

Hydrazinosäuren als Heterobestandteile in Peptiden. I  
**N<sup>β</sup>-Aminoacyl-hydrazinoessigsäure-Derivate**

Von WOLFGANG KNOBLOCH und HARTMUT NIEDRICH<sup>1)</sup>

**Inhaltsübersicht**

Mittels Dicyclohexylcarbodiimid wurden einige Carbobenzoxyaminosäuren mit Hydrazinoessigester verknüpft. Die Verseifung der erhaltenen N<sup>β</sup>-Cbo-aminoacyl-hydrazinoessigester und ihre Überführung ins Amid gelang, wobei der freie Hydrazino- $\alpha$ -stickstoff allerdings zu Nebenreaktionen Anlaß gab. Den mit HBr in Eisessig vom Cbo-Rest befreiten N<sup>β</sup>-Aminoacylhydrazinoessigestern ließen sich nach der Nitrophenylester-Methode weitere Aminosäuren anfügen.

Die Erforschung von synthetischen Strukturanalogen der Aminosäuren, die in den letzten Jahren durch Arbeiten von W. SHIVE, C. G. SKINNER und Mitarbeitern<sup>2)</sup> vorangetrieben wurde, regte uns zur Einbeziehung der Hydrazinosäuren in den Kreis der Aminosäureanaloge an.

Ihr Einbau in Peptide anstelle bestimmter Aminosäuren bietet eine neue Variationsmöglichkeit bei der Bearbeitung von weiteren synthetischen Analogon und Homologen der Peptidhormone, wie es durch Aminosäureaustausch für das Angiotensin von R. SCHWYZER<sup>3)</sup>, für das Oxytocin von V. DU VIGNEAUD<sup>4)</sup>, R. A. BOISSONNAS<sup>5)</sup>, J. RUDINGER<sup>6)</sup> und H. C. BEYERMAN<sup>7)</sup> in einer Vielzahl von Beispielen demonstriert wurde.

Hydrazinosäuren, die in der Natur nicht vorkommen, bieten infolge ihrer physiologischen Eigenwirkung die Möglichkeit, einen neuen Typ von Peptidanalogen herzustellen, der der Pharmakologie wirksamer

<sup>1)</sup> Teil der Dissertation H. NIEDRICH, Berlin 1961.

<sup>2)</sup> T. J. McCORD, J. M. RAVEL, C. G. SKINNER u. W. SHIVE, J. Amer. chem. Soc. **81**, 5150 (1959); **80**, 3762 (1958); **78**, 2412 (1956); J. biol. Chem. **232**, 159 (1958); J. org. Chemistry **23**, 1863 (1958); Arch. Biochem. Biophys. **76**, 139 (1958); **87**, 88 (1960).

<sup>3)</sup> R. SCHWYZER, Helv. chim. Acta **44**, 667 (1961).

<sup>4)</sup> J. MEIENHOFER u. V. DU VIGNEAUD, J. Amer. chem. Soc. **83**, 142 (1961); **82**, 6336 (1960) und dort zitierte Literatur.

<sup>5)</sup> R. A. BOISSONNAS u. ST. GUTTMANN, Helv. chim. Acta **43**, 190 (1960).

<sup>6)</sup> J. RUDINGER, J. HONZL u. M. ZAORAL, Collect. Czech. chem. Commun. **21**, 770 (1956).

<sup>7)</sup> H. C. BEYERMAN, J. S. BONTEKOE u. A. C. KOCH, Rec. Trav. chim. Pays-Bas **79**, 1034, 1039, 1044, 1050 (1960).

