydrogencarbonat auf pH = 8 eingestellt. Nach Extraktion mit Diethylether wird die wäßrige Phase mit 0.2 M Citronensäure auf pH = 3 eingestellt und mehrmals mit Essigester extrahiert. Nach Trocknen mit Magnesiumsulfat und Einengen wird die Substanz i. Ölpumpenvak. getrocknet. Es werden 2.2 g (54%) **15** erhalten. – ¹H-NMR (DMSO, 250 MHz): δ = 1.36 [s; 9H, C(CH₃)₃], 1.48–1.70 (m; 4H, β-, γ-CH₂), 1.99 (s; 3H, COCH₃), 4.82 (s; 2H, OCH₂), 7.37 (mc; 5H, Aromat).

C₁₉H₂₈N₂O₆ (380.4) Ber. C 59.99 H 7.42 N 7.36 Gef. C 59.4 H 7.6 N 7.2

*N*⁵-Acetyl-*N*⁵-benzyloxy-*L*-ornithin¹⁷⁾ (**2b**): 4.7 g (14.0 mmol) **12** werden in 15 ml Trifluoressigsäure 8 h bei 0 °C gerührt. Nach Eindampfen wird das Rohprodukt (10.4 g) an 250 ml Adsorberharz Lewatit OC 1031 (Bayer AG) chromatographiert (Laufmittel 500 ml Wasser, anschließend jeweils 250 ml Wasser/Methanol, 6 : 4, 4 : 6 und 2 : 8). Die einheitlichen Fraktionen werden vereinigt und ergeben nach Trocknen 2.9876 g (76%) amorphes **2b**. Eine Probe wird aus Ethanol/Diethylether kristallisiert; Schmp. 167–170 °C. – ¹H-NMR (DMSO, 200 MHz): δ = 1.50–1.85 (m; 4H, β-, γ-CH₂), 2.00 (s; 3H, COCH₃), 3.46 (mc; 1H, NCH), 3.60 (mc; 1H, NCH₂), 4.88 (s; 2H, OCH₂), 7.45 (mc; 5H, Aromat). – MS (70 eV): m/z = 262 (0.8%), 69 (97%), 44 (100%). – Optische Drehung: [α]_D²⁰ = +12.83 (c = 0.996, 1 N HCl).

C₁₄H₂₀N₂O₄ (280.3) Ber. C 59.99 H 7.19 N 9.99 Gef. C 59.9 H 7.3 N 9.3

*N*⁵-Acetyl-*N*⁵-hydroxy-*L*-ornithin (**2a**): 1.23 g (4.4 mmol) **2b** werden über 1.23 g Palladium/Kohle (10% Pd) 4 h in 125 ml Ethanol hydriert. Der Katalysator wird abfiltriert, das Filtrat eingeeengt und aus Ethanol/Ether kristallisiert. Es werden 380 mg (46%) **2a** mit Schmp. 204 °C erhalten. – ¹H-NMR (D₂O, 250 MHz): δ = 1.61–1.93 (m; 4H, β-, γ-CH₂), 2.12 (s; 3H, NCOCH₃), 3.65 (mc; 2H, NCH₂), 3.73 (mc; 1H, NCH). – MS (70 eV): m/z = 190 (2%, H⁺), 114 (17%), 86 (19%), 43 (100%). – Optische Drehung: [α]_D²⁰ = +21.26 (c = 0.500, 1 N HCl).

C₇H₁₄N₂O₄ (190.2) Ber. C 44.20 H 7.42 N 14.73 Gef. C 44.1 H 7.4 N 14.7

Ornithin (**17**): 0.37 g (1.95 mmol) **2a** werden in 15 ml 6 N HCl gelöst und 2 h unter Rückfluß erhitzt. Der Ansatz wird eingedampft und nach Trocknen i. Ölpumpenvak. in 15 ml Wasser aufgenommen. Anschließend wird 7 h bei 25 °C katalytisch hydriert (200 mg 10% Pd/C). Die Lösung wird abfiltriert, eingeeengt und an 10 ml saurem Ionenaustauscher SP 112 H⁺ (Bayer AG) adsorbiert. Nach Waschen mit 50 ml bidest. Wasser wird mit 1 N Ammoniaklösung eluiert. Nach Einengen im Rotationsverdampfer und Trocknen i. Ölpumpenvak. werden 3 mg des resultierenden

Gemisches in den N^2, N^5 -Bis(heptafluorbutyryl)ornithin-propylester (**18**) übergeführt (s. Lit.¹⁾) und an einer Glaskapillarsäule, beschichtet mit 30 m XE-60-S-valin-S-phenylethylamid, untersucht. L-Ornithin **17** konnte mit ee = 94.5% nachgewiesen werden.

