

## Synthese eines Azaanalogen des Antibiotikums Negamycin

Wolfgang Streicher und Hellmuth Reinshagen\*

Sandoz Forschungsinstitut, Brunnerstraße 59,  
A-1235 Wien, Österreich

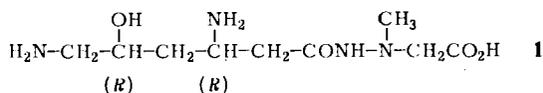
Eingegangen am 28. März 1974

Die Synthese des 3-Azaanalogen (2) des Antibiotikums Negamycin wird mitgeteilt. Das neue Derivat besitzt keine antibakterielle Aktivität.

### Synthesis of an Azaanalogue of the Antibiotic Negamycin

The synthesis of the 3-azaanalogue (2) of the antibiotic negamycin is reported. The new derivative does not exhibit antibacterial activity.

Negamycin (1), ein neues Antibiotikum relativ einfacher Struktur mit einem vorwiegend gegen gramnegative Keime gerichteten antibakteriellen Wirkungsspektrum, wurde von *Umezawa et al.*<sup>1)</sup> aus drei Stämmen isoliert, die mit *Streptomyces purpeofuscus* nahe verwandt sind. Die Struktur und die absolute Konfiguration dieses Antibiotikums wurden von der gleichen Arbeitsgruppe als {2-[(3*R*,5*R*)-3,6-Diamino-5-hydroxyhexanoyl]-1-methylhydrazino}essigsäure (1) bestimmt<sup>2)</sup>.



Kürzlich wurde eine Synthese von Negamycin und seinem optischen Antipoden mitgeteilt<sup>3)</sup>. Dabei wurde gefunden, daß die antibiotische Aktivität des Antipoden wesentlich geringer ist als die des natürlichen Produktes. Die richtige Stereochemie an den beiden Asymmetriezentren ist also Voraussetzung für eine gute Wirksamkeit. Spekulationen über die räumliche Anordnung der polaren Gruppierungen im Negamycin im Vergleich zu Kanamycin haben *Umezawa et al.*<sup>4)</sup> in einer Arbeit angestellt, in der der Wirkungsmechanismus des Negamycins mit einigen Aminoglycosid-Antibiotika, insbesondere mit Streptomycin und Kanamycin, verglichen wird.

Die Verbindung, in der eines der asymmetrischen C-Atome durch eine Gruppierung ersetzt ist, deren Konfiguration beweglich ist, könnte ebenfalls eine antibakterielle Aktivität besitzen. Eine solche Gruppierung läge vor, wenn ein C-Atom durch ein

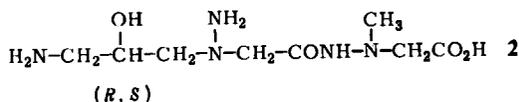
<sup>1)</sup> M. Hamada, T. Takeuchi, S. Kondo, Y. Ikeda, H. Naganawa, K. Maeda, Y. Okami und H. Umezawa, J. Antibiot. (Tokyo) **23**, 170 (1970).

<sup>2)</sup> S. Kondo, S. Shibahara, S. Takahashi, K. Maeda und H. Umezawa, J. Amer. Chem. Soc. **93**, 6305 (1971).

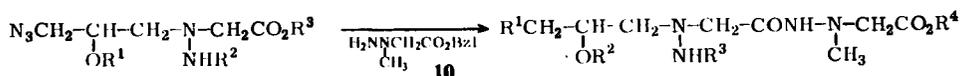
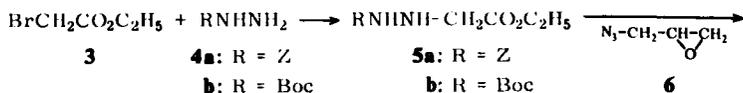
<sup>3)</sup> S. Shibahara, S. Kondo, K. Maeda, H. Umezawa und M. Ohno, J. Amer. Chem. Soc. **94**, 4353 (1972).

<sup>4)</sup> Y. Uehara, S. Kondo, H. Umezawa, K. Suzukake und M. Hori, J. Antibiot. (Tokyo) **25**, 685 (1972).

N-Atom ersetzt wird. Formaler Ersatz des C-3-Atoms der Hexansäure im Negamycin durch ein N-Atom führt zu einer Verbindung mit der Hydrazinstruktur **2**. Deren Synthese haben wir uns zur Aufgabe gestellt.



