

Das radioaktive CO_2 wurde im Vakuum in Bariumcarbonat übergeführt, zentrifugiert und in einem fensterlosen „Tracerlab Flow Counter SC-16“ gemessen. Nach Korrektur auf unendliche Schichtdicke wurde die absolute Aktivität der Fusarinsäure (IX) durch Vergleich mit einem Standard- $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3^{14}$) zu 13,9 mc/Millimol bestimmt.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung *W. Manser*) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Fusarinsäure wurde zum 2-Brom-5-n-butyl-pyridin abgebaut; daraus wurde über die Lithium-Verbindung Fusarinsäure-[carboxyl- ^{14}C] hergestellt. Aus Fusarinsäure und Fusarinsäure-amid wurden einige quaternäre Ammonium-Derivate gewonnen.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

¹⁴) Hergestellt von *J. Urech* aus 0,100-m. $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$ -Lösung (Nat. Bur. Stand. Serie A, Juni 1949).

26. Chemotherapie der experimentellen Tuberkulose IV¹⁾.

Aminosäure-Derivate des Isonicotinsäurehydrazids und des 2-Methyl-isonicotinsäurehydrazids²⁾

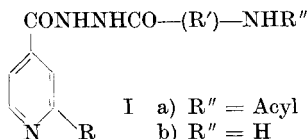
von *A. Winterstein, B. Hegedüs, B. Fust, E. Böhni* und *A. Studer*.

(14. XII. 55.)

1. Einleitung.

In Fortsetzung unserer Arbeiten auf dem Gebiete der Chemotherapie der experimentellen Tuberkulose wurden Derivate des Isonicotinsäurehydrazids bzw. des 2-Methyl-isonicotinsäurehydrazids mit Aminosäuren synthetisiert.

Insgesamt wurden 27 Verbindungen der allgemeinen Formel I dargestellt.



Dabei bedeuten R ein Wasserstoffatom oder eine Methylgruppe und R' den nach Wegnahme einer Carboxylgruppe und einer Amino-

¹⁾ 3. Mitteilung: *O. Isler, H. Gutmann, O. Straub, B. Fust, E. Böhni & A. Studer*, Helv. **38**, 1046 (1955).

²⁾ In gekürzter Fassung von *B. Hegedüs* am XIV. Internationalen Kongress für reine und angewandte Chemie am 26. Juli 1955 in Zürich vorgetragen.

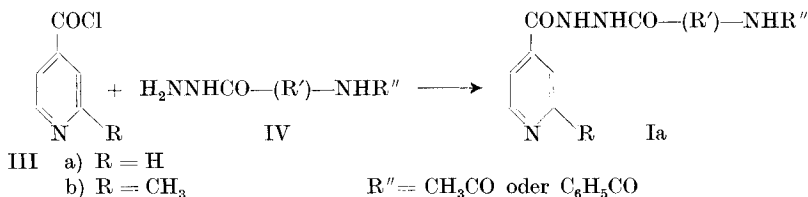
gruppe verbleibenden Rest einer Aminosäure³⁾. Die eingeschlagenen Synthesewege waren verschieden, je nachdem, ob ein Derivat einer acylierten Aminosäure (Ia) oder ein Derivat mit freier Aminogruppe (Ib) dargestellt werden sollte.

2. Synthese von Verbindungen mit acylierter Aminogruppe (Ia).

Bei der Darstellung dieser Verbindungen (Tab. 1, 2 und 6) gelangten drei Methoden (A, B und C) zur Anwendung, wobei Methode A die bevorzugte war.

A. Kupplung eines acylierten Aminosäurehydrazids mit Isonicotinsäurechlorid-hydrochlorid bzw. 2-Methyl-isonicotinsäurechlorid-hydrochlorid. Die als Ausgangsprodukte verwendeten acylierten Aminosäurehydrazide IV (Tab. 5)⁴⁾ wurden aus den entsprechenden acylierten Äthylestern II (Tab. 4) durch Umsetzung mit Hydrazinhydrat in Alkohol gewonnen. Die Darstellung der Ester II erfolgte in den meisten Fällen nach der Methode von *E. Cherbuliez & Pl. A. Plattner*⁵⁾, nämlich durch Veresterung der Aminosäure mit alkoholischer Salzsäure und nachfolgende Acetylierung des rohen Esterhydrochlorids mit Acetanhydrid in Gegenwart von Natriumacetat. Hippursäure-äthylester (IIb) und Acetyl-DL-phenylalanin-äthylester (IIi) wurden durch azeotrope Veresterung der entsprechenden acylierten Aminosäuren in etwa 90-proz. Ausbeute erhalten.

Die Kupplung der acylierten Aminosäurehydrazide IV mit Isonicotinsäurechlorid-hydrochlorid (IIIa·HCl) bzw. 2-Methyl-isonicotinsäurechlorid-hydrochlorid (IIIb·HCl)¹⁾ erfolgte in Gegenwart von Pyridin. Versuche, das Pyridin durch eine in Wasser schwerlösliche tertiäre Base (z. B. Aldehycollidin oder Dimethylanilin) zu ersetzen, wodurch sich die Aufarbeitung wesentlich vereinfachen würde, verliefen negativ.



Die Aufarbeitung nach beendeter Kupplung richtete sich nach der Wasserlöslichkeit der entstehenden Verbindung Ia. Ist diese schwer-

³⁾ Diese Definition von R und R' gilt für alle in der vorliegenden Arbeit aufgeführten Formeln.

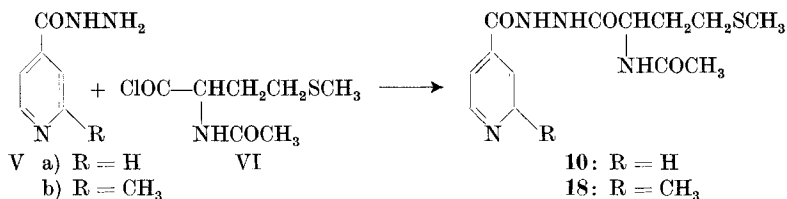
⁴⁾ Die meisten dieser Hydrazide sind bisher noch nicht beschrieben worden. Sie sind alle in Wasser sehr leicht löslich; die wässrigen Lösungen reagieren schwach alkalisch (pH 7,2—7,6).

⁵⁾ *Helv.* **12**, 317 (1929).

löslich, so kann sie nach Entfernung des Pyridins direkt ausgefällt werden durch Einstellen der Lösung auf pH 4,5–5,5 (Methode A 2). Die in Wasser leichtlöslichen Verbindungen können durch vollständiges Eindampfen und mehrmaliges Ausziehen des Rückstandes mit absolutem Alkohol von den anorganischen Salzen getrennt werden (Methode A 1).

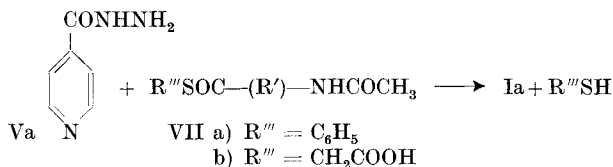
In einigen Fällen entstand bei der Kupplung in erheblicher Menge ein in Pyridin und verdünnter Salzsäure unlösliches Nebenprodukt, nämlich dann, wenn als Aminosäurekomponente IV Acetur- oder Hippursäurehydrazid verwendet wurden. Dieses Nebenprodukt erwies sich nach der Analyse als 1,2-Diaceturyl-hydrazin bzw. 1,2-Dihippurylhydrazin.

B. Kupplung eines acylierten Aminosäurechlorids mit Isonicotinsäurehydrazid bzw. 2-Methyl-isonicotinsäurehydrazid. Diese Methode wurde zur Herstellung des 1-(2-Methyl-isonicotinyl)-2-(acetyl-DL-methionyl)-hydrazins (**18**) benützt, dessen Herstellung nach Methode A nicht gelang. Acetyl-DL-methionin⁶⁾ wurde mit Phosphorpentachlorid in Acetylchlorid in Acetyl-DL-methioninchlorid VI übergeführt, das mit 2-Methyl-isonicotinsäurehydrazid (Vb)⁷⁾ in Pyridin gekuppelt **18** ergab.



Wurde an Stelle von 2-Methyl-isonicotinsäurehydrazid dessen unsubstituiertes Homologes Va verwendet, so entstand **10**, welches aber auch nach Methode A darstellbar ist.

C. Kupplung eines acylierten Thioaminosäure-S-esters mit Isonicotinsäurehydrazid. Diese Reaktion ist eine Übertragung der Acylierungsmethode von *Th. Wieland, W. Schäfer & E. Bockelmann*⁸⁾ auf Säurehydrazide. Lässt man auf Isonicotinsäurehydrazid (Va) einen acetylierten Thioaminosäure-S-ester der allgemeinen Formel VII einwirken, so entsteht unter Abspaltung des Thiols R''SH das entsprechende 1-Isonicotinyl-2-(acylamino-acyl)-hydrazin Ia.



⁶⁾ G. P. Wheeler & A. W. Ingersoll, J. Amer. chem. Soc. **73**, 4604 (1951).

