

Für die Messung der pK-Werte sind wir Herrn Dr. *E. Heilbronner*, Zürich, und für die biologische Prüfung der neuen Nebennieren-Steroide Herrn Prof. *R. Meier* und Herrn Dr. *P. Desaulles* dankbar.

Bei der technischen Durchführung der mikrobiologischen Hydroxylierungen war uns Herr Dr. *E. Vischer*, bei derjenigen der vielen Papierchromatogramme Herr *E. von Arx* bestens behilflich.

SUMMARY.

Nine additional compounds of the pregnane series have been isolated from adrenals. Elucidation of their constitution showed that four are known compounds, but five are new. They are derived from the classical corticoids by hydroxylation in the 6 β - or 19-positions, by reduction of the 4,5-double bond or 20-keto group, and by oxydation of the angular 18-methyl group not merely to an aldehyde, as in aldosterone, but to a carboxyl group. The latter derivative is of special biochemical interest.

Forschungslaboratorien der *CIBA Aktiengesellschaft*, Basel,
Pharmazeutische Abteilung.

240. Aminosäure-Analogue aus der Hydrazinreihe III¹⁾

von **K. Ronco**, **B. Prijs** und **H. Erlenmeyer**.

(13. X. 56.)

In vorangegangenen Mitteilungen¹⁾ berichteten wir über einige dem Phenylalanin bzw. Alanin entsprechende Hydrazinverbindungen.

Wie *F. E. Lehmann*²⁾ gezeigt hatte, sind von den α -Aminoketonen die vom Leucin abzuleitenden Verbindungen im Regenerationstest besonders wirksam. Es war daher interessant, auch die dieser Aminosäure entsprechenden Hydrazinderivate zu gewinnen.

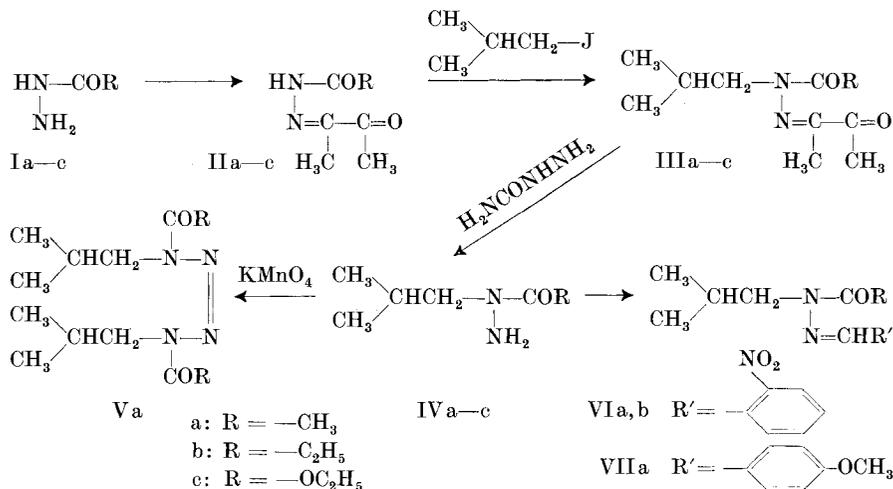
Wir folgten bei der Darstellung dieser Verbindungen (IV a–c) im Prinzip der bisherigen Arbeitsweise, wobei jedoch einige Schwierigkeiten zu Modifikationen der früher gegebenen Darstellungsvorschriften führten.

Die N-Alkylierung mit Isobutyljodid erfolgt schwieriger als diejenige mit Methyljodid, so dass die bis jetzt angewandten Bedingungen¹⁾ nicht zu einem Umsatz führten. Bei Versuchen unter erhöhtem Druck im Bombenrohr bei 90° in Aceton konnten die gewünschten

¹⁾ *K. Ronco & H. Erlenmeyer*, Helv. **39**, 1045 (1956); *K. Ronco, B. Prijs & H. Erlenmeyer*, Helv. **39**, 1253 (1956).

