

M. Nacken*), P. Pachaly und F. Zymalkowski

Aminoacylierungen des Emetins

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Bonn

(Eingegangen am 6. Mai 1969)

Cbo-Aminoacylemetine entstehen in guten Ausbeuten durch Umsetzung von symmetrischen Cbo-Aminosäureanhydriden mit dem Alkaloid und anschließende Hydrogenolyse der Schutzgruppe. Anhydridsynthese und Aminoacylierung lassen sich im Eintopfverfahren durchführen. Bei Einsatz der cyclischen Anhydride von Cbo-Asparaginsäure und Cbo-Glutaminsäure wird ein Gemisch der α - und β - bzw. α - und γ -Aminoacylemetine erhalten. α - und γ -Glutaminylemetin werden getrennt und zugeordnet.

Aminoacylation of Emetine

Cbo-Aminoacylemetines are obtained in good yields by the action of symmetric Cbo-amino-acid anhydrides on the alkaloid, the protecting group is then hydrogenolysed. The anhydride synthesis and the aminoacylation can be carried out together in one step. The cyclic anhydride of Cbo-aspartic acid and Cbo-glutamic acid leads to a mixture of α -, and β - or α - and γ -aminoacylemetine respectively. α - and γ -Glutamicacyl emetines are separated, and the structure determined.

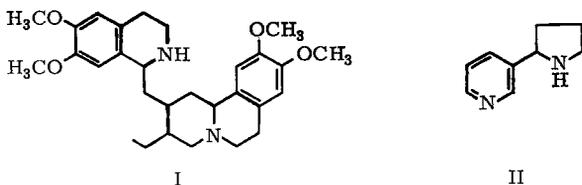
Obwohl Alkaloide biogenetisch enge Beziehungen zum Aminosäurestoffwechsel aufweisen, sind merkwürdigerweise bei den vielfältigen Abwandlungen, denen sie in der Hoffnung auf Verbesserung ihrer pharmakologischen Eigenschaften unterworfen worden sind, kaum jemals Aminoacylderivate von ihnen hergestellt und auf ihre Wirkung geprüft worden. Bei dem für die Behandlung der Amöbenruhr unentbehrlichen Alkaloid Emetin, dessen therapeutische Verwendbarkeit durch starke Nebenwirkungen beeinträchtigt wird, sind bisher alle Versuche zur Verbesserung der therapeutischen Eigenschaften durch Molekülabwandlung fehlgeschlagen. Wir hielten deshalb das Emetin für ein geeignetes Objekt zur Nachprüfung der Frage, welche Änderung des Wirkungsspektrums die Einführung von Aminosäureestern zur Folge hat. In dieser Ansicht bestärkten uns Untersuchungen mit ähnlicher Zielsetzung, über die kürzlich aus anderen Laboratorien^{1) 2)} berichtet wurde; wir erhielten von ihnen im Verlauf unserer eigenen Untersuchungen Kenntnis.

Da Emetin (I) ein sehr empfindlicher und relativ teurer Stoff ist, führten wir unsere ersten orientierenden Versuche zur Aminoacylierung von Alkaloiden an dem synthetisch relativ leicht zugänglichen Alkaloid Nornicotin (II) durch, dessen Molekül in Analogie zum Emetin neben einer tertiären eine sekundäre Aminogruppe besitzt.

*) Dissertation M. Nacken, Bonn 1968.

¹⁾ C. Viel, P. Rumpf und L. Lamy, *Chim. Therapeut.* 4, 228 (1966).

²⁾ R. Pettit und S. K. Gupta, *Canad. J. Chem.* 45, 1564 (1967).



Dabei zeigte sich, daß Nornicotin durch Umsetzung mit N-Phthaloylaminosäuren in Gegenwart von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und anschließende Hydrazinolyse praktisch verlustlos in verschiedene Aminoacylierungsprodukte umgewandelt werden kann³). Leider wurden die Ergebnisse sehr schlecht, als wir die gleiche Methode auf I übertrugen, wo neben geringen Mengen der erwarteten Produkte und Resten des Ausgangsstoffes hauptsächlich Zersetzungsprodukte anfielen. Bei der Einwirkung von N-Phthaloylaminosäurechloriden (V) auf I wurden in einzelnen Fällen befriedigende Ausbeute erzielt. Nachteilig war jedoch auch bei diesem Verfahren das Auftreten von Zersetzungsprodukten des Alkaloids, die die Isolierung der N-Phthaloylaminosäureacylderivate (VI) erheblich erschwerten (Tab. 1).

