

## Cycloserin und verwandte Verbindungen

Über die Kondensationsprodukte von D,L-4-Amino-3-isoxazolidon und 2,5-Bis-(aminooxymethyl)-3,6-diketopiperazin

Von

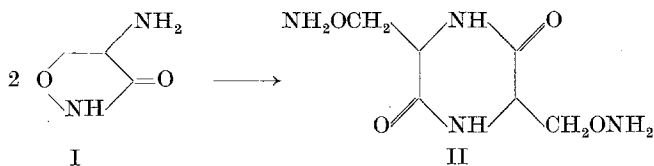
J. Michalský, J. Opíchal und J. Čtvrtník

Aus der Forschungsabteilung des VEB Farmakon Olmütz (Olomouc, ČSSR)

(Eingegangen am 9. Januar 1962)

Die Kondensationsprodukte des D,L-4-Amino-3-isoxazolidons mit aliphatischen und aromatischen Aldehyden und Ketonen haben sich mit den vom 2,5-Bis-(aminooxymethyl)-3,6-diketopiperazin abgeleiteten als identisch erwiesen. Auf Grund dieser Feststellung wird eine neue Theorie für die biologische Wirkungsweise des 4-Amino-3-isoxazolidons aufgestellt.

Im Rahmen der Strukturaufklärungsarbeiten über das Antibioticum D-Cycloserin (D-4-Amino-3-isoxazolidon) (I) stellten *Hidy* und Mitarbeiter<sup>1</sup> fest, daß diese Verbindung in den Lösungen eine interessante Dimerisierung zum 2,5-Bis-(aminooxymethyl)-3,6-diketopiperazin (II) eingeht.



Die Zusammensetzung von II konnte auf Grund der Ergebnisse der Hydrogenolyse und der Alkalispaltung gesichert werden. Da II mit Ninhydrin im Gegensatz zum Cycloserin keine Farbreaktion mehr gibt, läßt sich auf diese Weise, aber auch spektrophotometrisch<sup>2</sup> oder polarographisch<sup>3</sup> der Umwandlungsvorgang leicht verfolgen. Nach zwei- bis

<sup>1</sup> P. H. *Hidy*, E. B. *Hodge*, V. V. *Young*, R. N. *Harned*, G. A. *Brewer*, W. F. *Phillips*, W. F. *Runge*, H. E. *Stavely*, A. *Pohland*, H. *Boaz* und H. R. *Sullivan*, J. Amer. Chem. Soc. **77**, 2345 (1955).

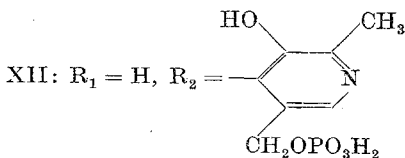
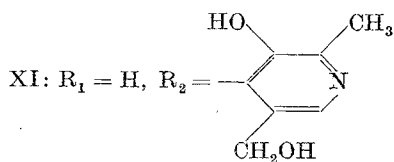
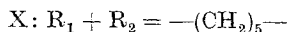
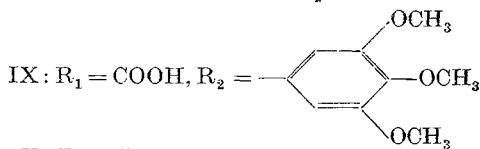
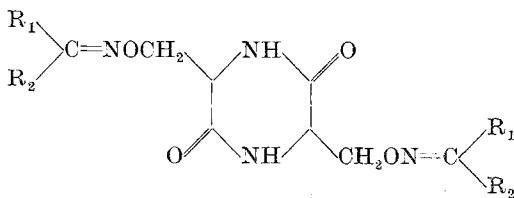
<sup>2</sup> N. K. *Kotschekow*, Österr. Chemiker-Ztg. **62**, 276 (1961).

