

Zur Kenntnis der Hydantoinpeptide.

II. Mitteilung über Peptide¹.

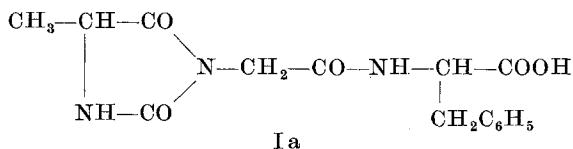
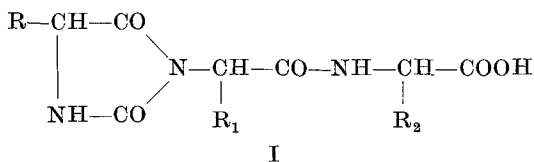
Von

K. Schlögl, F. Wessely und G. Korger.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 7. Jan. 1952. Vorgelegt in der Sitzung am 28. Jan. 1952.)

Im Zuge der Entwicklung einer neuen Methode zum Abbau von Peptiden, über die an anderer Stelle berichtet wird², hatten wir uns eingehender mit einer neuen Klasse von N-substituierten Peptiden, den *Hydantoinpeptiden* (HP) — wie wir sie nennen wollen — zu befassen. Unter HP sollen grundsätzlich solche Verbindungen verstanden werden, die die allgemeine Struktur I besitzen und die aus mindestens 3 Aminosäuren aufgebaut sind. Sie können also auch als 3,5-disubstituierte



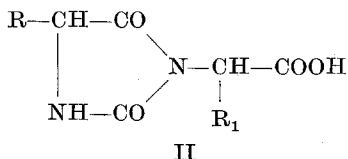
Hydantoine aufgefaßt werden, deren N-Atom 3 einer Peptidkette gemeinsam ist. Wir wollen in Hinkunft, wenn nötig, für die HP folgende Nomenklatur verwenden, die für das HP Ia wiedergegeben sei: N-(5-Methyl-hydantoin-3-acetyl)-phenylalanin.

¹ I. Mitteilung: F. Wessely, K. Schlögl und G. Korger, Mh. Chem. **82**, 671 (1951).

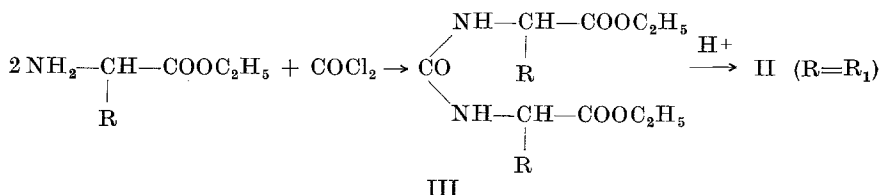
² F. Wessely, K. Schlögl und G. Korger, Nature (London), im Druck.

Da uns solche Verbindungen, die, wie erwähnt, eine wichtige Rolle bei dem neuen Peptidabbau spielen, von mancherlei Gesichtspunkten aus interessant erschienen, haben wir eine Anzahl von ihnen dargestellt. Außerdem wurden die diesen HP zugrunde liegenden Carbonyl-aminosäure-peptide (XV) etwas näher untersucht. Hierüber soll im folgenden berichtet werden.

3,5-substituierte Hydantoine, die aus 2 Aminosäuren aufgebaut sind und der allgemeinen Formel II entsprechen, wurden in einigen Fällen beschrieben. Ihre Darstellung kann prinzipiell auf 3 verschiedenen Wegen erfolgen.



1. Symmetrische Verbindungen, also solche, bei denen $\text{R} = \text{R}_1$, können durch Umsetzung von Aminosäureestern mit Phosgen zu den Harnstoffderivaten III und anschließenden Ringschluß mit Salzsäure zu den Hydantoinen II erhalten werden. Solche Hydantoine wurden bisher vom Glycin, Alanin, Leucin³ und Phenylalanin⁴ beschrieben.



