



Chemical Education

A CHIMIA Column

Topics for Teaching: Chemistry in Nature

L-2-Amino-3-phosphonopropionsäure (AP-3): ein bedeutendes Phosphor-Analogon der L-Asparaginsäure

Carsten A. Vock*

*Korrespondenz: Dr. C. A. Vock, E-Mail: carsten.vock@univie.ac.at; ^aDepartment für Ernährungswissenschaften, Fakultät für Lebenswissenschaften, Universität Wien, Althanstr. 14 (UZA II), A-1090 Wien; ^bFakultät für Chemie, Universität Wien, Währinger Str. 38-42, A-1090 Wien.

Abstract: Im Artikel werden didaktisch nützliche Informationen zu Eigenschaften, (Bio)synthese und Anwendungen der L-2-Amino-3-phosphonopropionsäure (AP-3) zusammengestellt. Das Material ist zur Ergänzung chemischer Grundlagenvorlesungen im Hochschulbereich, aber ggf. auch für spezialisierte Unterrichtseinheiten gedacht und einsetzbar.

Keywords: Aminosäuren · Chemical Education · Phosphororganische Verbindungen · Biosynthese

gewidmet Prof. Dr. Joachim W. Heinicke aus Anlass seines 75. Geburtstages

Aminosäuren sind aufgrund der ungeheuren Bedeutung der aus ihnen aufgebauten Eiweiße / Proteine unverzichtbarer Gegenstand chemischer Grundlagen-Lehrveranstaltungen. Als Fortführung unserer aktuellen Bemühungen, die beschränkte Menge der 20 sogenannten kanonischen proteinogenen (= proteinbildenden) Aminosäuren im Chemieunterricht durch Beispiele interessanter nicht-proteinogener Aminosäuren zu erweitern,^[1,2] sollen nachfolgend didaktisch nutzbare Informationen über 2-Amino-3-phosphonopropionsäure **1** (Abb. 1) präsentiert werden.

Aminosäure **1** ist ein kleines Molekül ($M = 169,07 \text{ g/mol}$) mit einer sehr hohen Dichte an polaren funktionellen Gruppen; die Titrationskurve einer salzsauren Lösung der dreiprotonigen Säure mit 0.1 N NaOH -Lösung wurde von Chambers und Isbell detailliert inklusive aller wichtigen Kenngrößen beschrieben.^[3] **1** gehört zu einer kleinen, aber durch Neuentdeckungen stetig wachsenden Gruppe von Naturstoffen, die eine Phosphor-Kohlenstoff-Bindung enthalten.^[4] Nachdem die decarboxylierte Form von **1** – die auch als Ciliatin bezeichnete 2-Aminoethanphosphonsäure **2** (Abb. 1) – bereits im Zeitraum 1959–1962 nacheinander aus einem Gemisch von Protozoen aus dem Pansen von Schafen,^[5] aus Seeanemonen^[6] und dem Wimperntierchen (Einzeller) *Tetrahymena pyriformis*^[7] erhalten worden war, konnte **1** erstmalig im Jahr 1964 aus der Krustenanemone *Zoanthus sociatus* und *Tetrahymena pyriformis* isoliert werden.^[8] **1** wurde auch im Menschen in Leber, Milz und Darm in protein- und lipidgebundener Form nachgewiesen,^[9] **2** sogar im menschlichen Gehirn.^[10] Daher ist davon auszugehen, dass **1** und **2** bzw. ihre Konjugate auch humanphysiologische Bedeutung haben.