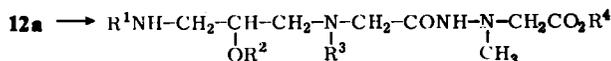
Die Synthese von **2** gelang nach folgendem Schema:



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
<b>7a</b>	H	Z	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
<b>b</b>	H	Boc	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
<b>8a</b>	THP	Z	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
<b>b</b>	THP	Boc	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
<b>9a</b>	THP	Z	H
<b>b</b>	THP	Boc	H

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>
<b>11a</b>	N <sub>3</sub>	THP	Z	Bzl
<b>b</b>	N <sub>3</sub>	THP	Boc	Bzl
<b>12a</b>	N <sub>3</sub>	H	Z	Bzl
<b>b</b>	N <sub>3</sub>	H	Boc	Bzl
<b>13a</b>	H <sub>2</sub> N	H	Boc	H
<b>b</b>	CH <sub>3</sub> CONH	COCH <sub>3</sub>	COCH <sub>3</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>

Z = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>OCO  
 Boc = (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>COCO  
 THP = Tetrahydro-  
 2-pyranyl  
 Bzl = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>



**14a:** R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = R<sup>3</sup> = R<sup>4</sup> = H

**b:** R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = R<sup>3</sup> = COCH<sub>3</sub>; R<sup>4</sup> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

Umsetzung von Bromessigsäure-äthylester (**3**) mit Carbazinsäure-benzylester (**4a**)<sup>5)</sup> ergab (2-Benzylloxycarbonylhydrazino)essigsäure-äthylester (**5a**). Diese Verbindung war von *Niedrich*<sup>6)</sup> aus Z-Nitrophenylester und Hydrazinoessigsäure-äthylester und Trennung der entstehenden 1- und 2-substituierten Hydrazinderivate erhalten worden. Umsetzung von **5a** mit 1-Azido-2,3-epoxypropan (**6**)<sup>7)</sup> ergab das Hydrazin **7a**, dessen OH-Gruppe in den Tetrahydropyranyläther **8a** umgewandelt wurde. Die Äthylestergruppierung in **8a** wurde mit NaOH zur freien Säure **9a** verseift.

(1-Methylhydrazino)essigsäure<sup>8)</sup> wurde durch Umsetzung mit Benzylalkohol und p-Toluolsulfonsäure zum Benzylester **10** umgesetzt, der als Hydrotosylat eingesetzt wurde. **10** und **9a** wurden in Acetonitril mittels Dicyclohexylcarbodiimid zum Hydrazid **11a** kondensiert. Abspaltung des Tetrahydropyranylrests in **11a** mittels 50proz. Essigsäure führte zur Hydroxyverbindung **12a**.

5) C. G. Overberger, L. C. Palmer, B. S. Marks und N. R. Byrd, J. Amer. Chem. Soc. **77**, 4100 (1955).

6) H. Niedrich, Chem. Ber. **98**, 3451 (1965).

7) J. D. Ingham, W. L. Petty und P. L. Nichols jr., J. Org. Chem. **21**, 373 (1956).

8) A. Carmi, G. Pollak und H. Yellin, J. Org. Chem. **25**, 44 (1960).

Katalytische Hydrierung von **12a** lieferte ein Produkt **14a**, in dem neben der Reduktion der Azidogruppe zum primären Amin und des Benzylesters zur freien Carbonsäure die N–N-Bindung der Hydrazinogruppe hydrogenolytisch zum sekundären Amin gespalten worden war. Sämtliche Versuche, durch Variation der Reaktionsbedingungen diese Spaltung zu verhindern, scheiterten. Acetylierung und Veresterung von **14a** ergab ein Produkt **14b**, dessen Massenspektrum ( $M^+ = 388$ ) die Struktur von **14a** bewies.

Um diese Spaltung zu vermeiden, wurde dieselbe Synthesefolge mit Boc an Stelle von Z durchgeführt. Bromessigsäure-äthylester (**3**) und *tert*-Butylcarbazat (**4b**) ergaben den (2-*tert*-Butyloxycarbonylhydrazino)essigsäure-äthylester (**5b**)<sup>6</sup>.