Peptide neue Aspekte verleiht. Das Vorhandensein einer Hydrazidbindung in Peptiden läßt z. B. ein geändertes Verhalten gegenüber proteolytischer Fermenten erwarten. Peptide mit heteromeren Bindungen sind auch die Peptolide<sup>8)</sup> und die Depsipeptide<sup>9)</sup>, die im Rahmen der Erforschung der Peptidantibiotica synthetisiert wurden. Sie enthalten  $\alpha$ -Hydroxy-carbonsäuren als heterodete Komponenten. A. W. SPEARS sowie M. FRANKEL und P. MOSES<sup>10)</sup> berichten über die Synthese von Aminoacylderivaten des Taurins und anderer Aminoalkylsulfonsäuren.  $\alpha$ -Aminoxy-carbonsäuren, den Hydrazinocarbonsäuren strukturell sehr nah verwandte Aminosäureanaloge, wurden von D. McHALE, P. MAMALIS und J. GREEN<sup>11)</sup> synthetisiert. Sie wirken hemmend auf das Wachstum von Mikroorganismen und Viren, ein Effekt, der auf ihrer Hydroxylaminstruktur beruht.

Eine Reihe von Aminosäureisopropylhydraziden wurde von P. ZELLER, A. PLETSCHER und Mitarbeitern<sup>12)</sup> hergestellt. Die Verbindungen zeigten eine starke Hemmung der Aminoxydase und fanden wegen ihrer neurophysiologischen Wirksamkeit klinische Anwendung<sup>13)</sup>.

Während basisch substituierte Hydrazine in der Arzneimittelforschung breiteren Raum einnehmen<sup>14)</sup>, sind sauer substituierte Hydrazine und besonders die  $\alpha$ -Hydrazinosäuren in den letzten Jahren nur spärlich bearbeitet worden.

Das chemische Verhalten von Hydrazinosäuren in der Peptidsynthese studierten wir zunächst am Beispiel der Hydrazinoessigsäure, die erstmals von W. TRAUBE<sup>15)</sup> aus Isonitraminoessigsäure dargestellt und von A. DARAPSKY<sup>16)</sup> näher untersucht wurde. Das von J. R. BAILEY<sup>17)</sup> beschriebene Herstellungsverfahren konnte so verbessert werden, daß Hydrazinoessigsäureäthyl-ester-hydrochlorid jetzt in Ausbeuten bis zu 59% zugänglich ist. Der aus dem Hydrochlorid mit Ammoniak in

<sup>8)</sup> H. GIBIAN u. K. LÜBKE, Liebigs Ann. Chem. **644**, 130 (1961); R. SCHWYZER u. J. P. CARRION, Helv. chim. Acta **43**, 2101 (1960).

<sup>9)</sup> M. M. SCHEMJAKIN, Angew. Chem. **72**, 342 (1960).

<sup>10)</sup> A. W. SPEARS, Dissertation Abstr. **20**, 4532 (1960); J. org. Chemistry **26**, 1498 (1961); M. FRANKEL u. P. MOSES, Tetrahedron **9**, 289 (1960).

<sup>11)</sup> D. McHALE, J. GREEN u. P. MAMALIS, J. chem. Soc. (London) **1960** 225, 229.

<sup>12)</sup> P. ZELLER, A. PLETSCHER u. a., Ann. New York Acad. of Sci. **80**, 555 (1959).

<sup>13)</sup> A. VOELKEL, Ann. New York Acad. of Sci. **80**, 630; A. PLETSCHER, Ann. New York Acad. of Sci. **80**, 1039 (1959).

<sup>14)</sup> E. JUCKER, Angew. Chem. **71**, 321 (1959).

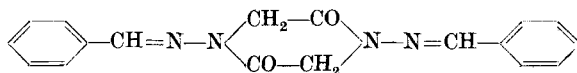
<sup>15)</sup> W. TRAUBE u. E. HOFFA, Ber. dtsh. chem. Ges. **31**, 164 (1898).

<sup>16)</sup> A. DARAPSKY u. M. PRABHAKER, Ber. dtsh. chem. Ges. **45**, 1654, 2617 (1912).

<sup>17)</sup> J. R. BAILEY u. W. T. READ, J. Amer. chem. Soc. **36**, 1756 (1914).

