

Hydrazinosäuren als Heterobestandteile in Peptiden. II

## **N<sup>α</sup>,N<sup>β</sup>-Diacylhydrazinoessigsäure- und N-Aminopeptid-Derivate**

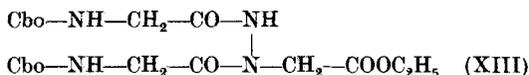
VON HARTMUT NIEDRICH und WOLFGANG KNOBLOCH

### Inhaltsübersicht

Der  $\alpha$ -Stickstoff der Cbo-aminoacylhydrazinoessigsäure-Derivaten ist acylierbar und muß für weitere Umsetzungen geschützt werden. Es ergibt sich die Möglichkeit zur Synthese verzweigter Peptide, deren Aminoendgruppen bei Verwendung zweier Schutzgruppen unterschiedlicher Abspaltbarkeit selektiv weiter aminoacyliert werden können. Die Darstellung von zwei Di-cbo-hydrazinoacetylaminosäureestern wird beschrieben.

Das freie Hydrazin- $\alpha$ -stickstoffatom von Aminoacylhydrazino-essigsäure-Derivaten hatte bei der Verseifung und den weiteren Umsetzungen zu Mißerfolgen Anlaß gegeben<sup>1)</sup>. Durch Acylierung des  $\alpha$ -Stickstoffes lassen sich solche Nebenreaktionen vermeiden. Der bei der Carbobenzoylierung von Cbo-glycylhydrazinoessigsäureäthylester erhaltene sirupöse Ester konnte glatt zur N<sup>β</sup>-Cbo-glycyl-N<sup>α</sup>-cbo-hydrazinoessigsäure (VIII) verseift werden. VIII wurde dann nach der Dicyclohexylcarbodiimid-Methode (DCCD)<sup>2)</sup> mit Glycinmethylester zum N<sup>β</sup>-Cbo-glycyl-N<sup>α</sup>-cbo-hydrazinoacetyl-glycin-methylester (XI) verknüpft, was mit freiem  $\alpha$ -Stickstoff nicht gelingt. Unter diesen Bedingungen ist also der Einsatz von Hydrazinodipeptiden als Carboxylkomponente zur Synthese höherer Hydrazinopeptide grundsätzlich möglich.

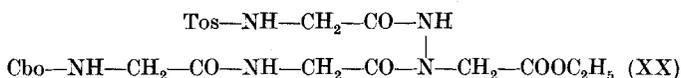
Die Acylierbarkeit des  $\alpha$ -Stickstoffes bietet eine Möglichkeit zum Aufbau verzweigter Peptide. So reagiert Cbo-glycylhydrazinoessigsäure-äthylester als basische Komponente mit dem beim DCCD-Verfahren intermediär entstehenden aktivierten Cbo-glycin-Derivat zu XIII.



<sup>1)</sup> W. KNOBLOCH u. H. NIEDRICH vorstehend.

<sup>2)</sup> J. C. SHEEHAN u. G. P. HESS, J. Amer. chem. Soc. **77**, 1067 (1955).

Durch Variation der Aminosäurekomponenten ist auf diese Weise die Herstellung aminoacylierter N-Aminopeptide möglich, wie die Synthese von N<sup>α</sup>-Cbo-glycyl-N<sup>β</sup>-cbo-L-valyl-hydrazinoessigsäure-methylester (IV) zeigt. Die Anwendung von Schutzgruppen unterschiedlicher Abspaltbarkeit für beide Aminoacylreste gibt die Möglichkeit der selektiven Anknüpfung weiterer Aminosäuren an nur eine Aminogruppe. Als zweite Schutzgruppe wurde der p-Toluolsulfonylrest benutzt, der durch HBr in Eisessig unter den zur Entfernung des Cbo-Restes erforderlichen Bedingungen nicht angegriffen wird. (Vgl. XVI bis XIX.) Nach der p-Nitrophenylester-Methode<sup>3)</sup> gelang die Synthese des N<sup>α</sup>-Cbo-glycylglycyl-N<sup>β</sup>-tosylglycyl-hydrazinoessigsäure-äthylesters (XX) aus XVII über das halbgeschützte, verzweigte Hydrazinotripeptid.