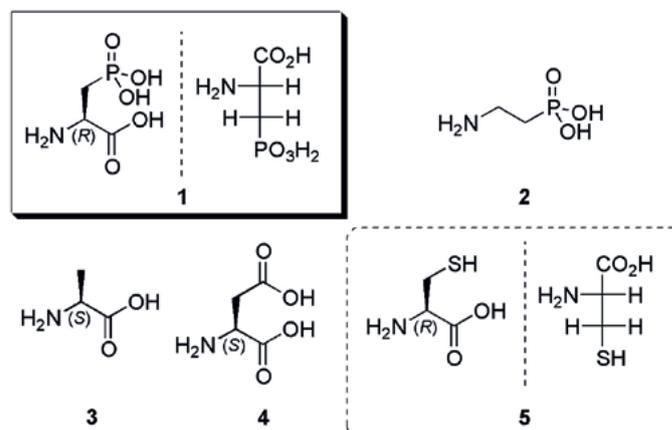


Abb. 1. Strukturformeln (1–5) und Fischer-Projektionen (1,5) für L-2-Amino-3-phosphonopropionsäure **1**, 2-Aminoethanphosphonsäure (Ciliatin) **2**, L-Alanin **3**, L-Asparaginsäure **4** und L-Cystein **5** (zwitterionische und unter physiologischen Bedingungen vorliegende ionische Formen sind aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht dargestellt).

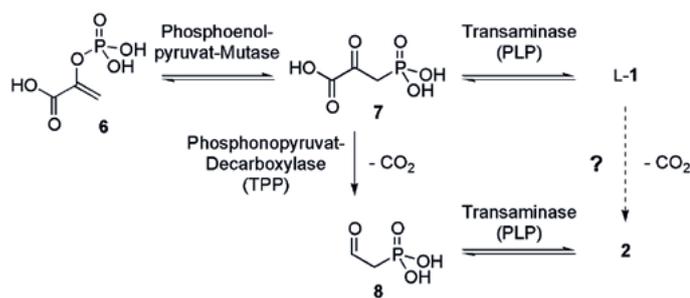
Für **1** sind in der Literatur unterschiedliche Namen gebräuchlich: in chemisch-synthetischen Arbeiten wird am häufigsten die der systematischen Nomenklatur nahezu entsprechende Bezeichnung 2-Amino-3-phosphonopropionsäure (AP-3) verwendet.^[3,11] Die in biochemischen Arbeiten oft genannte Bezeichnung 3-Phosphonoalanin^[4] impliziert eine (in Wirklichkeit nicht vorhandene) Ähnlichkeit der Eigenschaften zur unpolaren proteinogenen Aminosäure L-Alanin **3** (Abb.1) und ist deshalb teilweise irreführend. L-**1** kann eher als strukturelles Analogon der L-Asparaginsäure **4**, (Abb. 1) aufgefasst werden.^[12,13] Das Phosphoratom in **1** weist allerdings eine tetraedrische, das entsprechende Carboxyl-Kohlenstoffatom in **4** eine trigonal-planare Umgebung auf.

1 ist somit kein Bioisoster^[2] von **4** im eigentlichen Sinne, sondern ein stabiles Analogon des tetraedrischen Übergangszustands bei der Bildung und Hydrolyse von Ester- und Amidbindungen^[14,15] oder allgemeiner von S_N2 -Reaktionen. Aus der strukturellen und funktionellen Ähnlichkeit von **1** und **4** ist erstaunlicherweise kein allgemein verwendeter Name entstanden.

1 weist eine stereochemische Besonderheit auf, die bei der Bearbeitung des Kanons der proteinogenen Aminosäuren in Lehrveranstaltungen geschickt zur Überprüfung des Verständnisses der Stereochemie eingesetzt werden kann. Generell zeigt sich für die proteinogenen L-Aminosäuren (D,L-Nomenklatur nach Fischer) eine Korrelation mit der S-Konfiguration (Absolutkonfiguration nach Cahn, Ingold und Prelog \rightarrow CIP-Regeln) des α -Stereozen-trums.^[16] Die einzige Ausnahme ist L-Cystein **5** (Abb. 1, gestrichelte

Umrahmung), da hier bei der Anwendung der CIP-Regeln dem Stereozentrum aufgrund der höheren Ordnungszahl des Schwefels im Vergleich mit den Sauerstoffatomen der Carboxylgruppe eine *R*-Konfiguration zuzuweisen ist.^[16] Aminosäure **1** weist die gleiche Besonderheit wie **5** auf und ist daher als anschauliche Ergänzung für die Ausnahme **5** im Chemieunterricht einsetzbar.