Chloroform freigesetzte Ester neigt zur Polykondensation und darf deshalb nur frisch destilliert zur Synthese eingesetzt werden.

Aus den Polykondensaten ließ sich das N,N-Diamino-2,5-dioxo-piperazin (I) isolieren, dessen Struktur durch die Herstellung des Dibenzalderivates bewiesen wurde.



Die Umsetzung von Carbobenzoxyaminosäuren mit Hydrazinoessigester, die nach der Methode der gemischten Anhydride<sup>18)</sup> nicht gelang, führte nach der SHEEHANschen Dicyclohexyl-carbodiimid-Methode (DCCD)<sup>19)</sup> zum Erfolg. Die erhaltenen Hydrazinopeptide sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

Zur Darstellung von Cbo-glycylhydrazinoessigsäureäthylester bietet die Cyanmethylester-Methode nach R. SCHWYZER<sup>20)</sup> erhebliche Vorteile. Aus den Estern erhält man durch Behandeln mit Ammoniak in Methanol die Cbo-aminoacylhydrazinoacetamide. Die Gewinnung der N-geschützten Aminoacylhydrazinosäuren durch Verseifung der Ester gelingt nur nach dem Verdünnungsprinzip, da das freie Hydrazin- $\alpha$ -stickstoffatom noch zur intermolekularen Esterhydrazinolyse fähig ist und Polykondensate bildet.

Die Aminoacylhydrazinoessigsäure-Derivate geben mit Aldehyden keine Hydrazone mehr, reduzieren jedoch ammoniakalische Silber-salzlösung sofort.

Den Beweis, daß es sich bei vorliegenden Verbindungen um Hydrazide und nicht um N-Aminoamide handelt, liefert die hydrierende Spaltung der N-N-Bindung. Aus Cbo-L-valylhydrazinoessigsäure entsteht auf diese Weise Glycin. Wegen der N-N-Spaltung ist die BERGMANNsche Methode zur Abspaltung des Cbo-Restes<sup>21)</sup>, die Behandlung mit H<sub>2</sub>/Pd-C, auf Hydrazinopeptide nur eingeschränkt anwendbar.

HBr in Eisessig nach BEN ISHAI<sup>22)</sup> liefert die freien Aminoacyl-hydrazinoessigsäureester-hydrobromide, deren HBr-Gehalt zwischen 1,5 und 2 Mol schwankt. Der unsubstituierte  $\alpha$ -Stickstoff ist also noch

<sup>18)</sup> R. A. BOISSONAS, *Helv. chim. Acta* **34**, 874 (1951).

<sup>19)</sup> J. C. SHEEHAN u. G. P. HESS, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 1067 (1955).

<sup>20)</sup> R. SCHWYZER, M. FEURER, B. ISELIN u. H. KÄGI, *Helv. chim. Acta* **38**, 81, 83 (1955).

<sup>21)</sup> M. BERGMANN u. L. ZERVAS, *Ber. dtsch. chem. Ges.* **65**, 1192 (1932).

<sup>22)</sup> D. BEN ISHAI u. A. BERGER, *J. org. Chemistry* **17**, 1564 (1952).