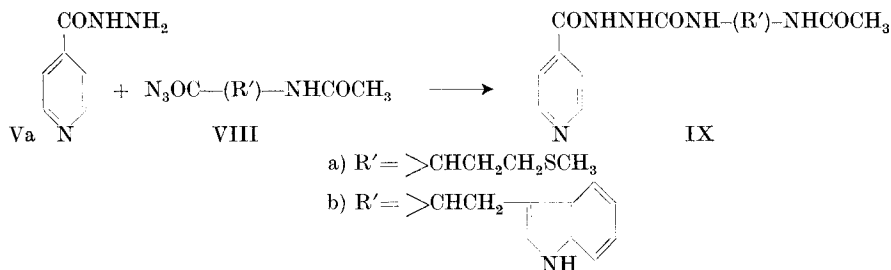
⁷⁾ O. Isler, H. Gutmann, O. Straub, B. Fust, E. Böhni & A. Studer, Helv. **38**, 1033 (1955).

⁸⁾ Liebigs Ann. Chem. **573**, 99 (1951); Angew. Chem. **66**, 507 (1954). Vgl. auch R. Schwyzer, Helv. **36**, 414 (1953).

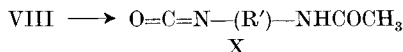
Die Thiosäure-S-ester VII wurden nach der Anhydridmethode, d.h. durch Umsetzung der gemischten Anhydride von acetylierter Aminosäure und Kohlensäure-monoäthylester mit einem Thiol (Thiophenol oder Thioglykolsäure) hergestellt. Die Umsetzung der Thiosäure-S-ester mit Isonicotinsäurehydrazid verläuft glatt und mit hohen Ausbeuten, wenn man die Komponenten in Essigester kurze Zeit unter Rückfluss kocht. Die entstehenden 1-Isonicotinyl-2-(acylamino-acyl)hydrazine Ia sind in Essigester praktisch unlöslich und können so leicht und in grosser Reinheit isoliert werden.

Nach dieser Methode wurden die Verbindungen **1**, **9** und **10** hergestellt unter Verwendung der folgenden Thiosäure-S-ester: S-Acetylthiophenol (VIIa R' = -CH₂-), S-(Acetyl-DL-phenylalanyl)-thiophenol (VIIa R' = >CHCH₂C₆H₅), S-(Acetyl-DL-methionyl)-thiophenol (VIIa R' = >CHCH₂CH₂SCH₃) und S-(Acetyl-DL-methionyl)-thioglykolsäure (VIIb R' = >CHCH₂CH₂SCH₃).

D. Versuche, acylierte Aminosäureazide zur Synthese von Verbindungen der Formel Ia zu verwenden, schlugen fehl, d.h. die Reaktion nahm einen anderen als den gewünschten Verlauf. Wurden nämlich die Azide⁹⁾ des Acetyl-DL-methionins (VIIIa) und des Acetyl-DL-tryptophans (VIIIb) mit Isonicotinsäurehydrazid (Va) zur Reaktion gebracht, so entstanden Semicarbazid-Derivate (IX).



Offenbar haben sich diese Aminosäureazide in die entsprechenden Isocyanate X umgelagert, die dann mit Va unter Bildung der Semicarbazid-Derivate IX reagierten¹⁰⁾.



Nach diesen Befunden scheinen sich acylierte Aminosäureazide nur dann als Acylierungsmittel zu eignen, wenn sie mit den α -Aminogruppen der Aminosäuren gekuppelt werden. Mit anderen Amino-

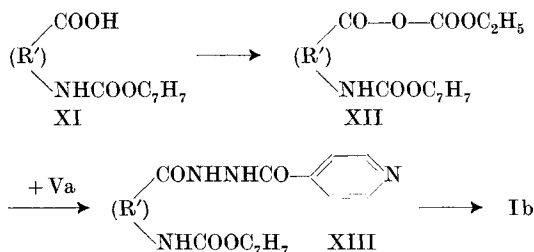
⁹⁾ Die Azide wurden aus den entsprechenden Hydraziden gewonnen, jedoch nicht in reiner Form isoliert.

¹⁰⁾ Einen analogen Reaktionsverlauf haben kürzlich *E. A. Popenoe, D. G. Doherty & K. P. Link* veröffentlicht: *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 3469 (1953). Diese Autoren erhielten beim Versuch, acylierte Aminosäureazide mit Tetracetylglucosamin zu kuppeln, statt den erwarteten „Glucopetiden“ Harnstoffderivate.

gruppen (z. B. Aminen oder Hydraziden) tritt die *Curtius*'sche Umlagerung in den Vordergrund, und man erhält Additionsprodukte der intermediär auftretenden Isocyanate.

3. Synthese von Verbindungen mit freier Aminogruppe (Ib).

Zur Herstellung dieser Verbindungen (Tab. 3 und 9) gelangte die Methode von *R. A. Boissonas*¹¹⁾ zur Anwendung. Danach wurde eine carbobenzoylierte Aminosäure XI mit Chlorameisensäure-äthylester in Chloroform in Gegenwart von Triäthylamin in das gemischte Anhydrid XII übergeführt, das ohne Isolierung mit Isonicotinsäurehydrazid (Va) zum 1-Isonicotinyl-2-(carbobenzoylamino-acyl)-hydrazin (XIII) gekuppelt wurde¹²⁾. Hydrogenolyse von XIII ergab das entsprechende 1-Isonicotinyl-2-aminoacyl-hydrazin (Ib, R = H), das entweder als freie Base oder als Hydrochlorid isoliert wurde.



Die als Ausgangsmaterial benützten N-Carbobenzoy-amino-säuren (XI) sind in der Tab. 7 zusammengestellt. Die Darstellung erfolgte nach der bekannten Methode von *E. Bergmann & L. Zervas*¹³⁾. Neu sind nur zwei Verbindungen: N(α)-Carbobenzoy-N(1 od. 3)-benzyl-L-histidin (XI_k) und N-Carbobenzoy- γ -amino-buttersäure (XI_m).

Die Gewinnung der gemischten Anhydride XII und deren Umsetzung mit Isonicotinsäurehydrazid (Va) bot im allgemeinen keine Schwierigkeiten. Einzig im Falle des oben erwähnten N(α)-Carbobenzoy-N(1 od. 3)-benzyl-L-histidins (XI_k) versagte die Methode, wohl deshalb, weil sich die Säure weder als solche noch in Form ihres Triäthylaminsalzes in Chloroform löste¹⁴⁾.

Die hydrogenolytische Abspaltung der Carbobenzoygruppe in den Verbindungen XIII erfolgte mit Wasserstoff in Gegenwart von Palladium-Mohr, vorzugsweise in salzsaurem Medium. Die Endprodukte wurden dabei in Form der schön kristallisierten Dihydrochloride

¹¹⁾ Helv. **34**, 874 (1951).

¹²⁾ *R. L. Barnden, R. M. Evans, J. C. Hamlet, D. A. Hems, A. B. A. Jansen, M. E. Trevett & G. B. Webb*, J. chem. Soc. **1953**, 3733, haben Isonicotinsäurehydrazid mit dem gemischten Anhydrid des Benzyl-penicillins umgesetzt.

¹³⁾ Ber. deutsch. chem. Ges. **65**, 1192 (1932).

¹⁴⁾ Manche Carbobenzoy-amino-säuren (z. B. das Carbobenzoy-leucin) sind ebenfalls schwerlöslich in Chloroform, gehen aber nach Zugabe von Triäthylamin sofort in Lösung.

(oder des Trihydrochlorids beim Lysin-Derivat **25**) isoliert (Methode E1). In zwei Fällen wurde die Hydrogenolyse in neutralem Medium (Dioxan-Wassergemisch) durchgeführt; dabei fielen die freien Basen an (Methode E2). Es betrifft dies das Glykokoll-Derivat **19** und das DL-Alanin-Derivat **20**. Interessant ist der Befund, dass sich die beiden Basen **19** und **20** viel schwerer lösen als die entsprechenden Acetyl-derivate **1** und **3**. Die Hydrochloride lösen sich alle sehr leicht in Wasser mit einem pH von 2,2–2,6. Die gesättigten, wässrigen Lösungen der freien Basen weisen ein pH von 8,6–8,8 auf.

Die Darstellung der Isonicotinyl-Derivate des Methionins und des Cysteins durch Hydrogenolyse der entsprechenden Carbobenzoxyverbindungen XIIIh und XIIIi gelang erwartungsgemäss nicht. Beim Versuch, die Carbobenzoxygruppe mit Natrium in flüssigem Ammoniak abzuspalten, wurden undefinierbare Reaktionsprodukte erhalten. Da der Verbrauch an Natrium bis zur bleibenden Blaufärbung die theoretisch zu erwartende Menge beträchtlich übertraf, ist es wahrscheinlich, dass sich Nebenreaktionen abspielten, beim Methionin-Derivat XIIIh sicherlich Spaltung der CH_3S -Gruppe.

