

Enzym-katalysierte Reaktionen, 13<sup>[1]</sup>

## Eine neue, effiziente Synthese von Fagomin

Franz Effenberger\* und Volker Null<sup>[2]</sup>Institut für Organische Chemie der Universität Stuttgart,  
Pfaffenwaldring 55, W-7000 Stuttgart 80

Eingegangen am 1. Juli 1992

**Key Words:** Fagomine / Enzymes / Transketolase / Carbohydrates / Yeast transketolase**Enzyme-Catalyzed Reactions, 13<sup>[1]</sup>. – A New, Efficient Synthesis of Fagomine**

2-Deoxy-L-threo-5-hexuloseonitril (**4**) is obtained in excellent chemical yield by yeast transketolase (EC 2.2.1.1)-catalyzed reaction of racemic 3-hydroxy-4-oxobutyroneitril [(*R/S*)-**2**]

with lithium hydroxypyruvate (**3**). Catalytic hydrogenation of **4** exclusively gives fagomine (**7**).

Polyhydroxypiperidine und -piperidine haben in den letzten Jahren als potente Glycosidase-Inhibitoren große Bedeutung erlangt<sup>[3]</sup>. Neben chemischen Synthesen und Fermentationsprozessen<sup>[3a]</sup> haben sich chemoenzymatische Verfahren<sup>[4]</sup> als besonders vorteilhaft für die Darstellung dieser Verbindungsklasse erwiesen. So konnten das 1-Desoxynojirimycin und das 1-Desoxymannojirimycin, ausgehend von racemischem 3-Azido-2-hydroxypropanal, durch Kaninchenmuskel-Aldolase-katalysierte Umsetzung mit Dihydroxyacetonphosphat und anschließende katalytische Hydrierung auf einfache Weise erhalten werden<sup>[4]</sup>.

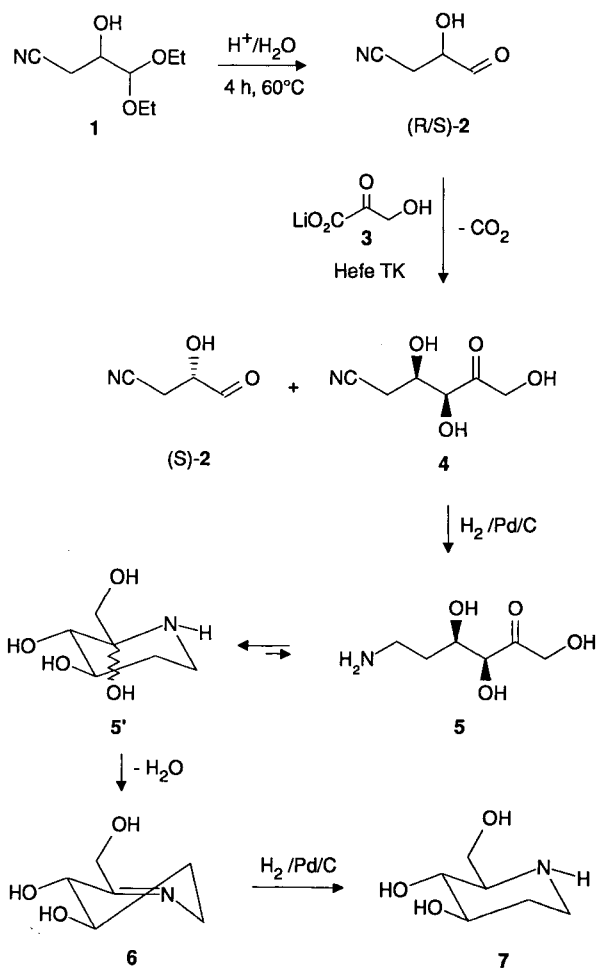
1,4-Didesoxy-1,4-imino-D-arabinitol, das ein sehr starker  $\alpha$ -Glucosidase-Inhibitor ist<sup>[3]</sup>, konnte ebenfalls in einer chemoenzymatischen Reaktionsfolge hergestellt werden. Der entscheidende Reaktionsschritt, bei dem zwei Asymmetriezentren aus achiralen Edukten aufgebaut werden, ist dabei die durch Hefe-Transketolase katalysierte enantioselektive Reaktion von racemischem 3-Azido-2-hydroxypropanal mit Lithiumhydroxypyruvat<sup>[4a]</sup>. Die diastereoselektive C–C-Verknüpfung ist gleichzeitig mit einer kinetischen Racemat-Trennung des eingesetzten 3-Azido-2-hydroxypropanals verbunden und kann so zur Darstellung des enantiomerenreinen 2-Hydroxyaldehyds dienen<sup>[1,4a]</sup>.