Zur Herstellung von Hydrazinopeptiden mit N-terminaler Hydrazinoessigsäure war es notwendig, N-geschützte Hydrazinoessigsäure herzustellen.

Die Carbobenzoylierung unter den für Aminosäuren üblichen Bedingungen (pH 9–10) gab kein verwertbares Ergebnis. Fügt man unter stärkster Durchmischung eine Lösung von Hydrazinoessigsäure oder ihres Esterhydrochlorides zu einem vorgelegten Gemisch von Cbo-chlorid und Natronlauge, so gelingt bei schnellster Aufarbeitung die Isolierung von N<sup>α</sup>-Cbo-hydrazinoessigsäure (I). Die Struktur von I wurde durch die Herstellung des Benzalderivates bewiesen. Die Bindung des Cbo-Restes an die Hydrazinoessigsäure ist in I derart labil, daß sich I in schwach alkalischer Lösung in wenigen Minuten in einen rötlich fluoreszierenden COOH-haltigen Sirup umwandelt. Die gleiche Zersetzung ist bei längerem Aufbewahren und nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Benzol zu beobachten, wobei Benzylalkohol freigesetzt wird. Im Molekül liegen eine basische Hydrazingruppe und eine Kohlensäureesterbindung vor. Da Hydrazin die Cbo-schutzgruppe von Cbo-peptidestern normalerweise nicht angreift, ist die Unbeständigkeit von I nur durch eine gesteigerte Labilität der Kohlensäureesterbindung zu erklären.

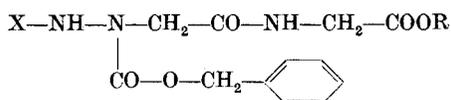
Carbobenzoyliert man dagegen Hydrazinoessigsäureester-hydrochlorid unter Bedingungen, die keine Verseifung verursachen (NaHCO<sub>3</sub>),

<sup>3)</sup> M. BODANSZKY u. V. DU VIGNEAUD, J. Amer. chem. Soc. 81, 5688 (1959); B. ISELIN, W. RITTEL, P. SIEBER u. R. SCHWYZER, Helv. chim. Acta 40, 373 (1959).

so entsteht  $N^\alpha, N^\beta$ -Di-cbo-hydrazinoessigester (II, III), der auch bei der Darstellung von I als Nebenprodukt anfällt. II und III sind glatt zur Di-cbo-hydrazinoessigsäure (IV) verseifbar, die nach Entfernung ihres Kristallalkohols zur Synthese von  $N^\alpha, N^\beta$ -Di-cbo-N-aminopeptiden geeignet ist. Nach dem DCCD-Verfahren sind aus IV und Glycinmethylester allerdings keine kristallinen Produkte zu isolieren. Erst durch die Verwendung von IV-p-Nitrophenylester (V) wird die Synthese von Di-cbo-hydrazinoacethylglycin-methylester (VI) und -serinmethylester (VII) möglich. VI wandelt sich beim Umkristallisieren aus Benzol in ein noch nicht identifiziertes Produkt (F. 90—93°) um. Versuche zur Abspaltung der Cbo-Schutzgruppen mit HBr in Eisessig<sup>4)</sup> sowie Verseifung von VI und VII nach dem Verdünnungsprinzip führten zu uneinheitlichen, sirupösen Produkten. Alkalibehandlung muß also eine innermolekulare Nebenreaktion auslösen.

Bei der Behandlung von  $N^\alpha, N^\beta$ -Diglycyl-hydrazinoessigsäure-dihydrobromid mit Amberlite IRA 400 (OH-Form) hatten wir eine Abspaltung von Glycin beobachtet, was auf die geringe Haftfestigkeit eines Acylrestes hinweist.