4. Antituberkulöse Wirkung der Verbindungen I.

Die in den Tab. 1, 2 und 3 enthaltenen Angaben über die Toxizität und die antituberkulöse Wirkung der Verbindungen I wurden nach den Methoden von *B. Fust, E. Böhni & A. Studer*¹⁵⁾ erhalten. Aus diesen Angaben ist ersichtlich, dass zwei Derivate des Isonicotinsäurehydrazids mit freier Aminogruppe (Tab. 3) die Aktivität von Isoniazid erreichen, nämlich das Glycyl-Derivat **19** bei oraler und das DL- α -Alanyl-Derivat **20** bei subcutaner Verabreichung. Angenähert wird die Aktivität von Isoniazid auch von zwei acylierten Präparaten (Tab. 1) erreicht, nämlich vom Acetyl-Derivat **1** und vom Acetyl-L-leucyl-Derivat **7**. Die meisten der übrigen Derivate von α -Aminosäuren weisen einen Drittel bis die Hälfte der Aktivität von Isoniazid auf. Zwei Derivate von β - und γ -Aminosäuren (**15** und **27**) sowie zwei Derivate der unnatürlichen D-Form von α -Aminosäuren (**8** und **22**) fallen in der Wirksamkeit beträchtlich ab. Zwischen der optischen Konfiguration der α -Aminosäure und der Wirksamkeit des entsprechenden Derivates bestehen keine eindeutigen Zusammenhänge. Während bei den Derivaten des Acetyl-leucins (**6–8**) und des α -Alanins (**20–22**) die D-Form deutlich weniger wirksam ist als die L-Form oder DL-Form, bestehen diese signifikanten Unterschiede bei den Derivaten des Acetyl- α -alanins (**3–5**) und des Acetyl-methionins (**10–12**) nicht.

Die Aktivitätsunterschiede zwischen Derivaten von Aminosäuren mit freier Aminogruppe (Tab. 3) und den entsprechenden acylierten Verbindungen (Tab. 1) sind gering. Eine Ausnahme bildet das D- α -

¹⁵⁾ Schweiz. Z. Tuberkul. **12**, 468 (1955). Vgl. 7).

Tabelle 1.
(Acylamino-acyl)-Derivate von Isonicotinsäurehydrazid.
CONHNH-Acyl

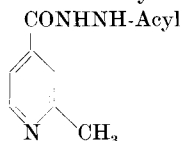


Nr.	Acyl	Toxizität mg/kg			Antituberkulöse Wirkung mg/kg		Isoniazid- Index
		DL 90	DL 50	DL 10	+	(+)	
1	Acetyl	{ p. os s.c.	750 390 750 550	200 300	10 25	8,75*) 7,5 5	86 25
2	Hippuryl	{ p. os	> 10000		25	17,5*)	10 43
3	Acetyl-DL- α -alanyl	{ p. os s.c.	2500 1500 1050	500 500	25 10	17,5*) 7,5	10 5 33
4	Acetyl-L- α -alanyl	{ p. os s.c.	2000 1000 780	500 500	25 25	17,5*) 5	10 2,5 43 50
5	Acetyl-D- α -alanyl	{ p. os s.c.	7500 2000 1150	500 500	25 25	17,5*) 5	10 2,5 43 50
6	Acetyl-DL-leucyl	{ p. os	> 10000	2000	25	17,5*)	10 43
7	Acetyl-L-leucyl	{ p. os	8000	1300	25	10	7,5
8	Acetyl-D-leucyl	{ p. os	10000	> 10000	250	165*)	80
9	Acetyl-DL-phenylalanyl	{ p. os	4570	2500	50	25	10
10	Acetyl-DL-methionyl	{ p. os s.c.	> 1000	> 10000 500	25 10	17,5*) 7,5	10 5 33
11	Acetyl-L-methionyl	{ p. os	7600	2100	25	17,5*)	10 43
12	Acetyl-D-methionyl	{ p. os	> 10000		25	17,5*)	10 43
13	Acetyl-DL- α -thionyl	{ p. os	> 10000		50	37,5*)	25 20
14	Acetyl-DL-methoxinyl	{ p. os s.c.	2700	1800	50 25	25 10	10 7,5 30 25
15	Acetyl- β -alanyl	{ p. os s.c.	> 10000	> 10000	500 1000	375*) 750*)	250 500

*) Interpoliert.

Alanin, wo das acetylierte Derivat (5) etwa fünf- bis zehnmals stärker wirksam ist als das unacetylierte (22). Die in der Tab. 2 zusammengestellten Derivate des 2-Methyl-isonicotinsäurehydrazids weichen in der Wirksamkeit wenig von den entsprechenden Derivaten des Isonicotinsäurehydrazids ab.

Tabelle 2.
(Acylamino-acyl)-Derivate von 2-Methyl-isonicotinsäurehydrazid.



Nr.	Acyl	Toxizität mg/kg			Antituberkulöse Wirkung mg/kg			Iso- niazid- Index	
		DL 90	DL 50	DL 10	+	(+)	-		
16	Aceturyl . . .	p. os	1000	440	250	25	17,5*	10	43
		s.c.	1500	700	250	10	7,5	5	33
17	Hippuryl . . .	p. os			>10000	25	17,5*	10	43
		s.c.			>125	25	17,5*	10	14
18	Acetyl-DL- methionyl	p. os	8400	6000	3600	25	17,5*	10	43
		s.c.	2000	1250	820	25	10	7,5	25

*) Interpoliert.

Die Toxizitätswerte sind bei allen Verbindungen günstiger als beim Isonicotinsäurehydrazid bzw. 2-Methyl-isonicotinsäurehydrazid⁷⁾. Einige Präparate (2, 8, 12, 13, 15) erweisen sich bei der Prüfung auf akute Toxizität als praktisch ungiftig.

Experimenteller Teil¹⁶⁾.

1. Verbindungen mit acylierter Aminogruppe (Ia).

a) *Acylierte Aminosäure-äthylester II*. Die in der Tab. 4 zusammengestellten acylierten Aminosäure-äthylester II wurden mit zwei unten erwähnten Ausnahmen nach der Methode von *E. Cherbuliez & Pl. A. Plattner*⁵⁾ dargestellt. Die Ausbeuten betragen im allgemeinen 70–75%. Als Beispiel wird die Bereitung des Acetursäure-äthylesters beschrieben.

Acetursäure-äthylester (IIa): 750 g Glykokoll werden in 7,5 l mit Chlorwasserstoffgas gesättigtem abs. Äthanol 6–7 Std. unter Rückfluss gekocht. Die Reaktionsmischung wird im Vakuum zur Trockene gebracht. Das zurückbleibende rohe Glykokoll-äthylester-hydrochlorid löst man bei 70–80° in 3 l Essigsäureanhydrid und trägt dann unter Rühren und zeitweiliger Kühlung 900 g wasserfreies Natriumacetat so ein, dass die Temperatur 60–70° beträgt. Nach Stehen über Nacht bei Zimmertemperatur nutschte man ab und wäscht die Salzmasse mit 700 cm³ Essigsäureanhydrid aus. Das dunkelbraune Filtrat wird im Vakuum bei 60–80° vom Essigsäureanhydrid befreit, worauf der Rückstand mit umgekehrter Kapillare im Vakuum destilliert wird. Ausbeute 945–1015 g (65–70%) Acetursäure-äthylester, Sdp. 140–145°/12 mm. Das Destillat erstarrt zu einer Kristallmasse.

¹⁶⁾ Die Smp. sind nicht korrigiert.

Tabelle 3.
Aminoacyl-Derivate von Isonicotinsäurehydrazid.
CONHNH-Acyl



Nr.	Acyl	Toxizität mg/kg			Antituberkulöse Wirkung		Isoniazid- Index	
		DL 90	DL 50	DL 10	+	mg/kg (+)		
19	Glycyl	p. os 400	300	200	10	7,5	5 100	
20	DL- α -Alanyl	{ p. os 1500	830	500	25	17,5*	10	43
		{ s.c. 750	550	400	5	2,5	1	100
21	L- α -Alanyl	{ p. os 1000	580	400	25	17,5*	10	43
		{ s.c. 750	590	400	10	5	2,5	50
22	D- α -Alanyl	{ p. os 10000	5630	3000	160	80	40	9
		{ s.c. 4000	2950	1000	100	50	25	5
23	DL-Leucyl	{ p. os 2000	1250	500	25	17,5*	10	43
		{ s.c. 1000	640	400	25	10	5	25
24	DL-Phenylalanyl	{ p. os 1500	920	500	50	25	10	30
		{ s.c. 1500	770	250	10	7,5	5	33
25	L-Lysyl	{ p. os 1400	500	300	50	25	10	30
		{ s.c. 900	720	580	10	5	2,5	50
26	β -Alanyl	{ p. os 10000	7500	5000	50	37,5*	25	20
		{ s.c. 4000	2600	1500	50	25	10	10
27	γ -Amino-buteryl	{ p. os 10000	8300	5000	1000	750*	500	1
		{ s.c. 3000	2650	2000	500	300*	100	1

*) Interpoliert.