Für Fagomin (1,2,5-Tridesoxy-1,5-imino-D-arabino-hexitol) (**7**), das die Isomaltase inhibiert<sup>[3b]</sup> und das erstmals aus Buchweizen isoliert werden konnte<sup>[5]</sup>, wurden zwar chemische Synthesen – ausgehend von D-Glucose oder D-Mannose – entwickelt, die jedoch über jeweils 13 Stufen nur zu Gesamtausbeuten zwischen 3 und 8% führen<sup>[6]</sup>. In Analogie zur Darstellung von 1-Desoxynojirimycin und 1-Desoxymannojirimycin<sup>[4]</sup> ist Fagomin in jüngster Zeit auch über eine chemoenzymatische Synthese, ausgehend von 3-(Benzylamino)propanal, durch Aldolase-katalysierte Reaktion mit Dihydroxyacetonphosphat einfacher zugänglich geworden<sup>[7]</sup>.

Im Rahmen unserer Untersuchungen enantioselektiver C–C-Verknüpfungen mit Hefe-Transketolase (EC 2.2.1.1) haben wir eine Vielzahl racemischer, in 3-Position unterschiedlich substituierter 2-Hydroxyaldehyde mit Lithiumhydroxypyruvat, Enzym-katalysiert, umgesetzt und unter anderem auch 2-Desoxy-L-threo-5-hexuloseonitril (**4**) in guter chemischer Ausbeute (82%) hergestellt<sup>[1]</sup>. Da die Hydrierung von  $\delta$ -Ketonitrilen direkt zu Piperidinen führt<sup>[8]</sup>, haben wir das  $\delta$ -Ketonitril **4** in essigsaurer Lösung katalytisch hydriert und dabei ausschließlich das Piperidinderivat **7**, d.h. Fagomin erhalten.

Das primär anfallende Rohprodukt wurde über eine Säule mit Dowex 50W-X8 ( $H^+$ ), das das Piperidinderivat als Salz bindet, durch Elution mit Wasser gereinigt. Nach Eluierung mit einem

Ammoniakgradienten konnte reines Fagomin **7** mit 70proz. Ausbeute als kristalline Verbindung erhalten werden.



Die Hefe-Transketolase-katalysierte Reaktion wurde bei  $30^\circ C$  durchgeführt, da bei dieser Temperatur das Enzym noch ausreichend stabil ist<sup>[9]</sup>. Die Produkte **4** und **(S)-2** wurden durch Säulenchromatographie an Dowex 50W-X8 ( $Ca^{2+}$ ) mit Wasser getrennt und isoliert<sup>[1]</sup>. Bei der katalytischen Hydrierung wird das Ketonitril **4** zum primären Amin **5** reduziert, das unter den Reaktionsbedin-

gungen nicht isoliert werden kann, da es sofort unter Cyclisierung zum Halbaminal **5'** weiterreagiert, das unter Wasserabspaltung die Schiff-Base **6** bildet, die weiter zu Fagomin hydriert wird. Die Hydrierung von **6** zum Piperidinderivat **7** verläuft diastereoselektiv, da die Anlagerung des Wasserstoffs aus sterischen Gründen bevorzugt von der Unterseite her erfolgt<sup>[7]</sup>. Die Diastereomerenreinheit von **7** konnte durch Kapillar-Gaschromatographie der persilylierten Verbindung bewiesen werden.

Durch die beschriebene Hefe-Transketolase-katalysierte Reaktion von (*R/S*)-**2** mit Lithiumhydroxypyruvat (**3**) und anschließende katalytische Hydrierung des Hexulosonitrils **4** ist Fagomin **7** auf einfache Weise mit einer Gesamtausbeute von 57% bezogen auf (*R/S*)-**2** zugänglich.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

## Experimenteller Teil

<sup>1</sup>H-NMR: Varian T 60, Bruker WP 80 sowie AC 250 F, TMS als interner Standard. — Drehwerte: Perkin-Elmer Polarimeter 241 LC, verbunden mit thermostatisierbarer Glasküvette (*l* = 10 cm) mit Anschluß für Durchflußmessungen. — EI-MS: Varian Mat 711. — Präparative Säulenchromatographie: Glassäulen verschiedener Größe gepackt mit Dowex 50W-X8, Korngröße 0.037–0.075 mm (Serva). — Ionenaustauscher: Dowex 50W-X8, Korngröße 0.037–0.075 mm, Dowex 1-X8, Korngröße 0.037–0.075 mm (Serva). — Hefe-Transketolase: (EC 2.2.1.1), 20 Units/mg (Sigma). — Enantiomerenüberschuß-Bestimmung: Kapillarsäule, Phase OV 1701 mit 10% β-Cyclodextrin (permethyliert).