Interessant ist fernerhin, daß von den  $N^\alpha$ -Cbo- $N^\beta$ -acyl-hydrazinoessigsäureestern nur solche alkaliempfindlich sind, in denen die Atomgruppierung



vorliegt (z. B. XI und VI). Ein ähnlicher Fall ist aus der Peptidliteratur bekannt. MACLAREN<sup>5)</sup> findet bei der Verseifung von Cbo-peptidestern, die dem Aminoende benachbart Glycin enthalten, mit NaOH-Überschuß Abspaltung von Benzylalkohol und Bildung von Hydantoin- und Harnstoff-Derivaten. Auch in unserem Falle ist der für diese Nebenreaktion verantwortliche Abstand von Glycinstickstoff zur Kohlensäureesterbindung gegeben.

Auch VI und XI spalten bei der Verseifung Benzylalkohol ab, allerdings auch dann, wenn nur ein Mol NaOH eingesetzt wird. In der I. Mitteilung war durch reduktive Hydrazinspaltung von Aminoacylhydrazinoessigsäure-Derivaten die Hydrazidstruktur dieser Verbindungs-

<sup>4)</sup> D. BENISHAI u. A. BERGER, J. org. Chem. **17**, 1564 (1952).

<sup>5)</sup> J. A. MACLAREN, Austr. J. Chem. **11**, 360 (1958).



**N<sup>β</sup>-Carbobenzoxy-L-valyl-N<sup>α</sup>-carbobenzoxy-hydrazinoessigsäure-methylester (IX)**

3,4 g Cbo-L-valyl-hydrazinoessigsäure-methylester<sup>1)</sup>, 1,1 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 80 ml Wasser und 1,75 ml Cbo-chlorid in 30 ml Äther werden 3 Stunden emulgiert. Das Produkt scheidet sich dabei als feiner, weißer Niederschlag in der Ätherschicht aus. (3,15 g = 66,8%, Schmp. 120—123°.) Die Verbindung kristallisiert aus Essigester/Hexan gelartig aus. Schmp. 101—105°.

**N<sup>β</sup>-Carbobenzoxy-L-valyl-N<sup>α</sup>-carbobenzoxy-hydrazinoessigsäure (X)**

1,2 g IX (0,0025 Mol) wurden in 15 ml Methanol gelöst und mit 200 mg NaOH in 15 ml Wasser 3 Stunden bei Zimmertemperatur verseift. Nach Entfernung des Methanols im Vakuum schieden sich 30 mg eines Nebenproduktes (Schmp. 200—204°) aus. Aus dem Filtrat schieden sich beim Ansäuern 750 mg (65,2%) amorphes Produkt aus. Schmp. 120 bis 124°. Der Schmp. der aus Essigester/Hexan gereinigten Substanz ist 128—131°.

**N<sup>β</sup>-Carbobenzoxyglycyl-N<sup>α</sup>-carbobenzoxy-hydrazinoacetyl-glycin-methylester (XI)**

2,1 g (0,005 Mol) VIII und 0,5 g Glycerinmethylester in 20 ml Dioxan werden mit 1,05 g DCCD 30 Minuten bei 10° gerührt. Nach 24 Stunden wird das Gemisch mit 0,5 ml Essig versetzt und nach einer weiteren Stunde von DC-Harnstoff abgesaugt. Man wäscht zweimal mit 5 ml Dioxan und engt die Filtrate im Vakuum zur Sirupkonsistenz ein. Der Rückstand wird in 50 ml Essigester gelöst, nacheinander mit 20 ml n-HCl, 30 ml n-KHCO<sub>3</sub>-Lösung und 30 ml Wasser durchgeschüttelt und über Natriumsulfat getrocknet. Aus dem nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum verbleibenden Sirup kristallisieren nach dem Verreiben mit Äther 1,6 g XI (65%). Schmp. 130—131°.