Tabelle 1  
Aminoacylhydrazinoessigsäure-

Nr.	R'	$\begin{array}{c} \text{R}^2 \\   \\ \text{—HN—CH—CO} \end{array}$	R <sup>3</sup>	Schmp.	Lösungsmittel
II	Cbo-	-glycyl-	-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	98—99°	Benzol
III	Cbo-	-glycyl-	-OCH <sub>3</sub>	56—58°	Benzol/Tetrachlor- kohlenstoff
IV	Cbo-	-glycyl-	-NH <sub>2</sub>	165—66°	Äthanol
V	Cbo	-glycyl-	-OH	124—26°	Wasser
VI	H-	-glycyl-	-OH	233—36°	Äthanol/Wasser
VII	Cbo-	-L-valyl-	-OCH <sub>3</sub>	154—56°	Äthanol
VIII	Cbo-	-L-valyl-	-OH	159—61°	Methanol/Äther in Hexan
IX	Cbo-	-L-leucyl-	-OCH <sub>3</sub>	111°	Essigester
X	Cbo	-L-leucyl-	-NH <sub>2</sub>	157—58°	Nitromethan
XI	Cbo-	-D,L-seryl-	-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	133—34°	Essigester
XII	Cbo-	-L-prolyl-	-OCH <sub>3</sub>	78—79°	Benzol/Hexan
XIII	Cbo-	-L-phenylalanyl-	-OCH <sub>3</sub>	130—33°	Benzol
XIV	Cbo-	-N <sup>ε</sup> -cbo-L-lysyl-	-OCH <sub>3</sub>	104—08°	Äthanol
XV	Cbo-	-L-asparaginyl-	-OCH <sub>3</sub>	177—78°	Wasser
XVI	Cbo-	-glycylglycyl-	-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	117—18°	Essigester
XVII	Cbo-	-L-prolyl-L-leucyl-	-OCH <sub>3</sub>	139—41°	Essigester
XVIII	Cbo-	-L-prolyl-L-leucyl-	-NH <sub>2</sub>	174—76°	Nitromethan
XIX	H-	-L-prolyl-L-leucyl-	-NH <sub>2</sub>	122—23°	Methanol/Äther

a) nach der DCCD-Methode. b) nach der Cyanmethylester-Methode. Cbo- = Benzyl-

Träger basischer Eigenschaften. Die aus den Halbäquivalenzpunkten der Titrationskurven entnommenen pK-Werte sind aus Tab. 2 zu ersehen.

Nach der DCCD-Methode gelingt weder die Umsetzung von Cbo-glycylhydrazinoessigsäure mit Aminosäureestern noch die Verknüpfung von Cbo-aminosäuren mit freiem Glycyl-hydrazinoessigester. In beiden Fällen konkurriert der Hydrazino- $\alpha$ -stickstoff, der als Aminkomponente fungiert, mit der NH<sub>2</sub>-Gruppe bei der Aminolyse des energiereichen, intermediär entstehenden O-Acyllharnstoffs<sup>23</sup>). Zusätzlich tritt Umagerung zum N-Cbo-aminoacyl-dicyclohexylharnstoff ein<sup>23</sup>).

Die Aktivierung der Esterbindung im Cbo-glycin-cyanmethylester ist nicht hinreichend zur Aminolyse durch Glycylhydrazinoessigester.

<sup>23</sup>) H. G. KHORANA, J. chem. Soc. (London) 1952, 2081; Chem. Rev. 53, 145 (1953).

Tabelle 1  
 Derivate 
$$R^1-NH-\overset{\overset{R^2}{|}}{CH}-CO-NH-NH-CH_2-CO-R^3$$

Ausbeute	$[\alpha]_D^{21}$ (c) in DMF	Bruttoformel	Mol.-gewicht	C		H	
				ber.	gef.	ber.	gef.
40,3% <sup>a)</sup>	—	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	309,326	54,36	54,13	6,19	6,24
83,2% <sup>b)</sup>	—	C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	295,400	52,88	52,87	5,80	5,77
33,2% <sup>a)</sup>	—	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	280,290	51,42	51,38	5,75	6,03
74,5% <sup>b)</sup>	—	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	281,274	51,25	51,17	5,38	5,54
94,5%	—	C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	147,140	32,65	32,77	6,17	6,37
56,9%	—	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	337,388	56,96	57,00	6,87	7,05
etwa 100%	—	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	323,362	55,72	55,80	6,55	6,76
72,1%	-2,3° ± 0,5°(2)	C <sub>17</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub>	351,414	58,11	58,21	7,17	7,18
30,3%	—	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	336,404	57,13	57,25	7,19	7,31
72%	-15,5° ± 1°(1,5)	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub>	339,362	53,09	53,21	6,24	6,43
62,6%	—	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	335,372	57,30	57,44	6,31	6,17
80,5%	—	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	385,428	62,33	62,45	6,02	6,25
47,7%	-33,5° ± 1°(1)	C <sub>25</sub> H <sub>32</sub> N <sub>4</sub> O <sub>7</sub>	500,568	59,99	60,12	6,44	6,44
63,6%	—	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	352,362	51,13	51,27	5,72	5,83
42,4%	-5,5° ± 1°(1)	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	366,388	52,45	52,46	6,05	6,27
38,2%	+2,7° ± 0,5°(1)	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	448,528	58,91	59,11	7,19	7,08
22,9%	—	C <sub>21</sub> H <sub>31</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub>	433,518	58,18	58,00	7,21	7,22
91,5%	-55,7° ± 1,5°(1)	C <sub>13</sub> H <sub>25</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub>	299,380	52,15	52,29	8,42	8,57
79,4%	—						
58,1%	-97° ± 2°(1) (in Wasser)						

oxycarbonyl-, DMF = Dimethylformamid.

Dagegen gelingt beim Einsetzen der Cbo-aminosäure-p-nitrophenylester<sup>24)</sup> die Umsetzung mit Aminoacylhydrazino-säureestern ohne Störung durch den  $\alpha$ -Stickstoff.

Cbo-glycylglycyl-hydrazinoessigsäureäthylester (22,9%) und Cbo-propylleucyl-hydrazinoacetamid wurden auf diese Weise erhalten, letztes in fast quantitativer Ausbeute, was sich durch die sterische Abschirmung des hier nur noch in geringem Maße störenden  $\alpha$ -Stickstoffs durch die Leucinseitenkette erklären läßt.

Eine Verlängerung der oxytocinanalogen Teilsequenz durch Reaktion des freien Hydrazinopeptidamids mit Cbo-S-benzyl-cystein-p-nitro-

<sup>24)</sup> M. BODANSZKY u. V. DU VIGUEAUD, J. Amer. chem. Soc. **81**, 5688 (1959); B. ISELIN, W. RITTEL, P. SIEBER u. R. SCHWYZER, Helv. chim. Acta **40**, 373 (1957).

phenylester gelang unter den von M. BODANSKY<sup>25)</sup> für das Prolyl-leucyl-glycinamid angegebenen Bedingungen nicht.

Tabelle 2  
Hydrobromide der Aminoacylhydrazinoessigsäure-Derivate

$$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{R}^1}{\underset{|}{\text{CH}}}-\text{CO}-\text{NH}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{R}^2 \cdot x \text{HBr}$$

R <sup>1</sup> H <sub>2</sub> N—CH—CO—	R <sup>2</sup>	xHBr	pK <sub>A</sub>		Mol.- gewicht	Br	
			pK <sub>A1</sub> <sup>a)</sup>	pK <sub>A2</sub> <sup>a)</sup>		ber.	gef.
Glycyl-	-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	2	2,9	7,6	337,04	47,38%	47,3% hygrosk.
Glycyl-	-OH	2	2,92	7,75 <sup>b)</sup>	308,99	51,7%	52,2% hygrosk.
Glycyl-	-NH <sub>2</sub>	2	2,8	7,4	308,00	51,5%	50,8% hygrosk.
L-Valyl-	-OCH <sub>3</sub>	1,5	2,8	7,35	314,63	34,92%	35,4% nicht hygrosk.
L-Leucyl-	-OCH <sub>3</sub>	1,5	2,8	7,3	328,66	33,41%	33,5% nicht hygrosk.
D,L-Seryl-	-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	1,76 <sup>c)</sup>	2,95	6,4	347,69	40,4%	40,6% hygrosk.
L-Prolyl-	-OCH <sub>3</sub>	2	3,1	8,2	363,08	44,05%	43,6% hygrosk.
L-Prolyl- L-leucyl	-NH <sub>2</sub>	<2	3,08	8,2	1461,23	34,62%	33,6% hygrosk.