<sup>3</sup> O. *Manoušek*, Privatmitteilung.

dreitägigem Stehen bei Zimmertemp. ist in den wäßrigen Lösungen gewöhnlich kein Cycloserin mehr nachweisbar. *Bretschneider* und *Vetter*<sup>4</sup> konnten den Nachweis erbringen, daß in essigsaurer Lösung der Dimerisierungsprozeß bedeutend rascher und vollständiger vor sich geht. Wird zu dem Reaktionsansatz Benzaldehyd zugefügt, so reagiert er rasch mit dem entstehenden Diketopiperazin II unter Bildung von 2,5-Bis-(benzylidenaminooxymethyl)-3,6-diketopiperazin (V). Auf diese Weise wird aus dem Reaktionsmilieu das Diketopiperazin II fortlaufend entfernt, so daß die Umwandlung von I zu II schneller und praktisch quantitativ verläuft. Aus den wäßrigen Lösungen läßt sich das Diketopiperazin II als solches oder besser in Form des Dihydrochlorids isolieren.

Als Träger von zwei Aminooxygruppen reagiert II oder sein Dihydrochlorid mit einer Reihe von Oxoverbindungen zu den entsprechenden 2,5-Bis-(alkyliden- bzw. -aralkylidenaminooxymethyl)-3,6-diketopiperazinen III—XI.

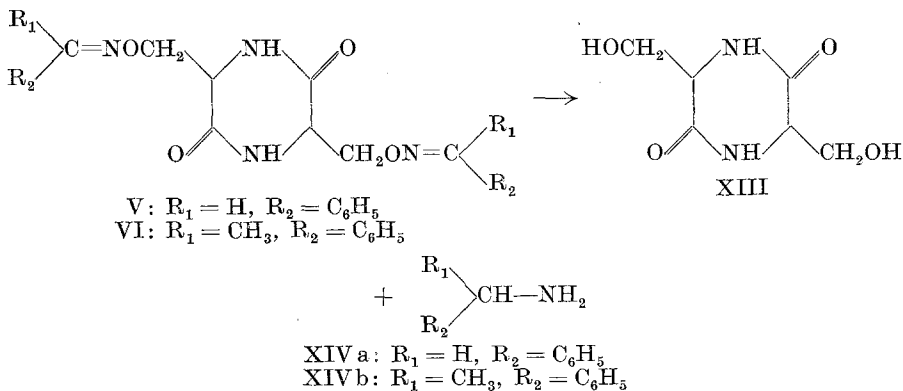
Als Reaktionspartner des Diketopiperazins II wurden Vertreter der aliphatischen Aldehyde und Ketone, aromatischen Aldehyde und fettaromatischen Ketone,  $\alpha$ -Ketocarbonsäuren bzw. ihre Ester, sowie Pyridoxal und Pyridoxal-5-phosphat herangezogen.



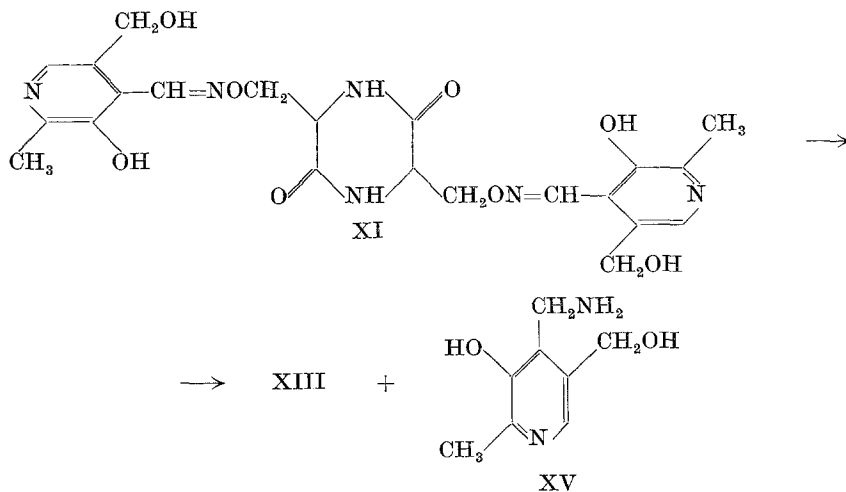
- III:  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$
- IV:  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{CH}_3$
- V:  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{C}_6\text{H}_5$
- VI:  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{C}_6\text{H}_5$
- VII:  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{COOH}$
- VIII:  $R_1 = \text{CH}_3$   
 $R_2 = \text{COOC}_2\text{H}_5$

<sup>4</sup> *H. Bretschneider* und *W. Vetter*, *Mh. Chem.* **90**, 799 (1959).