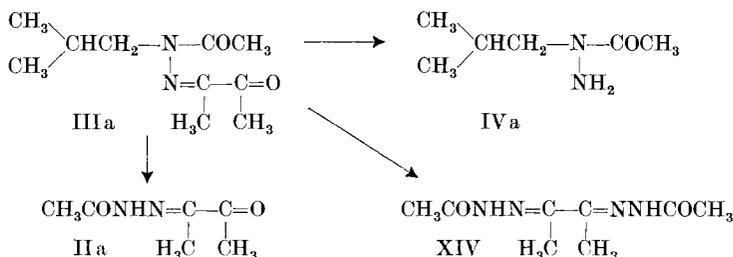
²⁾ *F. E. Lehmann, A. Bretscher, H. Kühne, E. Sorkin, M. Erne & H. Erlenmeyer*, Helv. **33**, 1217 (1950); *F. E. Lehmann, R. Weber, H. Aebi, J. Bäumler & H. Erlenmeyer*, Helv. Physiol. Acta **12**, 147 (1954); *H. Erlenmeyer & F. E. Lehmann*, Experientia **12**, 472 (1949). Vgl. auch *H. Erlenmeyer & H. Kühne*, Helv. **32**, 370 (1949).

N,N-disubstituierten Hydrazone (III a–c) nur in geringer Ausbeute isoliert werden. Besseren Erfolg erzielten wir bei Verwendung von



höher siedenden Ketonen an Stelle von Aceton; der Umsatz verläuft – bei Atmosphärendruck – langsamer, aber schonender und führt zu befriedigenden Ausbeuten. Das Monopropionylhydrazon des Diacetyls (IIb) ergibt die besten Ausbeuten beim Umsatz in Methyläthylketon, während für die Reaktion des Mono-acetylhydrazon des Diacetyls (IIa) und des Mono-carbäthoxyhydrazon des Diacetyls (IIc) mit Isobutyljodid die höher gelegene Siedetemperatur des Diäthylketons erforderlich ist.

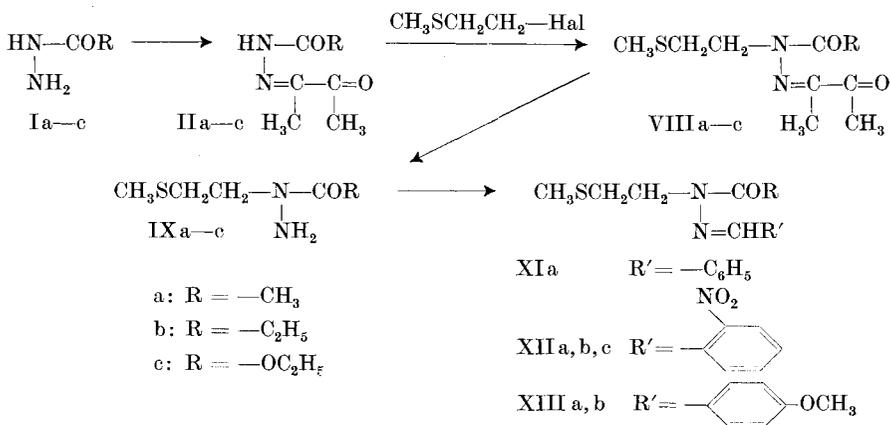
Die früher beschriebene Spaltungsmethode für die disubstituierten Hydrazone musste durch eine schonendere ersetzt werden. So konnten wir nur bei der Spaltung des Mono-N-isobutyl-N-acetyl-hydrazon des Diacetyls (IIIa) nach der bisherigen Methode in geringer Menge das gewünschte N-Isobutyl-N-acetylhydrazin (IV a) isolieren, da hierbei in grösserer Menge unter Abspaltung des Isobutylrestes das Monoacetylhydrazon des Diacetyls (IIa) (Smp. 159°) und wenig Diacetylhydrazon des Diacetyls (XIV) (Zers. > 320°) entstehen.



Bessere Resultate erhielten wir, indem wir durch eine Verdrängungsreaktion mit Hydrazinderivaten, die mit Diacetyl ein in Alkohol und Wasser schwer lösliches Dihydrason ergeben, die gewünschten Hydrazine (IV a–c) freisetzten. Das zu diesem Zweck zuerst verwendete Phenylhydrazin ergibt stark gefärbte Produkte; als geeignet erwies sich Semicarbazid, das zu befriedigenden Ausbeuten führte. Die Spaltung erfolgt schon bei 0°, doch erhielten wir bei 80° bessere Ausbeuten. Die Reinigung der mit Ausgangsmaterial und Nebenprodukten verunreinigten Hydrazinderivate IV a–c gelang durch Destillation.