<sup>a)</sup> Es handelt sich um die Aciditätskonstanten der Hydrobromide. Die Basizitätskonstanten ergeben sich nach  $\text{pK}_B = 14 - \text{pK}_A$ .

<sup>b)</sup>  $\text{pK}_{A3}$  (der COOH-Gruppe) beträgt 3,6.

<sup>c)</sup> Der Wert ergab sich durch Vergleich der beiden Stufen der Titrationskurve.

Die Titrationskurven wurden mit dem „Titrigraphen“ der Firma Radiometer aufgenommen. Die pK-Werte sind den Halbäquivalenzpunkten entnommen. Auf die Berücksichtigung der Hydrolysengerade wurde bei der Auswertung verzichtet.

### Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden mit dem Mikroheitzisch nach BOËTIUS bestimmt und sind korrigiert.

#### Hydrazinoessigsäure-äthylester-hydrochlorid

Zu 450 ml 25proz. siedender Hydrazinhydratlösung (4facher Überschuß) werden unter Rühren gleichzeitig eine mit 27 g Natriumcarbonat neutralisierte Lösung von 47 g Chloressigsäure und eine Lösung von 27 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, — beide im Minimum Wasser, — in 1 Stunde zusetztropft. Nach einer weiteren Stunde Kochen wird abgekühlt, mit konz. HCl angesäuert und im Vakuum eingengt. Von den sich ausscheidenden Kristallen wird mehrmals abgesaugt, am Ende bleibt ein klarer trockener Sirup, der mit 200 ml absol. Alkohol und 80 ml HCl gesättigtem Äthanol 2 Stunden gekocht und heiß filtriert wird. Es scheiden sich gelbliche Blättchen aus, die aus Äthanol umkristallisiert werden. Schmp. 153°, Ausbeute: 45,5 g (59%).

<sup>25)</sup> M. BODANSKY u. V. DU VIGEAUD, J. Amer. chem. Soc. 81, 2505 (1959).

**Hydrazinoessigsäureäthylester**

Das Hydrochlorid wird mit NH<sub>3</sub> in Chloroform behandelt, vom NH<sub>4</sub>Cl abgesaugt, und das Filtrat im Vakuum destilliert. Ausbeute 60—70%. Sdp.<sub>1,5</sub> = 67° n<sub>D</sub><sup>21</sup> = 1,4483.

**Hydrazinoessigsäuremethylester**

Wie vorstehend, Ausbeute 65—70%, Sdp.<sub>1,2</sub> 60—61° Sdp.<sub>3</sub> 69—70° n<sub>D</sub><sup>20</sup> = 1,4561.

**N,N'-Diamino-2,5-dioxopiperazin (I)**

Aus einer Lösung von 2 g Hydrazinoessigsäuremethylester in 5 ml Methanol scheiden sich in 24 Stunden 60 mg gefiederte Nadeln aus. Danach fällt nur noch eine salbenartige Masse aus. Die Nadeln wurden aus Wasser/Propanol umkristallisiert. Schmp. 264—68°.

C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (144, 140) ber. C 33,33% H 5,50%, gef. C 33,19%, H 5,37%.

**N,N'-Dibenzaldiamino-2,5-dioxopiperazin**

Aus vorstehender Verbindung durch Verreiben mit Benzaldehyd in verdünnter HCl und Umkristallisieren aus Dimethylformamid, Schmp. 327—330°.