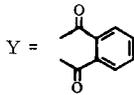
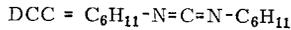
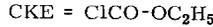
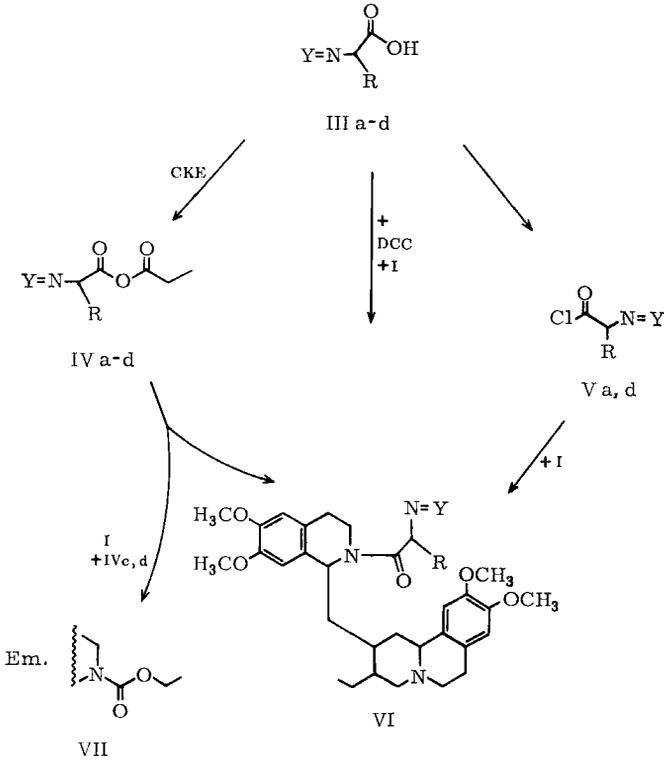
Tabelle 1

Reaktionsprodukt	Carbodiimid	Säurechlorid	Gemischtes Anhydrid
Phth-gly-em (VIa)		60%	67%
Phth-ala-em (VIb)			93%
Phth-val-em (VIc)			nur Äthoxycarbonyl-emetin (VII) isoliert
Phth-phe-em (VI d)	VI d im IR nachgewiesen	etwa 92%	VI d neben viel VII

Zu eigenartigen Ergebnissen führte die Methode der gemischten Anhydride (aus N-Phthaloylaminosäure und Chlorkohlensäureester hergestellt). Hier gelang planmäßig die Einführung des N-Phthaloylglycyl- und N-Phthaloylalanylrestes, während die gemischten Anhydride von N-Phthaloylvalin (IVc) und N-Phthaloylphenylalanin (IVd) bevorzugt N-Äthoxycarbonylemethin (VII) entstehen ließen.

Anscheinend tritt also mit wachsender Molekülgröße der jeweils eingesetzten N-Phthaloylaminosäure eine steigende sterische Behinderung am Reaktionsort auf, so daß bei Überschreitung einer bestimmten Raumerfüllung an Stelle des geschützten Aminosäurerestes der Äthoxycarbonylrest als Substituent eintritt. Weitere Komplikationen ergaben sich bei der Abspaltung des Phthaloylrestes. Sie führte stets zu einem stark gefärbten Gemisch von Umsetzungsprodukten, aus dem das gewünschte Endprodukt nur durch Säulenchromatographie über Aluminiumoxid abgetrennt werden konnte.

³) F. Zymalkowski und P. Pachaly, Arch. Pharmaz. 299, 336 (1966).



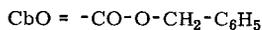
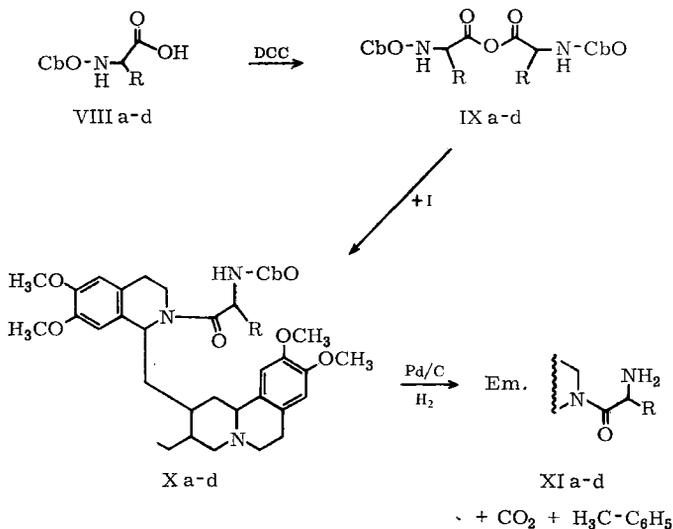
	R
a	H
b	$-\text{CH}_3$
c	$-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
d	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$

Alle diese Versuche überzeugten uns davon, daß bei I nur solche Methoden erfolgversprechend sind, bei denen alle sauren und basischen Einflüsse ausgeschaltet und höhere Temperaturen vermieden werden. Diese Bedingungen sind in idealer Weise erfüllt, wenn symmetrische Benzylloxycarbonylaminoanhydride (IX a-d) in einem inerten Lösungsmittel mit I zur Reaktion gebracht werden. Tatsächlich fallen die Benzylloxycarbonylaminoacylderivate des Emetins (X a-d) bei diesem Verfahren in guter Ausbeute und in sehr reiner Form an.