Durch Einwirkung von verdünnter Chlorwasserstoffsäure ließen sich aus den Verbindungen III—X die Aldehyde, Ketone und  $\alpha$ -Ketocarbonsäuren mehr oder weniger leicht wieder abspalten und als 2,4-Dinitrophenylhydrazone charakterisieren. Durch Reduktion mit Zink in Eisessig oder durch katalytische Hydrierung und Hydrogenolyse werden die 2,5-Bis-(aralkyldenaminooxymethyl)-3,6-diketopiperazine zum Serin-anhydrid (XIII) und den entsprechenden Aminen (XIV a, b) gespalten:

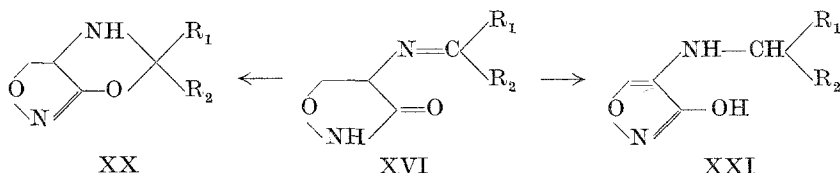


2,5-Bis-(pyridoxylidenaminooxymethyl)-3,6-diketopiperazin (XI) konnte auf analoge Weise polarographisch<sup>3</sup> zu XIII und Pyridoxamin (XV) reduziert werden:



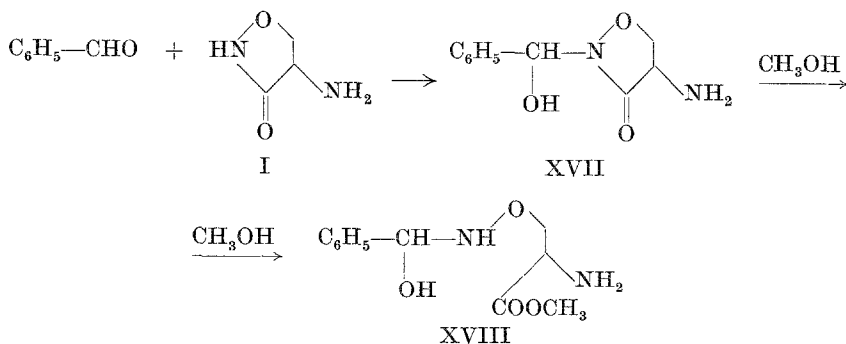
Die oben angeführten Kondensationsprodukte des 2,5-Bis-(aminooxymethyl)-3,6-diketopiperazins IV, V, VI, VIII, X, XI konnten auch direkt aus Cycloserin und den entsprechenden Oxoverbindungen in wäßriger oder wäßrig-alkoholischer Lösung dargestellt werden. Dieser

Umstand überrascht um so mehr, da diese Art von Verbindungen auch im Milieu des wasserfreien Methanols oder Äthanolis aus Cycloserin in Anwesenheit verschiedener Oxoverbindungen entstehen kann. Die auf diesem Wege dargestellten Kondensationsprodukte haben sich mit den aus II und einigen Oxoverbindungen gewonnenen als völlig identisch erwiesen. Unter den im Versuchsteil angegebenen Reaktionsbedingungen konnten wir die Bildung der von verschiedenen Autoren erwähnten *Schiffschen Basen*<sup>2, 5, 6</sup> der allgemeinen Formel XVI nicht beobachten.