**N<sup>β</sup>-Carbobenzoxyglycyl-N<sup>α</sup>-carbobenzoxy-hydrazinoacetyl-glycin (XII)**

1,1 g XI wurden wie X verseift. Aus der wäßrig alkalischen Lösung schieden sich 100 mg eines Nebenproduktes Schmp. 183—187° aus. Das beim Ansäuern ausgeschiedene Öl wurde mit Essigester extrahiert, nochmals in KHCO<sub>3</sub>-Lösung übernommen und nach Ansäuern erneut in Essigester aufgenommen. Da die daraus erhaltenen 310 mg Harz auch nach Monaten nicht kristallisierten, wurde die Essigester-Lösung mit Äther bis zur Trübung versetzt. Nach 3 Monaten hatten sich 20 mg weiße Kristalldrüsen ausgeschieden. XII wurde ungereinigt analysiert.

**N<sup>α</sup>, N<sup>β</sup>-Di-(carbobenzoxyglycyl)-hydrazinoessigsäure-äthylester (XIII)**

5,25 g (0,025 Mol) Cbo-glycin und 7,75 g (0,025 Mol) Cbo-glycylhydrazinoessigsäure-äthylester in 120 ml Dioxan wurden mit 5,15 g DCCD, wie bei XI beschrieben ist, zur Reaktion gebracht. Die Rohausbeute an kristallisiertem XIII betrug 11,14 g (89%) Schmp. 96—100°.

**N<sup>α</sup>, N<sup>β</sup>-Di-(carbobenzoxyglycyl)-hydrazinoessigsäure (XIV)**

1,25 g (0,0025 Mol) XIII wurde verseift wie bei X beschrieben ist. Auch hier schieden sich 90 mg eines Nebenproduktes (Schmp. 204—206°, C gef. 63,34, H 9,64) aus. Der sich beim Ansäuern ausscheidende Sirup wurde in Essigester aufgenommen. Nach Entfernen des Esters im Vakuum verblieben 950 mg Sirup, der beim Verreiben mit Äther kristallisierte. Ausbeute: 780 mg (66%). Schmp. des Rohproduktes 127—129°.

**N<sup>α</sup>-Carbobenzoxyglycyl-N<sup>β</sup>-carbobenzoxy-L-valyl-hydrazinoessigsäure-methylester (XV)**

wurde wie XIII dargestellt. Aus einen 0,005-Mol-Ansatz wurden 2,6 g eines Produktes (Schmp. 112—120°) gewonnen. Beim Umkristallisieren aus Essigester schied sich erst nach 24 Stunden eine Gallerte (Schmp. 158—160°) aus, aus der nach zweimaliger Reinigung die gesuchte Verbindung sauber erhalten werden konnte.

**N<sup>α</sup>-Carbobenzoxyglycyl-N<sup>β</sup>-p-toluolsulfonylglycyl-hydrazinoessigsäure-äthylester (XVII)**

Zu einer Lösung von 5,36 g (0,02 Mol) Tosylglycin-cyanmethylester<sup>6)</sup> in 50 ml Essigester fügt man 3 g (0,025 Mol) frisch destillierten Hydrazinoessigsäure-äthylester. Nach 24 Stunden wird mit n-HCl n-KHCO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser ausgeschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum bis zur Gewichtskonstanz entfernt. Es verbleiben 6,79 g sirupöser N<sup>β</sup>-Tosylglycyl-hydrazinoessigsäure-äthylester. Man löst in etwa 100 ml Dioxan, gibt 4,2 g (0,02 Mol) Cbo-glycin hinzu und setzt mit 4,12 g DCCD um. Die Aufarbeitung erfolgt wie bei XIII. Rohausbeute: 8,94 g (85,8%), Schmp. 150 bis 156°. Die Verbindung wird mit Essigester gewaschen und aus Isopropanol umkristallisiert.