Zur Charakterisierung stellten wir aus der Verbindung IV a das Tetrazen Va dar. Als weitere Derivate dieser Verbindungen wurden die Hydrazone VIa, b und VIIa gewonnen. Aus dem Hydrazin IV c konnten mit o-Nitro- und p-Methoxybenzaldehyd keine kristallisierenden Derivate erhalten werden.

Weiterhin war es von Interesse, Verbindungen aus dieser Reihe kennenzulernen, die strukturanalog mit einer der Mercapto-amino-säuren sind. Im folgenden beschreiben wir die Synthese der mit dem Methionin zu vergleichenden N-(β-Methylmercaptoäthyl)-N-acyl-(carbalkoxy-)hydrazine IX a–c.



Die N-Alkylierung des am besten reagierenden Monopropionylhydrazon des Diacetyls (II b) gelang bereits mit β-Chlorathylmethylsulfid³⁾ in Methyläthylketon. Die träger reagierenden Verbindungen II a bzw. II c setzten sich auch in Diäthylketon bei 95° nicht um; diese Hydrazone reagieren aber gut mit β-Bromathylmethylsulfid⁴⁾ in Diathylketone und ergaben befriedigende Ausbeuten an VIII a und c.

Um zu den Hydrazinen IX a–c zu gelangen, verwendeten wir die vorhin erwähnte Spaltungsmethode mit Semicarbazid. Wir erhiel-

³⁾ Dargestellt nach Organic Syntheses, Coll. Vol. II, 136, 345 und 411.

⁴⁾ Dargestellt nach E. Schneider, Chem. Ber. 84, 914 (1951).

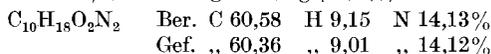
ten analysenreine Produkte bei den Verbindungen IX a und b. Das N-(β -Methylmercaptoäthyl)-N-carbäthoxyhydrazin (IX c) erhielten wir nach dieser Methode erst rein nach Destillation, Trennung an Alox und erneuter Destillation. Besser bewährt sich hier die früher angewendete Spaltungsmethode mit einem Gemisch Alkohol/Wasser (1:1) im N_2 -Strom¹), die direkt ein analysenreines Produkt lieferte.

Zur Charakterisierung dieser Verbindungen wurden die Hydrazone XIa, XIIa, b und c und XIIIa und b dargestellt.

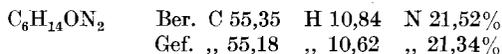
Über die biologische Wirkung der beschriebenen Verbindungen wird später berichtet.

Experimenteller Teil.

I. N-Isobutyl-N-acetylhydrazin (IVa) und Derivate. Mono-N-isobutyl-N-acetylhydrazon des Diacetyls (IIIa). 21,3 g Monoacetylhydrazon des Diacetyls (IIa) wurden bei 100° in 200 cm³ abs. Xylol gelöst und dann bei 125–130° unter Rühren portionsweise mit 5,5 g Kalium versetzt. Das nach 2stündigem Erwärmen bei 120–130° entstandene intensiv gelbe, feinverteilte Kaliumsalz wurde nach dem Erkalten abgenutscht, mit abs. Xylol gewaschen und in 150 cm³ abs. Diäthylketon suspendiert. Unter gutem Rühren wurden bei 90–95° 33 g Isobutyljodid in 30 cm³ abs. Diäthylketon zuge tropft. Es wurde 40 Std. bei 90–95° weitergerührt, nach dem Erkalten abgenutscht, mit Diäthylketon gewaschen und bei 12 mm/70° eingengt. Der Rückstand wurde bei 50° dreimal mit je 50 cm³ Petroläther (Sdp. 40–55°) extrahiert, die erhaltene Lösung auf –10° gekühlt, vom Ausgangsmaterial durch Filtrieren getrennt und das Filtrat im Vakuum eingengt. Das in der Lösung verbliebene rohe Hydrazon wurde im Kugelrohr nach *Späth* (vgl. die Beschreibung am Schluss dieser Arbeit) bei 60–90°/0,03 mm destilliert. Redestillation bei 65°/0,03 mm ergab 10,2 g (34,4%) reines IIIa als gelbes Öl.

