

Günter Losse und Hartmut Raue

Synthese von Stereoisomeren des Enniatins B

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Universität Dresden

(Eingegangen am 17. November 1967)

■
Ausgehend von der Synthese des Enniatins B wird der Aufbau seiner Stereoisomeren *all-L*-, *all-D*-Enniatin B und des Antipoden (Enantio-Enniatin B¹⁾) beschrieben.

■
Seit der Isolierung der Enniatine durch Plattner und Mitarbb.²⁾ ist diesen Depsipeptid-Antibiotika eine Vielzahl präparativer Arbeiten gewidmet worden³⁾. Über Struktur- aufklärung und Totalsynthese hinaus wurden analoge Verbindungen dargestellt, um Beziehungen zwischen Struktur und biologischer Wirkung aufzufinden. Erst kürzlich konnten Schemjakin und Mitarbb.¹⁾ im Enantio-Enniatin B das erste Beispiel dafür liefern, daß ein Naturstoff und sein Antipode das gleiche Wirkungsspektrum aufweisen können, wenn sie einander nicht nur im Charakter ihrer funktionellen Gruppierungen, sondern auch topologisch sehr ähnlich sind. Owschinnikow und Mitarbb.⁴⁾ haben zusätzlich über die Ergebnisse mikrobiologischer Untersuchungen an zehn Enniatin-B-Analoga berichtet. Ohne experimentelle Beschreibung der Synthese sind dort bereits die biologischen Aktivitäten von denjenigen Stereoisomeren des Enniatins B angeführt, die wir in letzter Zeit unabhängig von diesem Arbeitskreis aufgebaut haben. Wir berichten daher im folgenden nur über unsere synthetischen Ergebnisse.

1965 wiesen Studer und Mitarbb.⁵⁾ nach, daß die *N*-Methylgruppen für die Wirkung von Enniatin B essentiell sind. Hiervon ausgehend, sollten unsere Untersuchungen Aufschluß über die Abhängigkeit der antibiotischen Aktivität von der Konfiguration der Asymmetriezentren geben. Um die Grenzen der zu bestimmenden Konfigurationseinflüsse abzustecken, haben wir zunächst die Konfigurationen aller drei Amino- bzw. aller drei Hydroxysäure-Bausteine gleichzeitig geändert und neben Enniatin B und dem inzwischen von Schemjakin¹⁾ Enantio-Enniatin B genannten Isomeren mit

¹⁾ M. M. Schemjakin, J. A. Owschinnikow, W. T. Iwanow und A. W. Ewstratow, Nature [London] 213, 412 (1967).

²⁾ E. Gäumann, S. Roth, L. Ettliger, Pl. A. Plattner und U. Nager, Experientia [Basel] 3, 202 (1947); Pl. A. Plattner und U. Nager, ebenda 3, 325 (1947); Pl. A. Plattner, U. Nager und A. Boller, Helv. chim. Acta 31, 594 (1948).

³⁾ Zusammenfassende Übersicht: E. Schröder und K. Lübke, The Peptides, Volume II, S. 396ff., New York, London 1966.

⁴⁾ J. A. Owschinnikow und Mitarbb., Vorträge auf dem Allunions-Peptidsymposium der UdSSR, 18. bis 22. Mai 1967, in Riga.

⁵⁾ R. O. Studer, P. Quitt, E. Böhni und K. Vogler, Mh. Chem. 96, 461 (1965).

Nach der Hydrogenolyse der Benzyloxycarbonyl-Schutzgruppe vom Tetradeptid-Derivat wird nochmals mit dem entsprechenden [*N*-Benzyloxycarbonyl-*N*-methylvalyl]-hydroxyisovaleriansäure-chlorid verlängert. Auf dieser Stufe kristallisierten der *all*-*L*- und der *all*-*D*-Benzyloxycarbonyl-hexadepsipeptid-*tert*.-butylester glatt, während die säulenchromatographisch reinen Verbindungen *Z*-(*L*-MeVal-*D*-Hyv-)₃O*t*.Bu oder *Z*-(*D*-MeVal-*L*-Hyv-)₃O*t*.Bu nur als Öle zu erhalten waren. Die Acidolyse der Benzyloxycarbonylgruppe und des *tert*.-Butylesters auf der Hexadepsipeptidstufe führten wir zunächst durch 6stdg. Behandlung mit bromwasserstoffgesättigtem Eisessig aus. Reinere Acidolyseprodukte erhielten wir durch 1stdg. Einwirkung von Trifluoressigsäure, in die Bromwasserstoff eingeleitet wurde. Am günstigsten sind die Ausbeuten an Hexadepsipeptid-hydrobromiden, wenn vor der Acidolyse des *tert*.-Butylesters mit Trifluoressigsäure/Bromwasserstoff zunächst die *N*-Schutzgruppe hydrogenolysiert wird.