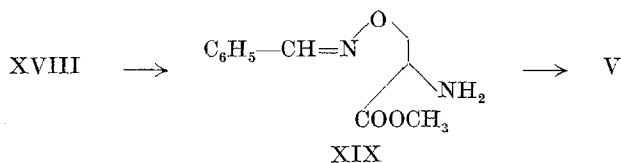
Die von *Aoki*<sup>5</sup> für *Schiffsche Basen* gehaltenen Verbindungen des D,L-4-Amino-3-isoxazolidons mit Benzaldehyd bzw. Pyridoxal entsprechen zweifellos den von uns als 2,5-Bis-(benzyliden- bzw. pyridoxyliden-amino-oxymethyl)-3,6-diketopiperazine (V, XI) identifizierten Produkten. Die Bildung der *Schiffschen Basen* vom Typus XVI wurde von *Kotschetkow*<sup>2</sup> spektrophotometrisch und von *Manoušek*<sup>3</sup> in gepufferten neutralen Lösungen polarographisch nachgewiesen. Es handelt sich um labile Verbindungen, die möglicherweise zu den stabilen Derivaten von II über XVII, XVIII und XIX umgelagert werden. *Kotschetkow*<sup>2</sup> vertritt die Ansicht, daß die Stabilisierung von XVI mit der Bildung von Verbindungen XX oder XXI verbunden ist.

Die Geschwindigkeit, mit der sich z. B. aus I unter Einwirkung von Benzaldehyd in heißem wasserfreiem Alkohol V bildet, legt die Annahme folgenden Reaktionsablaufes nahe:



<sup>5</sup> T. Aoki, *Kekkaku* **32**, 605 (1957); *Chem. Abstr.* **52**, 7427 (1958).

<sup>6</sup> N. K. Kotschetkow, R. M. Chomutow, M. Ja. Karpeisski, E. I. Budowski und Je. Ss. Sseverin, *Dokl. Akad. Nauk UdSSR* **126**, 1132 (1959).



Es können jedoch auch andere Reaktionsmöglichkeiten in Betracht gezogen werden.

Die biologische Wirkungsweise von Cycloserin überrascht durch ihre Mannigfaltigkeit<sup>2, 7-14</sup>. Auffallend stark ist besonders die Hemmwirkung gegen Aminotransferasen<sup>2, 8, 9</sup>, welche auf die Blockade des Pyridoxals bzw. Pyridoxal-5-phosphates zurückgeführt wird. Es wird die Bildung der entsprechenden *Schiffschen* Base des Typus XVI angenommen.

Auf Grund unserer Untersuchungen sind wir der Ansicht, daß das Endprodukt der Wechselwirkung zwischen Cycloserin und dem Cofactor der Aminotransferasen und Decarboxylasen<sup>7</sup> nicht die entsprechende labile *Schiffsche* Base sei, sondern das relativ stabile 2,5-Bis-(pyridoxylidenaminooxymethyl)-3,6-diketopiperazin (XI). Die Frage, ob XI durch Umlagerung der sich primär bildenden *Schiffschen* Base über die den Zwischenprodukten XVII, XVIII und XIX entsprechenden Verbindungen entsteht, oder aber, ob das Cycloserin über das Diketopiperazin II hinaus seine biologische Aktivität entfaltet, ist von uns nicht vollkommen gelöst.

Die Vermutung, daß die Desaktivierung der Pyridoxalfermente durch Cycloserin auf die Bildung von XI zurückzuführen sei, gibt gleichzeitig darüber Aufschluß, warum die Wirkung von Cycloserin keine stereospezifischen Eigenheiten aufweist<sup>2, 10</sup>.

Von großer Bedeutung im Hinblick auf den Wirkungsmechanismus des Cycloserins ist weiter die Tatsache, daß der Aufbau von 4-Aminoimidazol-5-carboxamids<sup>11</sup>, eines Zwischenproduktes der Biosynthese von Adenin und Adeninnucleotiden, von Cycloserin unterdrückt wird. Nachdem von uns festgestellt wurde, daß 2,5-Bis-(aminooxymethyl)-3,6-

<sup>7</sup> T. Aoki, *Kekkaku* **32**, 418 (1957); Chem. Abstr. **52**, 6622 (1958).

<sup>8</sup> T. Aoki, *Kekkaku* **32**, 544 (1957); Chem. Abstr. **52**, 7427 (1958).

<sup>9</sup> T. Matsumoto, *Kekkaku* **33**, 338 (1958); Chem. Abstr. **52**, 20656 (1958).