C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (320, 360) ber.: C 67,49%; H 5,03%; gef.: C 67,56%; H 4,95%

**Carbobenzoxy-aminoacyl-hydrazinoessigsäureester (s. a. Tab. 1)**

0,02 Mol Cbo-aminosäure und 0,03 Mol frisch hergestellter Hydrazinoessigsäuremethyl- oder -äthylester werden in 50 ml absolutem Dioxan gelöst. Unter Eiskühlung und Rühren fügt man 4,12 g = 0,02 Mol Dicyclohexylcarbodiimid langsam hinzu. Nach 12 Stunden werden 0,5 Mol Eisessig zur Zerstörung des DCCD-Überschusses und weiteres Dioxan dazugegeben, um eventuell neben Dicyclohexylharnstoff auskristallisiertes Endprodukt in Lösung zu bringen. Man rührt noch eine Stunde und saugt ab. Die DC-Harnstoffausbeute beträgt 4—4,2 g. Im Vakuum wird das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand wird gewaschen und umkristallisiert. Scheiden sich nach Entfernung des Dioxans die Verbindungen nicht kristallin aus, so wird der Sirup in Essigester gelöst, mit dem gleichen Volumina n-HCl, n-KHCO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser nacheinander ausgeschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet, im Vakuum zur Trockne eingengt und mit wenig Äther kristallin gerieben.

**Carbobenzoxy-glycylhydrazinoessigsäure-äthylester**

Man löst 12,4 g (0,05 Mol) Cbo-glycincyanmethylester in 50 ml wasserfreiem Essigsäureäthylester, gibt 8,9 g (0,075 Mol) frisch hergestellten Hydrazinoessigsäureäthylester hinzu, rührt um und läßt stehen. Nach 3—4 Stunden wird angeimpft und es scheidet sich dann das gewünschte Produkt innerhalb einiger Stunden aus. Man stellt das Gefäß über Nacht in den Kühlschrank, saugt ab, wäscht zweimal mit 20—30 ml Essigester und läßt an der Luft trocknen. Rohausbeute 12,8 g (83,2%).

Da sich der Cbo-glycylhydrazinoessigsäure-methylester nicht kristallin ausscheidet, muß die Aufarbeitung der Lösung in Essigester wie beim DCCD-Verfahren erfolgen.

**Carbobenzoxy-glycylhydrazinoacetamid**

3,09 g (0,01 Mol) des vorstehenden Esters werden in 50 ml mit NH<sub>3</sub> gesättigtem Methanol gelöst. Nach 2 Stunden beginnt sich das Amid auszuscheiden. Man läßt noch 3 Stunden bei Zimmertemperatur und 24 Stunden im Kühlschrank stehen und saugt ab.

### Carbobenzoxy-L-leucylhydrazinoacetamid

Wie vorstehend, jedoch darf die Lösung des Cbo-leucylhydrazino-essigesters nur 4—5 Stunden stehen. Man engt dann im Vakuum ein und reibt den verbleibenden Sirup mit Äther kristallin.

### Carbobenzoxy-glycylhydrazinoessigsäure

Zu einer Lösung von 800 mg NaOH in 500 ml Methanol/Wasser (4:1) tropft man in 2 Stunden unter Rühren eine Lösung von 3,1 g (0,01 Mol) Cbo-glycylhydrazinoessigsäureäthylester in 100 ml Methanol. Nach Einengen im Vakuum auf 80 ml wurde mit HCl pH = 2 eingestellt. Über Nacht schieden sich 2 g Nadeln, Schmp. 90—97°, aus. Nach Umkristallisieren aus Wasser verblieben 1,6 g (56,9%), Schmp. 123—126°.

### Glycylhydrazinoessigsäure

2,8 g Cbo-glycylhydrazinoessigsäure werden in 20 ml etwa 30proz. HBr-Eisessiglösung 40 Minuten bei Zimmertemperatur gerührt. Es scheidet sich ein weißer Niederschlag aus. Die Fällung wird durch Zugabe von 50 ml absol. Äther vollständig gemacht. Es wird abgesaugt, dreimal intensiv mit Äther durchgewaschen und über P<sub>4</sub>O<sub>10</sub> und NaOH getrocknet. Ausbeute 3,1 g (etwa 100%) Dihydrobromid.