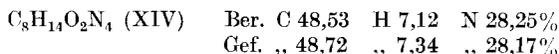


N-Isobutyl-N-acetylhydrazin (IVa). a) 2,35 g Semicarbazid-hydrochlorid wurden in 3 cm³ dest. Wasser gelöst, mit konz. NaOH bis pH 9 versetzt, dann mit Essigsäure auf pH 7 eingestellt und filtriert. Diese Lösung versetzte man bei 80° unter intensivem Rühren mit 2 g IIIa in 6 cm³ abs. Äthanol und rührte 1 Std. bei 80° weiter. Bereits nach etwa 1 Min. beginnt das Di-semicarbazon des Diacetyl als schwach gelber Niederschlag auszufallen. Nach dem Erkalten wurde 3 Std. bei 0° stehengelassen, dann abgenutscht, mehrmals mit Äthanol gewaschen und das Filtrat im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde im Kugelrohr bei 60–80°/0,05 mm destilliert und ergab 0,35 g (27%) rohes IVa. Nach zweimaligem Kristallisieren aus Petroläther (Sdp. 40–55°)/Äther (10:1) Smp. 52–54°.



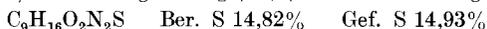
b) 2,40 g IIIa wurden mit 50 cm³ Äthanol und 50 cm³ dest. Wasser 1 Std. im N_2 -Strom erhitzt. Sodann wurde unter Rühren bei 75–95° während 5 Std. unter zeitweiliger Ergänzung von Äthanol und Wasser ein Gemisch von Diacetyl, Äthanol und Wasser abdestilliert. Nach dem Eindampfen der nun Diacetyl-freien Lösung im Vakuum wurde mit Alkohol aufgeköcht und durch Filtrieren von Ungelöstem getrennt.

Der geringe Rückstand ergab aus Dimethylformamid ein gelbes Kristallisat, Zers. > 320°.

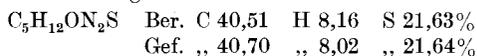


Das Filtrat wurde im Vakuum eingengt, der Rückstand im Kugelrohr bei 60–80°/0,05 mm destilliert und das erstarrte Destillat zweimal aus Petroläther (Sdp. 40–55°) kristallisiert. In geringer Ausbeute erhielt man so das Hydrazin IVa vom Smp. 51,5–54°.

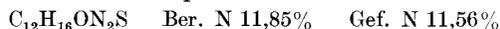
IV. N-(β -Methylmercaptoäthyl)-N-acetylhydrazin (IX a) und Derivate. Mono-N-(β -methylmercaptoäthyl)-N-acetylhydrazon des Diacetyls (VIIIa). Aus 12,8 g Mono-acetylhydrazon des Diacetyls (IIa) in 125 cm³ abs. Xylol und 3,3 g Kalium wurde wie bei IIIa beschrieben das Kaliumsalz hergestellt. Das bei Reaktion mit 18 g β -Bromäthyl-methylsulfid⁴⁾ in 100 cm³ abs. Diäthylketon während 18 Std. bei 90–95⁰ erhaltene rohe Hydrazon VIIIa wurde im Kugelrohr bei 80–100⁰/0,1 mm destilliert. Redestillation bei 90⁰/0,09 mm ergab 8,5 g (44%) reines VIIIa als gelbes Öl.



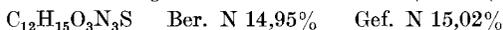
N-(β -Methylmercaptoäthyl)-N-acetylhydrazin (IXa). Die Spaltung von 2 g VIIIa erfolgte mit 2,1 g Semicarbazidhydrochlorid wie bei IVa beschrieben. Destillation im Kugelrohr bei 80–100⁰/0,1 mm ergab 0,75 g (54,5%) rohes IXa. Redestillation erfolgte bei 85⁰/0,09 mm und ergab ein farbloses Öl.