<sup>10</sup> W. Rützerfeld, *Z. Hyg. Infektionskrankh.* **145**, 209 (1958).

<sup>11</sup> K. Ishii und M. G. Sevag, *Antibiotics & Chemotherapy* **6**, 500 (1956).

<sup>12</sup> J. Michalský, J. Čtvrtník, Z. Horáková und V. Bydžovský, *Experientia* [Basel] im Druck.

<sup>13</sup> L. Jaenicke, *Angew. Chem.* **73**, 449 (1961).

<sup>14</sup> H. Misobata, *Kekkaku* **33**, 329 (1958); Chem. Abstr. **52**, 20389 (1958); E. Trivellato, *Giorn. ital. chemioterap.* **4**, 499 (1957); Chem. Abstr. **52**, 20401 (1958); M. Nakamura, *Experientia* [Basel] **13**, 29 (1957); E. B. Chain, *Ann. Rev. Biochem.* **27**, 167 (1958); J. L. Strominger, R. H. Threnn und S. S. Scott, *J. Amer. Chem. Soc.* **81**, 3803 (1959); J. L. Strominger, *Physiol. Rev.* **40**, 87 (1960).

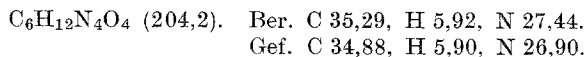
diketopiperazin (II) auch mit Formaldehyd glatt in Reaktion tritt, wollen wir die Vermutung aussprechen, daß II als Umwandlungsprodukt des Cycloserins die für den erwähnten biosynthetischen Prozeß benötigten Formylgruppen den Formyltransferasen<sup>13</sup> abnimmt.

Der Umstand, daß die antibakterielle Wirksamkeit des 2,5-Bis-(aminooxymethyl)-3,6-diketopiperazins (II)<sup>12</sup> von derselben Größenordnung ist wie die des D,L-Cycloserins bei günstigerem therapeutischen Index, bietet eine gewisse Stütze für den von uns angenommenen Wirkungsmechanismus des 4-Amino-3-isoxazolidons (I).

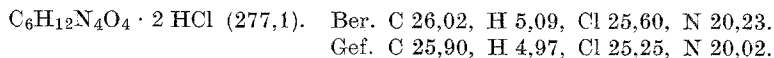
### Experimenteller Teil

#### 2,5-Bis-(aminooxymethyl)-3,6-diketopiperazin (II)

Die filtrierte Lösung von 5 g D,L-Cycloserin (I) (Schmp. 138—139°, Gehalt von II: 0,15%) in 20 ml Wasser wurde solange bei Zimmertemp. stehen gelassen, bis die Anwesenheit von I mit Ninhydrin nicht mehr nachweisbar war; die Umwandlung erfordert 2—3 Tage und läßt sich durch mäßiges Erwärmen (40°) beschleunigen. Dem Reaktionsgemisch wurden dann portionsweise insgesamt 100 ml Äthanol zugefügt. Nach 12stdg. Stehen bei 0° wurden die schön entwickelten Prismen des II abgetrennt und aus Wasser durch Zugabe von Äthanol umgelöst. Das Diketopiperazin bildet farblose Nadeln vom Schmp. 173—174,5° (*Bretschneider*<sup>4</sup> gibt 175—180° an) (Zugeschmolzene Kapillare, rasches Erhitzen). Beim langsamen Erhitzen auf dem *Boëtius*-Block färbten sich die Kristalle allmählich dunkel, ohne jedoch bei oder oberhalb 300° zu schmelzen.) Ausb. 3 g (60% d. Th.).



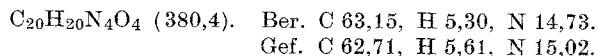
Das *Dihydrochlorid* von II kristallisiert aus der gesättigten wäßrigen Lösung des II durch Zugabe von konz. HCl. Aus wäßrigem Äthanol farblose Nadeln, Schmp. 212—215° (u. Zers.).



Aus dem *Dihydrochlorid* ließ sich durch Ag<sub>2</sub>O die *Base* zurückgewinnen.

#### 2,5-Bis-(benzylidenaminooxymethyl)-3,6-diketopiperazin (V)

*Methode A:* Die Lösung von 500 mg II in 10 ml Wasser wurde unter Rühren mit 650 mg Benzaldehyd in 4 ml Äthanol versetzt. Der dicke Kristallbrei wurde nach halbstündigem Stehen bei Zimmertemp. abgesaugt, zuerst gut mit Äthanol und dann mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausb. 855 mg (92% d. Th.). Aus Dioxan oder Eisessig bildet V farblose Nadelchen vom Schmp. 245—247°.



*Methode B* (Aus D,L-Cycloserin und Benzaldehyd in wäßrig-alkohol. Lösung): 10 g D,L-Cycloserin (Schmp. 138—139°, Gehalt von II: 0,15%) wurden in 100 ml Wasser gelöst, die Lösung filtriert u. untednr heftigem

Umrühren mit 10,5 g Benzaldehyd in 50 ml Äthanol versetzt. Aus der klaren farblosen Lösung begannen sich nach etwa 10 Min. die ersten Kristalle von V abzuschneiden. Nach dreitägigem Stehen wurde das Kondensationsprodukt abgetrennt, mit Äthanol und Wasser gewaschen und getrocknet. Ausb. 18,0 g (96,6% d. Th.). Aus Dioxan bildet es farblose Kristalle vom Schmp. 245—247°. Ein auf ähnliche Weise dargestelltes Produkt hält *Aoki*<sup>5</sup> für die *Schiffsche Base* vom Typus XVI; er gibt den Schmp. 239—240° an.

$C_{20}H_{20}N_4O_4$  (380,4). Ber. C 63,15, H 5,30, N 14,73.  
Gef. C 63,25, H 5,03, N 14,46.

*Methode C* (Aus I und Benzaldehyd in absol. Äthanol): Die Suspension von 1 g D,L-Cycloserin im Gemisch von 10 ml wasserfreiem Äthanol und 1 ml Benzaldehyd wurde 5 Std. lang auf siedendem Wasserbad erhitzt. Aus der vorübergehend klargewordenen Lösung schieden sich schon während des Erhitzens allmählich farblose Nadelchen ab. Nach Abkühlen wurde das Produkt abgesaugt und mit Wasser und Äthanol gewaschen. Ausb. 1,7 g (94% d. Th.). Schmp. 246—247°. Mit den nach der Methode A und B dargestellten Präparaten zeigte es keine Schmelzpunkterniedrigung.

$C_{20}H_{20}N_4O_4$  (380,4). Ber. C 63,15, H 5,30, N 14,73.  
Gef. C 62,80, H 5,15, N 14,30.

*Hydrogenolytische Spaltung von 2,5-Bis-(benzylidenaminoxymethyl)-3,6-diketopiperazin*

9 g V, gelöst in 250 ml Eisessig, wurden in Anwesenheit von 5 g 10proz. Pd-Kohle bei 22° und atmosphärischem Druck hydriert. Nach Aufnahme der ber. Wasserstoffmenge (20 Min.) kam die Hydrierung zum Stillstand. Nach der Abtrennung des Katalysators (dieser konnte mehrmals nacheinander ohne Verlust an Aktivität benützt werden) wurde die farblose Lösung bei 80° unter vermindertem Druck eingengt, der Rückstand mit 50 ml Äthanol übergossen, rac. Serinanhydrid von dem gelösten Benzylaminacetat abgetrennt, mit wenig Äthanol gewaschen und aus verd. Äthanol umkristallisiert. Farblose Nadeln vom Schmp. 224—226°. Aus einigen Ansätzen gelang es uns, die in der Literatur beschriebene höherschmelzende Form des rac. Serinanhydrids als Blättchen vom Schmp. 276° zu isolieren. Ausb. 2,5 g (66,6% d. Th.).

$C_6H_{10}N_2O_4$  (174,2). Ber. C 41,38, H 5,79, N 16,02.  
Gef. C 41,15, H 5,60, N 15,80.