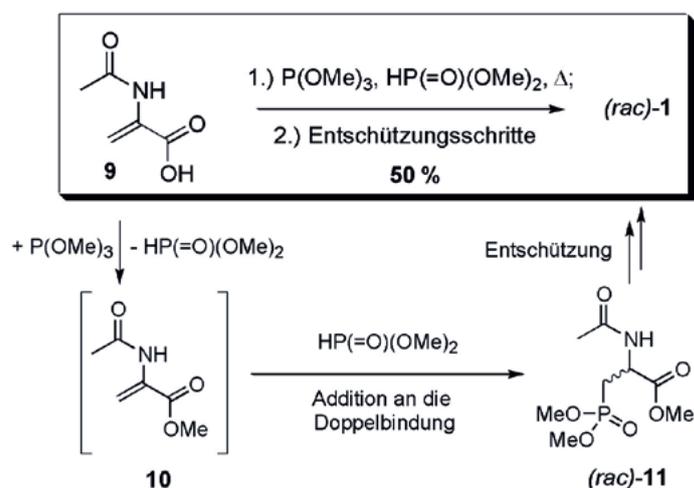
Die vereinfachte Biosynthese von **1** und **2** ist in Schema 1 dargestellt. Die anabolen (= substanzaufbauenden) Schritte sind dabei vor allem in den produzierenden Organismen (Einzeller, Seeanemonen *etc.*) zu finden, während die katabolen (= substanzabbauenden) Schritte hauptsächlich in verwertenden Bakterien auftauchen. Startpunkt ist das aus dem Glucosestoffwechsel (\rightarrow Glykolyse) stammende Phosphoenolpyruvat **6**. Dieses wird durch das Enzym Phosphoenolpyruvat-Mutase reversibel in 3-Phosphonopyruvat **7** umgewandelt, wobei die in der Natur recht ungewöhnliche Phosphor-Kohlenstoffbindung realisiert wird. Unter Einwirkung des Enzyms Phosphonopyruvat-Decarboxylase (Cofaktor: Thiaminpyrophosphat, TPP) erfolgt die Decarboxylierung von **7** zu 2-Phosphonoacetaldehyd **8**. Transaminasen (Cofaktor: Pyridoxal-5'-phosphat, PLP) bewirken schliesslich die reversible Bildung von **1** aus **7** bzw. **2** aus **8**. Eine direkte Decarboxylierung von **1** zu **2** – wie sie bereits bei der ersten Isolation von **1** von Kittredge und Hughes als wahrscheinlich postuliert wurde^[8] – ist bis heute nicht nachgewiesen.



Schema 1. Vereinfachte Darstellung der Biosynthese von **1** und **2** (modifiziert aus den Referenzen [4], [12] und [17]). Unter physiologischen Bedingungen vorliegende ionische Formen sind aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht dargestellt. (Abkürzungen: TPP – Thiaminpyrophosphat; PLP – Pyridoxal-5'-phosphat).

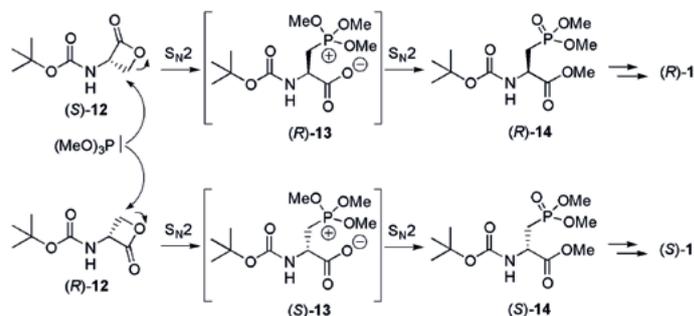
Zur Herstellung von **1** sind zahlreiche racemische und enantioselektive chemische Syntheseverfahren bekannt. Jeweils ein besonders anschauliches und daher zur Stärkung der eher unterrepräsentierten Phosphorchemie im chemischen Grundlagenunterricht geeignetes Beispiel soll nachfolgend dargestellt werden. Chambers und Isbell erhielten (*rac*)-**1** durch Erhitzen von 2-Acetamidopropensäure **9** mit einem Gemisch aus Trimethylphosphit $P(O)Me_3$ und Dimethylphosphonat $HP(=O)(OMe)_2$ und anschliessende Entfernung der Schutzgruppen (Schema 2).^[3] Laut Autoren verläuft die Reaktion wahrscheinlich über die primäre Bildung des Methylresters **10** durch Reaktion mit $P(O)Me_3$ und nachfolgende Addition des (gebildeten bzw. zugesetzten) Dimethylphosphonats an die Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung unter Bildung von (*rac*)-**11**; es sind aber durchaus auch andere Mechanismen vorstellbar (siehe nachfolgendes enantioselektives Synthesebeispiel).

Der vielleicht kürzeste und eleganteste Zugang zu den enantiomerenreinen Phosphonoaminoacids *L*-**1** und *D*-**1** wurde von



Schema 2. Synthese von (*rac*)-**1** nach Chambers und Isbell^[3]

Mitarbeitern der Firma Eli Lilly im Jahr 1990 beschrieben (Schema 3).^[11] Die streng nach S_N2 -Mechanismus ablaufende nucleophile Ringöffnung der *N*-geschützten Serin-Lactone (*S*)-**12** bzw. (*R*)-**12** durch $P(O)Me_3$ liefert über die Zwischenstufen (*S*)-**13** bzw. (*R*)-**13** die Phosphonsäureester (*S*)-**14** bzw. (*R*)-**14**, welche durch anschliessende Entschützung in die enantiomerenreinen Verbindungen *L*-**1** / (*R*)-**1** und *D*-**1** / (*S*)-**1** überführt werden können.

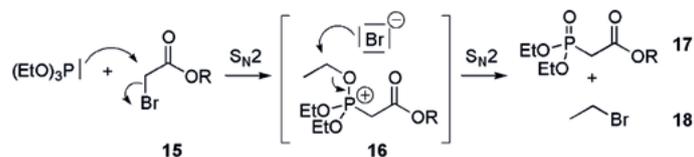


Schema 3. Stereospezifische Michaelis-Arbusov-Synthese von (*R*)-**1** und (*S*)-**1** nach Smith *et al.*^[11] Man beachte die Änderung der Absolutkonfiguration im ersten S_N2 -Schritt, obwohl keine nucleophile Substitution an einem Stereozentrum erfolgt!

Die im zweiten nucleophilen Substitutionsschritt erfolgende Übertragung der Methylgruppe (**13** \rightarrow **14**) dürfte wahrscheinlich nicht intramolekular, sondern intermolekular ablaufen. Wenn man eine direkte 1,4-Addition von $P(O)Me_3$ an Verbindung **9** annehmen würde (Schema 2), so erhielte man eine zu **13** (Schema 3) analoge Verbindung und könnte somit einen Mechanismus auch ohne Beteiligung von Dimethylphosphonat $HP(=O)(OMe)_2$ formulieren (siehe oben).