Die weitere Umsetzung von **5b** → **7b** → **8b** → **9b** → **11b** → **12b** erfolgte analog der oben beschriebenen Reaktionsfolge von **5a** → **12a**. Katalytische Hydrierung von **12b** führte zu einem Produkt **13a**, in dem die Azidogruppe zum Amin und die Benzylestergruppierung zur freien Carbonsäure reduziert worden war, während die Boc-Hydrazinogruppe unverändert blieb. Abspaltung der Boc-Gruppe mit Chlorwasserstoff/Eisessig ergab das gewünschte Produkt **2**. Dieses wurde mit Acetanhydrid acetyliert und mit Äthanol zu **13b** verestert. Das Massenspektrum dieser Verbindung ( $M^+ = 403$ ) beweist die Struktur von **2**.

**14a** und **2** zeigten, gegen eine Reihe von grampositiven und gramnegativen Bakterien getestet, bis zu einer Konzentration von 200 µg/ml keinerlei antibakterielle Aktivität.

## Experimenteller Teil

Für die Aufnahme der IR- und NMR-Spektren danken wir Herrn Dr. G. Schulz. Die Massenspektren (Elektronenstoß) verdanken wir Herrn Dr. A. Nikiforov vom Organisch-Chemischen Institut der Universität Wien, das Felddesorptionsspektrum wurde von der Firma Varian (Darmstadt) aufgenommen.

Schmelzpunkte wurden auf dem Mikroheiztisch nach Kofler bestimmt und sind nicht korrigiert. Für die Dünnschichtchromatographie wurden Merck-Fertigplatten Kieselgel 60 F 254 verwendet. Als Laufmittel dienten bei Estern Gemische von Chloroform und Äthanol (C/A) verschiedener Zusammensetzung (100:2 bis 8:2), bei den Aminosäuren Äthanol/34proz. Ammoniak im Verhältnis 7:3. Papierelektrophorese (PE) wurde auf Whatman 3MM-Papier mit Ameisensäure/Essigsäure/Wasser (25:75:900) als Pufferlösung bei einer Spannung von 2800 V und 55 mA durchgeführt. Es wird die Laufstrecke zur Kathode nach 45 min angegeben. — IR-Spektren: Perkin Elmer 421. NMR-Spektren: Varian HA 100; dabei bedeuten: b = beweglich; t = Triplett,  $J = 7$  Hz; AB = AB-System; q = Quartett,  $J = 7$  Hz.

(2-Benzylloxycarbonylhydrazino)essigsäure-äthylester (**5a**): 54.8 g Carbazinsäure-benzylester (**4a**) (0.33 mol) und 55.1 g Bromessigsäure-äthylester (**3**) (0.33 mol) in 800 ml absol. Benzol wurden nach Zugabe von 22.8 g gepulvertem Kaliumcarbonat 28 h unter Rühren zum Sieden erhitzt. Nach Abfiltrieren der Salze wurde die Lösung zur Trockene eingeeengt und der Rückstand mehrmals aus Diisopropyläther umkristallisiert. Man erhielt 43.5 g (52%) farblose Kristalle vom Schmp. 103–105°C (Lit.<sup>6</sup>) 94–95°C).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3330 (NH), 1745 (Ester), 1695 cm<sup>-1</sup> (CONH). — NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 7.4 ppm s (5H), 6.9 b (1H), 5.2 s (2H), 4.25 q (2H), 4.2 b (1H), 3.7 s (2H), 1.3 t (3H).

C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (252.3) Ber. C 57.14 H 6.39 N 11.11 Gef. C 57.23 H 6.37 N 11.23

[1-(3-Azido-2-hydroxypropyl)-2-benzyloxycarbonylhydrazino]essigsäure-äthylester (**7a**): 53.1 g **5a** (0.21 mol) und 42 g 1-Azido-2,3-epoxypropan (**6**)<sup>7)</sup> (0.42 mol) in 450 ml Äthanol und 200 ml Chloroform wurden 63 h zum Sieden erhitzt. Nach Zugabe von weiteren 21 g (0.21 mol) des Epoxids wurde weitere 3 Tage unter Rückfluß gekocht. Danach war im DC kein Ausgangsprodukt mehr nachweisbar. Das Lösungsmittel und der Überschuß des Epoxids wurden i. Vak. abdestilliert. Ausb. 74.0 g (100%) farbloses, DC-einheitliches Öl ( $R_F = 0.36$ , C/A 100:2), das nach längerem Stehenlassen im Tiefkühlfach durchkristallisierte. Schmp. 60–63°C (aus Äther/Petroläther).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3360 (OH, NH), 2100 cm<sup>-1</sup> (N<sub>3</sub>). — NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 7.4$  ppm s (5H), 7.1 b (1H), 5.14 s (2H), 4.2 q (2H), 3.72 AB ( $J = 8$  Hz) (2H), 2.6–4.0 m (5H), 1.3 t (3H).