Das Serinanhydrid wurde weiter zum D,L-Serin gespalten, das papierchromatographisch identifiziert und als D,L-Serinmethylesterhydrochlorid vom Schmp. 133—134° charakterisiert wurde.

Nach der Abtrennung von D,L-Serinanhydrid wurde die alkohol. Lösung des Benzylaminacetates im Vak. eingengt und das Acetat in üblicher Weise zum Hydrobromid umgewandelt. Ausb. 8 g (90% d. Th.). Aus Äthanol umkristallisiert, bildet *Benzylaminhydrobromid* farblose, perlmutterglänzende Blättchen vom Schmp. 204°.

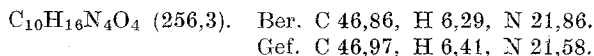
Das *Benzylaminpikrat* kristallisiert aus Äthanol in gelben Nadeln vom Schmp. 200—202°.

$C_7H_9N \cdot C_6H_3N_3O_7$  (336,3). Ber. N 16,66. Gef. N 16,35.

*2,5-Bis-(äthylidenaminoxymethyl)-3,6-diketopiperazin (III)*

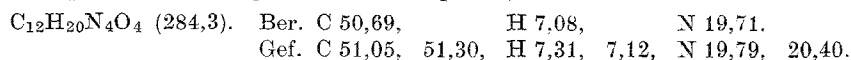
Das Diketopiperazin III wurde durch Kondensation von II mit Acetaldehyd in wässriger Lösung nach der *Methode A* dargestellt. Aus Äthanol

umgelöst, bildet es weiße Blättchen vom Schmp. 220—222°. Ausb. 75% d. Th. Durch verd. HCl wird III leicht in die Ausgangskomponenten gespalten. Der erhaltene Acetaldehyd wurde als 2,4-Dinitrophenylhydrazon (Schmp. 148°) charakterisiert.



*2,5-Bis-(isopropylidenaminooxymethyl)-3,6-diketopiperazin (IV)*

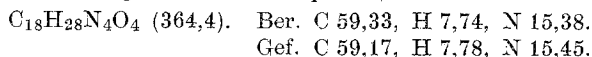
Dargestellt nach der *Methode A* durch Kondensation von II mit Aceton in konz. wäbr. Lösung bei Zimmertemp. Ausb. 68% d. Th. Aus Äthanol bildet es farblose Prismen vom Schmp. 173—174°; dargestellt nach der *Methode B* aus D,L-Cycloserin und Aceton in wäbr. Lösung: Ausb. 55% Schmp. 173—174° (zugeschmolzene Kapillare).



Durch verd. HCl wurde unter sehr milden Bedingungen IV zu *Aceton* (2,4-Dinitrophenylhydrazon: Schmp. 127—128°) und dem *Dihydrochlorid* von II (Schmp. 213—214°) gespalten.

*2,5-Bis-(cyclohexylidenaminooxymethyl)-3,6-diketopiperazin (X)*

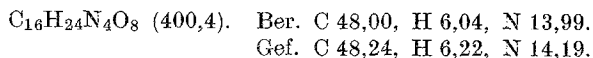
Das Kondensationsprodukt X konnte in guten Ausbeuten nach *Methode A, B* und *C* gewonnen werden. Es bildet aus Äthanol weiße Nadeln vom Schmp. 218—220° (zugeschmolzene Kapillare).



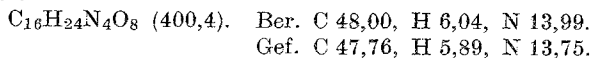
Aus X läßt sich mit verd. HCl Cyclohexanon leicht wieder abspalten (2,4-Dinitrophenylhydrazon: Schmp. 160—161°).

*2,5-Bis-( $\alpha$ -carbäthoxyäthylidenaminooxymethyl)-3,6-diketopiperazin (VIII)*

Die auf 50° erhitze Lösung von 500 mg des Dihydrochlorids von II in 15 ml Wasser wurde auf einmal mit 420 mg Brenztraubensäureäthylester in 5 ml Wasser versetzt. Es begannen sich sofort weiße Blättchen von VIII abzuscheiden. Nach 12stdg. Stehen bei Zimmertemp. wurde das Kondensationsprodukt abgesaugt und aus Äthanol umgelöst. Es bildet weiße, perlmutterglänzende Blättchen vom Schmp. 196°. Ausb. 650 mg (90% d. Th.).