- ¹⁾ II. Mitteilung: *G. Benz, L. Born, M. Brieden, R. Grosser, J. Kurz, H. Paulsen, V. Sinnwell und B. Weber*, Liebigs Ann. Chem. **1984**, 1408, voranstehend.
- ²⁾ *J. B. Neilands*, Inorganic Biochemistry, S. 167, Elsevier, Amsterdam – London – New York 1973; *J. B. Neilands*, Ann. Rev. Biochem. **50**, 715 (1981).
- ³⁾ *H. Maehr*, Pure Appl. Chem. **28**, 603 (1971).
- ⁴⁾ *C. L. Atkins und J. B. Neilands*, Biochemistry **7**, 3734 (1968).
- ⁵⁾ *T. Emery und J. M. Sayer*, Biochemistry **7**, 184 (1968).
- ⁶⁾ *H. Diekmann*, Arch. Mikrobiol. **73**, 65 (1970).
- ⁷⁾ *S. Rogers und J. B. Neilands*, Biochemistry **3**, 1850 (1964).
- ⁸⁾ *W. Keller-Schierlein*, Helv. Chim. Acta **46**, 1920 (1963).
- ⁹⁾ *M. G. Braznikova, O. Mikes und N. N. Lomakina*, Biokhimiya **22**, 111 (1957); englische Übersetzung: Biochemistry (USSR) **22**, 104 (1957).
- ¹⁰⁾ *G. Benz, T. Schröder, J. Kurz, C. Wünsche, W. Karl, G. Steffens, J. Pfitzner und D. Schmidt*, Angew. Chem. **94**, 552 (1982); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **21**, 527 (1982); Angew. Chem. Suppl. **1982**, 1322.
- ¹¹⁾ *J. Widmer und W. Keller-Schierlein*, Helv. Chim. Acta **57**, 657 (1974).
- ¹²⁾ *G. Tomlinson und T. Viswanatha*, Can. J. Biochem. **51**, 754 (1973).
- ¹³⁾ *T. Emery und J. B. Neilands*, J. Am. Chem. Soc. **83**, 1626 (1961).
- ¹⁴⁾ *Y. Isowa, T. Takashima, M. Ohmori, H. Kurita, M. Sato und K. Mori*, Bull. Chem. Soc. Jpn. **45**, 1461 (1972).
- ¹⁵⁾ *H. Maehr und M. Leach*, J. Org. Chem. **39**, 1166 (1974).
- ¹⁶⁾ *B. Maurer und W. Keller-Schierlein*, Helv. Chim. Acta **52**, 388 (1969).
- ¹⁷⁾ *T. Fujii und Y. Hatanaka*, Tetrahedron **29**, 3825 (1973).
- ¹⁸⁾ *P. J. Maurer und M. J. Miller*, J. Am. Chem. Soc. **104**, 3096 (1982).
- ¹⁹⁾ *G. Barany und R. B. Merrifield*, J. Am. Chem. Soc. **99**, 7363 (1977).
- ²⁰⁾ *B. C. Laguzza und B. Ganem*, Tetrahedron Lett. **22**, 1483 (1981).
- ²¹⁾ *B. Moreau, S. Lavielle und A. Marquet*, Tetrahedron Lett. **1977**, 2591.
- ²²⁾ *E. Taschner, A. Chimiak, B. Bator und T. Sokolowska*, Liebigs Ann. Chem. **646**, 134 (1961).
- ²³⁾ *J. Tomasz*, Acta Chim. Acad. Sci. Hung. **70**, 255 (1971).
- ²⁴⁾ *E. Winterfeldt*, Synthesis **1975**, 617.
- ²⁵⁾ *A. J. Mancuso und D. Swern*, Synthesis **1981**, 165.
- ²⁶⁾ *W. C. Still, M. Kahn und A. Mitra*, J. Org. Chem. **43**, 2923 (1978).
- ²⁷⁾ *G. J. Nicholson, H. Frank und E. Bayer*, J. High Resol. Chromatogr., Chromatogr. Commun. **2**, 411 (1979).

[280/83]