C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> (351.4) Ber. C 51.28 H 6.02 N 19.93 Gef. C 51.39 H 6.08 N 19.39

{1-[3-Azido-2-(tetrahydro-2-pyraniloxy)propyl]-2-benzyloxycarbonylhydrazino}essigsäure-äthylester (**8a**): 74.0 g **7a** (0.21 mol) und 35.2 g 3,4-Dihydro-2H-pyran (0.36 mol) wurden mit 2.1 ml 2 N HCl in Essigester über Nacht bei Raumtemp. stehengelassen. Dann wurde in Äther aufgenommen, mit Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Eindampfen erhielt man 91.2 g (100%) eines DC-einheitlichen ( $R_F = 0.42$ , C/A 100:2), farblosen Öls, das direkt weiter umgesetzt wurde.

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3360 (NH), 2100 cm<sup>-1</sup> (N<sub>3</sub>). — NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 7.32$  ppm s (5H), 7.0 b (1H), 5.1 s (2H), 4.75 m (1H), 4.18 q (2H), 2.8–4.1 m (9H), 1.55 m (6H), 1.2 t (3H).

C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> (435.5) Ber. C 55.16 H 6.71 N 16.08 Gef. C 54.73 H 6.74 N 15.67

{1-[3-Azido-2-(tetrahydro-2-pyraniloxy)propyl]-2-benzyloxycarbonylhydrazino}essigsäure (**9a**): 91.2 g **8a** (0.21 mol) in 600 ml Methanol wurden nach Zugabe von 240 ml 1 N NaOH über Nacht bei Raumtemp. stehengelassen. Nach Zugabe von 1200 ml Wasser wurde das Methanol abdestilliert und die wäbr. Phase mehrmals mit Essigester gewaschen. Die wäbr. Phase wurde dann mit 240 ml 1 N CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H versetzt (Trübung) und mehrmals mit Essigester ausgezogen. Nach Trocknen mit Natriumsulfat und Eindampfen erhielt man 65.4 g (78%) eines DC-einheitlichen ( $R_F = 0.08$ ; C/A 100:5) Öls.

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3360 (NH), 2100 (N<sub>3</sub>), 1725 cm<sup>-1</sup> breit (CO<sub>2</sub>H). — NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 8.5$  ppm b (1H), 7.35 s (5H), 5.14 s (2H), 4.7 m (1H), 3.0–4.2 m (9H), 1.5 m (6H).

C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> (407.4) Ber. C 53.07 H 6.19 N 17.19 Gef. C 52.79 H 6.18 N 17.65

(1-Methylhydrazino)essigsäure-benzylester-hydrosylat (**10** · HO<sub>3</sub>SC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>): 20 g (1-Methylhydrazino)essigsäure (0.19 mol) wurden in einer Lösung von 76.0 g 4-Toluolsulfonsäure (0.44 mol) und 200 ml Benzylalkohol in 800 ml Benzol suspendiert und am Wasserabscheider unter Rückfluß gekocht. Nach 2 h wurde das Benzol abdestilliert, der Rückstand in 800 ml Äther aufgenommen, der ausgefallene Niederschlag abfiltriert und aus Methanol/Äther umkristallisiert. Man erhielt 44.1 g (63%) eines farblosen Pulvers vom Schmp. 96–99°C.

NMR (D<sub>2</sub>O):  $\delta = 7.62$  ppm AB ( $J = 8$  Hz) (2H), 7.2 s (5H), 7.04 AB ( $J = 8$  Hz) (2H), 5.04 s (2H), 3.8 s (2H), 2.8 s (3H), 2.1 s (3H).