Die Abspaltung der Benzylloxycarbonylgruppe gelingt am schonendsten hydrogenolytisch⁴⁾ nach einem modifizierten Verfahren⁵⁾ mit Palladiumkohle in Methanol als Lösungsmittel bei Raumtemperatur und Normaldruck.

⁴⁾ M. Bergmann und L. Zervas, Ber. dtsch. chem. Ges. 65, 1192 (1932).

⁵⁾ E. D. Nicolaides, R. R. Westland und E. L. Witte, J. Amer. chem. Soc. 76, 2887 (1954).



	R
a	H
b	CH ₃
c	CH(CH ₃) ₂
d	CH ₂ C ₆ H ₅

Tabelle 2

	Schmp.	R.F.-Wert*)	Absorptionsbanden in cm ⁻¹ , KBr	
Cbo-gly-em HCl (Xa)	207—211°	0,69	1720	1665
Cbo-ala-em HCl (Xb)	159—162°	0,65	1718	1640
Cbo-val-em HCl (Xc)	156—159°	0,71	1718	1640
Cbo-phe-em HCl (Xd)	149—152°	0,73	1718	1640

*) System: Chloroform/Methanol 85 : 15, Kieselgel HF₂₅₄.

Bei der präparativen Durchführung dieser Synthese kann man die Darstellung der Benzyloxycarbonylaminoanhydride (IX) und deren Umsetzung mit I derart zusammenfassen, daß man eine Lösung von Benzyloxycarbonylaminoanhydrid (VIII) in Chloroform mit der äquival. Menge DCC versetzt, ausreagieren läßt und anschließend eine Lösung des Alkaloids in Chloroform zugebt. Bei Raumtemperatur ist nach etwa 1¹/₂ Std. kein I mehr nachweisbar (DC). Umlichtinduzierte Zersetzungen zu vermeiden, muß in verdunkelten Gefäßen gearbeitet werden. Das bei der Reaktion freigesetzte Äquivalent Benzyloxycarbonylaminoanhydrid wird zurückerhalten. Die Benzyloxycarbonylaminoacylmetine (X a-d) werden zur Abtrennung von geringen Resten Dicyclohexylharnstoff, die aus der Anhydriddarstellung stammen, in Hydrochloride übergeführt und durch Umkristallisation gereinigt.

Das Ende der hydrogenolytischen Abspaltung des Benzyloxycarbonylrestes wird ebenfalls verfolgt, weil die volumetrische Bestimmung des Wasserstoffverbrauchs wegen der CO_2 -Entwicklung nicht möglich ist. Die freien Aminoacylmetine (XI a-d) haben im Laufmittel Chloroform : Methanol 85 : 15 wesentlich kleinere RF-Werte als ihre Benzyloxycarbonylderivate (X a-d) (vgl. Tab. 2 und 3).

Tabelle 3

	Hydrierzeit Std.	Ausbeute %	RF*)	Absorptionsbanden in cm^{-1} , KBr
Gly-em-2 HCl (XI a)	2	100	0,13	1655 (Amid I)
Ala-em-2 HCl (XI b)	2	79	0,17	1650
Val-em-2 HCl (XI c)	7	91	0,45	1648
Phe-em-2 HCl (XI d)	30	99	0,57	1655

*) System: Chloroform/Methanol 85 : 15, Kieselgel HF₂₅₄.

In den IR-Spektren sind die Carbonylbanden der Schutzgruppe verschwunden und die Amidbanden geringfügig verschoben. Die Reinigung wird ebenfalls durch Umkristallisation geeigneter Salze durchgeführt.

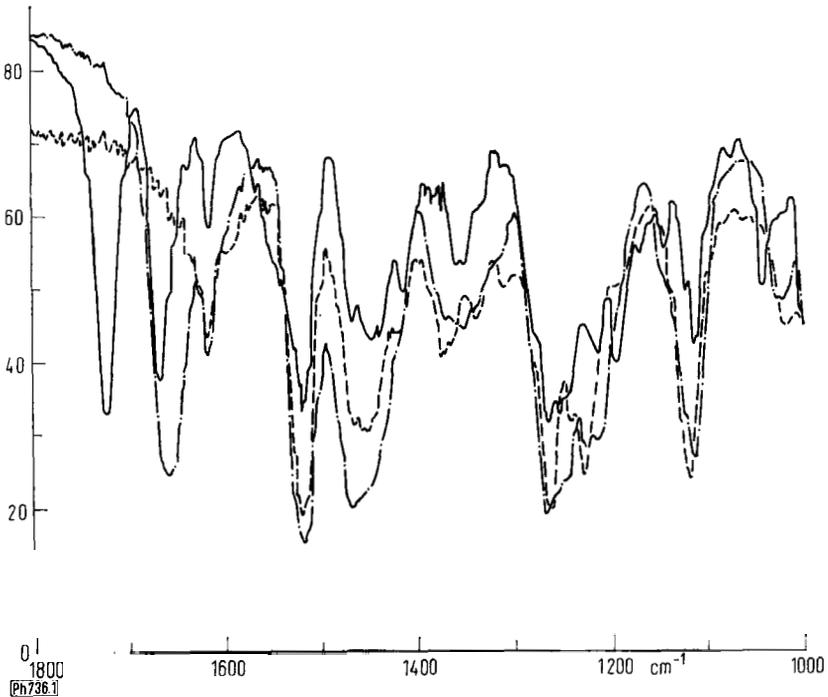


Abb. 1. IR-Spektren von
(KBr, cm^{-1})

1. Emetin · 2 HCl (I) - - - - -
2. CbO-gly-em · HCl (X a) ————
3. Gly-em · 2 HCl (XI a) - · - · -

Tabelle 4

	Schmp. °	RF*)		Absorptionsbanden in cm^{-1} , KBr	
CbO- α - u. β -aspar.-em (XIIIa u. XIVa)	155—157	0,46	0,50	1720	1630
CbO- α - u. γ -glut.-em (XIIIb u. XIVb)	144—147	0,35	0,42	1720	1630
CbO- α -glut.-em (XIIIb)	165—166	0,35			
CbO- γ -glut.-em (XIVb)	168—169	0,42			
Mischschmp. von XIIIb u. XIVb	147—150				
α - u. β -aspar.-em (XVa u. XVIa)	204—207	0,16		1635	
α - u. γ -glut.-em (XVb u. XVIb)	175—177	0,15		1610—1630 (breit)	
α -glut.-em (XVb)	181—184	0,14		1610—1635 (breit)	
γ -glut.-em (XVIb)	192—194	0,14		1610—1630 (breit)	
Mischschmp. von XVb u. XVIb	174—180				

*) System: Chloroform/Methanol 85 : 15, Kieselgel HF₂₅₄.

Durch präparative Schichtchromatographie erfolgte die Trennung der Isomere XIIIb und XIVb, die beide höher schmelzen als das Ausgangsgemisch, jedoch dieselbe Summenformel haben. Bei Mol.-Gew.-Bestimmungen mit einem Dampfdruck-Osmometer wird annähernd das Doppelte der erwarteten Werte gefunden. Daraus kann geschlossen werden, daß die Substanzen in den verwendeten Lösungsmitteln Äthanol und Chloroform als bimolekulare, kaum dissoziierte Salze vorliegen. Nach Entfernung der Schutzgruppe werden die echten Mol.-Gew. gemessen, weil hier die intramolekulare Salzbildung erleichtert ist und vorherrscht. Auch hier schmelzen beide isomeren Glutaminylemetine (XVb und XVIb) höher als das primär anfallende Gemisch aus beiden, während die Elementaranalysen übereinstimmen.

Für die Zuordnung der beiden Isomere gibt es zwei deutliche Hinweise:

1. Den Polaritätsunterschied der Benzyloxycarbonylderivate entsprechend den RF-Werten (Tab. 4).
2. Die Reaktion der freien Glutaminylemetine XVb und XVIb mit Ninhydrin, die in einem Fall zu einer spontanen starken Farbreaktion führt, im anderen Fall nur zu einer langsam eintretenden, wesentlich schwächeren Färbung.

Speziell aus der zweiten Beobachtung geht deutlich hervor, daß die Substanz mit der schnellen, intensiven Farbreaktion eine freie α -Aminocarbonsäure ist und Struktur XVIb besitzt, während der zweiten Substanz die Formel XVb zukommt.

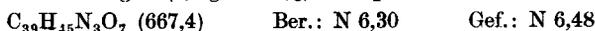
Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemie für die Förderung der Arbeit durch Sachspenden.

Beschreibung der Versuche

Die Analysen wurden von Frau *Ilse Beetz*, Mikroanalytisches Labor, Kronach, *A. Bernhardt*, Mülheim-Ruhr sowie auf dem N-Analyser der Firma *Coleman* durchgeführt. Die IR-Spektren wurden mit einem Beckman-IR-5a und -IR-8-Gerät aufgenommen. Sämtliche Schmp. wurden mit einem Schmp.-Mikroskop nach *Opfer-Schaum* bestimmt und nicht korrigiert. Die Mol.-Gew. wurden mit einem Dampfdruck-Osmometer der Firma *Knauer* bestimmt. Für die Reaktionen wurde Emetindihydrochlorid mit etwa 3,5 Mol Kristallwasser verwendet.