**N<sup>α</sup>-p-Toluolsulfonylglycyl-N<sup>β</sup>-carbobenzoxyglycyl-hydrazinoessigsäure-äthylester (XIX)**

3,1 g Cbo-glycyl-hydrazinoessigsäure-äthylester und 2,3 g Tosylglycin in der notwendigen Menge Dioxan gelöst wurden mit 2,05 g DCCD versetzt. Nach 12 Stunden wurde von 3,2 g Harnstoff-Derivat abgesaugt. Das Filtrat, das auf die übliche Weise aufbereitet wurde, hinterließ einen Sirup, aus dem sich nach Lösen in Benzol über Nacht 650 mg (11,9%) weiße Kristalle ausschieden.

**N<sup>α</sup>-Carbobenzoxyglycyl-N<sup>β</sup>-p-toluolsulfonylglycyl-hydrazinoessigsäure-monohydrat (XVIII)**

3,8 g XVII werden in 30 ml Methanol gelöst und mit einer Lösung von 800 mg NaOH in 30 ml Wasser vermischt. Nach 3 Stunden destilliert man das Methanol im Vakuum vom ausgeschiedenen Niederschlag (240 mg Schmp. etwa 200°) ab. Das angesäuerte Filtrat wird mit Methylenchlorid extrahiert. Nach einigem Stehen scheiden sich 2,08 g eines kristallinen Produktes (Schmp. 155—160°) aus. Durch Einengen im Vakuum und Verreiben des sirupösen Rückstandes mit Äther werden weitere 0,5 g erhalten. Die Rohprodukte, aus Nitromethan umkristallisiert, ergeben 2,47 g. Schmp. 100—102°.

**N<sup>α</sup>-Carbobenzoxyglycylglycyl-N<sup>β</sup>-p-toluolsulfonylglycyl-hydrazino-essigsäure-methylester (XX)**

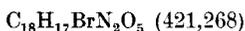
2,6 g XVI wurden 45 Minuten mit 10 ml einer 3n-HBr/Eisessig-Lösung behandelt. Auf Zugabe von absol. Äther fiel ein Harz aus, das sich mit weiterem Äther kristallin reiben ließ. (2,34 g.) 1,13 g dieser hygroskopischen Substanz wurden in 5 ml Chloroform gelöst und mit 0,358 ml Triäthylamin und 0,83 g Cbo-glycin-p-nitrophenylester vermischt. Nach 48 Stunden erfolgte Zugabe von 20 ml Chloroform, dreimaliges Ausschütteln mit n-NH<sub>3</sub>-Lösung, sowie mit n-HCl und Wasser. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels blieb ein Sirup, der nach Verreiben mit Äther erstarrte. Ausbeute 0,72 g (57,4%).

<sup>6)</sup> R. SCHWYZER, M. FEURER, B. ISELIN u. H. KÄGI, *Helv. chim. Acta* **38**, 81, 83 (1955).

**N<sup>α</sup>-Carbobenzoxy-hydrazinoessigsäure (I)**

Unter Wasserkühlung und stärkster Durchmischung mit einem Elektromixer gibt man zu einer Mischung von 120 ml 2 n-NaOH und 12 ml Cbo-chlorid zügig eine konz. Lösung von 7,8 g Hydrazinoessigsäure-äthylester-hydrochlorid, durchmischt noch 3—5 Minuten, schüttelt schnell mit 80 ml Äther aus und säuert die wäßrige Phase sofort an. Das ausgeschiedene Öl wird mit Essigester extrahiert, der mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum zur Trockne destilliert wird. Das verbleibende Harz löst man in wenig siedendem Benzol. Über Nacht scheiden sich, eventuell auch erst nach Animpfen, 4,6 g I aus (41%). Die Ausbeute ist meist kleiner und bleibt bei manchen Ansätzen ganz aus. Das Umkristallisieren aus Benzol ist verlustreich. Aus dem Ätherextrakt läßt sich III (6,65 g) isolieren. Nach Entfernen des Benzols im Vakuum verbleibt ein gelbgrüner Sirup, der sich nach einigen Tagen rötlich färbt und eosinähnlich fluoressiert. Löst man I in Na-bicarbonatlösung und säuert sofort wieder an, so ist nur noch ein Sirup zu isolieren.

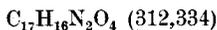
I-p-Bromphenacylderivat, zweimal aus Äthanol umkristallisiert, Schmp. 106 bis 107°. Ob es sich hierbei um einen Ester oder um das isomere Hydrazon des p-Bromphenacylalkohols handelt, wurde nicht untersucht.



ber.: C 51,32%; H 4,07%; Br 18,97%;  
gef.: C 51,40%; H 4,25%; Br 18,70%.

**N<sup>β</sup>-Benzal-N<sup>α</sup>-carbobenzoxy-hydrazinoessigsäure**

Das Derivat wurde durch Verreiben von I mit Benzaldehyd in n-HCl hergestellt und aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Schmp. 118—120°.



ber.: C 65,38%; H 5,16%;  
gef.: C 65,46%; H 5,12%.

**N<sup>α</sup>, N<sup>β</sup>-Dicarbobenzoxy-hydrazinoessigsäure-methylester (II)**

Unter starker Durchmischung und Wasserkühlung tropft man zu einem Gemisch von 35 ml Cbo-chlorid (20% Überschuß) und 50 g KHCO<sub>3</sub> in 200 ml Wasser eine wäßrige Lösung von 14 g (0,1 Mol) Hydrazinoessigsäure-methylester-hydrochlorid. Dann werden 100 ml Äther dazugegeben und die Mischung wird noch 2 Stunden emulgiert (Vibromischer). Nach dem Absaugen und Einengen des Äthers erhält man 40 g Rohausbeute, die aus 200 ml Äthanol umkristallisiert wird. Ausbeute: 33 g (88,5%). III wird analog hergestellt.

**N<sup>α</sup>, N<sup>β</sup>-Dicarbobenzoxy-hydrazinoessigsäure (IV)**

Man löst 37,2 g (0,1 Mol) II in 200 ml Methanol, mischt mit 100 ml 2-n-NaOH und läßt 4 Stunden stehen. Nach Entfernung des Methanols im Vakuum wird mit Wasser auf 300 ml aufgefüllt und kongosauer gemacht. Das ausgeschiedene Öl kristallisiert nach längerem Stehen (Animpfen). Das Produkt wird in Methanol in der Siedehitze gelöst, mit A-Kohle behandelt und so lange mit Wasser versetzt, bis bei 30—40° die Lösung gerade trüb wird. Man verreibt kräftig mit Impfkristallen und erhält so das Produkt mit einem Mol Kristallmethanol in schönen Nadeln (23,3 g). Schmp. 55—56°. Bei 55° im Vakuum

Tabelle 1  
N<sup>α</sup>,N<sup>β</sup>-Diaacylhydrazinoessigsäure-Derivate

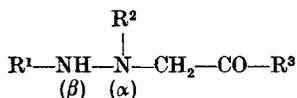
Nr.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	Schmp.
I	H—	Cbo—	—OH	106—109°
II	Cbo—	Cbo—	—OCH <sub>3</sub>	92°
III	Cbo—	Cbo—	—OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	99—101°
IV	Cbo	Cbo—	—OH	96—97°
V	Cbo—	Cbo—	—O—  —NO <sub>2</sub>	75—76°
VI	Cbo—	Cbo—	—NH—CH <sub>2</sub> —COOCH <sub>3</sub>	102—103°
VII	Cbo—	Cbo—	—NH—CH—COOCH <sub>3</sub>   (DL)CH <sub>2</sub> OH	98—100°
VIII	Cbo—NH—CH <sub>2</sub> —CO—	Cbo—	OH—	139—140°
IX	Cbo—NH—CH—CO—   (L)H <sub>3</sub> C—CH—CH <sub>3</sub>	Cbo—	OCH <sub>3</sub>	102—104°
X	Cbo—NH—CH—CO—   (L)H <sub>3</sub> C—CH—CH <sub>3</sub>	Cbo—	—OH	128—131°
XI	Cbo—NH—CH <sub>2</sub> —CO—	Cbo—	—NH—CH <sub>2</sub> —COOCH <sub>3</sub>	131—132°
XII	Cbo—NH—CH <sub>2</sub> —CO—	Cbo—	—NH—CH <sub>2</sub> —COOH	169—171°
XIII	Cbo—NH—CH <sub>2</sub> —CO—	Cbo—NH—CH <sub>2</sub> CO	—OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	100°
XIV	Cbo—NH—CH <sub>2</sub> —CO—	Cbo—NH—CH <sub>2</sub> CO—	—OH	137—138°
XV	Cbo—NH—CH <sub>2</sub> —CO—   (L)H <sub>3</sub> C—CH—CH <sub>3</sub>	Cbo—NH—CH <sub>2</sub> CO—	—OCH <sub>3</sub>	174—175°
XVI	Tos—NH—CH <sub>3</sub> —CO—	Cbo—NH—CH <sub>2</sub> CO—	—OCH <sub>3</sub>	174—176°
XVII	Tos—NH—CH <sub>2</sub> —CO—	Cbo—NH—CH <sub>2</sub> CO—	—OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	175—177°
XVIII	Tos—NH—CH <sub>2</sub> —CO—	Cbo—NH—CH <sub>2</sub> CO—	—OH (Monohydrat)	100—102°
XIX	Cbo—NH—CH <sub>2</sub> —CO—	Tos—NH—CH <sub>2</sub> CO—	—OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	132—134°
XX	Tos—NH—CH <sub>2</sub> —CO—	Cbo—(NH—CH <sub>2</sub> CO) <sub>2</sub> —	—OCH <sub>3</sub>	87—90°

Cbo— = Benzyloxycarbonyl-, Tos— = p-Toluolsulfonyl-

verliert die Verbindung 8,2% ihres Gewichtes (ber. 8,0%). Ausbeute: 21,3 g (59,9%). Das Natriumsalz fällt nach 24 Stunden aus der methanolischen Verseifungslösung aus. Schmp. 186—188°. Hydrat, Schmp. 74—75°.

### N<sup>α</sup>,N<sup>β</sup>-Dicarbobenzoxy-hydrazinoessigsäure-p-nitrophenylester (V)

10,57 g (0,03 Mol) fein gepulverte und 3 Stunden im Vakuum bei 60° getrocknete IV werden in 80 ml absol. Essigester gelöst, mit 4,8 g (0,0345 Mol) p-Nitrophenol versetzt und durch Zugabe von 6,10 g DCCD bei 0° unter Rühren verestert. Nach 12 Stunden wird der Dicyclohexylharnstoff abgesaugt, mit der gleichen Menge Essigester intensiv durchgewaschen und das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der verbleibende



Lösungs- mittel	Ausbeute	Brutto- Formel	Mol- Gewicht	C		H	
				Ber.	Gef.	Ber.	Gef.
Benzol	41%	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	224,222	53,57	53,39	5,39	5,51
Methanol	88,5%	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	372,386	61,28	61,12	5,41	5,43
Äthanol	85%	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	386,412	62,15	61,91	5,73	5,94
Methanol/ Wasser	59,5%	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	358,360	60,33	60,42	5,06	5,19
Methanol	67,8%	C <sub>24</sub> H <sub>31</sub> N <sub>3</sub> O <sub>8</sub>	479,452	60,12	60,03	4,42	4,58
Benzol	87,7%	C <sub>21</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	429,438	58,73	58,77	5,40	5,31
Benzol/Hexan	52,2%	C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O <sub>8</sub>	459,465	57,51	57,76	5,48	5,58
Essigester	77,8%	C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	415,412	57,83	57,71	5,10	5,19
Essigester/ Hexan	66,8%	C <sub>24</sub> H <sub>29</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	471,516	61,13	61,07	6,20	6,33
Essigester/ Hexan	65,2%	C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	457,490	60,38	60,32	5,95	6,09
Essigester	65%	C <sub>23</sub> H <sub>26</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub>	486,490	56,78	56,59	5,39	5,68
	etwa 2%	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub>	472,464	55,93	55,71	5,12	5,29
Benzol	89%	C <sub>24</sub> H <sub>28</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub>	500,517	57,60	57,70	5,64	5,78
Essigester	66%	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub>	472,464	55,93	56,07	5,12	5,17
Essigester	10%	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub>	528,578	59,08	58,84	6,10	6,24
Nitromethan	53,9%	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub> S	506,546	52,17	52,14	5,17	5,31
Isopropanol	85,8%	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub> S	520,572	53,07	53,36	5,42	5,39
Nitromethan	66,3%	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> N <sub>4</sub> O <sub>9</sub> S	510,536	49,44	49,39	5,14	5,11
Essigester/ Hexan	11,9%	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub> S	520,572	53,07	53,22	5,42	5,47
Nitromethan	57,4%	C <sub>24</sub> H <sub>29</sub> N <sub>5</sub> O <sub>9</sub> S	563,598	51,15	51,23	5,19	5,19

Sirup wird in 25 ml Methanol gelöst. Nach Zugabe von 75 ml Petroläther gibt man so lange Äther in die Mischung, bis eine homogene Lösung entsteht. Nach dreitägigem Stehen im Tiefkühlschrank hat sich V in schönen gelben Nadeln ausgeschieden, die auf einer gekühlten Fritte abgesaugt werden. Ausbeute: 9,69 g (67,8%) Schmp. 71—74°.

### N<sup>α</sup>,N<sup>β</sup>-Dicarbobenzoxy-hydrazinoacetyl-glycin-methylester (VI)

Zu einer Mischung von 310 mg Glycinmethylester-hydrochlorid und 0,35 ml Tri-äthylamin in 10 ml Chloroform fügt man 1,2 g V sowie einen Tropfen Eisessig und läßt 48 Stunden stehen. Danach gibt man noch 30 ml Chloroform hinzu und wäscht zweimal mit 50 ml n-NH<sub>3</sub>-Lösung, mit Wasser, 50 ml n-HCl und Wasser, trocknet mit Natrium-sulfat und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der verbleibende Sirup kristallisiert

nach Verreiben mit Äther. Ausbeute: 920 mg (87,7%), Schmp. 100—102°. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Benzol schmilzt das Produkt bei 91—93°. Größere Ansätze (4fach) ergaben sofort ein niedrigschmelzendes Produkt. (Gef.: C 61,50%; H 5,70%.) Die Darstellung von VI nach der DCCD-Methode gelang nicht.

#### **N<sup>α</sup>,N<sup>β</sup>-Dicarbobenzoxy-hydrazinoacetyl-D,L-serin-methylester (VII)**

Ausgehend von 400 mg D,L-Serin-methylester-hydrochlorid wurden wie unter VI beschrieben 600 mg Rohausbeute (52,2%), Schmp. 92—95°, erhalten. VII wurde aus Benzol unter Zusatz von wenig Hexan umkristallisiert.

Für die finanzielle und materielle Unterstützung dieser Arbeit durch den VEB Berlin-Chemie möchten wir an dieser Stelle herzlich danken. Die C,H-Bestimmungen wurden in unserem mikroanalytischen Labor durch Frau F. KNOBLOCH durchgeführt. Für zuverlässige technische Mitarbeit haben wir Frl. F. ADY und Herrn W. HAUPT zu danken.

Berlin-Buch, Institute für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Institut für Pharmakologie.

Bei der Redaktion eingegangen am 11. November 1961.