[C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>SO<sub>3</sub> (366.4) Ber. C 55.73 H 6.05 N 7.64 S 8.75  
Gef. C 55.63 H 6.06 N 7.55 S 9.04

{2-[[1-(3-Azido-2-(tetrahydro-2-pyraniloxy)propyl]-2-benzyloxycarbonylhydrazino)acetyl]-1-methylhydrazino}essigsäure-benzylester (**11a**): Zu 16.0 g **10** (44 mmol), 17.8 g **9a** (44 mmol) und 4.42 g Triäthylamin (44 mmol) in 600 ml trockenem Acetonitril wurde unter Rühren bei 0–2°C in 40 min eine Lösung von 9.92 g Dicyclohexylcarbodiimid (48 mmol) in 100 ml Acetonitril getropft. Nach 2 h bei 0°C wurde über Nacht bei Raumtemp. gerührt, nach

Zugabe von 2 ml Eisessig der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat i. Vak. eingedampft. Man erhielt ein farbloses Öl, das laut DC in der Hauptsache aus 2 Substanzen ( $R_F = 0.39$  und  $0.49$ , C/A 100:5) bestand und das ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt wurde.

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 3340 (NH), 2100 ( $\text{N}_3$ ), 1735 (Ester),  $1680\text{ cm}^{-1}$  (CONH). — NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.4\text{ ppm s (10H)}$ ,  $5.22\text{ s (2H)}$ ,  $5.12\text{ s (2H)}$ ,  $4.75\text{ m (1H)}$ ,  $2.8\text{--}3.2\text{ m (12H)}$ ,  $2.74\text{ s (3H)}$ ,  $1.5\text{ m (6H)}$ .

{2-[1-(3-Azido-2-hydroxypropyl)-2-benzyloxycarbonylhydrazino]acetyl}-1-methylhydrazino}-essigsäure-benzylester (**12a**): Das ölige **11a** wurde in 250 ml 50proz. Essigsäure 10 min zum Sieden erhitzt. Nach Neutralisieren mit Natriumhydrogencarbonatlösung wurde mehrmals mit Essigester extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und nach Abdestillieren des Lösungsmittels der Rückstand über Kieselgel mit Chloroform/Äthanol (100:2) chromatographiert. Man erhielt 7.2 g (33 %, bezogen auf eingesetztes **9a**) eines DC-einheitlichen Öls ( $R_F = 0.26$ , C/A 100:5).

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 3350 (OH, NH), 2100 ( $\text{N}_3$ ), 1735 (Ester),  $1680\text{ cm}^{-1}$  (CONH). — NMR ( $\text{CHCl}_2\text{CHCl}_2$ ;  $120^\circ\text{C}$ ):  $\delta = 7.4\text{ ppm b (1H)}$ ,  $7.3\text{ s (10H)}$ ,  $7.1\text{ b (1H)}$ ,  $5.15\text{ s (2H)}$ ,  $5.10\text{ s (2H)}$ ,  $2.7\text{--}3.9\text{ m (8H)}$ ,  $2.39\text{ s (2H)}$ ,  $2.65\text{ s (3H)}$ . — MS (70 eV):  $m/e = 499\text{ (M}^+)$ .

$\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{N}_7\text{O}_6$  (499.5) Ber. C 55.30 H 5.86 N 19.63 Gef. C 55.15 H 5.88 N 19.56

{2-[N-(3-Amino-2-hydroxypropyl)glycyl]-1-methylhydrazino}essigsäure (**14a**): 540 mg **12a** (11 mmol) wurden in einem Gemisch von 40 ml Methanol und 25 ml 10proz. wäbr. Essigsäure gelöst und nach Zugabe von 250 mg Palladiumschwarz hydriert. Das nach Abfiltrieren des Katalysators und Abdestillieren der Lösungsmittel erhaltene Öl wurde in Methanol gelöst und mit Äther gefällt. Man erhielt 250 mg (97 %) eines farblosen amorphen Pulvers, das durch Säulenchromatographie auf Kieselgel mit 34proz.  $\text{NH}_3$ /Äthanol (3:7) gereinigt wurde ( $R_F$  im gleichen Laufmittel = 0.24).

IR (KBr): 2600–3500 breit (OH, NH,  $\text{CO}_2\text{H}$ ), 1670 (CONH),  $1580\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{CO}_2^\ominus$ ). — NMR ( $\text{D}_2\text{O} + \text{NaOD}$ ):  $\delta = 3.6\text{ ppm m (1H)}$ ;  $3.22\text{ s (2H)}$ ;  $3.10\text{ s (2H)}$ ;  $2.45\text{--}2.60\text{ m (4H)}$ ;  $2.43\text{ s (3H)}$ .