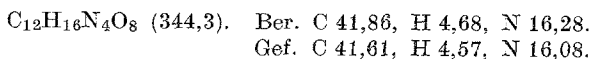


Auf ähnliche Weise konnte VIII aus Base II und Brenztraubensäureäthylester in 82proz. Ausb. gewonnen werden. VIII wurde auch nach *Methode B* (Ausb. 81% d. Th.) und *C* (Ausb. 50% d. Th.) dargestellt. Schmp. 195°.



*2,5-Bis-( $\alpha$ -carboxyäthylidenaminooxymethyl)-3,6-diketopiperazin (VII)*

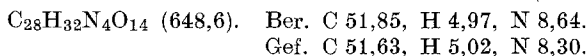
Dargestellt aus Dihydrochlorid von II und Brenztraubensäure analog dem Diäthylester VIII. Das Produkt zeigt nach Umkristallisieren aus heißem Wasser den Schmp. 184—186°.





*2,5-Bis-( $\alpha$ -carboxy-3,4,5-trimethoxybenzylidenaminoxymethyl)-3,6-diketo-piperazin (IX)*

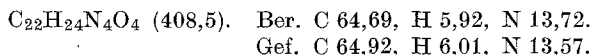
Das Gemisch von 300 mg des Dihydrochlorids von II und 400 mg der 3,4,5-Trimethoxyphenylglyoxylsäure<sup>15</sup> wurde in 10 ml Wasser gelöst, die Lösung kurz gekocht und dann 12 Stdn. bei Zimmertemp. stehengelassen. Die ausgeschiedenen Kristalle wurden aus verd. Eisessig umkristallisiert. IX bildet farblose Prismen vom Schmp. 201—202° (starkes Aufschäumen).



Das 2,4-Dinitrophenylhydrazon der durch verd. HCl abgespaltenen 3,4,5-Trimethoxyphenylglyoxylsäure zeigte den Schmp. 207° (Äthanol)<sup>15</sup>.

*2,5-Bis-( $\alpha$ -phenyläthylidenaminoxymethyl)-3,6-diketopiperazin (VI)*

Das Kondensationsprodukt VI wurde in guten Ausbeuten nach der Methode A und C dargestellt. Es bildet aus Äthanol weiße glänzende Blättchen vom Schmp. 240—241° (zugeschmolzene Kapillare).



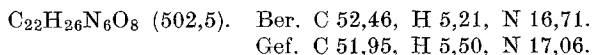
Das Kondensationsprodukt VI konnte in Eisessig an Pd-Kohle hydrogenolytisch analog V zum Serinanhydrid und  $\alpha$ -Phenyläthylamin (*Pikrat*: Schmp. 190—192°) gespalten werden.



Die Spaltung von VI gelang auch mit Zink in Eisessig.

*2,5-Bis-(pyridoxylidenaminoxymethyl)-3,6-diketopiperazin (XI)*

Wurde durch Kondensation von Pyridoxal-hydrochlorid (Merek) mit D,L-Cycloserin in siedendem wasserfr. Methanol dargestellt (*Methode C*). Das Kondensationsprodukt XI bildet farblose winzige Nadelchen vom Schmp. 232—235° (zugeschmolzene Kapillare). Die Verbindung XI konnte in guter Ausbeute aus II und Pyridoxalhydrochlorid auch in wäßriger Lösung durch Stehen bei Zimmertemp. gewonnen werden (*Methode A*). Beide Produkte zeigten sich als identisch.



Die Elementaranalysen wurden in der analytischen Abteilung des Forschungsinstitutes für Pharmazie und Biochemie Prag durchgeführt.

Frau *Marta Hodáčová* danken wir für die technische Mitarbeit.

<sup>15</sup> J. Michalský und L. Sadílek, Mh. Chem. **90**, 171 (1959).