Die Cyclisierung der Hexadepsipeptid-hydrobromide nach der Methode von *Plattner*⁶⁾ oder *Schemjakin*⁸⁾ lieferte grundsätzlich gleichwertige Ergebnisse. Es traten auch keine Unterschiede in den Cyclisierungsausbeuten der beiden Diastereomerenpaare, cyclo-(*L*-MeVal-*D*-Hyv-)₃ und cyclo-(*D*-MeVal-*L*-Hyv-)₃ einerseits und dem *all*-*L*- und *all*-*D*-Isomeren andererseits auf. Dagegen beobachtet man vor allem bei stereoisomeren Peptidderivaten ausgeprägt differenzierte Cyclisierungstendenzen der linearen Vorstufen⁹⁾.

Zum Erkennen der Zwischen- und Endprodukte bei der adsorptionschromatographischen Reinigung haben wir deren Ultraviolettabsorption in Verbindung mit ultraviolettdurchlässigen Elutionsmitteln ausgenützt. Allgemein kommt man bei Verbindungen ohne adsorptionsaktive funktionelle Gruppen mit Gradientenelutionen der elutropen Reihe Cyclohexan – Methylenchlorid – 1,2-Dichlor-äthan – Isopropylalkohol am besten zum Ziel.

Die für das Synthesevorhaben benötigten Antipoden des α -Hydroxyisovaleriansäure-*tert*.-butylesters erhielten wir auf einem neuen Wege durch Racematspaltung der *O*-Acetylverbindung der Säure mit *D*- bzw. *L*- α -Phenyl-äthylamin. Die diastereomeren Salze der *O*-Acetylhydroxyisovaleriansäure-Antipoden zeigen ausreichende Löslichkeitsunterschiede in Aceton oder Methylenchlorid/Petroläther-Gemischen. Hierbei ist der letztgenannten Lösungsmittelkombination der Vorzug zu geben, weil sie die verlustlose Rückgewinnung der Spaltbase und des angereicherten Antipoden aus den Mutterlaugen gestattet. Nach dieser Methode läßt sich auch *O*-Acetyl-milchsäure mit hoher Ausbeute in die Antipoden spalten. Im Gegensatz zu optisch reiner Milchsäure ist *O*-Acetyl-*D*- bzw. -*L*-milchsäure beständig und gleichzeitig eine geeignete Vorstufe zur Darstellung der *tert*.-Butylester sowie von Depsipeptid-Derivaten.

⁸⁾ *M. M. Schemjakin, N. A. Aldanowa, E. J. Winogradowa und M. J. Feigina*, Izvest. Akad. nauk SSSR, Ot del. khim. nauk **1966**, 2143, C. A. **66**, 95381.

⁹⁾ *J. Beacham, V. T. Ivanow, G. W. Kenner und R. C. Sheppard*, Chem. Commun. **1965**, 386.

Beschreibung der Versuche

Die optischen Drehungen wurden mit einem Zeiss-Kreispolarmeter mit einer Genauigkeit von $\pm 0.05^\circ$ gemessen. Die Schmelzpunkte sind korrigiert.

Racematspaltungen

a) *Racematspaltung von DL-O-Acetyl- α -hydroxy-isovaleriansäure mittels α -Phenyl-äthylamin*: 16.0 g (0.1 Mol) *DL-O-Acetyl- α -hydroxy-isovaleriansäure*⁶⁾ wurden in 100 ccm Aceton zum Sieden erwärmt und mit 12.2 g (0.1 Mol) *D- α -Phenyl-äthylamin*¹⁰⁾ in 20 ccm Aceton versetzt. Nach 20stdg. Aufbewahren bei Raumtemperatur wurden 7.8 g (55%) *D- α -Phenyl-äthylammoniumsalz der L-O-Acetyl- α -hydroxy-isovaleriansäure* als farblose, verfilzte Kristallmasse isoliert, $[\alpha]_D^{25}$: -11.7° ($c = 1.1$; Äthanol); Schmp. 141–143°.