Tabelle 4.
 Acylierte Aminosäure-äthylester.
 $C_2H_5OOC-(R')-NHCOOR''$

Ver- bindung	R'	R''	Kon- fig.	Sdp./mm Hg	Smp.	[α] _D	Bruttoformel	% N		% S	
								Ber.	Gef.	Ber.	Gef.
IIa ¹⁷⁾	-CH ₂ -	CH ₃	-	140-145 ⁰ /12	-	-	-	-	-	-	-
IIb ¹⁷⁾	-CH ₂ -	C ₆ H ₅	-	-	66-67 ⁰	-	-	-	-	-	-
IIc ¹⁷⁾	>CHCH ₃	CH ₃	DL	120-125 ⁰ /10	-	-	-	-	-	-	-
II d ¹⁷⁾	>CHCH ₃	CH ₃	L	80 ⁰ /0,1	-	-	-	-	-	-	-
IIe	>CHCH ₃	CH ₃	D	80 ⁰ /0,1	-	-	-	-	-	-	-
II f ¹⁷⁾	>CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	DL	110-115 ⁰ /0,1	58 ⁰	-	-	-	-	-	-
II g ¹⁷⁾	>CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	L	95-100 ⁰ /0,04	-	-	C ₁₀ H ₁₉ O ₃ N	6,96	7,17	-	-
II h	>CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	D	100 ⁰ /0,05	-	-	C ₁₀ H ₁₉ O ₃ N	6,96	7,09	-	-
II i ¹⁷⁾	>CHCH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	DL	-	64-68 ⁰	-	-	-	-	-	-
II k ¹⁸⁾	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₃	CH ₃	DL	132 ⁰ /0,2	59 ⁰	-	C ₉ H ₁₇ O ₃ NS	-	-	14,61	14,70
III	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₃	CH ₃	L	126 ⁰ /0,5	-	-	-	-	-	-	-
II m	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₃	CH ₃	D	122 ⁰ /0,2	-	-	C ₉ H ₁₇ O ₃ NS	-	-	14,61	14,49
II n	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₂ CH ₃	CH ₃	DL	128 ⁰ /0,03	-	-	C ₁₀ H ₁₉ O ₃ NS	-	-	13,74	13,92
II o	>CHCH ₂ CH ₂ OCH ₃	CH ₃	DL	126-128 ⁰ /0,4	-	-	C ₉ H ₁₇ O ₄ N	6,89	6,86	-	-
II p ¹⁷⁾	-CH ₂ CH ₂ -	CH ₃	-	115 ⁰ /0,02	-	-	C ₇ H ₁₃ O ₃ N	8,80	9,21	-	-

a) c = 3 in Wasser. b) Unverdünn. c) c = 1 in Äthanol. d) c = 1 in Wasser.

¹⁷⁾ *Beilstein's Handbuch der organischen Chemie*, 4. Aufl.

¹⁸⁾ *R. Riemschneider & A. Kluge*, *Mh. Chem.* **84**, 522 (1953).

Geht man von der äquivalenten Menge käuflichem Glykokoll-äthylester-hydrochlorid (1400 g) aus, so beträgt die Ausbeute 85%.

Hippursäure-äthylester (IIb): 270 g Hippursäure werden in 600 cm³ Benzol und 500 cm³ 95-proz. Äthanol unter Zugabe von 2 g p-Toluolsulfosäure 2 Tage unter Wasserabscheidung gekocht. Nach beendeter Reaktion wird die Benzollösung mit Sodalösung und Wasser gewaschen und ohne Trocknung¹⁹⁾ eingedampft. Der Hippursäure-äthylester bleibt als zähes Öl zurück, das beim Abkühlen erstarrt. Ausbeute 364 g (88%).

Nach dieser Vorschrift wurde auch Acetyl-DL-phenylalanin-äthylester (IIi) hergestellt.

b) *Acylierte Aminosäurehydrazide IV*. Die Darstellung der in der Tab. 5 zusammengestellten Hydrazide erfolgte nach den in den folgenden zwei Vorschriften beschriebenen Arbeitsweisen.

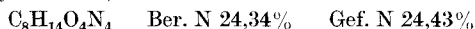
Acetyl-DL- α -alaninhydrazid (IVc): 53 g Acetyl-DL- α -alanin-äthylester (IIc) werden in 150 cm³ abs. Äthanol mit 30 cm³ 65-proz. Hydrazinhydrat 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Man dampft im Vakuum zur Sirupdicke ein und bringt nach Zusatz von 100 cm³ abs. Äthanol im Vakuum zur Trockene. Der Rückstand wird aus 250 cm³ siedendem Dioxan umkristallisiert. Das abgesaugte Produkt wird mit Äther gewaschen. Ausbeute 41 g (79%).

Acetyl- β -alaninhydrazid (IVp): 113 g Acetyl- β -alanin-äthylester (IIp) werden mit 100 cm³ abs. Äthanol und 65 cm³ 65-proz. Hydrazinhydrat vermischt und über Nacht stehengelassen. Man dampft im Vakuum ein, setzt etwas frisches abs. Äthanol zu und dampft nochmals ein. Der Rückstand wird mit Äther verrieben, abgesaugt und bei 50° im Vakuum getrocknet. Ausbeute 89 g (85%).

c) *(Acylamino-acyl)-Derivate Ia von Isonicotinsäurehydrazid bzw. 2-Methyl-isonicotinsäurehydrazid*. Die bei der Darstellung der Verbindungen Ia (Tab. 6) angewandten Methoden werden durch die folgenden repräsentativen Beispiele charakterisiert.

Methode A1 (Ia in Wasser leichtlöslich). 1-Isonicotinyl-2-(acetyl-DL- α -alaninyl)-hydrazin (3): In eine Suspension von 14,5 g Acetyl-DL- α -alaninhydrazid (IVc) in 150 cm³ abs. Pyridin werden unter Umschwenken portionenweise 17,8 g Isonicotinsäurechlorid-hydrochlorid²⁰⁾ eingetragen, wobei durch zeitweiliges Kühlen die Temperatur unter 50° gehalten wird. Hierauf wird noch 2 Std. auf 60–70° erwärmt. Nach dem Verdünnen mit 300 cm³ Wasser bringt man mit festem Kaliumcarbonat das pH auf 8 und dampft im Vakuum nach jeweiligem Wasserzusatz mehrmals ein, bis der Geruch nach Pyridin verschwunden ist. Zum Rückstand gibt man 500 cm³ Wasser, stellt mit konz. Salzsäure das pH auf 3–3,5, lässt über Nacht bei 0° stehen und filtriert von der ausgeschiedenen Isonicotinsäure (1–1,5 g) ab. Das Filtrat wird mit Natronlauge auf pH 5–5,2 gebracht und im Vakuum zur Trockene eingedampft. Den Rückstand extrahiert man mehrmals mit kochendem abs. Äthanol und engt den Extrakt auf ein Volumen von 150 cm³ ein. Das auskristallisierende, noch schwach salzhaltige Rohprodukt (12 g) wird aus 1,6 l wasserfreiem Aceton umgelöst. Ausbeute 9–10 g.

1-(2-Methyl-isonicotinyl)-2-aceturyl-hydrazin (16): Eine Suspension von 10,3 g Acetursäurehydrazid (IVa) in 200 cm³ abs. Pyridin wird wie oben beschrieben portionenweise mit 19 g 2-Methyl-isonicotinsäurechlorid-hydrochlorid²¹⁾ versetzt. Man erhitzt 2 Std. auf dem Dampfbad, wobei sich aus der anfänglich klaren Lösung allmählich ein farbloser Niederschlag abscheidet. Nach dem Erkalten wird dieser abgenutscht und mit Pyridin und Äther gewaschen. Das schwerlösliche Produkt (2,2 g) wird durch Umkristallisieren aus siedendem Wasser gereinigt, Smp. 270–273°. Nach der Analyse liegt 1,2-Diacetyl-hydrazin¹⁷⁾ vor.



¹⁹⁾ Aus trockenem Benzol fällt der Ester teilweise aus.

²⁰⁾ E. Späth & H. Spitzer, Ber. deutsch. chem. Ges. **59**, 1477 (1926). Es ist wesentlich, dass man reines, über Leinöl destilliertes Thionylchlorid verwendet. Das nach dem Abdampfen des Thionylchlorids erhaltene Rohprodukt wurde durch Verreiben mit Benzol, Absaugen und Waschen mit Benzol und Petroläther gereinigt, Smp. 168–172° (Zers.).

²¹⁾ Smp. 146–149° (Zers.). Darstellung siehe ¹⁾.