1. N-Phthaloyl-glycyl-emetin (VIa)

a) 0,82 g (4 mMol) N-Phthaloylglycin und 0,4 g (4 mMol) Triäthylamin werden in 8 ml Chloroform gelöst. Dazu wird unter Rühren und Eisbadkühlung eine Lösung von 0,43 g (4 mMol) Chlorkohlensäureäthylester in 1 ml Chloroform gegeben. Nach 30 Min. setzt man dem Reaktionsgemisch 2,45 g (4 Mol) Emetinhydrochlorid und 0,8 g (8 mMol) Triäthylamin in 15 ml Chloroform zu und rührt 2 Std. bei 20°. Das Reaktionsgemisch wird zweimal mit 15 ml Wasser, dann mit 4 ml n HCl, 5 ml Wasser, 4 ml gesättigter Natriumcarbonatlösung und erneut mit Wasser gewaschen und getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels i. Vak. erhält man 2,0 g festen, gelblichen Rückstand, der aus Aceton/Petroläther kristallines VIa ergibt (1,8 g = 67%) Schmp. 223—224°.



IR (KBr) 1760, 1710 CO vom Phthaloylrest, 1650 cm^{-1} (Amid I), VIa-Hydrochlorid: Schmp. 196—200°.



b) Zu einer Lösung von 0,45 g (2 mMol) N-Phthaloyl-glycinylechlorid (frisch bereitet aus 0,41 g Phthaloylglycin mit 6 ml Thionylchlorid und 1 ml Dimethylformamid) in 10 ml absol. Dioxan wird unter Rühren und Eiskühlung langsam eine Mischung aus 1,23 g (2 mMol) I-Hydrochlorid und 0,6 g (6 mMol) Triäthylamin in 35 ml Dioxan und 35 ml Chloroform zugetropft, 1 Std. gerührt, dann 30 Min. bei 20°. Nach Zugabe von 50 ml Chloroform wird das Reaktionsgemisch dreimal mit Eiswasser ausgeschüttelt. Aus der getrockneten Chloroformphase erhält man durch Umkristallisieren (Chloroform/Petroläther) 0,87 g (60%) reines VIa.

2. N-Phthaloyl-alanyl-emetin (VIb)

0,22 g (1 m Mol) N-Phthaloyl-alanin und 0,1 g (1 m Mol) Triäthylamin in 5 ml Chloroform werden mit 0,11 g Chlorkohlensäureäthylester in 1 ml CHCl_3 und 0,62 g (1 m Mol) Emetinhydrochlorid mit 0,2 g Triäthylamin in 5 ml Chloroform analog zu 1a) umgesetzt und aufgearbeitet. Man erhält 0,65 g (93%) VIb als gelblichen Rückstand. Schmp. (Aceton/Petroläther): 185—187°.



IR (KBr) 1760, 1715 CO vom Phthaloylrest, 1680 (Amid I) cm^{-1} .

3. N-Phthaloyl-phenylalanyl-emetin (VIc)

a) 0,59 (2 m Mol) N-Phthaloyl-phenylalanin werden mit 1,23 g (2 m Mol) Emetinhydrochlorid analog 1a) umgesetzt und aufgearbeitet. Man erhält 1,5 g festen, gelblichen Rückstand I, der nach DC Emetin als Verunreinigung enthält. (Kieselgel HF, Aceton, Chloroform 1 : 1. Rf: 0,15, Acylierungsprodukt Rf: 0,3, UV-Licht und Dragendorff-

Reagens). 0,5 g des Rohproduktes ergeben nach mehrfachem Umfällen aus Aceton und Petroläther eine kleine Menge (etwa 100 mg) Vid Schmp. 110—115°.



IR (KBr) 1760, 1715 CO vom Phthaloylrest, 1690 cm^{-1} (Schulter) Amid I.

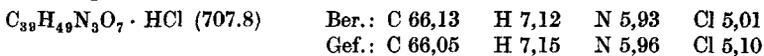
Mit Perchlorsäure erhält man aus I Carbäthoxyemetinperchlorat (VII), Schmp. (Äthanol/Äther) 254—258°, dessen IR-Spektrum mit authentisch dargestelltem Carbäthoxyemetinperchlorat⁷⁾ identisch ist.

IR (KBr) 1650 CO 1090 cm^{-1} sehr stark (ClO_4). Im DC zeigen Vid und VII in mehreren Laufmittelsystemen gleiche R_F-Werte.

b) 0,62 ng (2 mMol) N-Phthaloyl-phenylalanylchlorid werden mit 1,23 g (2 mMol) I-Hydrochlorid analog zu 1b) umgesetzt und aufgearbeitet. Man erhält 1,4 g (92%) stark verunreinigtes Vid. Im DC (Kieselgel HF, Aceton/Chloroform 1:1) zeigen sich neben Ausgangsstoff und Vid noch zahlreiche Flecke. Durch mehrfachem Umfällen aus Aceton/Petroläther erhält man schließlich etwa 0,4 g gelbliches Vid, dessen IR-Spektrum (KBr) mit dem nach 3a) isolierten Vid übereinstimmt.