$\text{C}_8\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_4$  (243.3) Ber. C 41.02 H 7.75 N 23.02 Gef. C 40.24 H 7.51 N 23.63

{2-[N-Acetyl-N-(3-acetamido-2-acetoxypropyl)glycyl]-1-methylhydrazino}essigsäure-äthylester (**14b**): 200 mg **14a** (0.8 mmol) in 15 ml Pyridin wurden mit 15 ml Acetanhydrid 3 h auf  $60^\circ\text{C}$  erwärmt. Nach Eindampfen zur Trockene wurde der Rückstand mehrmals in Äthanol aufgenommen und die Lösung i. Vak. wieder eingedampft. Der ölige Rückstand wurde auf Kieselgel mit C/A (8:2) chromatographiert. Man erhielt 40 mg (13 %) eines DC-einheitlichen Öls ( $R_F = 0.32$ , C/A 8:2).

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 3320 (NH), 1735 (Ester),  $1670\text{ cm}^{-1}$  (NHCO). — NMR ( $\text{CHBr}_2\text{CHBr}_2$ ,  $100^\circ\text{C}$ ):  $\delta = 4.92\text{ ppm m (1H)}$ ;  $4.2\text{ q (2H)}$ ;  $3.6\text{ s (4H)}$ ;  $3.42\text{ m (4H)}$ ;  $2.77\text{ s (3H)}$ ;  $2.10\text{ s (6H)}$ ;  $2.00\text{ s (3H)}$ ;  $1.27\text{ t (3H)}$ . — MS (70 eV):  $m/e = 388\text{ (0.5\% ; M}^+)$ ,  $315\text{ (5\%)}$ ,  $257\text{ (80\%)}$ ,  $229\text{ (10\%)}$ ,  $187\text{ (100\%)}$ ,  $170\text{ (45\%)}$ ,  $145\text{ (35\%)}$ ,  $127\text{ (75\%)}$ .

(2-tert-Butyloxycarbonylhydrazino)essigsäure-äthylester (**5b**): 26.4 g Carbazinsäure-tert-butylester (**4b**) (0.2 mol), 33.4 g Bromessigsäure-äthylester (**3**) (0.2 mol) und 20.3 g Triäthylamin (0.2 mol) wurden in 200 ml Benzol 15 h unter Rückfluß gekocht. Die vom entstandenen Niederschlag abgesaugte benzolische Lösung wurde mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen, mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Das hinterbleibende Öl lieferte, i. Vak. fraktioniert, 23 g (57 %) eines farblosen, DC-einheitlichen Öls ( $R_F = 0.31$ , C/A 100:2) vom Sdp.  $123\text{--}127^\circ\text{C}/0.06\text{ Torr}$ , das im Tiefkühlschrank durchkristallisierte. Schmp.  $36\text{--}40^\circ\text{C}$  (Lit.<sup>6</sup>  $22\text{--}26^\circ\text{C}$ ).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3440 (NH), 1730 cm<sup>-1</sup> (Ester). — NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.77 ppm b (1H); 4.3 b (1H); 4.16 q (2H); 4.6 s (2H); 1.42 s (9H); 1.24 t (3H).

C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (218.3) Ber. C 49.51 H 8.31 N 12.83 Gef. C 49.77 H 8.10 N 12.84

[1-(3-Azido-2-hydroxypropyl)-2-tert-butylloxycarbonylhydrazino]essigsäure-äthylester (**7b**): 7.41 g **5b** (37 mmol) und 7.29 g **6<sup>7</sup>** (73 mmol) wurden in 100 ml absol. Äthanol 24 h zum Sieden erhitzt. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels und des Überschusses von **6** erhielt man 11.3 g (96%) eines DC-einheitlichen Öls (*R<sub>F</sub>* = 0.30, C/A 100:2), das direkt weiter umgesetzt wurde.

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3420 (OH), 3360 (NH), 2100 (N<sub>3</sub>), 1725 cm<sup>-1</sup> (Ester). — NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.8 ppm b (1H); 4.23 q (2H); 3.95 b (1H); 3.75 m (1H); 3.74 AB (*J* = 17 Hz) (2H); 3.1–3.5 (2H); 2.7 m (2H); 1.49 s (9H); 1.32 t (3H).