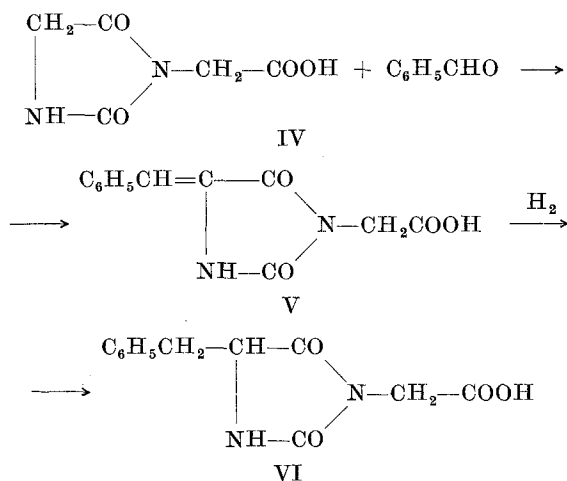
2. Unsymmetrische Hydantoine ($\text{R} \neq \text{R}_1$) wurden in einigen Fällen durch Alkylierung von Hydantoinen in 3-Stellung mit Chloressigsäure, Chloressigester oder α -Brompropionsäureester dargestellt⁵. Umgekehrt können solche Verbindungen aber auch durch Umsetzung der Hydantoin-3-essigsäure IV mit aromatischen Aldehyden und Reduktion der ungesättigten Verbindungen V erhalten werden⁶.

³ Ch. Gränacher und H. Landolt, *Helv. chim. Acta* **10**, 799 (1927).

⁴ F. Wessely und M. John, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **170**, 167 (1927). — F. Wessely und J. Mayer, *Mh. Chem.* **50**, 439 (1928).

⁵ G. Frerichs und M. Hollmann, *Arch. Pharmaz.* **243**, 684 (1905). — T. B. Johnson und D. A. Hahn, *J. Amer. chem. Soc.* **39**, 1255 (1917). — T. B. Johnson und J. S. Bates, ebenda **38**, 1087 (1916). — D. A. Hahn und A. G. Renfrew, ebenda **47**, 147 (1925). — D. A. Hahn und J. Evans, ebenda **50**, 806 (1928). — D. A. Hahn und E. Gilman, ebenda **47**, 2941 (1925).

⁶ Ch. Gränacher und H. Landolt, loc. cit.



3. Ein dritter Weg wurde von *F. Wessely*⁷ angegeben, der zeigen konnte, daß die alkalische Verseifung von N-Carbäthoxy-dipeptiden nicht zu Peptid-N-carbonsäuren, wie *E. Fischer* angenommen hatte, sondern zu Harnstoffderivaten III führt, die dann wieder in die Hydantoin-*II* übergeführt werden können. Zum Unterschied von Weg 1 ist es hier aber auch möglich, zu unsymmetrischen Verbindungen zu gelangen⁸.

Ein HP, das aus 3 Aminosäuren aufgebaut ist, wurde unseres Wissens bisher nur einmal beschrieben, und zwar von *R. Locquin* und *V. Cerchez*⁹, die durch Umsetzung von Hydantoin-3-essigsäurechlorid mit Glycinerster das entsprechende HP N-(Hydantoin-3-acetyl)-glycinerster erhielten. *H. Leuchs*¹⁰, der in einigen Fällen zweifellos auch HP in Händen gehabt hat — er erhielt sie auf Weg 3 — hat sie jedoch nicht als solche erkannt, sondern als Derivate der Peptid-N-carbonsäuren bezeichnet.

Der Weg, den wir beschritten, um zu definierten HP zu gelangen, war der, daß wir die Hydantoin-3-essigsäure IV bzw. ihre 5-substituierten Derivate über das Säurechlorid (in einem Fall auch über das Azid) mit Aminosäure- und Peptidestern umsetzten. Auf diese Weise gelangten wir bis zu einem HP, das aus 5 Aminosäuren aufgebaut ist.

Als Ausgangsmaterialien für diese Untersuchungen wurden 3 verschiedene Hydantoin-3-essigsäure-derivate gewählt. Die Hydantoin-3-

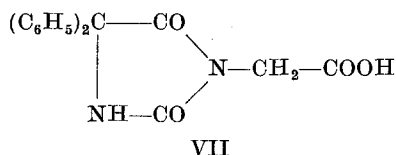
⁷ *F. Wessely* und *E. Kemm*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **174**, 306 (1928). — *F. Wessely*, *E. Kemm* und *J. Mayer*, ebenda **180**, 64 (1929).