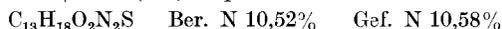
Hydrazone des N-(β -Methylmercaptoäthyl)-N-acetylhydrazins (XI a bis XIII a). a) mit Benzaldehyd: XIa. Eine Lösung von 55 mg Benzaldehyd in 2 cm³ abs. Äthanol wurde mit 75 mg IXa versetzt, 24 Std. bei 20⁰ und 2 Tage bei –10⁰ stehengelassen, im Vakuum eingedampft, der Rückstand — der bei –10⁰ nicht kristallisierte — mit Wasser verrieben, der sich bildende körnige Niederschlag abgenutscht, getrocknet und aus Petroläther kristallisiert. Smp. 40–41⁰.



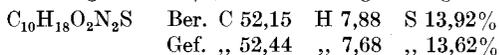
b) mit o-Nitrobenzaldehyd: XIIa. Aus 75 mg IXa und 75 mg o-Nitrobenzaldehyd wurde das Hydrazon wie bei XIa gewonnen. Aus Petroläther/Äther (1:1) Smp. 71–71,5⁰.



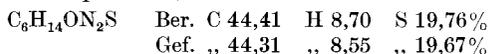
c) mit p-Methoxybenzaldehyd: XIIIa. Aus äquimolaren Mengen wie bei XIa gewonnen. Aus Petroläther/Äther (1:3) Smp. 76–77⁰.



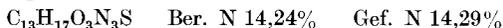
V. N-(β -Methylmercaptoäthyl)-N-propionylhydrazin (IX b) und Derivate. Mono-N-(β -methylmercaptoäthyl)-N-propionylhydrazon des Diacetyls (VIII b). Aus 14,1 g IIb in 120 cm³ abs. Xylol und 3,2 g Kalium wurde wie bei VIIIa beschrieben das Kaliumsalz dargestellt. Das bei Reaktion mit 12 g β -Chloräthylmethylsulfid³⁾ und 80 cm³ abs. Methyläthylketon während 15 Std. bei 65–70⁰ erhaltene rohe Hydrazon wurde im Kugelrohr bei 80–110⁰/0,09 mm destilliert und ergab 5,2 g (25%) rohes Hydrazon. Redestillation erfolgte bei 95⁰/0,07 mm und ergab ein gelbes Öl.



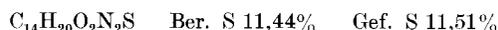
N-(β -Methylmercaptoäthyl)-N-propionylhydrazin (IX b). Die Spaltung von 2,4 g VIIIb erfolgte mit 2,45 g Semicarbazidhydrochlorid wie bei IVa beschrieben. Das rohe Hydrazin IXb wurde im Kugelrohr bei 70–100⁰/0,1 mm destilliert, und das erstarrte Destillat zweimal aus Petroläther/Äther (1:1) kristallisiert. Man erhielt 0,65 g (37%) reines IXb vom Smp. 66–66,5⁰.



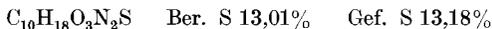
Hydrazone des N-(β -Methylmercaptoäthyl)-N-propionylhydrazins (XII b, XIII b). a) mit o-Nitrobenzaldehyd: (XIIb). Aus 81 mg IXb und 75 mg o-Nitrobenzaldehyd wurde das Hydrazon wie bei VIa beschrieben gewonnen. Aus Petroläther/Äther (2:1) Smp. 54–55⁰.



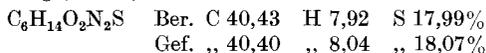
b) mit p-Methoxybenzaldehyd: (XIIIb). Aus äquimolaren Mengen wie bei VIa gewonnen. Aus Petroläther Smp. 38–39⁰.