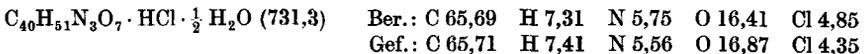
4. Benzyloxycarbonyl-glycyl-emetin (Xa)

2,95 g (4,8 mMol) I-Hydrochlorid werden in 35 ml Wasser gelöst, mit 5 ml 12,5proz. Ammoniaklösung versetzt und dreimal mit je 45 ml Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformphase wird vor Licht geschützt über Natriumsulfat getrocknet. Dazu tropft man unter Rühren innerhalb von 10 Min. eine Lösung von 2,5 g (12 mMol) Benzyloxycarbonyl-glycin in 35 ml Chloroform, die 1 Std. vorher mit 1,36 g (6,6 mMol) Dicyclohexylcarbodiimid in 15 ml Chloroform bei 20° versetzt wurde. Man läßt 2 Std. stehen und engt dann am Rotationsverdampfer auf etwa 70 ml ein. Es fallen 1,4 g (95%) Dicyclohexylharnstoff (Schmp. 226—230°) aus. Die filtrierte Chloroformlösung wird je zweimal mit 50 ml 10proz. Soda-lösung und 50 ml Wasser geschüttelt, getrocknet und i. Vak. abdestilliert. Man erhält 3,1 g (91%) Xa als honigartige Masse, die in wenig Äthanol aufgenommen und mit der zehnfachen Menge Äther versetzt wird. Durch Einleiten von trockenem HCl erhält man Xa als Hydrochlorid. Nach dreifachem Umkristallisieren (Äthanol): 1,8 g (53%) reines, kristallines Xa, Schmp. 207—211°.

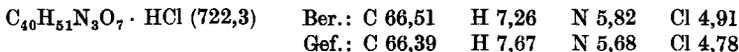


5. Benzyloxycarbonyl-D,L-alanyl-emetin (Xb)

1,7 g (2,75 mMol) Emetinhydrochlorid werden mit 1,35 g (6 mMol) Benzyloxycarbonyl-D,L-alanin analog zu 4. umgesetzt und aufgearbeitet. Man erhält 1,5 g (80%) honigartiges Xb, aus dem man analog zu 4. 1,1 g (44%) reines Xb als Hydrochlorid gewinnt, feine Nadeln, Schmp. (Äthanol) 159—162°.



Wasserfreies Xb erhält man durch Trocknen im Hochvak. bei 20°.



⁷⁾ Th. Boehm und D. Mehta, Ber. dtsh. chem. Ges. 71 B, 1797 (1938).

6. Benzyloxycarbonyl-D,L-valyl-emetin (Xc)

3,8 g (6,16 mMol) I-Hydrochlorid werden mit 3,64 g (14,5 mMol) Benzyloxycarbonyl-D,L-valin analog zu 4. umgesetzt und nach 5 Std. Rühren bei 20° aufgearbeitet. Man erhält 4,2 g (95%) honigartiges Xc, das durch Verreiben mit Petroläther ein gelbes Pulver, Schmp. 75—85° ergibt. Die Reinigung erfolgt über Dickschichtplatten (Kieselgel PF 254, Chloroform/Methanol 85 : 15). Die abgehobene Schicht wird mit Chloroform-Triäthylamin (10 : 0,5) eluiert und ergibt 2,3 g (52%) farbloses Harz, durch Verreiben mit Petroläther ein weißes Pulver. Schmp. 99—100°. Analog zu 4. wird daraus 2,3 g (50%) Xc als Hydrochlorid gewonnen. Schmp. (Benzol/Äther) 156—159°.

$C_{42}H_{55}N_3O_7 \cdot HCl$ (749,9)	Ber.: C 67,25	H 7,51	N 5,60	Cl 4,73
	Gef.: C 67,26	H 7,36	N 5,95	Cl 4,76

Xc-Hydrobromid: Schmp. 184—187°. Xc-Perchlorat: Schmp. 178—181°.

7. Benzyloxycarbonyl-D,L-phenylalanyl-emetin (Xd)

2,39 g (8 mMol) Benzyloxycarbonyl-D,L-phenylalanin in 20 ml Chloroform werden mit einer Lösung von 0,93 g (4,5 mMol) Dicyclohexylcarbodiimid in 10 ml Chloroform versetzt und 1 Std. bei 20° stehengelassen. Inzwischen wird eine eisgekühlte Suspension von 2,35 g (3,8 mMol) I-Hydrochlorid in 40 ml Tetrahydrofuran mit 1,0 ml (7 mMol) Triäthylamin versetzt, nach 30 Min. filtriert, i. Vak. eingedampft und in 10 ml Chloroform gelöst. Unter guter Kühlung (Kochsalz-Eis-Gemisch) und Rühren wird die Emetinlösung zur vorbereiteten Anhydridlösung getropft und weitere 4 Std. gerührt. Der nach geringfügigem Einengen auskristallisierende Dicyclohexylharnstoff (0,95 g = 94%) wird abfiltriert. Das Filtrat wird zweimal mit 40 ml einer 10proz. Sodalösung und dreimal mit 40 ml Wasser ausgeschüttelt, getrocknet und i. Vak. eingedampft. Man erhält 2,6 g (90%) gelbes, harziges Xd Schmp. (nach Umfällen aus Äther/Petroläther) 91—93°. Das Hydrochlorid wird analog 4. dargestellt. Schmp. (Äthanol/Äther) 149—152°.