{1-[3-Azido-2-(tetrahydro-2-pyranyloxy)propyl]-2-tert-butylloxycarbonylhydrazino}essigsäure-äthylester (**8b**): 30.0 g **7b** (95 mmol) und 16.0 g 3,4-Dihydro-2H-pyran (190 mmol) wurden analog wie bei **8a** umgesetzt. Man erhielt 35.8 g (95%) eines DC-einheitlichen Öls (*R<sub>F</sub>* = 0.50, C/A 100:2, *R<sub>F</sub>* = 0.76, C/A 8:2).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3360 (NH), 2100 (N<sub>3</sub>), 1730 cm<sup>-1</sup> (Ester). — NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.7 ppm b (1H); 4.8 m (1H); 4.21 q (2H); 2.85–4.0 m (9H); 1.3–1.9 m (6H); 1.47 s (9H); 1.30 t (3H).

C<sub>17</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> (401.5) Ber. C 50.86 H 7.79 N 17.44 Gef. C 50.14 H 7.65 N 17.75

{1-[3-Azido-2-(tetrahydro-2-pyranyloxy)propyl]-2-tert-butylloxycarbonylhydrazino}essigsäure (**9b**): 16.0 g **8b** (40 mmol) wurden, wie bei **9a** beschrieben, umgesetzt. Man erhielt 10 g (67%) eines DC-einheitlichen Öls (*R<sub>F</sub>* = 0.44, C/A 8:2).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3360 (NH), 2100 (N<sub>3</sub>), 1720 cm<sup>-1</sup> breit (CO<sub>2</sub>H). — NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 6.18 ppm b (1H); 4.7 m (1H); 3.0–4.1 m (9H); 1.5–1.9 m (6H); 1.49 s (9H).

C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> (373.4) Ber. C 48.25 H 7.29 N 18.67 Gef. C 48.50 H 7.41 N 18.50

{2-{[1-[3-Azido-2-(tetrahydro-2-pyranyloxy)propyl]-2-tert-butylloxycarbonylhydrazino}acetyl]-1-methylhydrazino}essigsäure-benzylester (**11b**): 1.12 g **9b** (3 mmol), 1.10 g **10** (3 mmol) und 0.3 g Triäthylamin (3 mmol) wurden mit 0.68 g Dicyclohexylcarbodiimid (3.3 mmol) wie bei **11a** umgesetzt. Das erhaltene Öl wurde über Kieselgel mit C/A (100:5) chromatographiert. Man erhielt 940 mg (57%) eines aus 2 Flecken bestehenden Diastereomeren-gemisches (*R<sub>F</sub>* = 0.36 und 0.42; C/A 100:5).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3350 (NH), 2100 (N<sub>3</sub>), 1730 (Ester), 1675 cm<sup>-1</sup> (NHCO). — NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 9.2 ppm b (1H); 7.35 s (5H); 6.5 b (1H); 5.2 (2H); 4.7 m (1H); 5.3–6.1 m (9H); 3.95 m (2H); 2.78 s (3H); 1.4–2.0 m (6H); 1.43 s (9H). — MS (70 eV): *m/e* = 549 (1.5%; M<sup>+</sup>), 464 (9%), 448 (5%), 365 (48%), 279 (42%), 235 (24%), 188 (100%), 178 (70%), 144 (81%).

C<sub>25</sub>H<sub>39</sub>N<sub>7</sub>O<sub>7</sub> (549.6) Ber. C 54.64 H 7.16 N 17.84 Gef. C 54.66 H 7.23 N 17.46

{2-[1-(3-Azido-2-hydroxypropyl)-2-tert-butylloxycarbonylhydrazino]acetyl]-1-methylhydrazino}essigsäure-benzylester (**12b**): 2.1 g **11b** (3.1 mmol) wurden in 70 ml 50proz. Essigsäure 2 h auf 30°C erwärmt. Die Lösung wurde mit gesätt. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung versetzt und das abgeschiedene Öl mit CHCl<sub>3</sub> extrahiert. Nach Trocknen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Eindampfen hinterblieben 1.4 g (97%) eines DC-einheitlichen Öls (*R<sub>F</sub>* = 0.27, C/A 100:5).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3350 (OH, NH), 2100 (N<sub>3</sub>), 1680–1720 cm<sup>-1</sup> breit (Ester, CONH). — NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.9 ppm b (1H); 7.36 s (5H); 7.1 b (1H); 5.2 s (2H); 3.0–4.0 m (8H); 2.7 bis 2.8 m (2H); 2.78 s (3H); 1.45 s (9H).