Die in Schema 3 gezeigte Umsetzung entspricht einer typischen (Michaelis)-Arbusov-Reaktion, die mit ihrem zweistufigen Mechanismus in Lehrveranstaltungen und in gängigen Lehrbüchern der Organischen Chemie oft als „doppelte S_N2 -Reaktion“ vermittelt wird. In diesem Zusammenhang werden aber meistens nur halogenhaltige Ausgangsmaterialien angeführt (siehe das in Schema 4 dargestellte Beispiel der Umsetzung eines α -Bromesters **15** mit $P(OEt)_3$ über Zwischenstufe **16** zu Triester

17 und Bromethan 18).^[18] Um die Übertragbarkeit der Alkylreste auch auf andere Nucleophile als Halogenid-Ionen zu veranschaulichen, kann die in Schema 3 gezeigte, auf den von Vederas und Mitarbeitern entwickelten Serin-Lactonen^[19,20] beruhende Syntheseroute daher im Chemieunterricht eine sinnvolle Ergänzung sein.



Schema 4. Typisches Lehrbuchbeispiel für eine Michaelis-Arbusov-Reaktion (R = Alkyl).^[16]

Bei der Untersuchung nicht-proteinogener Aminosäuren ist oftmals von Interesse, ob diese Verbindungen synthetisch in Proteine eingebaut werden können. Lohse und Felber konnten zeigen, dass dies für **1** per regulärer Festphasensynthese möglich ist.^[13] Lecouvey und Mitarbeiter stellten mittels klassischer nasschemischer Peptidsynthese eine kleine Bibliothek von Tripeptiden mit terminaler Phosphonoaminosäureinheit her und identifizierten **19** (Abb. 2) als potenten Organokatalysator in einem Testsystem für stereoselektive Michael-Additionen.^[21]

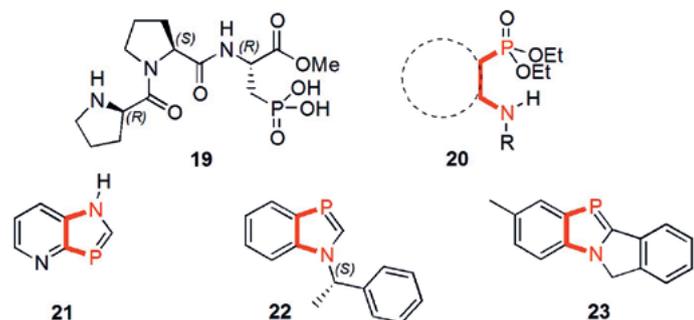


Abb. 2. Strukturformel des Phosphonoalanin-enthaltenden Tripeptids **19**;^[21] allgemeine Strukturformel **20** der von Heinicke und Mitarbeitern synthetisierten aromatischen Phosphonsäuren (gestrichelter Kreis: verschiedene anellierte aromatische Systeme; R = Alkyl, Aryl, Formyl, Acyl)^[22] sowie Strukturformeln der konkreten Beispiele **21**,^[23] **22**^[25] und **23**^[26] (rot hervorgehoben jeweils die dem Ciliatin **2** entsprechende PCCN-Einheit).

Heinicke und Mitarbeiter schliesslich verwendeten *ortho*-aminosubstituierte aromatische Phosphonsäureester (die auch als rigidifizierte Derivate von **2** betrachtet werden können) des allgemeinen Typs **20** (Abb. 2) zum Aufbau diverser *P,N*-heterocyclischer Systeme.^[21–26] Die Synthese der Phosphonsäureester **20** erfolgte zumeist über Pd-katalysierte Phosphonylierung von Halogenaromaten mit $P(OEt)_3$.^[23,24] Aus den Verbindungen **20** konnte dann ein breites Spektrum substituierter 1,3-Benzazaphosphole hergestellt werden, z. B. das Pyridin-anellierte Derivat **21**,^[23] die enantiomerenreine *N*-substituierte Verbindung **22**^[25] und das planare tetracyclische System **23**^[26] (Abb. 2).