$C_{46}H_{55}N_3O_7 \cdot HCl \cdot 2H_2O$ (833,9)	Ber.: C 66,20	H 7,25	N 5,04	O 17,26	Cl 4,26
	Gef.: C 66,80	H 6,85	N 5,16	O 16,64	Cl 4,29
	C 65,97	H 7,00			

8. Glycyl-emetin (XIa)

0,72 (1 mMol) Benzyloxycarbonyl-glycyl-emetinhydrochlorid (Xa) werden in 10 ml Methanol gelöst, mit einer Suspension von 0,1 g Pd-Kohle in 5 ml Wasser und 2 ml n HCl versetzt und auf einer Schüttelapparatur hydriert. Nach 2 Std. ist die CO₂-Entwicklung und damit die Hydrierung beendet. Der Katalysator wird abzentrifugiert und das Filtrat i. Vak. eingengt. Man erhält 0,54 g (100%) leicht gelbliches XIa, Schmp. (tert. Butanol) 218—220°.

$C_{31}H_{43}N_3O_5 \cdot 2HCl \cdot 4H_2O$ (682,7)	Ber.: C 54,54	H 7,83	N 6,16
	Gef.: C 54,41	H 8,04	N 5,92

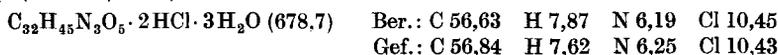
Durch Trocknen i. Hochvak. bei 20° erhält man ein hygroskopisches Monohydrat von XIa

$C_{31}H_{43}N_3O_5 \cdot 2HCl \cdot H_2O$ (628,7)	Ber.: C 59,23	H 7,54	N 6,69	Cl 11,28
	Gef.: C 59,03	H 7,94	N 6,36	Cl 11,37

9. D,L-Alanyl-emetin (XIb)

0,5 g (0,68 mMol) Benzyloxycarbonyl-D,L-alanyl-emetinhydrochlorid (Xb) werden in 30 ml Methanol gelöst und mit 0,2 g Pd-Kohle in 5 ml Methanol 2 Std. hydriert. Der Katalysator wird abfiltriert und das Filtrat auf 5 ml i. Vak. eingengt, mit 2 ml 0,5 n

methanol. HCl versetzt. Durch Zugabe von Äther erhält man 0,34 g (79%) kristallines XIb, Schmp. (Äthanol/Äther) 222—224°.

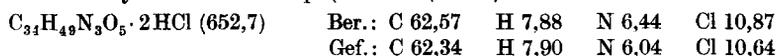


Trocknung i. Hochvak. bei 20° ergibt das Monohydrat



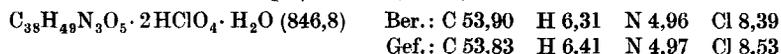
10. D,L-Valyl-emetin (XIc)

0,6 g (0,84 mMol) Benzyloxycarbonyl-D,L-valyl-emetin (Xc) werden in 10 ml Methanol gelöst, mit 0,1 g Pd-Kohle in 5 ml Methanol versetzt und in einer Schüttelapparatur hydriert. Jede Std. wird neuer Wasserstoff nachgedrückt, nach 3 Std. werden weitere 0,1 g Katalysator zugefügt. Nach 7 Std. ist die Hydrierung beendet. Man erhält aus dem Filtrat 0,48 g (100%) gelbes, festes XIc (Schmp. 135—139°) und daraus 0,5 g (91%) kristallines XIc-Hydrochlorid. Schmp. (Methanol/Äther) 209—212°.



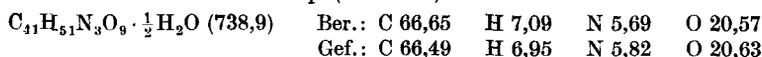
11. D,L-Phenylalanyl-emetin (XIId)

1,52 g (2 mMol) Benzyloxycarbonyl-D,L-phenylalanyl-emetin (Xd) werden analog 10. mit Pd-Kohle in Methanol hydriert. Die Hydrierung ist nach 30 Std. beendet. Aus dem Filtrat erhält man 1,24 (99%) XIId als hellgelbes Pulver, Schmp. 121—123° und daraus kristallines XIId-Perchlorat Schmp. (Methanol/Äther) 199—202°.