Tabelle 5.
Acylierte Aminosäurehydrazide.
 $H_2N-NHOC-(R')-NHCOR''$

Ver- bindung	R'	R''	Kon- fig.	Smp.	umkrist. aus ^{a)}	[α] _D ^{b)}	Bruttoformel	% N		% S	
								Ber.	Gef.	Ber.	Gef.
IVa ¹⁷⁾	-CH ₂ -	CH ₃	-	103-106°	D	-	C ₄ H ₈ O ₂ N ₃	32,05	32,01	-	-
IVb ¹⁷⁾	-CH ₂ -	C ₆ H ₅	-	162-164°	A	-	-	-	-	-	-
IVc	>CHCH ₃	CH ₃	DL	135-136°	D	-	C ₅ H ₁₁ O ₂ N ₃	28,95	28,82	-	-
IVd	>CHCH ₃	CH ₃	L	137-139°	D	-61°	C ₅ H ₁₁ O ₂ N ₃	28,95	28,80	-	-
IVe	>CHCH ₃	CH ₃	D	145-146°	D	+63,2°	C ₅ H ₁₁ O ₂ N ₃	28,95	28,67	-	-
IVf	>CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	DL	Öl	-	-	-	-	-	-	-
IVg	>CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	L	135-137°	T	-37,5°	C ₈ H ₁₇ O ₂ N ₃	22,44	22,24	-	-
IVh	>CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	D	138-140°	T	+35,7°	C ₈ H ₁₇ O ₂ N ₃	22,44	22,28	-	-
IVi ²²⁾	>CHCH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	DL	167-169°	A	-	C ₁₁ H ₁₅ O ₂ N ₃	18,99	18,83	-	-
IVk	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₃	CH ₃	DL	100-102°	T	-	C ₄ H ₁₅ O ₂ N ₃ S	-	-	15,92	16,16
IVl	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₃	CH ₃	L	123-126°	T	-19°	C ₇ H ₁₅ O ₂ N ₃ S	-	-	15,92	15,73
IVm	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₃	CH ₃	D	113-116°	D	+23,6°	C ₇ H ₁₅ O ₂ N ₃ S	-	-	15,92	15,84
IVn	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₂ CH ₃	CH ₃	DL	85-90°	T	-	C ₈ H ₁₇ O ₂ N ₃ S	22,21	21,95	-	-
IVo	>CHCH ₂ CH ₂ OCH ₃	CH ₃	DL	115-118°	T	-	C ₇ H ₁₅ O ₂ N ₃	28,95	29,25	-	-
IVp	-CH ₂ CH ₂ -	CH ₃	-	110-112°	D	-	C ₅ H ₁₁ O ₂ N ₃ ^{c)}	-	-	14,61	14,67

^{a)} A = Äthanol, D = Dioxan, T = Toluol.

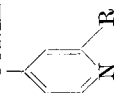
^{b)} c = 1 in Wasser.

^{c)} Ber. C 41,37 H 7,64% Gef. C 41,52 H 7,44%.

²²⁾ V. Goldenberg, H. Goldenberg & A. D. McLaren, J. Amer. chem. Soc. **72**, 5317 (1950).

Tabelle 6.

(Acylamino-acyl)-Derivate Ia von Isonicotinsäurehydrazid bzw. 2-Methyl-isonicotinsäurehydrazid.
 $\text{CONHNHCO}-(\text{R}')-\text{NHCOR}''$



Nr.	R	R'	R''	Konfig	Smp.	un- krist. aus ^{a)}	[α] _D	Herstell- lungs- methode	Bruttoformel	% C		% H		% N		% S	
										Ber.	Gef.	Ber.	Gef.	Ber.	Gef.	Ber.	Gef.
1	H	-CH ₂ -	CH ₃	—	226-227 ⁰	A	—	A1, C	C ₁₀ H ₁₂ O ₃ N ₄	50,84	50,54	5,12	4,82	23,72	23,54	—	—
2	H	-CH ₂ -	C ₆ H ₅	—	240-242 ⁰	W	—	A2	C ₁₅ H ₁₄ O ₃ N ₄	60,39	60,49	4,73	4,44	18,78	18,82	—	—
3	H	>CHCH ₃	CH ₃	DL	191-193 ⁰	K	—	A1	C ₁₁ H ₁₄ O ₃ N ₄	52,79	52,66	5,64	5,64	22,39	22,89	—	—
4	H	>CHCH ₃	CH ₃	L	205-208 ⁰	A/E	-82,9 ^{0 a)}	A1	C ₁₁ H ₁₄ O ₃ N ₄	52,79	52,78	5,64	5,80	—	—	—	—
5	H	>CHCH ₃	CH ₃	D	204-205 ⁰	A/E	+83,8 ^{0 a)}	A1	C ₁₁ H ₁₄ O ₃ N ₄	52,79	52,41	5,64	5,70	—	—	—	—
6	H	>CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	DL	208-210 ⁰	W	—	A2	C ₁₄ H ₂₀ O ₃ N ₄	—	—	—	—	19,17	19,38	—	—
7	H	>CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	L	222-225 ⁰	W	-58,6 ^{0 b)}	A2	C ₁₄ H ₂₀ O ₃ N ₄	—	—	—	—	19,17	19,66	—	—
8	H	>CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	D	222-227 ⁰	W	+60,8 ^{0 b)}	A2	C ₁₄ H ₂₀ O ₃ N ₄	—	—	—	—	19,17	19,43	—	—
9	H	>CHCH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	DL	210-213 ⁰	W	—	A2, C	C ₁₇ H ₁₈ O ₃ N ₄	—	—	—	—	17,17	17,54	—	—
10	H	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₃	CH ₃	DL	203-204 ⁰	W	—	A2, B, C	C ₁₃ H ₁₅ O ₃ N ₄ S	—	—	—	—	18,06	17,84	10,32	10,18
11	H	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₃	CH ₃	L	184-186 ⁰	W	-33 ^{0 b)}	A2	C ₁₃ H ₁₅ O ₃ N ₄ S	—	—	—	—	—	—	10,32	9,94
12	H	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₃	CH ₃	D	186-189 ⁰	W	+39 ^{0 b)}	A2	C ₁₃ H ₁₅ O ₃ N ₄ S	—	—	—	—	—	—	10,32	9,63
13	H	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₂ CH ₃	CH ₃	DL	189-192 ⁰	W	—	A2	C ₁₄ H ₂₀ O ₃ N ₄ S	—	—	—	—	—	—	9,87	9,57
14	H	>CHCH ₂ CH ₂ OCH ₃	CH ₃	DL	178-181 ⁰	A	—	A1	C ₁₃ H ₁₅ O ₃ N ₄	—	—	—	—	19,04	18,81	—	—
15	H	-CH ₂ CH ₂ -	CH ₃	—	210-211 ⁰	D	—	A1	C ₁₁ H ₁₄ O ₃ N ₄	52,79	52,11	5,64	5,64	22,39	23,10	—	—
16	CH ₃	-CH ₂ -	CH ₃	—	193-194 ⁰	A	—	A1	C ₁₁ H ₁₄ O ₃ N ₄	52,79	52,43	5,64	5,49	22,39	22,51	—	—
17	CH ₃	-CH ₂ -	C ₆ H ₅	—	224-226 ⁰	W	—	A2	C ₁₆ H ₁₆ O ₃ N ₄	61,53	61,12	5,16	5,02	17,94	18,41	—	—
18	CH ₃	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₃	CH ₃	DL	163-166 ⁰	W	—	B	C ₁₄ H ₂₀ O ₃ N ₄ S	51,84	51,40	6,22	6,30	—	—	9,88	9,79

a) A = Äthanol, D = Dioxan, E = Äther, K = Aceton, W = Wasser. b) c = 1 in Wasser. c) c = 1 in 1-n. HCl.

Aus dem Pyridinfiltrat wird das 1-(2-Methyl-isonicotinyl)-2-aceturylhydrazin wie im vorangehenden Beispiel beschrieben gewonnen und aus wenig abs. Äthanol umkristallisiert.

Methode A2 (Ia in Wasser schwerlöslich). 1-Isonicotinyl-2-(acetyl-DL-leucyl)-hydrazin (6): 18,3 g öliges Acetyl-DL-leucinhydrazid (IVf) werden wie oben beschrieben in 150 cm³ Pyridin mit 17,8 g Isonicotinsäurechlorid-hydrochlorid umgesetzt. Nach dem Alkalisigmachen mit Kaliumcarbonat und Entfernen des Pyridins wird mit Wasser auf 1 l verdünnt und mit konz. Salzsäure das pH auf 5–5,2 gebracht. Beim Kratzen kristallisiert das Produkt aus. Man lässt 24 Std. im Eisschrank stehen und nutsch ab. Das Rohprodukt ist durch geringe Mengen Isonicotinsäure verunreinigt, die sich durch Umkristallisieren aus 1 l Wasser entfernen lassen.