Zu 1 g Dihydrobromid in 50 ml Wasser wird so lange unter Rühren Amberlite IRA 300 (OH-Form) zugegeben, bis die Lösung keine Br-Ionen mehr enthält. Nach dem Einengen im Vakuum verbleiben 500 mg kristalliner Rückstand Schmp. 229—234°, der aus Äthanol-Wasser umkristallisiert wird.

### Glycylhydrazinoessigsäure-äthylester-dihydrobromid

Man läßt bei Zimmertemperatur 15 ml 30proz. HBr/Eisessiglösung, der etwa 300 mg Phenol zugesetzt werden, auf 3 g Cbo-glycylhydrazinoessigsäure-äthylester unter magnetischem Rühren einwirken, gießt 60 ml absol. Äther dazu und dekantiert mehrmals vom ausgefallenen Niederschlag ab. Das Produkt scheidet sich oftmals als duktile Masse aus, die dann mit Äther kristallin gerieben wird. Zur weiteren Reinigung wird der Niederschlag in wenig Methanol gelöst und mit Äther umgefällt. Damit nicht infolge HBr-Verlust schmierige Produkte anfallen, setzt man der methanolischen Lösung etwas HBr-Eisessig zu. Die in Tab. 2 zusammengestellten Hydrobromide wurden analog erhalten.

### Carbobenzoxy-glycylglycyl-hydrazinoessigsäure-äthylester

Zu einer Mischung 1,12 g vorst. Dihydrobromid (0,0033 Mol) und 0,7 g Triäthylamin in 10 ml Chloroform fügt man 1,1 g Cbo-glycin-p-nitrophenylester (0,0033 Mol) und 3 Tropfen Eisessig, rührt 30 Minuten und läßt 24 Stunden stehen. Nach Entfernung des Chloroforms im Vakuum wird der Rückstand in 50 ml Essigester aufgenommen, zweimal mit 40 ml n-NH<sub>4</sub>OH-Lösung, 0,1 n HCl und Wasser gewaschen. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Äther verrieben, wobei 280 mg eines Produktes vom Schmp. 113—116° erhalten werden.

### Carbobenzoxy-L-prolyl-L-leucyl-hydrazinoessigsäure-methylester

5,27 g (0,016 Mol) L-Leucyl-hydrazinoessigsäure-methylester 1,5 HBr in 35 ml Chloroform wurden mit 2,4 g (3,3 ml) Triäthylamin versetzt. Unter Rühren wurden weiter 5,72 g Cbo-L-prolin-p-nitrophenylester<sup>23)</sup> und 0,1 ml Eisessig zugefügt. Die Mischung stand 48 Stunden im Dunkeln, wurde mit 60 ml Chloroform verdünnt und mit je



100 ml Wasser, n-NH<sub>4</sub>OH-Lösung (3x), n-HCl und Wasser ausgeschüttelt. Nach Trocknen mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Einengen im Vakuum blieben 6,35 g Rückstand, Schmp. 135—137°. Das Amid wird analog dem Cbo-leucyl-hydrazinoacetamid dargestellt.

### L-Prolyl-leucyl-hydrazinoacetamid

Das durch HBr/Eisessig-Spaltung aus 5,5 g vorst. Amids gewonnene Hydrobromid (siehe Tab. 2) (6,25 g) wurde in 100 ml Wasser gelöst, mit Kohle geklärt und unter Eiskühlung mit Amberlite IRA 400 (OH-Form) ausgerührt bis zum pH 8—9. Zur Entfernung der letzten Br-Spuren ließen wir die Lösung noch über eine kurze IRA 400-Säule laufen. Das Wasser wurde im Vakuum abdestilliert, der Rückstand in Methanol gelöst, und das Produkt mit Äther ausgefällt.

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, die Titrations durch Frau N. SMIRNOVA ausgeführt. Für zuverlässige technische Mitarbeit haben wir Frä. F. ADY 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.