30.8 g (0.19 Mol) *DL-O-Acetyl- α -hydroxy-isovaleriansäure* wurden in 100 ccm Methylenchlorid bei 20° portionsweise mit 23.3 g (0.19 Mol) *D- α -Phenyl-äthylamin* in 60 ccm Methylenchlorid versetzt. Nach Zugabe von 320 ccm Petroläther (Sdp. 30–50°) wurde durch Reiben die Kristallisation eingeleitet. Nach 2tägigem Aufbewahren bei Raumtemperatur konnten 10.9 g (40%) *D- α -Phenyläthylammoniumsalz der L-O-Acetyl- α -hydroxy-isovaleriansäure* isoliert werden, $[\alpha]_D^{25}$: -11.5° ($c = 0.9$; Äthanol); Schmp. 143–145°.

Das Salz wurde in wenig Methylenchlorid unter Rühren mit der äquivalenten Menge 1 *n* HCl in absol. Äther versetzt. Vom ausgefallenen Phenyläthylammoniumchlorid wurde abgesaugt, das Filtrat i. Vak. eingedampft und der Rückstand bei 0.05 Torr fraktioniert. *L-O-Acetyl- α -hydroxy-isovaleriansäure*: Sdp. 90°/0.05 Torr; $[\alpha]_D^{25}$: -25.4° ($c = 6$; Äthanol)⁶⁾.

Analog wurde mit *L- α -Phenyl-äthylamin* das Salz der *D-O-Acetyl- α -hydroxy-isovaleriansäure* kristallisiert: $[\alpha]_D^{25}$: $+12.0^\circ$ ($c = 1$; Äthanol); Schmp. 142–143°.

Die aus diesem Salz freigesetzte *D-O-Acetyl- α -hydroxy-isovaleriansäure* zeigte Sdp. 90°/0.05 Torr; $[\alpha]_D^{25}$: $+24.6^\circ$ ($c = 6$; Äthanol)⁶⁾.

b) *Racematspaltung von DL-O-Acetyl-milchsäure mittels α -Phenyl-äthylamin*: 23.0 g (0.174 Mol) *DL-O-Acetyl-milchsäure*¹¹⁾ in 100 ccm Methylenchlorid wurden mit 21.1 g (0.174 Mol) *L- α -Phenyl-äthylamin*¹⁰⁾ in 50 ccm Methylenchlorid versetzt. Nach Zugabe von 300 ccm Petroläther und Reiben bis zur beginnenden Kristallisation wurde 2 Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt. Es konnten 15.3 g (70%) *L- α -Phenyläthylammoniumsalz der D-O-Acetyl-milchsäure* in farblosen, verfilzten Kristallen isoliert werden, $[\alpha]_D^{25}$: $+13.3^\circ$ ($c = 3$; Äthanol); Schmp. 147–149°.

Nach Freisetzen der *D-O-Acetyl-milchsäure* mit 1 *n* HCl in Äther, wie oben beschrieben, wurde i. Vak. destilliert: Sdp. 82°/0.1 Torr; $[\alpha]_D^{25}$: $+44.7^\circ$ ($c = 2$; Benzol).

Aus der Mutterlauge wurde mit 1 *n* HCl in Äther die angereicherte *L-O-Acetyl-milchsäure* freigesetzt. Ihre Umsetzung mit *D- α -Phenyl-äthylamin* ergab in 50proz. Ausb. (bez. auf das ursprünglich eingesetzte Racemat) das *D- α -Phenyläthylammoniumsalz*: $[\alpha]_D^{25}$: -13.0° ($c = 6$; Äthanol); Schmp. 147–149°.

Die aus diesem Salz freigesetzte *L-O-Acetyl-milchsäure* hatte eine spezif. Drehung von $[\alpha]_D^{25}$: -44.0° ($c = 2$; Benzol)⁸⁾.

[*N*-Benzyloxycarbonyl-*N*-methyl-valyl]- α -hydroxy-isovaleriansäure-*tert*-butylester

Die Verbindungen wurden nach bekanntem Kupplungsprinzip^{6,7)} aus *N*-Benzyloxycarbonyl-*N*-methyl-*L*-valin ($[\alpha]_D^{25}$: -85° ($c = 1$; Äthanol)) bzw. -*D*-valin ($[\alpha]_D^{25}$: $+84.5^\circ$ ($c = 1$;

¹⁰⁾ W. Theilacker und H. G. Winkler, Chem. Ber. 87, 690 (1954).