Eingegangen: 15. Oktober, 2021

- [1] C. A. Vock, *CHIMIA* **2020**, *74*, 825, <https://doi.org/10.2533/chimia.2020.825>.
- [2] C. A. Vock, *CHIMIA* **2021**, *75*, 443, <https://doi.org/10.2533/chimia.2021.443>.
- [3] J. R. Chambers, A. F. Isbell, *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 832, <https://doi.org/10.1021/jo01027a015>.
- [4] G. P. Horsman, D. L. Zechel, *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 5704, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00536>.
- [5] M. Horiguchi, M. Kandatsu, *Nature* **1959**, *184*, 901, <https://doi.org/10.1038/184901b0>.
- [6] J. S. Kittredge, E. Roberts, D. Simonsen, *Biochemistry* **1962**, *1*, 624, <https://doi.org/10.1021/bi00910a013>.
- [7] M. Kandatsu, M. Horiguchi, *Agr. Biol. Chem. (Tokyo)*, **1962**, *26*, 721.
- [8] J. S. Kittredge, R. R. Hughes, *Biochemistry* **1964**, *3*, 991, <https://doi.org/10.1021/bi00895a026>.
- [9] S. A. Tan, L. G. Tan, *Clin. Phys. Biochem.* **1989**, *7*, 303.
- [10] J. A. Alhadeff, G. D. Daves, *Biochemistry* **1970**, *9*, 4866, <https://doi.org/10.1021/bi00827a006>.
- [11] E. C. R. Smith, L. A. McQuaid, J. W. Paschal, J. DeHoniesto, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4472, <https://doi.org/10.1021/jo00301a052>.
- [12] M. Vogt, Masterarbeit, Universität Wien, Österreich, **2015**, S.27-28.
- [13] P. A. Lohse, R. Felber, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2067, [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(98\)00189-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(98)00189-0).
- [14] R. Qian, Dissertation, Universität Wien, Österreich, **2014**, S. 1.
- [15] T. Stankovic, Masterarbeit, Universität Wien, Österreich, **2019**, S. 9.
- [16] H. Latscha, U. Kazmaier, H. A. Klein, 'Organische Chemie Chemie-Basiswissen II', 7. Auflage, Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2016**, S. 433-434.
- [17] E. Zangelmi, T. Stankovic, M. Malatesta, D. Acquotti, K. Pallitsch, A. Peracchi, *Biochemistry* **2021**, *60*, 1214, <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.1c00092>.
- [18] R. Brückner, 'Reaktionsmechanismen: organische Reaktionen, Stereochemie, moderne Synthesemethoden', Spektrum Akad. Verl. Heidelberg Berlin Oxford, **1996**, S. 319-320.
- [19] L. D. Arnold, T. H. Kalantar, J. C. Vederas, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 7105, <https://doi.org/10.1021/ja00310a058>.
- [20] L. D. Arnold, R. G. May, J. C. Vederas, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2237, <https://doi.org/10.1021/ja00215a038>.
- [21] M. Cortes-Clerget, O. Gager, M. Monteil, E. Migianu-Griffoni, J. Deschamp, M. Lecouvey, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2016**, *191*, 1593.
- [22] J. W. Heinicke, *Pure Appl. Chem.* **2019**, *91*, 761, <https://doi.org/10.1515/pac-2018-0705>.
- [23] M. S. S. Adam, O. Kühn, M. K. Kindermann, J. W. Heinicke, P. G. Jones, *Tetrahedron* **2008**, 7960, <https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.06.010>.
- [24] M. S. S. Adam, M. K. Kindermann, M. Köckerling, J. W. Heinicke, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 4655, <https://doi.org/10.1002/ejoc.200900698>.
- [25] M. Ghalib, P. G. Jones, S. Lysenko, J. W. Heinicke, *Organometallics* **2014**, *33*, 804, <https://doi.org/10.1021/om401184n>.
- [26] B. Niaz, F. Iftikhar, M. K. Kindermann, P. G. Jones, J. Heinicke, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2013**, 4220, <https://doi.org/10.1002/ejic.201300342>.