C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub> (465.5) Ber. C 51.60 H 6.72 N 21.03 Gef. C 51.93 H 7.08 N 20.73

{2- $\{[1-(3\text{-Amino-2-hydroxypropyl})-2\text{-tert-butylloxycarbonylhydrazino}]acetyl\}$ -1-methylhydrazino}essigsäure (**13a**): 1.4 g **12b** (3 mmol) wurden in einem Gemisch von 60 ml Methanol und 20 ml 10proz. wäbr. Essigsäure mit 350 mg Palladiumschwarz bis zum Ende der Wasserstoffaufnahme hydriert. Nach Abfiltrieren vom Katalysator und Eindampfen hinterblieben 900 mg (86%) eines hellen DC- ( $R_F = 0.36$ , Äthanol/34proz.  $NH_3$  7:3) und PE (Laufstrecke 8.5 cm)-einheitlichen Schaumes.

IR (KBr): 2800–3600 breit (OH, NH,  $CO_2H$ ), 1660–1720 breit (CONH,  $NHCO_2$ ), 1580  $cm^{-1}$  ( $CO_2^\ominus$ ). — NMR ( $D_2O$ ):  $\delta = 4.0$  ppm m (1H); 3.6 s (2H); 3.42 s (2H); 2.9 bis 3.4 m (4H); 2.67 s (3H); 1.5 s (9H).

$C_{13}H_{27}N_5O_6$  (349.4) Ber. C 44.7 H 7.8 N 20.0 Gef. C 44.6 H 7.7 N 18.8

{2- $\{[1-(3\text{-Amino-2-hydroxypropyl})hydrazino]acetyl\}$ -1-methylhydrazino}essigsäure (**2**): 250 mg **13a** (0.7 mmol) wurden in 10 ml HCl in Eisessig (5 g HCl/100 ml) 1 h bei Raumtemp. geschüttelt. Das durch Zugabe von absol. Äther ausgefällte Hydrochlorid wurde abgesaugt, in Wasser gelöst und über eine Säule mit schwach basischem Ionenaustauscher (Amberlite IR 45, OH-Form) filtriert. Das wäbr. Filtrat wurde i. Vak. zur Trockene eingedampft, der Rückstand in Methanol aufgenommen und mit Äther das Produkt ausgefällt. Man erhielt 150 mg eines farblosen, PE-einheitlichen (Laufstrecke 18 cm) amorphen Pulvers.

IR (KBr): 2800–3600 breit (OH, NH,  $CO_2H$ ), 1660 ( $NHCO$ ), 1590  $cm^{-1}$  ( $CO_2^\ominus$ ). — NMR (Hydrochlorid in  $D_2O$ ):  $\delta = 3.44$  ppm s (4H); 2.75–3.40 m (4H); 2.68 s (3H). — MS (Felddesorption):  $m/e = 250$  (100%,  $M + 1$ ).

$C_8H_{19}N_5O_4$  (249.3) Ber. C 38.54 H 7.68 N 28.09 Gef. C 38.04 H 7.92 N 27.53

{2- $\{[1-(3\text{-Acetamido-2-acetoxypropyl})-2\text{-acetylhydrazino}]acetyl\}$ -1-methylhydrazino}essigsäure-äthylester (**13b**): 50 mg **2** (0.2 mmol) wurden in 5 ml Pyridin gelöst und nach Zugabe von 5 ml Acetanhydrid 3.5 h auf 60°C erwärmt. Nach Eindampfen i. Vak. wurde mehrmals in Äthanol aufgenommen und i. Vak. wieder eingedampft. Das erhaltene Öl lieferte, über Kieselgel mit C/A (10:1) chromatographiert, 16.5 mg (21%) eines farblosen, DC-einheitlichen Öls ( $R_F = 0.27$ , C/A 8:2).

IR ( $CHCl_3$ ): 3300 (NH), 1730 (Ester), 1660  $cm^{-1}$  (CONH). — NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta = 4.90$  ppm m (1H); 4.2 q (2H); 2.7–3.8 m (8H); 2.75 s (3H); 2.07 s (3H); 2.04 s (3H); 1.93 s (3H); 1.28 t (3H). — MS (70 eV):  $m/e = 403$  (1%,  $M^+$ ), 345 (5%), 330 (4%), 257 (10%), 244 (27%), 230 (34%), 158 (100%).

[127/74]