¹¹⁾ R. Anschütz und W. Bertram, Ber. dtsh. chem. Ges. 37, 3972 (1904).

Äthanol))⁶⁾ und *D*- bzw. *L*- α -Hydroxy-isovaleriansäure-*tert*-butylester (Schmp. 29–31° bzw. 30–31°)⁶⁾ mit Benzolsulfochlorid in Pyridin in Rohausbeuten um 80% gewonnen.

Zur chromatographischen Reinigung wurden 3 g roher [*N*-Benzylloxycarbonyl-*N*-methyl-valyl]- α -hydroxy-isovaleriansäure-*tert*-butylester in 100 ccm Cyclohexan auf eine Säulenpackung von 30 × 1.5 cm aus Aluminiumoxid (Aktivitätsstufe II nach Brockmann) aufgegeben und mit 50 ccm Cyclohexan, 100 ccm Cyclohexan + 30 ccm Methylenchlorid und 80 ccm Cyclohexan + 30 ccm Methylenchlorid + 20 ccm Isopropylalkohol eluiert.

Die Elutionsmittel waren nach bekannten Methoden¹²⁾ soweit gereinigt worden, daß sie bei 254 nm praktisch nicht absorbierten. Das Eluat wurde in 5-ccm-Fractionen aufgefangen, die gegen reines Cyclohexan auf ihre Absorption bei 254 nm vermessen wurden. Die minimale Durchlässigkeit substanzhaltiger Fraktionen betrug 1.1%; von etwa 50–150 ccm Eluat stieg sie allmählich auf 40% an. Aus den zugehörigen Fraktionen hinterblieben nach Eindampfen 2.4 g analysenreiner *Benzylloxycarbonyl-didepsipeptid-tert*-butylester als farbloses Öl.

Tab. 1. Benzylloxycarbonyl-didepsipeptid-*tert*-butylester

	$[\alpha]_D^{20}$ (<i>c</i> = 1.0; Benzol)	Reinaus- beute %	C ₂₃ H ₃₅ NO ₆ (421.5)		
			Ber. C 65.50	H 8.32	N 3.32
Z-L-MeVal-D-Hyv-Ot.Bu ⁶⁾	–64.0°	85			
Z-D-MeVal-L-Hyv-Ot.Bu	+61.7°	72			
Z-L-MeVal-L-Hyv-Ot.Bu	–75.0°	68	Gef.		N 3.29
Z-D-MeVal-D-Hyv-Ot.Bu	+73.2°	65	Gef. C 65.40	H 8.49	N 3.80

[*N*-Benzylloxycarbonyl-*N*-methyl-valyl]- α -hydroxy-isovaleriansäuren

Die *Benzylloxycarbonyl-didepsipeptid-tert*-butylester wurden mit Trifluoressigsäure nach l. c.¹³⁾ gespalten.

Tab. 2. Benzylloxycarbonyl-didepsipeptide

	$[\alpha]_D^{20}$ (<i>c</i> = 1.0; Benzol)	Ausbeute %	C ₁₉ H ₂₇ NO ₆ (365.4)	
			Ber. N 3.84	
Z-L-MeVal-D-Hyv-OH ⁶⁾	–84.0°	92		
Z-D-MeVal-L-Hyv-OH	+86.2°	90		
Z-L-MeVal-L-Hyv-OH	–79.4°	98	Gef. N 3.60	
Z-D-MeVal-D-Hyv-OH	+75.2°	92	Gef. N 3.47	

[*N*-Methyl-valyl]- α -hydroxy-isovaleriansäure-*tert*-butylester

Die *Benzylloxycarbonyl-didepsipeptid-tert*-butylester wurden in Methanol über Aktivkohle mit 5% PdCl₂ hydrogenolysiert und nach Aufarbeitung⁶⁾ auf kurzem Wege bei 71–74° Badtemperatur und 0.04–0.06 Torr destilliert (Tab. 3).

Benzylloxycarbonyl-tetradepsipeptid-tert-butylester

Die [*N*-Benzylloxycarbonyl-*N*-methyl-valyl]- α -hydroxy-isovaleriansäuren wurden nach Überführung in die Säurechloride mittels Phosphorpentachlorid mit den entsprechenden [*N*-Methyl-valyl]- α -hydroxy-isovaleriansäure-*tert*-butylestern gekuppelt⁶⁾. Die nach der Chromato-

¹²⁾ A. Weissberger und E. S. Proskauer, Organic Solvents; Techniques of Organic Chemistry, Vol. VII, New York 1955.

¹³⁾ A. A. Kirjuschkina, J. A. Owschinnikow und M. M. Schemjakina, Tetrahedron Letters [London] 1964, 3313; Chimija Prirodnich Sojedinenij [Chemie der Naturstoffe, russ.] 1965, 58.

Tab. 3. Didepsipeptid-tert.-butylester

	$[\alpha]_D^{20}$ ($c = 1.0$; Benzol)	Ausbeute %	$C_{15}H_{29}NO_4$ (287.4) Ber. N 4.89
L-MeVal-D-Hyv-Ot.Bu ⁶⁾	+22.0°	74	
D-MeVal-L-Hyv-Ot.Bu	-20.6°	69	
L-MeVal-L-Hyv-Ot.Bu	-39.6°	73	Gef. N 4.70
D-MeVal-D-Hyv-Ot.Bu	+34.5°	66	Gef. N 4.97

graphie der Rohprodukte an Silikagel im oben beschriebenen System anfallenden Hauptfraktionen wurden in 10 ccm n-Hexan auf 4–5 mMol Substanz zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen kristallisierten auf Anreiben farblose Produkte mit den in Tab. 4 angegebenen physikalischen Konstanten.

Tab. 4. Benzyloxycarbonyl-tetradepsipeptid-tert.-butylester

	$[\alpha]_D^{20}$ ($c = 1.0$; Benzol)	Schmp.	Aus- beute %	$C_{34}H_{54}N_2O_9$ (634.8) Ber. N 4.41
Z-(L-MeVal-D-Hyv-) ₂ Ot.Bu ⁶⁾	-99.7°	121–123°	92	
Z-(D-MeVal-L-Hyv-) ₂ Ot.Bu	+101.5°	123–123.5°	92	Gef. N 4.67
Z-(L-MeVal-L-Hyv-) ₂ Ot.Bu	-90.3°	81–82°	94	Gef. N 4.05
Z-(D-MeVal-D-Hyv-) ₂ Ot.Bu	+87.7°	80–81°	89	

Die *Benzyloxycarbonyl-tetradepsipeptid-tert.-butylester* wurden in Methanol über Aktivkohle mit 5% PdCl₂ hydrogenolysiert⁶⁾. Die Drehwerte der als farblose, zähe Öle angefallenen *Tetradepsipeptid-tert.-butylester* sind in Tab. 5 angegeben.

Tab. 5. Tetradepsipeptid-tert.-butylester

	$[\alpha]_D^{20}$ ($c = 1.0$; Benzol)	Ausbeute %
(L-MeVal-D-Hyv-) ₂ Ot.Bu	-58.2°	85
(D-MeVal-L-Hyv-) ₂ Ot.Bu	+55.7°	83
(L-MeVal-L-Hyv-) ₂ Ot.Bu	-92.0°	86
(D-MeVal-D-Hyv-) ₂ Ot.Bu	+87.7°	80

Benzyloxycarbonyl-hexadepsipeptid-tert.-butylester

2–3 mMol [*N*-Benzyloxycarbonyl-*N*-methyl-valyl]- α -hydroxy-isovaleriansäure wurden mit der äquivalenten Menge des entsprechenden *Tetradepsipeptid-tert.-butylesters* gekuppelt⁶⁾. Das *all-L*- und *all-D*-Isomere fielen nach der üblichen Aufarbeitung kristallin an und konnten in Konzentrationen um 2.5 mMol aus 30 ccm siedendem n-Hexan umkristallisiert werden.

Z-(L-MeVal-D-Hyv-)₃Ot.Bu und Z-(D-MeVal-L-Hyv-)₃Ot.Bu wurden in der oben beschriebenen Weise an Silikagel chromatographisch gereinigt. Etwa 2.5 mMol der amorphen Substanzen waren in 5–10 ccm n-Hexan auch bei Raumtemperatur gut löslich (Tab. 6).

Hexadepsipeptid-hydrobromide

a) Z-(L-MeVal-D-Hyv-)₃Ot.Bu wurde nach l. c.⁶⁾ 6 Stdn. mit bromwasserstoffgesättigtem Eisessig behandelt. Nach dreimaligem Umfällen aus Eisessig/n-Hexan hinterblieb eine gelbbraune, spröde Masse.

Tab. 6. Benzyloxycarbonyl-hexadepsipeptid-tert.-butylester

	$[\alpha]_D^{20}$ ($c = 1.0$; Benzol)	Schmp.	Aus- beute %	$C_{45}H_{73}N_3O_{12}$ (848.1) Ber. C 63.73 H 8.67 N 4.96
Z-(L-MeVal-D-Hyv-) ₃ Ot.Bu ⁶⁾	-104.5°		86	
Z-(D-MeVal-L-Hyv-) ₃ Ot.Bu	+108.0°		94	
Z-(L-MeVal-L-Hyv-) ₃ Ot.Bu	-116.5°	105-106°	83	Gef. C 63.67 H 8.90 N 4.84
Z-(D-MeVal-D-Hyv-) ₃ Ot.Bu	+115.3°	102-104°	93	Gef. C 63.43 H 8.76 N 4.80

b) 1.0 g (1.1 mMol) *Z-(D-MeVal-D-Hyv-)₃Ot.Bu* wurde bei 20° in 5 ccm Trifluoressigsäure aufgenommen. In diese Lösung wurde 1 Stde. ein mäßiger Strom Bromwasserstoff eingeleitet. Nach Abdestillieren der Trifluoressigsäure bei 30° i. Vak., Aufnehmen des Rückstandes in 10 ccm trockenem Toluol und nochmaligem Eindampfen hinterblieb ein gelbbrauner Rückstand, der mehrmals aus wenig Essigester mit n-Hexan umgefällt wurde, bis nach Trocknen bei 0.01 Torr eine kaum gefärbte, spröde, amorphe Substanz zurückblieb.

c) 0.9 g (1 mMol) *Z-(L-MeVal-L-Hyv-)₃Ot.Bu* wurden in 50 ccm Methanol über 0.6 g Aktivkohle mit 5% PdCl₂ 1 Stde. in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt, wobei etwa die theoretisch zu erwartende Wasserstoffmenge absorbiert wurde. Nach Filtrieren und Eindampfen wurde der Rückstand in Äther aufgenommen und mit NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt, um den freien Hexadepsipeptidester quantitativ in die Ätherphase zu bringen, aus der nach Trocknen und Eindampfen 0.7 g (98%) farblose, spröde Substanz gewonnen wurden. $[\alpha]_D^{18}$: 106.5° ($c = 0.99$; Benzol).

Dieser Hexadepsipeptidester wurde 30 Min. mit 10 ccm Trifluoressigsäure behandelt, in die ein schwacher Bromwasserstoffstrom eingeleitet wurde. Das nach Eindampfen erhaltene gelbbraune Produkt konnte aus Methylenchlorid mit n-Hexan als fast farbloses, sprödes Harz praktisch quantitativ umgefällt werden.

d) In gleicher Weise, wie für das *all-L*-Isomere beschrieben, wurde *Z-(D-MeVal-L-Hyv-)₃Ot.Bu* hydrogenolysiert. Aus 1.43 g (1.69 mMol) eingesetzter Substanz wurden 1.21 g (quantitat. Ausb.) farbloser amorpher Hexadepsipeptid-tert.-butylester mit $[\alpha]_D^{15}$: +87.5° ($c = 0.94$; Benzol) erhalten. Nach anschließender Acidolyse mit Trifluoressigsäure/Bromwasserstoff wurde das Produkt in 90proz. Ausbeute als farblose, spröde Substanz aus Methylenchlorid/n-Hexan umgefällt.

Tab. 7. Hexadepsipeptid-hydrobromide

	$[\alpha]_D^{20}$ ($c = 1.0$; Äthanol)	Aus- beute %	$C_{33}H_{60}BrN_3O_{10}$ (738.7) Ber. C 53.80 H 8.22 Br 10.82 N 5.69
(L-MeVal-D-Hyv-) ₃ -HBr ⁶⁾	-67.2°	65	
(D-MeVal-L-Hyv-) ₃ -HBr	+65.5°	90	Gef. C 53.49 H 8.22 Br 10.70 N 5.47
(L-MeVal-L-Hyv-) ₃ -HBr	-92.8°	95	Gef. C 54.10 H 7.95 N 5.53
(D-MeVal-D-Hyv-) ₃ -HBr	+91.3°	80	Gef. C 53.72 H 8.21 N 5.75

Cyclisierungsprodukte

a) 368 mg (0.5 mMol) *(D-MeVal-L-Hyv-)₃-HBr* wurden in Modifizierung der von Plattner und Mitarbb.⁶⁾ mitgeteilten Vorschrift cyclisiert, wobei die Zeit für das Eintropfen der Triäthylamin-Lösung in die hochverdünnte Lösung des Säurechlorids auf 1½ Stdn. erhöht wurde. Nach üblicher Aufarbeitung⁶⁾ hinterblieben 250 mg gelblicher, spröder Substanz, die an Aluminiumoxid (Aktivitätsstufe I nach Brockmann) mit Gemischen aus Cyclohexan,

Methylenchlorid und bis zu 10% Isopropylalkohol chromatographiert wurden. Hauptfraktion waren 170 mg farbloser Substanz, von der bei 0.01 Torr und 160° Badtemperatur 110 mg sublimierten. Aus Methanol/Wasser ließen sich 90 mg *Enantio-Enniatin B*¹⁾ vom Schmelzbereich 168–174° und $[\alpha]_D^{20}$: +100.0° ($c = 0.2$; Chloroform) bzw. $[\alpha]_D^{20}$: +109° ($c = 0.4$; Benzol) fällen. Nach Umkristallisieren aus Pentan Schmp. 173–175.5°.

b) Die Cyclisierung der anderen Isomeren erfolgte nach l. c.⁸⁾. 220 mg Rohprodukt aus dem Cyclisierungsansatz von 368 mg (0.5 mMol) *(L-MeVal-D-Hyv-)*₃·HBr ergaben nach der chromatographischen Reinigung 190 mg farblose Substanz, von der bei $8 \cdot 10^{-3}$ Torr und 150° Badtemperatur 130 mg sublimierten. Nach Umkristallisieren aus Methanol/Wasser verblieben 80 mg vom Schmelzintervall 165–169° und $[\alpha]_D^{20}$: –107° ($c = 0.4$; Benzol), die aus Pentan 30 mg *Enniatin B*⁶⁾ mit dem Schmp. 172–174° ergaben.

c) 205 mg (0.28 mMol) *(L-MeVal-L-Hyv-)*₃·HBr ergaben entsprechend 110 mg Rohprodukt, nach der Chromatographie verblieben 90 mg, nach Sublimation bei $5 \cdot 10^{-3}$ Torr/155° Badtemperatur 70 mg, von denen aus n-Hexan 40 mg vom Schmp. 182–184° und $[\alpha]_D^{20}$: –71° ($c = 0.6$; Benzol) kristallisierten (*all-L-Enniatin B*).

d) Aus 205 mg (0.28 mMol) *(D-MeVal-D-Hyv-)*₃·HBr wurden 130 mg Rohprodukt erhalten, nach Chromatographie 100 mg, von denen bei $5 \cdot 10^{-3}$ Torr/150° Badtemperatur 75 mg sublimierten. Aus Methanol/Wasser wurden 50 mg vom Schmelzintervall 177–181° und $[\alpha]_D^{20}$: +73.7° ($c = 0.4$; Benzol) erhalten, durch nochmaliges Umkristallisieren aus n-Hexan 25 mg vom Schmp. 183–185° (*all-D-Enniatin B*).

Die Ausbeuten und spezifischen Drehungen der im folgenden zusammengestellten Endprodukte beziehen sich auf die Präparate nach einmaligem Umkristallisieren.

Tab. 8. Cyclo-hexadepsipeptide

	$[\alpha]_D^{20}$	Schmp.	Ausbeute %	C ₃₃ H ₅₇ N ₃ O ₉ (639.8) Ber. N 6.57
Enniatin B ⁶⁾	–107.0° ($c = 0.4$; Benzol)	172–174°	25	
cyclo-(D-MeVal-L-Hyv-) ₃ (<i>Enantio-Enniatin B</i>) ¹⁾	+100.0° ($c = 0.2$; Chloroform)	173–175°	28	Gef. N 6.48 Mol.-Gew. 635*)
cyclo-(L-MeVal-L-Hyv-) ₃	–71.0° ($c = 0.6$; Benzol)	182–184°	22	Gef. N 6.87 Mol.-Gew. 628*)
cyclo-(D-MeVal-D-Hyv-) ₃	+73.7° ($c = 0.4$; Benzol)	183–185°	28	Gef. N 6.91 Mol.-Gew. 632*)

*) Die Molekulargewichte wurden durch isotherme Destillation in Aceton bestimmt.

[501/67]