**4,4-Diethoxy-3-hydroxybutyronitril (1)**: 5.0 g (34.2 mmol) 2-(Diethoxymethyl)oxiran<sup>[10]</sup>, 3.75 g (70.1 mmol) Ammoniumchlorid und 11.43 g (175.5 mmol) Kaliumcyanid werden in 270 ml Ethylenglycolmonomethylether/Wasser (8:1) 24 h bei 85°C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird eingengt, in Wasser gelöst und fünfmal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, eingengt, und der Rückstand wird im Hochvak. destilliert; Ausb. 3.5 g (60%), Sdp. 64°C/0.01 Torr. — <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.30 (t, 6H, CH<sub>3</sub>), 2.60–2.80 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.00 (s, 1H, OH), 3.50–4.20 (m, 5H, 2 CH<sub>2</sub>, CH), 4.60 (d, 1H, CH[OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>]<sub>2</sub>).

C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub> (173.2) Ber. C 55.47 H 8.73 N 8.09  
Gef. C 55.39 H 8.84 N 8.15

**2-Desoxy-L-threo-5-hexulosonitril (4) und (S)-3-Hydroxy-4-oxobutyronitril [(S)-2]**: Eine Lösung von (*R/S*)-**2** [in situ hergestellt aus 0.52 g (3.0 mmol) **1** und 0.52 g Dowex 50W-X8 (H<sup>+</sup>) in 16 ml Wasser; nach 4stdg. Rühren bei 60°C wird der Ionenaustauscher abfiltriert], 0.384 g (3.5 mmol) **3**<sup>[11]</sup>, 9.5 mg (0.1 mmol) Magnesiumchlorid und 49.6 mg (0.1 mol) Thiaminpyrophosphat in 60 ml Tris(hydroxymethyl)aminomethan/HCl-Puffer (50 mM, pH = 7.6) wird auf 30°C erwärmt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 5.7 Units Hefe-Transketolase<sup>[12]</sup> gestartet. Nach 24 h bei 30°C wird die Reaktionslösung mit Dowex 50W-X8 (H<sup>+</sup>) und Dowex 1-X8 (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) entsalzt, eingengt, und der Rückstand an Dowex 50W-X8 (Ca<sup>2+</sup>) (Säule 3 cm × 85 cm) mit Wasser chromatographiert (polarimetrische Detektion bei 365 nm).

**1. Fraktion**: 116 mg (78%) (*S*)-**2**, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -22.8 (*c* = 0.8, D<sub>2</sub>O). — ee: 97% [mittels Kap.-GC nach Acetalisierung mit Ethanol, Orthoameisensäure-triethylester und wasserfreiem Dowex 50W-X8 (H<sup>+</sup>) bestimmt]. — <sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O): δ = 2.74 (dd, *J*<sub>2,2</sub> = -17.2 Hz, *J*<sub>2,3</sub> = 7.2 Hz, 1H, 2-H), 2.84 (dd, *J*<sub>2,3</sub> = 4.5 Hz, 1H, 2-H), 3.86 (dddd, *J*<sub>3,4</sub> = 5.3 Hz, 1H, 3-H), 4.97 (d, 1H, 4-H).

C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub> (99.1) Ber. C 48.49 H 5.09 N 14.14  
Gef. C 48.55 H 5.26 N 13.64

**2. Fraktion**: 200 mg (82%) **4**, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +5.3 (*c* = 3.6, D<sub>2</sub>O). — <sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O): δ = 2.87 (d, 2H, 2-H), 4.43 (d, *J*<sub>3,4</sub> = 2.3 Hz, 1H, 4-H), 4.48 (ddd, 1H, 3-H), 4.58, 4.68 (AB-System, *J*<sub>6,6</sub> = -19.6 Hz, 2H, 6-H). — MS (EI, 70 eV): *m/z* (%) = 160 (3.7) [M<sup>+</sup> + 1], 142 (1) [M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O], 113 (12.5), 101 (23.6), 100 (35.5), 83 (28.7), 72 (100) [C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>].

C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub> · 0.25 H<sub>2</sub>O (163.6) Ber. C 44.05 H 5.85 N 8.56  
Gef. C 44.04 H 5.93 N 8.18

**Fagomin (1,2,5-Tridesoxy-1,5-imino-D-arabino-hexitol) (7)**: 7.5 mg (126 μmol) Essigsäure in 5 ml Wasser und 25 mg Palladium auf Kohle (10% Pd) werden 10 min bei 80 bar hydriert, dann gibt man 20.6 mg (126 μmol) **4** in 2 ml Wasser dazu und hydriert 16 h bei 80 bar und Raumtemp. Man filtriert das Reaktionsgemisch über Cellit, wäscht mit 10 ml Wasser nach und engt das Filtrat ein. Der Rückstand wird in wenig Wasser gelöst und auf Dowex 50W-X8 (H<sup>+</sup>) aufgetragen (Säule 2 cm × 10 cm). Man eluiert 10 min mit Wasser, dann mit 2 N Ammoniak-Lösung und sammelt die drehwertaktiven Fraktionen (Detektion bei 365 nm); Ausb. 12.9 mg (70%), Schmp. 183°C [Lit.<sup>[6b]</sup> 178–182°C, Lit.<sup>[6c]</sup> 180–184°C], [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +22.6 (*c* = 0.59, D<sub>2</sub>O) [Lit.<sup>[6a,b]</sup> +21.6 (*c* = 0.36, H<sub>2</sub>O), Lit.<sup>[6c]</sup> +24.7 (*c* = 0.4, H<sub>2</sub>O)]. — <sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O): δ = 1.45 (ddd, *J*<sub>2,2</sub> = -12.8 Hz, 1H, 2-H), 1.98 (ddd, 1H, 2-H), 2.55 (ddd, 1H, 5-H), 2.65 (ddd, 1H, 1-H), 3.02 (ddd, 1H, 1-H), 3.17 (d, *J*<sub>3,4</sub> = 9.5 Hz, *J*<sub>4,5</sub> = 9.5 Hz, 1H, 4-H), 3.53 (ddd, 1H, 3-H), 3.63 (dd, *J*<sub>5,6</sub> = 6.5 Hz, *J*<sub>6,6</sub> = -11.7 Hz, 1H, 6-H), 3.85 (dd, *J*<sub>5,6</sub> = 2.8 Hz, 1H, 6-H).

C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub> Ber. 147.0895 Gef. 147.0897 (massenspektrometr.)

[1] 12. Mitteilung: F. Effenberger, V. Null, T. Ziegler, *Tetrahedron Lett.*, im Druck.

[2] V. Null, Teil der Dissertation, Univ. Stuttgart, 1992.

[3] [3a] E. Truscheit, W. Frommer, B. Junge, L. Müller, D. D. Schmidt, W. Wingender, *Angew. Chem.* **1981**, *93*, 738–755; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1981**, *20*, 744–761. — [3b] A. M. Scofield, L. E. Fellows, R. J. Nash, G. W. J. Fleet, *Life Sci.* **1986**, *39*, 645–650. — [3c] L. E. Fellows, G. W. J. Fleet in *Natural Products Isolation*, (Hrsg.: G. H. Wagman, R. Cooper), Elsevier, Amsterdam, **1989**, S. 539.

[4] [4a] T. Ziegler, A. Straub, F. Effenberger, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 737–738; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 716–717. — [4b] A. Straub, F. Effenberger, P. Fischer, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3926–3932. — [4c] J. R. Durwachter, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 4175–4181. — [4d] R. L. Pederson, M.-J. Kim, C.-H. Wong, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 4645–4648.

[5] M. Koyama, T. Aijima, S. Sakamura, *Agric. Biol. Chem.* **1974**, *38*, 1467–1469.

[6] [6a] G. W. J. Fleet, P. W. Smith, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 1469–1472. — [6b] G. W. J. Fleet, L. E. Fellows, P. W. Smith, *Tetrahedron* **1987**, *43*, 979–990. — [6c] S. V. Evans, A. R. Hayman, L. E. Fellows, T. K. M. Shing, A. E. Derome, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 1465–1468.

[7] [7a] C. H. von der Osten, A. J. Sinskey, C. F. Barbas, R. L. Pederson, Y.-F. Wang, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3924–3927. — [7b] R. L. Pederson, C.-H. Wong, *Heterocycles* **1989**, *28*, 477–480.

[8] N. F. Albertson, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 2594–2599.

[9] V. Null, Diplomarbeit, Univ. Stuttgart, 1989.

[10] G. B. Payne, P. H. Deming, P. H. Williams, *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 659–663.

[11] F. Dickens, H. Williamson, *Biochem. J.* **1958**, *68*, 74–81.

[12] F. Paoletti, *Arch. Biochem. Biophys.* **1983**, *222*, 489–496.

[140/92]

## CAS-Registry-Nummern

**1**: 143706-30-3 / (*R/S*)-**2**: 143706-31-4 / (*S*)-**2**: 143839-26-3 / **3**: 3369-79-7 / **4**: 143706-32-5 / **7**: 53185-12-9 / 2-(Diethoxymethyl)oxiran: 101226-12-4 / Hefe-Transketolase: 9014-48-6