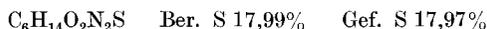
VI. N-(β -Methylmercaptoäthyl)-N-carbäthoxyhydrazin (IXc). Mono-N-(β -methylmercaptoäthyl)-N-carbäthoxyhydrazon des Diacetyls (VIIc). Aus 15,45 g Monocarbäthoxyhydrazon des Diacetyls (IIc) in 130 cm³ abs. Xylol und 3,1 g Kalium wurde wie bei IIIa beschrieben das Kaliumsalz dargestellt. Das bei Reaktion mit 17 g β -Bromäthylmethylsulfid⁴⁾ in 80 cm³ abs. Diäthylketon während 22 Std. bei 95⁰ erhaltene rohe Hydrazon wurde im Kugelrohr bei 80—110⁰/0,1 mm destilliert, man erhielt 9,6 g (43,3%) VIIIc. Redestillation bei 95⁰/0,1 mm ergab ein gelbes Öl.



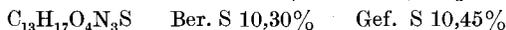
N-(β -Methylmercaptoäthyl)-N-carbäthoxyhydrazin (IXc). a) 2,5 g VIIIc wurden mit 50 cm³ Äthanol und 50 cm³ dest. Wasser im N₂-Strom erhitzt; dabei wurde unter Rühren bei 75—95⁰ während 6 Std. unter zeitweiliger Ergänzung von Äthanol und Wasser ein Gemisch von Diacetyl, Äthanol und Wasser abdestilliert. Nach dem Einengen der das Hydrazin IXc enthaltenden, nun Diacetyl-freien Lösung wurde zur Entfernung von Wasserspuren zweimal in abs. Äthanol gelöst und eingedampft. Das so erhaltene Öl wurde im Kugelrohr bei 60—80⁰/0,02 mm und sodann bei 70⁰/0,02 mm destilliert. Man erhielt 0,83 g (45,8%) reines IXc als farbloses Öl.



b) 2,8 g VIIIc wurden wie bei IVa beschrieben mit 2,6 g Semicarbazid-hydrochlorid umgesetzt. Das nach Destillation im Kugelrohr erhaltene gelbe Öl wurde an Alox chromatographiert, wobei das Hydrazin IXc mit einem Gemisch Äther/Methanol (4:1) eluierbar ist. Destillation im Kugelrohr bei 70⁰/0,02 mm ergab reines IXc als farbloses Öl in geringer Ausbeute.



o-Nitrobenzyliden-N-(β -methylmercaptoäthyl)-N-carbäthoxyhydrazin (XIIc). 90 mg IXc wurden mit 75 mg o-Nitrobenzaldehyd in 2 cm³ abs. Äthanol 24 Std. bei 20⁰ und 2 Tage bei -10⁰ stehengelassen. Sodann wurde im Vakuum eingedampft. Das zurückbleibende Öl erstarrte nach 14-tägigem Stehen bei -10⁰. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Petroläther/Äther (4:1) Smp. 46—47⁰.



Kugelrohrdestillation nach Späth. In dieser und den vorangegangenen Arbeiten¹⁾ wurde wiederholt die von E. Späth entwickelte Kugelrohrdestillation angewendet, eine Destillationstechnik⁵⁾, die in der letzten Zeit vielseitige Verwendung gefunden hat, und die daher im folgenden kurz beschrieben sei.

Apparatur (vgl. Fig. 1): Das Luftbad ist im Unterschied zum Pregl'schen Destillationsgerät⁶⁾ mit Fenstern versehen. Höhe des Destillationskastens 16 cm (ohne Beine), Tiefe 15 cm, Länge 40 cm. Abnehmbarer Deckel mit zwei Thermometern (in der Mitte des Kastens und nahe der Austrittsöffnung) zum Messen der Luftbadtemperatur. Kugelrohr aus Glas, Länge, Kugelgröße und -zahl je nach Verwendungszweck:

a) Für Destillation: Rohr innerer \varnothing 8—12 mm mit 3—4 Kugeln, nach der endständigen Kugel leicht abgebogen. Bei 10—15 g Destillationsgut Länge etwa 500 mm, endständige Kugel \varnothing 55 mm, die anderen \varnothing 40—45 mm.

b) Für Sublimation: grades Rohr, endständige Kugel \varnothing 20—50 mm.