Methode B. 1-(2-Methyl-isonicotinyl)-2-(acetyl-DL-methionyl)-hydrazin (18): In eine Suspension von 98 g Acetyl-DL-methionin⁶⁾ in 850 cm³ Acetylchlorid werden unter Rühren und Eiswasserkühlung 108 g Phosphorpentachlorid in 5–6 Portionen eingetragen. Nach 2–3 Std. ist eine klare Lösung entstanden, aus der beim Stehen über Nacht im Eisschrank ein Teil des Acetyl-DL-methioninchlorids auskristallisiert. Dieses wird abgenutscht, mit viel Petroläther gewaschen und kurz im Vakuum über Paraffinschnitzeln und Phosphorpentoxyd getrocknet. Aus der Mutterlauge erhält man durch Einengen im Vakuum auf ca. 350 cm³ weitere Mengen Produkt. Die so gewonnenen 86 g (80%) Acetyl-DL-methioninchlorid (VI) vom Smp. 93–95° werden sofort²³⁾ portionenweise in eine Suspension von 62 g 2-Methyl-isonicotinsäurehydrazid⁷⁾ in 250 cm³ abs. Pyridin eingetragen. Unter Selbsterwärmung auf 40–50° entsteht eine klare Lösung. Nach Stehen über Nacht wird mit 700 cm³ Wasser verdünnt, worauf das pH mit festem Kaliumcarbonat auf 8 gebracht wird. Man dampft im Vakuum ein, bis der Geruch nach Pyridin verschwunden ist, eventuell unter Zusatz von weiteren Mengen Wasser, verdünnt hierauf mit Wasser auf 500 cm³, filtriert mit Kohle und stellt mit konz. Salzsäure auf pH 5–5,2. Die Lösung wird mehrere Tage in den Eisschrank gestellt, da die Kristallisation nur langsam erfolgt. Das Rohprodukt wird aus 200 cm³ Wasser umkristallisiert. Ausbeute 28 g.

Methode C. 1-Isonicotinyl-2-aceturylhydrazin (1): 11,7 g Acetursäure werden mit 14 cm³ Triäthylamin in 120 cm³ Dimethylformamid gelöst. Unter Rühren und Eiswasserkühlung lässt man bei 0–5° innert 10–15 Min. 10,5 cm³ Chlorameisensäure-äthylester und nach 20 Min. 11 cm³ Thiophenol zutropfen. Man rührt noch über Nacht bei Zimmertemperatur, filtriert vom Triäthylaminhydrochlorid ab und dampft das Lösungsmittel im Vakuum bei 70–80° möglichst weitgehend ab. Der Rückstand wird mit Wasser verrieben, abgenutscht, auf Ton getrocknet und aus Benzol/Petroläther umkristallisiert. Ausbeute 7 g (34%) S-Aceturyl-thiophenol (VIIa R' = –CH₂–) vom Smp. 95–97°.

C₁₀H₁₁O₂NS Ber. S 15,32% Gef. S 14,71%

Die 7 g Thiolester werden mit 4,6 g Isonicotinsäurehydrazid in 50 cm³ Essigester 1 Std. gekocht. Nach dem Abkühlen wird abgenutscht, mit Äther gewaschen und aus 90-proz. Äthanol umkristallisiert, wobei man 5,8 g (73%) 1-Isonicotinyl-2-aceturylhydrazin erhält.

1-Isonicotinyl-2-(acetyl-DL-phenylalanyl)-hydrazin (9): Auf 20,7 g Acetyl-DL-phenylalanin, das mit 14 cm³ Triäthylamin in 150 cm³ Dimethylformamid gelöst wird, lässt man, wie im vorangehenden Beispiel beschrieben, nacheinander 9,6 cm³ Chlorameiseneester und 10,2 cm³ Thiophenol einwirken. Man erhält 20 g (67%) S-(Acetyl-DL-phenylalanyl)-thiophenol (VIIa R' = >CHCH₂C₆H₅) vom Smp. 133–135° (aus Toluol).

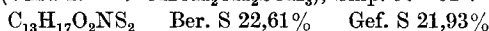
C₁₇H₁₇O₂NS Ber. S 10,69% Gef. S 10,49%

Der Thiolester liefert, mit 9,2 g Isonicotinsäurehydrazid in 100 cm³ Essigester umgesetzt, 17,5 g (80%) 1-Isonicotinyl-2-(acetyl-DL-phenylalanyl)-hydrazin.

²³⁾ Die Substanz ist nicht lange haltbar. Eine Probe, die 2 Tage im Exsikkator aufbewahrt worden war, zeigte folgende nur angenähert stimmende Analysenwerte:

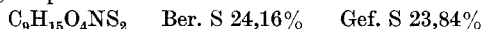
C₇H₁₂O₂NClS Ber. N 6,69 Cl 16,96% Gef. N 5,92 Cl 14,17%

1-Isonicotinyl-2-(acetyl-DL-methionyl)-hydrazin (10): 95 g Acetyl-DL-methionin werden mit 70 cm³ Triäthylamin in 250 cm³ Dimethylformamid gelöst und dann, wie vorangehend beschrieben, mit 53 cm³ Chlorameisenester und 55 cm³ Thiophenol umgesetzt. Das durch Verreiben mit 500 cm³ Äther kristallin erhaltene Rohprodukt wird aus Benzol/Petroläther umkristallisiert. Ausbeute 90 g (63%) S-(Acetyl-DL-methionyl)-thiophenol (VIIa R' = >CHCH₂CH₂SCH₃), Smp. 90–91°.

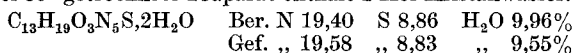


Die 90 g Thiolester werden mit 43,5 g Isonicotinsäurehydrazid in 500 cm³ Essigester 3 Std. gekocht. Das auskristallisierte Rohprodukt wird gründlich mit Essigester und Äther gewaschen und im offenen Gefäß mit 500 cm³ Wasser solange gekocht, bis der Geruch nach Thiophenol verschwunden ist, wobei durch Zugabe von Wasser das Volumen konstant gehalten wird. Man filtriert heiss mit Kohle und lässt auskristallisieren. Man erhält 58 g (59%) 1-Isonicotinyl-2-(acetyl-DL-methionyl)-hydrazin.

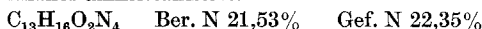
An Stelle des S-(Acetyl-DL-methionyl)-thiophenols kann auch das entsprechende Thioglykolsäure-Derivat verwendet werden. 95 g Acetyl-DL-methionin werden wie oben beschrieben in das gemischte Anhydrid übergeführt. Unter Rühren und Eiswasserkühlung lässt man ein Gemisch von 35 cm³ Thioglykolsäure, 70 cm³ Triäthylamin und 50 cm³ Dimethylformamid zutropfen, rührt über Nacht bei Zimmertemperatur, filtriert vom Triäthylaminhydrochlorid ab und dampft im Vakuum bei 70–80° ein. Das zurückbleibende Öl wird mit 1 l Wasser angerührt und im Eisschrank kristallisieren gelassen. Das Rohprodukt wird auf Ton getrocknet und aus 500 cm³ Essigester umkristallisiert. Ausbeute 42 g (31%) S-(Acetyl-DL-methionyl)-thioglykolsäure (VIIb R' = >CHCH₂CH₂SCH₃), Smp. 125–128°.



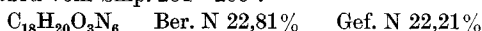
Versuche nach D. Umsetzung von acylierten Aminosäureaziden mit Isonicotinsäurehydrazid. 1-Isonicotinyl-4-(1-acetamino-3-methylmercapto-propyl)-semicarbazid (IXa): Eine Lösung von 20,5 g Acetyl-DL-methioninhydrazid (IVk) in einem Gemisch von 300 cm³ Eiswasser und 15 cm³ konz. Salzsäure wird mit 250 cm³ Essigester überschichtet. Man giesst in 3–4 Anteilen eine Lösung von 7 g Natriumnitrit in 30 cm³ Wasser hinzu, wobei nach jeder Zugabe gut durchgeschüttelt wird. Die Essigesterlösung wird zweimal mit Wasser gewaschen, 5–10 Min. unter Eiswasserkühlung mit Natriumsulfat getrocknet und dann in einen Dreihalskolben übergeführt. Unter Rühren und Eiswasserkühlung werden 13,6 g Isonicotinsäurehydrazid portionenweise eingetragen. Nach Rühren über Nacht bei Raumtemperatur wird der dicke Kristallbrei abgesaugt und mit Essigester und Äther gewaschen. Das Rohprodukt (19 g) wird aus 120 cm³ Wasser umkristallisiert. Ausbeute 9–10 g, Smp. 196–197°. Das im Hochvakuum bei 50° getrocknete Präparat enthält 2 Mol Kristallwasser.



1-Isonicotinyl-4-[1-acetamino-2-(3-indolyl)-äthyl]-semicarbazid (IXb): 40 g Acetyl-DL-tryptophan-äthylester²⁴⁾ werden mit 15 cm³ 70-proz. Hydrazinhydrat ½ Std. auf dem Dampfbad erwärmt. Man gibt 100 cm³ Äthanol dazu, kocht ½ Std. unter Rückfluss, kühlt ab, nutscht und wäscht mit Äthanol und Äther. Das so gewonnene Acetyl-DL-tryptophanhydrazid (29 g) schmilzt bei 218–220°. Zur Analyse wurde eine Probe aus viel Äthanol umkristallisiert.



26 g Acetyl-DL-tryptophanhydrazid werden, wie im vorangehenden Beispiel beschrieben, in das Azid übergeführt und mit Isonicotinsäurehydrazid umgesetzt. Das Rohprodukt (16,2 g) wird in 1,8 l Wasser gelöst und zur Kristallisation eine Woche in den Eisschrank gestellt. Man erhält 7 g 1-Isonicotinyl-4-[1-acetamino-2-(3-indolyl)-äthyl]-semicarbazid vom Smp. 204–206°.



²⁴⁾ N. F. Albertson, B. F. Tullar, J. A. King, B. B. Fishburn & S. Archer, J. Amer. chem. Soc. **70**, 1152 (1948).

2. Verbindungen mit freier Aminogruppe (Ib).

a) *N*-Carbobenzoxy-aminosäuren XI (Tab. 7). Die Darstellung erfolgte nach der in den folgenden beiden Vorschriften beschriebenen Arbeitsweise¹³.

N(α)-Carbobenzoxy-*N*(1 od. 3)-benzyl-*L*-histidin (XI_k): 25 g *N*(1 od. 3)-Benzyl-*L*-histidin²⁵) werden mit 5 g Natriumhydroxyd in 120 cm³ Wasser gelöst. Man tropft unter Rühren und Eiswasserkühlung gleichzeitig 21 g Carbobenzoxychlorid (ca. 80-proz.) und eine Lösung von 5 g Natriumhydroxyd in 100 cm³ Wasser zu und rührt noch 3 Std. nach. Das ausgefallene, in Wasser schwerlösliche Natriumsalz wird abgesaugt, gut mit Wasser gewaschen und 24 Std. bei Zimmertemperatur mit 800 cm³ 10-proz. Essigsäure verrührt. Man saugt ab und trocknet im Vakuum bei 80°. Das Rohprodukt (26 g) wird aus 100 cm³ Dimethylformamid umgelöst. Ausbeute 15,5 g (42%).

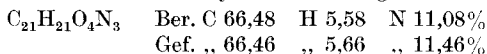


Tabelle 7.

N-Carbobenzoxy-aminosäuren.
HOOC-(R')-NHCOOC₇H₇

Verbindung	R' ^{a)}	Konfig.	Smp.	umkrist. aus ^{b)}	[α] _D
XI _a ¹³⁾	—CH ₂ —	—	120°	C	—
XI _b ¹³⁾	>CHCH ₃	DL	112—114°	C	—
XI _c ¹³⁾	>CHCH ₃	L	84—86°	S	—14,8° ^{e)}
XI _d	>CHCH ₃	D	84—86°	S	+15,4° ^{e)}
XI _e ²⁶⁾	>CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	DL	Öl	—	—
XI _f ¹³⁾	>CHCH ₂ C ₆ H ₅	DL	103°	C	—
XI _g ²⁷⁾	>CH(CH ₂) ₄ NHCOOC ₇ H ₇	L	Öl	—	—
XI _h ²⁸⁾	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₃	DL	110—112°	C	—
XI _i ²⁹⁾	>CHCH ₂ SC ₇ H ₇	L	92—94°	C	—40,5° ^{d)}
XI _k	>CHCH ₂ —C—CH C ₇ H ₇ —N ₁ N ₃ ^{f)} CH	L	212—213°	F	—16,3° ^{e)}
XI _l ³⁰⁾	—CH ₂ CH ₂ —	—	111—113°	C	—
XI _m	—CH ₂ CH ₂ CH ₂ —	—	66—67°	C	—

^{a)} C₇H₇ = Benzyl.
^{b)} C = Tetrachlorkohlenstoff, F = Dimethylformamid, S = Äthylacetat.
^{c)} c = 1 in Eisessig. ^{d)} c = 2 in Äthanol. ^{e)} c = 2 in 1-n. HCl (bei 28°).
^{f)} Oder das Isomere mit C₇H₇ am N(3); vgl. ²⁵⁾.

N-Carbobenzoxy- γ -amino-buttersäure (XI_m): Die Lösung von 103 g γ -Amino-buttersäure und 45 g Natriumhydroxyd in 500 cm³ Wasser wird unter Rühren und Eiswasserkühlung gleichzeitig tropfenweise mit 200 g Carbobenzoxy-chlorid (ca. 80-proz.)

²⁵⁾ V. du Vigneaud & O. K. Behrens, J. biol. Chemistry **117**, 27 (1937).

²⁶⁾ S. W. Fox, M. Fling, H. Wax & C. W. Pettinga, J. Amer. chem. Soc. **72**, 1862 (1950).

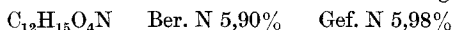
²⁷⁾ M. Bergmann, L. Zervas & W. F. Ross, J. biol. Chemistry **111**, 245 (1935).

²⁸⁾ C. A. Dekker & J. S. Fruton, J. biol. Chemistry **173**, 471 (1948).

²⁹⁾ C. R. Harrington & T. H. Mead, Biochem. J. **30**, 1598 (1936); vgl. S. Goldschmidt & C. Jutz, Chem. Ber. **86**, 1116 (1953), und B. Iselin, M. Feurer & R. Schwyzer, Helv. **38**, 1508 (1955).

³⁰⁾ R. H. Sifferd & V. du Vigneaud, J. biol. Chemistry **108**, 753 (1935).

und einer Lösung von 45 g Natriumhydroxyd in 500 cm³ Wasser versetzt. Nach 3stündigem Nachrühren schüttelt man die alkalische Lösung mit Äther aus, befreit die Wasserschicht im Vakuum vom gelösten Äther und fällt durch Ansäuern mit konz. Salzsäure (Kongopapier) die freie Säure aus. Diese wird abgenutscht, mit viel Wasser gewaschen, getrocknet (207 g) und aus 4 l Tetrachlorkohlenstoff umkristallisiert. Ausbeute 184 g (53%).



b) *1-Isonicotinyl-2-(carbobenzoxyamino-acyl)-hydrazine XIII*. Die in der Tab. 8 zusammengestellten Verbindungen XIII wurden alle nach der für das DL- α -Alanin-Derivat XIIIb gegebenen Darstellungsvorschrift gewonnen. In einigen Fällen musste die Aufarbeitung etwas modifiziert werden.

1-Isonicotinyl-2-(N-carbobenzoxy-DL- α -alanyl)-hydrazin (XIIIb): 33,4 g N-Carbobenzoxy-DL- α -alanin (XIb) werden in 300 cm³ Chloroform gelöst und mit 16,8 cm³ Triäthylamin versetzt. Unter Rühren und Eiswasserkühlung lässt man innert 10–15 Min. 14,4 cm³ Chlorameisensäure-äthylester zutropfen und trägt nach weiteren 10 Min. 20,4 g Isonicotinsäurehydrazid portionenweise ein³¹). Man rührt ohne Kühlung 2 Std. weiter³²) und schüttelt die Chloroformlösung zweimal mit je 150 cm³ 2-n. Salzsäure aus. Die salzsaure Schicht wird einmal mit Äther extrahiert, im Vakuum vom Äther befreit und mit Natronlauge auf pH 5–5,2 gebracht. Es entsteht eine voluminöse Fällung. Diese wird nach 2 Std. genutscht und mit viel Wasser gewaschen. Man kristallisiert noch feucht aus 2,5 l Wasser um.

1-Isonicotinyl-2-(N-carbobenzoxy-DL-leucyl)-hydrazin (XIIIc): 39,4 g N-Carbobenzoxy-DL-leucin (XIc) werden wie oben beschrieben in das gemischte Anhydrid übergeführt und mit Isonicotinsäurehydrazid umgesetzt. Nach beendeter Reaktion wird die filtrierte Chloroformlösung im Vakuum bis zur Sirupdicke eingedampft. Man verteilt den Rückstand zwischen 400 cm³ Essigester und 400 cm³ lauwärmer 2-n. Salzsäure, wäscht die Salzsäureschicht³³) rasch mit Äther und bringt dann deren pH mit Natronlauge auf 5–5,2. Das ölig ausfallende Produkt wird beim Anreiben bald fest. Man lässt über Nacht im Eisschrank stehen, nutscht ab und trocknet im Vakuum bei 40°. Das Rohprodukt (25 g) wird aus 450 cm³ Aceton umkristallisiert.

c) *Aminoacyl-Derivate Ib von Isonicotinsäurehydrazid (Tab. 9)*. Die Hydrogenolyse der Verbindungen XIII wurde in einem 2-l-Messzylinder durchgeführt. Dieser ist durch einen dreifach durchbohrten Gummistopfen verschlossen, durch dessen Bohrungen ein Gaseinleitungsrohr, ein Gasableitungsrohr und ein stark wirkender Schlifführer führen. Das Gaseinleitungsrohr reicht bis zum Boden des Messzylinders und endet in einer Glasinterplatte, so dass das Wasserstoffgas die stark gerührte Lösung in feinen Bläschen durchperlt. Das Gasableitungsrohr ist mit einer Barytwasser-Waschflasche verbunden, womit der Verlauf der Hydrogenolyse kontrolliert wird. Im allgemeinen ist die Hydrogenolyse nach 12–14stündigem Durchleiten von Wasserstoff beendet, in saurer Lösung je nach der Güte des Katalysators manchmal schon nach 6–8 Std.

Methode E1. 1-Isonicotinyl-2-(L-lysyl)-hydrazin (25): 20 g 1-Isonicotinyl-2-[N(α),N(ϵ)-dicarbobenzoxy-L-lysyl]-hydrazin (XIIIg) werden in 1 l 3-n. Salzsäure suspendiert und nach Zugabe von 400 mg Palladium-Mohr hydriert. Unter vorübergehender Bildung eines voluminösen Niederschlages ist nach 14 Std. eine klare Lösung entstanden. Man filtriert vom Katalysator ab, dampft im Vakuum bis zur Sirupdicke ein und verdünnt mit 200 cm³ abs. Äthanol. Nach 2tägigem Stehen wird abgenutscht und mit Äthanol und Äther gewaschen. Ausbeute 10,7 g (61%).

³¹) Die ersten Anteile verursachen eine vorübergehend auftretende intensive Rotviolett-färbung, die nach Zugabe weiterer Mengen bald verschwindet.

³²) Die Verbindungen XIIIf und XIIIk (aus N-Carbobenzoxy-phenylalanin bzw. N-Carbobenzoxy- β -alanin) kristallisieren direkt aus der Chloroformlösung aus und können durch Abfiltrieren und Waschen mit Äther isoliert werden.

³³) Sollte das Hydrochlorid als gallertige Masse ausfallen, so wird es vor dem Versetzen mit Natronlauge durch Erwärmen auf 60–70° in Lösung gebracht.

Tabelle 8.

1-Isonicotinyl-2-(carbobenzoxycarboxylamino-acyl)-hydrazine.

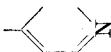


Verbindung	R' ^{a)}	Konfig.	Smp.	umkrist. aus ^{b)}	[α] _D	Bruttoformel	% N	
							Ber.	Gef.
XIIIa	—CH ₂ —	—	159—160°	W	—	C ₁₆ H ₁₆ O ₄ N ₄	17,07	17,27
XIIIb	>CHCH ₃	DL	192—194°	W	—	C ₁₇ H ₁₈ O ₄ N ₄	16,37	16,52
XIIIc	>CHCH ₃	L	197—198°	A	-43,3° ^{c)}	C ₁₇ H ₁₈ O ₄ N ₄	16,37	16,36
XIIId	>CHCH ₃	D	200—201°	A	+44° ^{c)}	C ₁₇ H ₁₈ O ₄ N ₄	16,37	16,64
XIIIe	>CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	DL	161—163°	K	—	C ₂₀ H ₂₄ O ₄ N ₄	14,58	14,39
XIIIf	>CHCH ₂ C ₆ H ₅	DL	183—185°	K	—	C ₂₃ H ₃₂ O ₄ N ₄	13,39	13,60
XIIIg	>CH(CH ₂) ₄ NHCOOC ₆ H ₇	L	166—168°	A	-10,8° ^{d)}	C ₂₃ H ₃₁ O ₆ N ₅	13,13	13,19
XIIIh	>CHCH ₂ CH ₂ SCH ₃	DL	124—127°	M	—	C ₁₉ H ₂₂ O ₄ N ₄ S ^{e)}	—	—
XIIIi	>CHCH ₂ SC ₆ H ₇	L	168—170°	A	-16,8° ^{d)}	C ₂₄ H ₂₄ O ₄ N ₄ S ^{f)}	12,05	11,84
XIIIk	—CH ₂ CH ₂ —	—	162—163°	W	—	C ₁₇ H ₁₈ O ₄ N ₄ ^{g)}	—	—
XIIIl	—CH ₂ CH ₂ CH ₂ —	—	150—151°	A	—	C ₁₈ H ₂₀ O ₄ N ₄	15,72	15,97

^{a)} C₆H₇ = Benzyl.^{b)} A = Äthanol, K = Aceton, M = Methanol, W = Wasser.^{c)} c = 1 in 1-n. HCl.^{d)} c = 1 in Dimethylformamid.^{e)} Ber. S 7,98% Gef. S 7,86%.^{f)} Ber. S 6,90% Gef. S 6,79%.^{g)} Ber. C 59,64 H 5,30% Gef. C 59,45 H 5,72%.

Tabelle 9.

Aminoacyl-Derivate Ib von Isonicotinsäurehydrazid.



Nr.	R'	Konfig.	Smp.	umkrist. aus ^{a)}	[α] _D ^{b)}	Herstellungsmethode	Bruttoformel	% N		% Cl		% H ₂ O	
								Ber.	Gef.	Ber.	Gef.	Ber.	Gef.
19	-CH ₃ -	-	212-214 ⁰	W	-	E2	C ₈ H ₁₀ O ₂ N ₄ ^{c)}	28,85	28,34	-	-	-	-
20	>CHCH ₃	DL	199-200 ⁰	W	-	E2	C ₉ H ₁₂ O ₂ N ₄ ^{d)}	26,91	26,57	-	-	-	-
21	>CHCH ₃	L	230-234 ⁰	A	+ 24,8 ⁰	E1	C ₉ H ₁₂ O ₂ N ₄ , 2HCl, H ₂ O	-	-	23,72	23,61	6,02	7,68
22	>CHCH ₃	D	244-246 ⁰	A	- 25 ⁰	E1	C ₉ H ₁₂ O ₂ N ₄ , 2HCl, H ₂ O	-	-	23,72	23,66	6,02	6,22
23	>CHCH ₂ CH(CH ₃) ₂	DL	210-215 ⁰	A	-	E1	C ₁₂ H ₁₈ O ₂ N ₄ , 2HCl	17,34	17,03	21,98	21,57	-	-
24	>CHCH ₂ C ₆ H ₅	DL	235-237 ⁰	A	-	E1	C ₁₅ H ₁₆ O ₂ N ₄ , 2HCl, 2H ₂ O	14,24	14,35	18,05	17,79	9,16	8,63
25	>CH(CH ₂) ₄ NH ₂	L	260-265 ⁰	A	+ 37,4 ⁰	E1	C ₁₂ H ₁₉ O ₂ N ₄ , 3HCl	-	-	28,45	28,24	-	-
26	-CH ₂ CH ₂ -	-	240-241 ⁰	A	-	E1	C ₉ H ₁₂ O ₂ N ₄ , 2HCl	19,91	19,93	25,13	25,24	-	-
27	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	-	214-217 ⁰	A	-	E1	C ₁₀ H ₁₄ O ₂ N ₄ , 2HCl	19,00	18,73	24,09	23,91	-	-

a) A = Äthanol, W = Wasser.

b) c = 1 in Wasser.

c) Ber. C 49,48 H 5,19% Gef. C 49,20 H 5,12%.

d) Ber. C 51,91 H 5,81% Gef. C 52,19 H 5,98%.

Methode E2. 1-Isonicotinyl-2-glycyl-hydrazin (19): 25 g 1-Isonicotinyl-2-(N-carbobenzoxy-glycyl)-hydrazin (XIIIa) werden in einem Gemisch von 500 cm³ Dioxan, 250 cm³ Äthanol und 250 cm³ Wasser gelöst und nach Zugabe von 400 mg Palladium-Mohr hydriert. Am Ende der Hydrogenolyse (12–14 Std.) fällt das Reaktionsprodukt teilweise aus³⁴). Man bringt es durch Erwärmen in Lösung, filtriert vom Katalysator ab und dampft im Vakuum auf 100 cm³ ein. Über Nacht kristallisieren im Eisschrank 10 g Rohprodukt aus. Nach Umlösen aus 100 cm³ Wasser 9,2 g.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung Dr. H. Waldmann) ausgeführt. Dr. H. Gutmann danken wir für die Mithilfe bei der Abfassung des Manuskripts.

SUMMARY.

Some 27 N-acyl derivatives of isonicotinic acid hydrazide and 2-methylisonicotinic acid hydrazide with amino acids and acylamino acids have been synthesized.

The synthesis of the acylamino acyl compounds was carried out according to three different methods:

- (1) condensation of an acylated amino acid hydrazide with isonicotinic acid chloride hydrochloride or 2-methylisonicotinic acid chloride hydrochloride, resp.,
- (2) condensation of an acylated amino acid chloride with isonicotinic acid hydrazide or 2-methylisonicotinic acid hydrazide, resp., and
- (3) condensation of an acylated amino acid thiol ester with isonicotinic acid hydrazide.

The synthesis of the amino acid compounds with a free amino group was carried out in all cases by condensation of a carbobenzoxy amino acid with isonicotinic acid hydrazide according to the peptide synthesis of *Boissonnas-Wieland* with subsequent hydrogenolysis of the carbobenzoxy group. These substances have been isolated either as free bases or as the respective chlorohydrates.

Biological tests revealed that, as a rule, derivatives of α -amino acids possess an activity comparable to that of unsubstituted isonicotinic acid hydrazide or 2-methylisonicotinic acid hydrazide, resp., derivatives of β - and γ -amino acids being almost inactive. All the derivatives exhibit lower acute toxicity than isoniazide. Some of them are practically non-toxic. The optical configuration of the amino acids frequently has a pronounced influence on the activity of the condensation products.

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien
der *F. Hoffmann-La Roche & Co., AG.*, Basel.

³⁴) Die Lösung darf beim Verdünnen mit Wasser nicht mehr trübe werden.