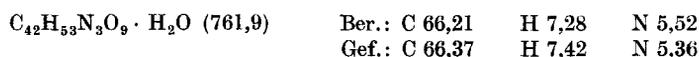
12. Benzyloxycarbonyl-D,L-asparaginy-emetin (XIIIa und XIVa)

1,24 g (2 mMol) I-Hydrochlorid werden in 25 ml Tetrahydrofuran suspendiert und unter Eisbadkühlung mit 0,56 ml (4 mMol) Triäthylamin versetzt. Die Suspension wird vor Licht geschützt nach 1 Std. unter Eiskühlung und Rühren in eine Lösung von 0,55 g (2,2 m Mol) Benzyloxycarbonyl-D,L-asparaginsäureanhydrid in 10 ml Tetrahydrofuran filtriert. Zur Vervollständigung der Reaktion läßt man 1,5 Std. im Eisbad stehen und fällt mit Äther die Reaktionsprodukte vollständig aus. Man erhält 1,4 g (96%) Isomerenmisch aus XIIIa und XIVa. Schmp. (Methanol) 155—157°.



13. Benzyloxycarbonyl-D,L-glutaminy-emetin (XIIIb und XIVb)

2,46 g (4 mMol) I-Hydrochlorid werden analog 12. mit 1,1 g (4,2 m Mol) Benzyloxycarbonyl-D,L-glutaminsäureanhydrid in 60 ml Tetrahydrofuran umgesetzt und nach 2 Std. im Eisbad weitere 4 Std. bei 20° gerührt. Durch Einengen auf die Hälfte und Fällung mit Äther erhält man 2,8 g (94%) Isomerenmisch XIIIb und XIVb. Schmp. (Isopropanol) 144—147°.



Für die Trennung der beiden Isomere XIIIb und XIVb auf Dickschichtplatten mit 2 mm Kieselgel-PF₂₅₄-Schicht wird eine Lösung von 100 mg des Gemisches XIIIb und XIVb je Platte (20 × 40 cm) aufgetragen u. mit Chloroform/Methanol (88 : 12) entwickelt. Die deutlich getrennten Streifen werden abgehoben und mit Chloroform-Äthanol (1 : 1)

eluiert. Man erhält pro Platte etwa 25 mg von jedem Isomer. Benzyloxycarbonyl- α -glutaminyln-emetin (XIIIb): Schmp. (Isopropanol) 165—166°.

$C_{42}H_{53}N_3O_9 \cdot H_2O$ (761,9)	Ber.: C 66,21	H 7,28	N 5,52	O 20,99
	Gef.: C 66,21	H 7,27	N 5,72	O 20,73

Benzyloxycarbonyl- γ -glutaminyln-emetin (XIVb): Schmp. (Isopropanol) 168—169°. Die IR-Spektren in KBr von XIIIb und XIVb sind praktisch identisch.

14. D,L-Asparaginyln-emetin (XVa und XVIa)

0,29 g (0,4 mMol) Benzyloxycarbonyl-D,L-asparaginyln-emetin (XIIIa und XIVa) werden in 25 ml Methanol gelöst und mit 0,1 g Pd-Kohle in 5 ml Methanol versetzt und analog 10. 3 Std. hydriert und aufgearbeitet. Man erhält 0,26 (100%) XIIIa und XIVa als glasige Masse. Schmp. (Äthanol) 204—207°.

$C_{33}H_{45}N_3O_7 \cdot 3 H_2O$ (649,8)	Ber.: C 61,00	H 7,91	N 6,47
	Gef.: C 61,11	H 8,06	N 6,35

Mol.-Gew.-Bestimmung (vaporometrisch in Äthanol):

Ber.: 595,8	Gef.: 600,0
-------------	-------------

15. D,L-Glutaminyln-emetin (XVb und XVIb)

0,76 g (1 mMol) Benzyloxycarbonyl-D,L-glutaminyln-emetin (XIIIb und XIVb) werden in 25 ml Methanol gelöst und mit 0,1 g Pd-Kohle analog 10. 1 Std. hydriert. Das Filtrat wird zur Hälfte i. Vak. eingengt. Durch Zugabe von Äther werden 0,6 g (98%) Isomerenmisch XVb und XVIb ausgefällt. Schmp. (Isopropanol) 175—177°.

$C_{34}H_{47}N_3O_7 \cdot 3 H_2O$ (663,8)	Ber.: C 61,52	H 8,05	N 6,33
	Gef.: C 61,77	H 7,69	N 6,08

Mol.-Gew. (vaporometrisch in Äthanol):

Ber.: 609,8	Gef.: 606,9
-------------	-------------

Setzt man die dc-getrennten Benzyloxycarbonyl-D,L-glutaminylnemetine für die Hydrierung ein, erhält man reines

α -Glutaminyln-emetin (XVb), Schmp. (Isopropanol) 181—184° bzw.

γ -Glutaminyln-emetin (XVIb), Schmp. (Isopropanol) 192—194°.

XVIb gibt im DC nach Besprühen mit Ninhydrin-Reagens im Trockenschrank bei 100° sehr schnell einen violetten Fleck, während XVb sich viel langsamer rosa färbt und erst nach längerer Zeit im Trockenschrank violett wird. Die IR-Spektren (KBr) beider Isomere sind praktisch identisch.