Arbeitsvorschrift: Die zu destillierende (oder zu sublimierende) Substanz wird in einem leichtflüchtigen Lösungsmittel gelöst, durch einen Trichter mit langem Rohr in die endständige Kugel eingefüllt (Füllung jeweils nicht mehr als $\frac{1}{3}$), das Lösungsmittel abgedampft und hierauf so im Luftbad drehbar eingespannt, dass die vorderste Kugel aus dem Kasten herausragt (vgl. Fig. 1). Man evakuiert das Rohr am Hochvakuum und heizt das Luftbad mit zwei Bunsen-Brennern langsam in der Weise an, dass die Temperatur

⁵⁾ Vgl. dazu: Chemie für Labor und Betrieb 1953, 234 (Umschau Verlag, Frankfurt); O. E. Newfield, Austral. J. Med. Technol. 3, 11 (1954).

⁶⁾ A. Treibs & H. Scherer, Liebigs Ann. Chem. 577, 139 (1952).

beim Rohraustritt etwa 5° höher liegt als in der Mitte des Kastens. Hierauf steigert man die Temperatur langsam, bis sich das Destillat in der äusseren Kugel abzusecheiden beginnt. Dies ist gewöhnlich bei ca. $5-10^{\circ}$ unterhalb des Siedepunktes der Substanz der

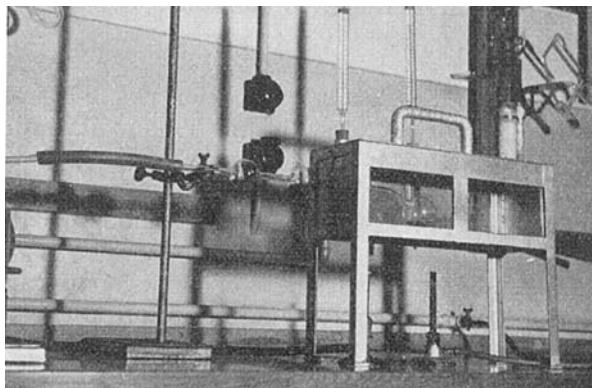


Fig. 1.

Fall. Die Oberflächenverdampfung kann durch Drehen des Rohres erleichtert werden. Indem man im Verlaufe der Destillation nacheinander die zweite und die folgenden Kugeln aus dem Kasten nimmt, kann man leichterflüchtige von schwerer flüchtigen Anteilen trennen. Bei leichtflüchtigen Destillaten empfiehlt es sich, die als Vorlage verwendete Kugel mit Watte zu umwickeln und durch Auftropfen von Eiswasser oder durch Eintauchen in CO_2 /Aceton-Gemisch zu kühlen. Zur Entnahme der Fraktionen werden die Rohre zerschnitten. Für besondere Zwecke kann man die Kugeln auch mittels Normalschliffen aneinanderfügen. Für Sublimationsrohre gilt sinngemäss das gleiche.

Vorteile der Methode: Es ist nicht nötig, die Substanz auf den Sdp. zu erhitzen; dadurch werden die zu destillierenden Produkte weitgehend geschont. Kurzer Destillationsweg, nur Glasteile. Apparatur rasch betriebsbereit und billig. Verwendbar bei Temperaturen knapp über Raumtemperatur bis etwa 200° . Die Methode gestattet auch mit kleinen Mengen eine bessere Fraktionierung als die *Pregl'sche*. Es lassen sich Mengen von ca. 0,1 g bis 15 g destillieren. Eine genaue Angabe des Sdp. ist hierbei jedoch nicht möglich und eine etwas verlängerte Destillationsdauer muss in Kauf genommen werden.

Wir danken Herrn Prof. Dr. H. Schmid vom chemischen Institut der Universität Zürich für seine wertvollen Ratschläge bezüglich der Kugelrohrdestillation.

Die Mikroanalysen verdanken wir z. T. dem Mikroanalytischen Laboratorium der CIBA Aktiengesellschaft (Dr. H. Gysel), z. T. dem Mikrolabor der Organisch-chemischen Anstalt (E. Thommen).

SUMMARY.

Several structural analogues of the amino-acids leucine and methionine of the general formula $\text{R}'-\text{N}(\text{NH}_2)\text{COR}$ were synthesized. Details of the *Späth* distillation method are given.

Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel.