

Bemerkenswert an der Struktur von **4a** sind zum einen die großen Diederwinkel innerhalb der beiden Butadieneinheiten – die Winkel C6-C5-C9-C10 und C14-C13-C17-C18 (Abb. 1) betragen 84 bzw. 83° – und zum anderen der Torsionswinkel von 48° zwischen den beiden C₆H₅SnC₆H₅-Ebenen; beides Indizien für die Spannung im Sechsring. Die zentralen Bindungen der Butadieneinheiten, innerhalb derer keine Konjugation besteht, sind 1.522(10) (C13-C17) und 1.517(10) Å (C5-C9) lang.

Im Gegensatz zur analogen Dischwefelverbindung **4** (X = S, R = CH₃)^[3] reagiert **4a** nicht mit 4-Phenyl-1,2,4-triazol-3,5-dion in einer [4 + 2]-Cycloaddition. Wahrscheinlich ist die coplanare Einstellung der Isopropylidengruppen durch die Sn-Methylgruppen zusätzlich erschwert.

Arbeitsvorschrift

4a: Zu 11.0 g (0.05 mol) Dichlordimethylstannan (Merck) in 50 mL Diethylether werden bei 0°C 55 mL einer 1.0 molaren Lösung von **2a** in 450 mL Diethylether binnen 2 h unter Rühren getropft. Nach der wäßrigen Aufarbeitung wird der Rückstand destilliert (135–145°C/0.01 Torr). Nach Zusatz von *n*-Hexan kristallisiert **4a** bei –25°C. Abschließend wird aus *n*-Hexan umkristallisiert. Ausbeute laut GC: 45% (Standard: *trans*-Stilben); Reinausbeute: 2.3 g (18%); Fp = 195–196°C; korrekte C,H-Analyse.

Eingegangen am 19. Oktober 1987 [Z 2479]

CAS-Registry-Nummern:

2a: 96445-43-1 / **4a:** 112897-93-5 / (C₁₄H₁₅)₂SnCl₂: 753-73-1.

[1] A. Maercker, R. Dujardin, *Angew. Chem.* 97 (1985) 612; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 571.

[2] A. Maercker, R. Dujardin, F. Brauers, *Organomet. Synth.* 4 (1988), im Druck.

[3] W. Ando, Y. Hanyu, T. Takata, K. Ueno, *Tetrahedron Lett.* 26 (1985) 3019.

[4] **4a:** Kristallgröße 0.5 mm × 0.5 mm × 0.2 mm, Raumgruppe P2₁/c, *a* = 19.824(3), *b* = 15.219(3), *c* = 17.196(9) Å, β = 114.13(2)°, *V* = 4734.7 Å³, *Z* = 8, ρ_{ber} = 1.44 g cm⁻³, ρ_{beob.} = 1.43 g cm⁻³, Mo_{Kα}, Meßtemperatur 20°C, maximaler Winkel θ_{max} = 30°, 5098 Reflexe gemessen, 3905 beobachtet (*I* > 3σ(*I*)), 398 Parameter, *R* = 0.047. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Energie, Physik, Mathematik GmbH, D-7514 Eggenstein-Leopoldshafen 2, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-52748, der Autoren und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.

[5] Verwendete Säulen: Bakerbond Chiral (DNBPG-Covalent) HPLC-Säule (J. T. Baker Research Products, Phillipsburg, NJ, USA), EC 250/8/4 Cel-Ac-40XF (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren).

Reduktion mit Hefezellen, der Schlüsselschritt einer effizienten Synthese von (3*S*,4*S*)-4-Amino-3-hydroxypentansäuren**

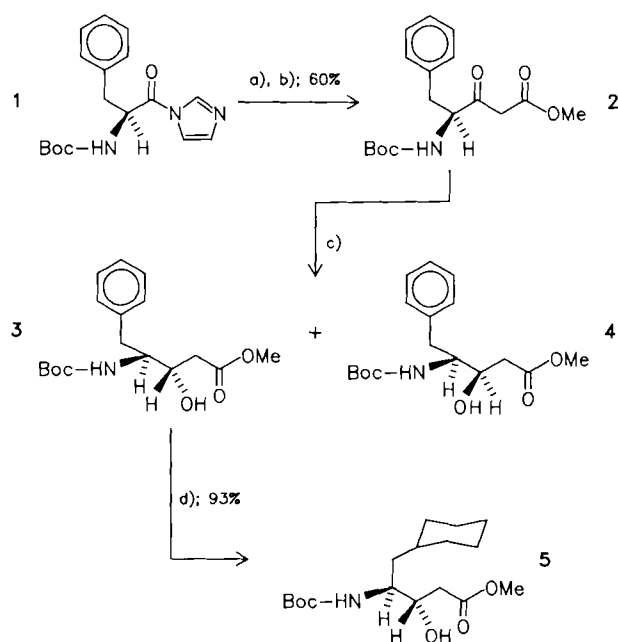
Von Peter Raddatz, Hans-Eckart Radunz*,
Günther Schneider und Harry Schwartz

Pepstatin^[1], ein von H. Umezawa isoliertes Pentapeptid, enthält die ungewöhnliche γ-Aminosäure Statin ((3*S*,4*S*)-4-Amino-3-hydroxy-6-methylheptansäure). Statin und Statin-Analoga sind zentrale Bausteine vieler hochwirksamer, spezifischer Aspartylprotease-Inhibitoren, unter anderem auch von Renin-Inhibitoren^[2], die als blutdrucksenkende Medikamente interessant sind. Kinetische Studien haben gezeigt, daß die Hydroxygruppe in Statinen *S*-konfiguriert

sein muß, die Kohlenstoffkette an C-4 jedoch chemisch modifiziert werden kann^[3].

Wünschenswert ist eine flexible, diastereoselektive Statin-Synthese, die von leicht zugänglichen Edukten ausgeht. Bisher publizierte Synthesen^[4] erfüllen diese Voraussetzungen nicht oder nur teilweise.

Bei der hier vorgestellten Statin-Synthese kann prinzipiell von jeder α-Aminosäure ausgegangen werden. Diese wird mit einem Malonesterbaustein umgesetzt, und der resultierende γ-Amino-β-ketoester kann mit bestimmten Hefen diastereoselektiv zum β-Hydroxyderivat reduziert werden. Dieses Vorgehen sei am Beispiel der Synthese von (3*S*,4*S*)-*N*-Boc-4-amino-3-hydroxy-5-cyclohexylpentansäuremethylester **5** beschrieben (Schema 1). Der entscheidende Schritt ist die stereoselektive Reduktion von **2**, das aus *N*-Boc-L-phenylalanin-imidazolid **1** und dem Magnesiumenolat des Malonsäuremonomethylesters^[4b] entsteht, zu dem an C-3 *S*-konfigurierten Alkohol **3**. Die katalytische Hydrierung von **2** mit Raney-Nickel lieferte ein 1 : 1-Gemisch der diastereomeren Alkohole **3** und **4**. Selbst mit komplexen, sterisch anspruchsvollen Hydriden entstand keines der Diastereomere deutlich bevorzugt. Um das Verhältnis zugunsten eines der Diastereomere zu verschieben, wurde die Reduktion des β-Ketoesters **2** mit Bäckerhefe versucht^[5]. Die Umsetzungen mit käuflicher Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*) waren nur unvollständig (30 bis 50%), aber immerhin entstand das gewünschte 3*S*,4*S*-Diastereomer **3** mit 60% *de*.



Schema 1. Synthese von **5**. a) HO₂C-CH₂-CO₂Me, *i*PrMgBr; b) 15proz. HCl; c) Reduktion mit Hefe; d) Rh/Al₂O₃. Boc = *tert*-Butoxycarbonyl. Physikalische und spektroskopische Daten von **2**–**5** siehe Tabelle 1.

Da sich Bäckerhefe je nach Herkunft und Stamm als Reagens verschieden verhält, wurde versucht, durch Verwendung von Reinkulturen ausgewählter Hefestämme der Gattungen *Kloeckera*, *Hansenula*, *Candida* und *Torulopsis*^[6] eine bessere Stereoselektivität zu erzielen. Lediglich fünf von 74 getesteten Hefestämmen reduzierten den β-Ketoester **2** vollständig. Vier Stämme, darunter *Hansenula anomala*, bildeten das 3*S*,4*S*-Diastereomer **3** mit 92% *de*, während von der Hefe *Candida boidinii* vorwiegend das 3*R*,4*S*-Diastereomer **4** gebildet wurde (90% *de*). Weitere

[*] Dr. H.-E. Radunz, Dr. P. Raddatz, G. Schneider
E. Merck

Leitung Pharmazeutische Chemie
Frankfurter Straße 250, D-6100 Darmstadt

Dr. H. Schwartz

E. Merck

Zentrale Forschung und Entwicklung Chemie
Frankfurter Straße 250, D-6100 Darmstadt

[**] Herrn Dr. M. Heinrich danken wir für die Durchführung der Fermentation, Herrn O. Kaser für die experimentelle Mitarbeit.

Optimierungsversuche mit ruhenden Zellen der Hefe *Hansenula anomala* während der Fermentation von Glucose ergaben, daß der β -Ketoester **2** annähernd quantitativ reduziert wird, wenn die Glucosekonzentration 10%, die Hefekonzentration 1% und die Substratkonzentration 0.1% betragen; dies gilt für Probenvolumina von 100 mL bis 1000 L. Im Labormaßstab (100 mg bis 1 g) wurde **2** – unabhängig davon, ob intakte Zellen, in Polyacrylamid-Gel immobilisierte Zellen^[7] oder zellfreie Rohextrakte des Stammes *Hansenula anomala* eingesetzt wurden – nahezu vollständig reduziert (Umsatz 90 bis 95%).

Tabelle 1. Ausgewählte physikalische und spektroskopische Daten der Verbindungen **2**–**5** [a]. $[\alpha]_D^{25}$ -Werte mit $c \sim 0.68$ bis 1.26 g/100 mL Methanol. 500MHz-¹H-NMR-Spektren ([D₂O]/DMSO, Kopplungskonstanten J in Hz).

2 : $F_p = 91^\circ\text{C}$ (Petrolether/Methyl- <i>tert</i> -butylether); $[\alpha]_D^{25} = -64.8^\circ$; ¹ H-NMR: $\delta = 1.35$ (s, 9H; C(CH ₃) ₃), 2.73 (dd, $J = 10.2, 14$, 1H; CH ₂ Ph), 3.06 (dd, $J = 4.6, 14$, 1H; CH ₂ Ph), 3.26 (br. s, 2H; CH ₂ CO), 3.65 (s, 3H; OCH ₃), 4.25 (m, 1H; CHN), 6.85 (br. m, 1H; NH), 7.25 (m, 5H; C ₆ H ₅)
3 : $F_p = 99^\circ\text{C}$ (Diisopropylether); $[\alpha]_D^{25} = -35.4^\circ$; ¹ H-NMR: $\delta = 1.32$ (s, 9H; C(CH ₃) ₃), 2.30 (dd, $J = 9.2, 15$, 1H; CH ₂ CO), 2.5 (dd, $J = 4, 15$, 1H; CH ₂ CO), 2.60 (dd, $J = 9.5, 13$, 1H; CH ₂ Ph), 2.84 (dd, $J = 5.3, 13$, 1H; CH ₂ Ph), 3.55 (s, 3H; OCH ₃), 3.68 (m, 1H; CHN), 3.9 (m, 1H; CHOH), 4.9 (br. d, $J = 7, 1$ H; OH), 6.48 (br. d, $J = 7.5, 1$ H; NH), 7.23 (m, 5H; C ₆ H ₅)
4 : $F_p = 139^\circ\text{C}$ (Methyl- <i>tert</i> -butylether); $[\alpha]_D^{25} = -17.1^\circ$; ¹ H-NMR: $\delta = 1.25$ (s, 9H; C(CH ₃) ₃), 2.30 (dd, $J = 9.3, 15$, 1H; CH ₂ CO), 2.55 (m, 2H; CH ₂ CO, CH-Ph), 3.05 (dd, $J = 3.5, 14$, 1H; CH ₂ Ph), 3.52 (m, 1H; CHN), 3.6 (s, 3H; OCH ₃), 3.80 (m, 1H; CHOH), 5.07 (br. d, $J = 7, 1$ H; OH), 6.61 (br. d, $J = 8, 1$ H; NH), 7.22 (m, 5H; C ₆ H ₅)
5 : $F_p = 69^\circ\text{C}$ (Petrolether); $[\alpha]_D^{25} = -36.5^\circ$; ¹ H-NMR: $\delta = 0.7$ – 1.3 (m, 8H), 1.42 (s, 9H; C(CH ₃) ₃), 1.5–1.85 (m, 5H), 2.25 (dd, $J = 9.2, 15$, 1H; CH ₂ CO), 2.45 (dd, $J = 4, 15$, 1H; CH ₂ CO), 3.55 (m, 1H; CHN), 3.60 (s, 3H; OCH ₃), 3.85 (m, 1H; CHOH), 4.75 (br. d, $J = 7, 1$ H; OH), 6.25 (d, $J = 7.5, 1$ H; NH)

[a] Von allen Verbindungen wurden korrekte Elementaranalysen erhalten.

Das für kleine Mengen optimierte Verfahren wurde dann auf größere Substratmengen (50 g bis 1000 g) übertragen. Von 50 g **2** waren nach 48stündiger Inkubation 96% reduziert; das Verhältnis der Alkohole **3** und **4** betrug 23:1. Nach Aufarbeitung und Umkristallisation aus Diisopropylether erhielten wir 35 g **3** mit 98% *de*. Anschließend Umkristallisation aus Cyclohexan erhöhte den Diastereomerenüberschuß auf >99%.

Arbeitsvorschrift

Zur Gewinnung von Zellmasse wurden Hefen der Gattung *Hansenula* unter sterilen Bedingungen in 100-L-Fermentern unter ständiger Belüftung bei 28°C in einem Medium aus 2% Glucose, 0.3% Malzextrakt, 0.3% Hefeeextrakt und 0.5% Pepton aus Casein kultiviert. Die Zellen wurden nach Erreichen der stationären Wachstumsphase über einen Separator vom Medium getrennt und mit kalter 0.9proz. NaCl-Lösung gewaschen. Die Reduktion erfolgte in einem 100-L-Fermenter bei 28°C. In 50 L 10proz. Glucoselösung wurden 500 g Hefen (Naßgewicht) suspendiert. Nach einsetzender Gärung wurde 50 g β -Ketoester **2**, gelöst in 500 mL Ethanol, zugesetzt. Inkubiert wurde 48 Stunden unter ständigem Rühren (200 U min⁻¹) und ständiger leichter Belüftung.

Zur Fällung wurde die Hefesuspension zweimal mit Dichlormethan (insgesamt 35 L) versetzt und eine Stunde gerührt. Die abgetrennte organische Phase wurde über Kieselgur filtriert und das Filtrat über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde der Rückstand aus 500 mL Diisopropylether umkristallisiert.

Die Enantiomerenreinheit wurde über die MTPA-Amide **8** von **3** (MTPA = α -Methoxy- α -trifluormethylphenyllessigsäure) HPL-chromatographisch und NMR-spektroskopisch bestimmt und ergab >98% *ee*. Die anschließende Hydrierung des Benzolrings von **3** mit Rh auf Al₂O₃ in Methanol lieferte in 93% Ausbeute **5** [9].

Eingegangen am 28. September 1987 [Z 2447]

[1] H. Umezawa, T. Aoyagi, H. Morishima, M. Matzusaki, H. Hamada, T. Takeuchi, *J. Antibiot.* **23** (1970) 259.

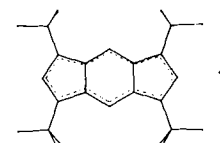
[2] a) D. H. Rich, *J. Med. Chem.* **28** (1985) 264; b) S. Thaisrivongs, D. T. Pats, W. M. Kati, S. R. Turner, L. M. Thomasco, *ibid.* **28** (1985) 1553;

- c) T. L. Blundell, B. L. Sibanda, A. Hemmings, S. F. Foundling, I. J. Tickle, L. H. Pearl, S. P. Wood, A. S. V. Burgen, G. C. K. Roberts, M. S. Tute (Hrsg.), *Molecular Graphics and Drug Design*, Elsevier, Amsterdam 1986, S. 323.
- [3] D. H. Rich, E. T. O. Sun, *J. Med. Chem.* **23** (1980) 27.
- [4] a) D. H. Rich, E. T. Sun, A. S. Boparai, *J. Org. Chem.* **43** (1978) 3624; b) R. Steulmann, H. Klostermeyer, *Justus Liebig's Ann. Chem.* **1975**, 2245; c) M. W. Holladay, F. G. Salituro, D. H. Rich, *J. Med. Chem.* **30** (1987) 374; d) S. Danishefsky, S. Kobayashi, J. F. Kerwin, Jr., *J. Org. Chem.* **47** (1982) 1981; e) P. W. K. Woo, *Tetrahedron Lett.* **26** (1985) 2973; f) M. N. Dufour, P. Jouin, A. Pantaloui, B. Castro, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1985**, 1985; g) H. Kogen, T. Nishi, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1987**, 311.
- [5] a) H.-U. Reißig, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **34** (1986) 782; b) C. J. Sih, C.-S. Chen, *Angew. Chem.* **96** (1984) 556; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **23** (1984) 570; c) D. Seebach, M. A. Sutter, R. H. Weber, M. F. Züger, *Org. Synth.* **63** (1985) 1; d) D. W. Brooks, M. Wilson, M. Webb, *J. Org. Chem.* **52** (1987) 2244; e) D. W. Brooks, R. P. Kellogg, C. S. Cooper, *ibid.* **52** (1987) 192; f) M. Hirama, T. Nakamine, Shō Ito, *Tetrahedron Lett.* **27** (1986) 5281; g) M. Soukup, B. Wipf, E. Hochuli, H. G. W. Leuenberger, *Helv. Chim. Acta* **70** (1987) 232.
- [6] a) Y. Takaishi, Y.-L. Yang, D. DiTullio, C. J. Sih, *Tetrahedron Lett.* **23** (1982) 5489; b) R. N. Patel, C. T. Hou, A. I. Laskin, P. Derelanko, A. Felix, *Eur. J. Biochem.* **101** (1979) 401; c) D. Buisson, R. Azerad, *Tetrahedron Lett.* **27** (1986) 2631.
- [7] I. Chibata, T. Tosa, T. Sato, *Appl. Microbiol.* **27** (1974) 878.
- [8] J. A. Dale, D. L. Dull, H. S. Mosher, *J. Org. Chem.* **34** (1969) 2543.
- [9] J. Boger, L. S. Payne, D. S. Perlow, N. S. Lohr, M. Poe, E. H. Blaine, E. H. Ulm, T. W. Schorn, B. I. LaMont, D. F. Veber, *J. Med. Chem.* **28** (1985) 1779.

Gleichgewichtsstruktur, stabilisierter Übergangszustand oder Fehlordnung im Kristall? – Tieftemperatur-Kristallstrukturanalysen der antiaromatischen Systeme Tetra-*tert*-butyl-*s*-indacen und Tetra-*tert*-butylcyclobutadien**

Von Jack D. Dunitz*, Carl Krüger, Hermann Irngartinger, Emily F. Maverick, Yu Wang und Matthias Nixdorf

Die Röntgenstrukturanalyse von 1,3,5,7-Tetra-*tert*-butyl-*s*-indacen **1** bei Raumtemperatur^[1] ergibt eine effektive D_{2h}-Symmetrie des Kohlenstoffgerüsts. Die Beobachtung,



daß für die zwölf Perimeter-C-Atome von **1** lediglich vier ¹³C-NMR-Signale auftreten, die sich auch bei Abkühlung bis –130°C nicht wesentlich verbreitern, läßt sich entweder mit einer sehr niedrigen Energiebarriere zwischen den

[*] Prof. Dr. J. D. Dunitz.

Laboratorium für Organische Chemie der Eidgenössischen Technischen Hochschule Universitätstrasse 16, CH-8092 Zürich (Schweiz)

Prof. Dr. C. Krüger

Max-Planck-Institut für Kohlenforschung Kaiser-Wilhelm-Platz 1, D-4330 Mülheim a. d. Ruhr

Prof. Dr. H. Irngartinger, Dr. M. Nixdorf Organisch-chemisches Institut der Universität Im Neuenheimer Feld 270, D-6900 Heidelberg 1

Prof. Dr. E. F. Maverick Los Angeles City College Los Angeles, CA 90029 (USA)

Prof. Dr. Y. Wang Department of Chemistry, National Taiwan University Roosevelt Road, Section 4, Taipei (Taiwan)

[**] Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken Herrn K. H. Claus (Mülheim) für experimentelle Assistenz.