⁸ *J. S. Fruton* und *M. Bergmann*, J. biol. Chemistry **145**, 253 (1942). — *C. A. Dekker*, *S. P. Taylor* und *J. S. Fruton*, ebenda **180**, 155 (1949).

⁹ *C. R. Acad. Sci. Paris* **188**, 177 (1929).

¹⁰ *H. Leuchs* und Mitarb., Ber. dtsch. chem. Ges. **40**, 3235 (1907); **41**, 2586 (1908); **58**, 1528 (1925).

essigsäure IV als in 5-Stellung unsubstituiertes Hydantoin, die mono-substituierte 5-Benzyl-hydantoin-3-essigsäure VI und die disubstituierte 5,5-Diphenyl-hydantoin-3-essigsäure VII.



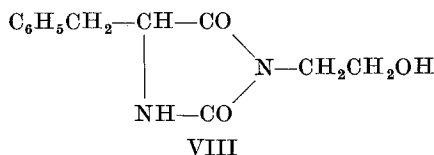
Die Hydantoin-3-essigsäure IV wurde nach *Gränacher*³ dargestellt. Das bereits beschriebene Säurechlorid⁹, das durch Behandeln von IV mit SOCl_2 leicht zugänglich ist, wurde mit jeweils 2 Mol des entsprechenden Amins umgesetzt. Als Lösungsmittel verwendeten wir hier und in den übrigen Fällen fast ausschließlich absol. Tetrahydrofuran, das sich für diese Kupplungen als sehr geeignet erwiesen hat. Die Aufarbeitung (exp. Teil) ist sehr einfach und die Ausbeuten betragen durchwegs über 70% d. Th. Außer mit L-Tyrosinäthylester und DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanin-äthylester¹ haben wir das Hydantoin-3-essigsäure-chlorid auch mit p-Amino-benzol-sulfonamid, mit p-Amino-benzoesäure (PAB) und mit p-Amino-salicyl-säureäthylester (PAS-Ester) gekuppelt (Tabelle 1). Durch Verbindung dieser pharmakologisch interessanten Substanzen mit dem in manchen Fällen als wirksam beschriebenen Hydantoin skelett hofften wir, zu Verbindungen zu gelangen, die vielleicht auch von pharmakologischem Interesse sein könnten.

Bei all den erwähnten Substanzen, mit Ausnahme des Kupplungsproduktes mit Tyrosinester, handelt es sich um gut kristallisierende, relativ hochschmelzende Verbindungen. Es sei hier festgehalten, daß in fast allen bisher untersuchten Fällen die Kupplungsprodukte des L-Tyrosinesters sich als nicht kristallisierend und schwer zu reinigend erwiesen haben.

Als Ausgangsmaterial für die 2. Versuchsreihe wählten wir die rac. 5-Benzyl-hydantoin-3-essigsäure VI³. Das mit SOCl_2 dargestellte Säurechlorid, das zum Unterschied von den Chloriden der beiden anderen Hydantoin-3-essigsäuren leicht rein zu erhalten war, wurde wieder in bekannter Weise mit verschiedenen Aminen umgesetzt.

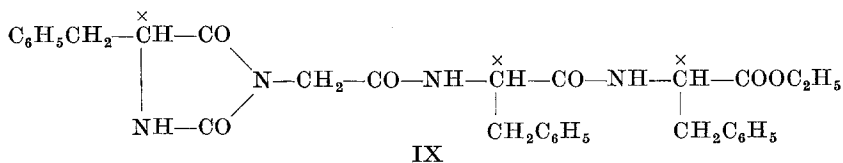
Außer den — wie erwähnt — aus pharmakologischem Interesse gewählten Aminen Sulfamid, PAB und PAS-Ester führten wir die Kupplung noch mit L-Tyrosinester, DL-Methioninäthylester und DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanin-äthylester durch. Die Umsetzung des Chlorids in CHCl_3 mit dem Na-Salz von DL-Tryptophan in Wasser unter Zusatz von Natriumhydrogenkarbonat führte zu einem amorphen Produkt, das aber nach seinen Analysendaten als das gewünschte HP anzusprechen ist (Tabelle 2).

Im Zusammenhang mit dem bereits öfter erwähnten Peptidabbau war es von großer Bedeutung, die Konstitution eines aus 2 verschiedenen Aminosäuren aufgebauten Hydantoins II zu bestimmen. Darüber soll an anderer Stelle ausführlicher berichtet werden. Hier sei nur erwähnt, daß uns die Lösung dieser Aufgabe durch Reduktion des Säurechlorids, in diesem Fall also des Chlorids von VI, mit NaBH_4 in absol. Dioxan zur Verbindung VIII, 5-Benzyl-3-(β -oxyäthyl)-hydantoin, gelang. Verbindungen von diesem Typus wollen wir kurz *Hydantoin-alkohole* (HA) nennen. Hydrolyse dieses HA liefert die Aminosäure, die den Hydantoin-



ring bildet — im vorliegenden Fall also Phenylalanin —, während die 2. Aminosäure (Glycin) als Aminoalkohol erhalten wird, der durch Extraktion der alkalischen Lösung von der Aminosäure abgetrennt werden kann, die dann papierchromatographisch identifiziert wird. NaBH_4 wurde als Reduktionsmittel deshalb gewählt, weil LiAlH_4 schon unter verhältnismäßig milden Bedingungen auch den Hydantoinring unter Reduktion zumindest einer CO-Gruppe angreift¹¹. Die leichte Zugänglichkeit des HA auf diesem einfachen Weg ist auch deshalb bemerkenswert, weil es *R. Locquin* und *V. Cerchez* nicht gelang, den Hydantoin-3-essigester nach *Bouveault-Blanc* zum Alkohol zu reduzieren¹².

Im Falle der Umsetzung von 5-Benzyl-hydantoin-3-essigsäure, die ja im C-Atom 5 ein Asymmetriezentrum besitzt, mit rac. Aminosäurederivaten war die Bildung von bereits 2 Racematen zu erwarten, während



sich die Verhältnisse noch mehr komplizieren, wenn mit Di- und Tripeptidderivaten gekuppelt wird. Auf diese Verhältnisse bei Hydantoinen, die 2 Asymmetriezentren besitzen, hat schon früher einer von uns (*F. W.*)⁴ hingewiesen. Tatsächlich erhielten wir im Falle des N-(5-Benzyl-hydantoin-3-acetyl)-DL-phenylalanyl-DL-phenylalanin-äthylesters IX, bei dem bereits 3 asymmetrische C-Atome vorliegen, ein Produkt, dessen Schmelzpunkt

¹¹ *I. J. Wilk* und *W. J. Close*, *J. org. Chemistry* **15**, 1020 (1950).

¹² *Bull. Soc. chim. France* (4) **49**, 595 (1931).

stets unscharf war. Wir haben uns aber mit der Trennung und Isolierung der optisch reinen Verbindungen in diesem, wie in den anderen Fällen nicht näher befaßt, da sie uns für den Zweck der vorliegenden Untersuchungen als von sekundärer Bedeutung erschienen.

Als letztes Beispiel zogen wir die 5,5-Diphenyl-hydantoin-3-essigsäure VII in den Kreis unserer Betrachtungen. Dieses Beispiel wurde einerseits deshalb gewählt, weil es interessant schien, die Reaktion auch an einem disubstituierten Hydantoin zu studieren, dessen Ring nach allen bisherigen Erfahrungen wesentlich stabiler sein mußte¹³, andererseits aber das 5,5-Diphenyl-hydantoin unter dem Namen „Dilantin“ ausgedehnte Verwendung in der Therapie der Epilepsie findet, wir uns also gerade aus dieser Verbindungsklasse wertvolle Produkte erhoffen.

VII konnte durch Alkylierung des Diphenylhydantoin mit Chloressigsäureäthylester und anschließende saure oder alkalische Verseifung des erhaltenen Esters von VII in ausgezeichnete Ausbeute dargestellt werden. Erst nach Abschluß dieser Versuche kam uns eine Arbeit zur Kenntnis, in der VII durch Alkylierung von Diphenylhydantoin mit Chloressigsäure in etwas schlechterer Ausbeute dargestellt wird, ohne daß ein strenger Konstitutionsbeweis geführt wurde¹⁴. Die Eigenschaften unserer Verbindung stimmen mit den in dieser Arbeit angegebenen völlig überein. Obwohl die Alkylierung mit Chloressigsäurederivaten in allen bekannten Fällen am N-Atom 3 angreift, haben wir doch für unseren Fall den exakten Konstitutionsbeweis durch energische Hydrolyse von VII geführt. Dabei zeigte sich, daß, wie zu erwarten, VII gegen Hydrolyse sehr stabil ist. Mehrstündiges Erhitzen mit konz. Salzsäure im Rohr ließ das Ausgangsmaterial fast unverändert, während erst längeres Behandeln mit Barytwasser bei 160° zur Sprengung des Moleküls führte. Dabei erhielten wir Glycin, das papierchromatographisch nachgewiesen wurde und C,C-Diphenyl-glycin, das in geringer Ausbeute in Substanz isoliert werden konnte und in seinen Eigenschaften mit dem in der Literatur beschriebenen Produkt¹⁵ übereinstimmte. Damit ist die Konstitution unserer Verbindung als die einer 5,5-Diphenyl-hydantoin-3-essigsäure VII gesichert.

Chlorierung von VII und Kupplung des so gebildeten Säurechlorids erfolgte in normaler Weise und lieferte durchwegs ausgezeichnete Ausbeuten an den erwarteten HP. So wurde über das Chlorid mit Sulfamid, PAB, PAS-Ester, L-Tyrosinäthylester, DL-Phenylalanyl-DL-phenylalanin-äthylester und DL- α -Aminobutyryl-glycyl-glycinäthylester¹⁶ und über das Azid mit DL-Methionin-äthylester umgesetzt (Tabelle 3).

¹³ E. Ware, Chem. Reviews **46**, 403 (1950).

¹⁴ Ch. Hoffmann, Bull. Soc. chim. France (5) **17**, 659 (1950).

¹⁵ H. Biltz und K. Seydel, Liebigs Ann. Chem. **391**, 215 (1912).

¹⁶ Für die Überlassung von Tripeptiden sind wir Herrn Direktor Dr. F. Mietzsch, Bayerwerke Elberfeld, zu großem Dank verpflichtet.

In wäßriger Lösung haben wir mit dem Säurechlorid von VII auch DL-Alanin acyliert. Dabei zeigte sich aber, daß dieses Chlorid zum Unterschied vom 5-Benzyl-hydantoin-3-essigsäurechlorid leichter hydrolysiert wird, da wir neben viel 5,5-Diphenyl-hydantoin-3-essigsäure VII nur wenig des gewünschten Kupplungsproduktes erhielten, das nur sehr schwer von VII abgetrennt werden konnte.

Anschließend an die Darstellung der HP möchten wir an dieser Stelle noch über weitere Versuche berichten, die, wie eingangs erwähnt, die Darstellung der den HP zugrunde liegenden Carbonyl-aminosäurepeptide XV sowie der höher substituierten Harnstoffe XII zum Ziele hatten. Solche Verbindungen XII wurden von manchen Autoren im Eiweiß angenommen¹⁷. Es war bisher jedoch nur möglich, durch Umsetzung von Peptidestern mit Phosgen zu symmetrischen Verbindungen zu gelangen, von denen unseres Wissens bisher nur 2 Vertreter beschrieben sind, und zwar das Diglycyl-derivat, das schon von *E. Fischer* aus Glycyl-glycinester und Phosgen dargestellt worden war¹⁸, sowie die entsprechende Glycyl-leucin-verbindung, die *E. Abderhalden* und *W. Kröner* erhalten haben¹⁷.

Wir wählten zur Darstellung von solchen Verbindungen einen Weg, der von Hydantoinen der Formel II ausgeht. Durch Aufspaltung mit Hydrazinhydrat unter energischen Bedingungen erhält man aus den Estern IIa die Dihydrazide XI — unter milderen Bedingungen dagegen die Monohydrazide X —, während man aus den freien Säuren II das Halbhhydrazid XIII in Form des Hydrazinsalzes der Säure erhält. Diese Ringaufspaltung zu den Halbhhydraziden XIII konnte allerdings bisher nur in einem Falle, nämlich dem der Hydantoin-3-essigsäure, deren Ring weniger stabil ist, verwirklicht werden.

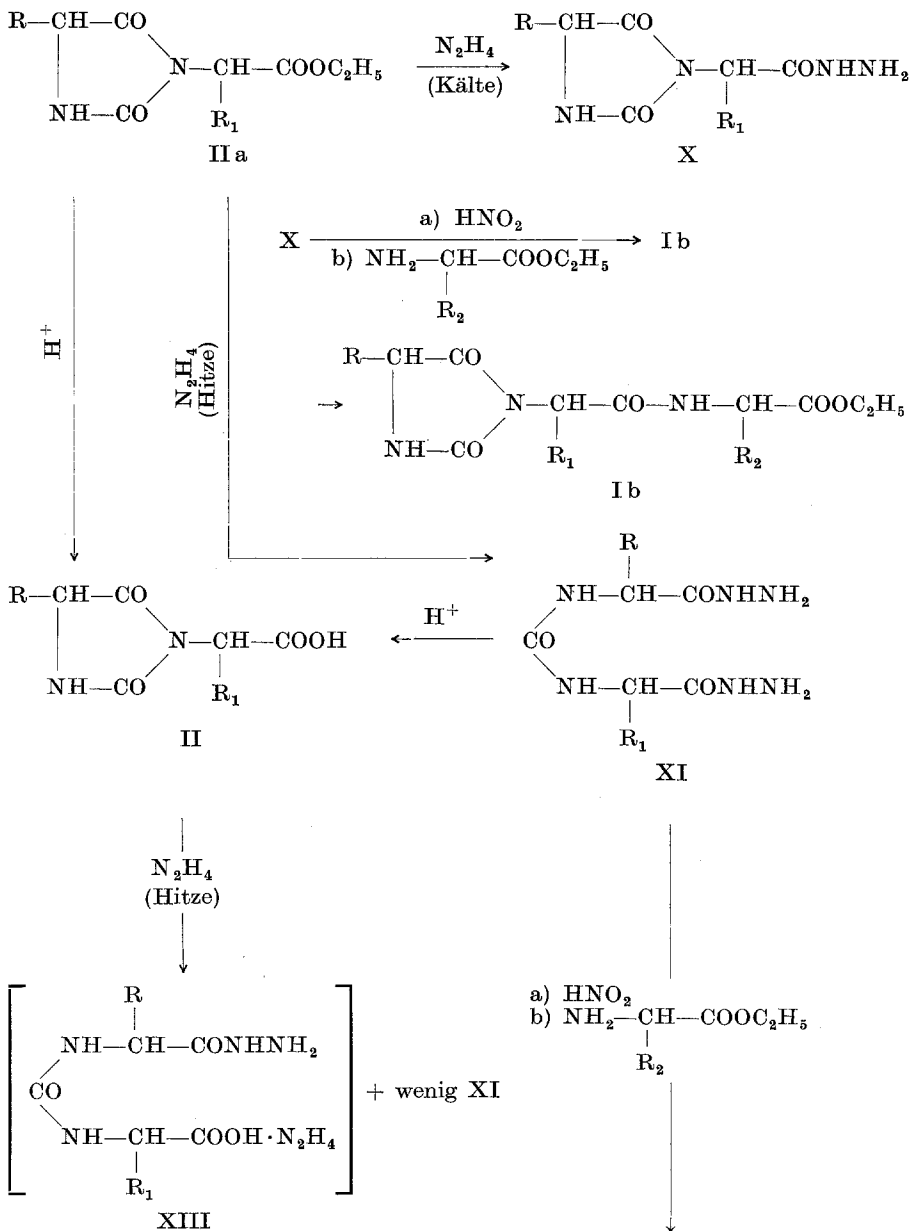
Durch Diazotierung kann nun das Monohydrazid X, das Dihydrazid XI, wie auch das Halbhhydrazid XIII in das Azid übergeführt werden und diese Azide lassen sich in normaler Weise mit Aminosäureestern kuppeln. Dabei erhält man aus dem Azid von X den Ester Ib des HP I, aus XI den Carbonyl-bis-(peptidester) XII und aus dem Halbhhydrazid XIII schließlich die den HP zugrunde liegende Harnstoffverbindung XV. Das Formelschema auf S. 500 f. möge die Zusammenhänge verdeutlichen.

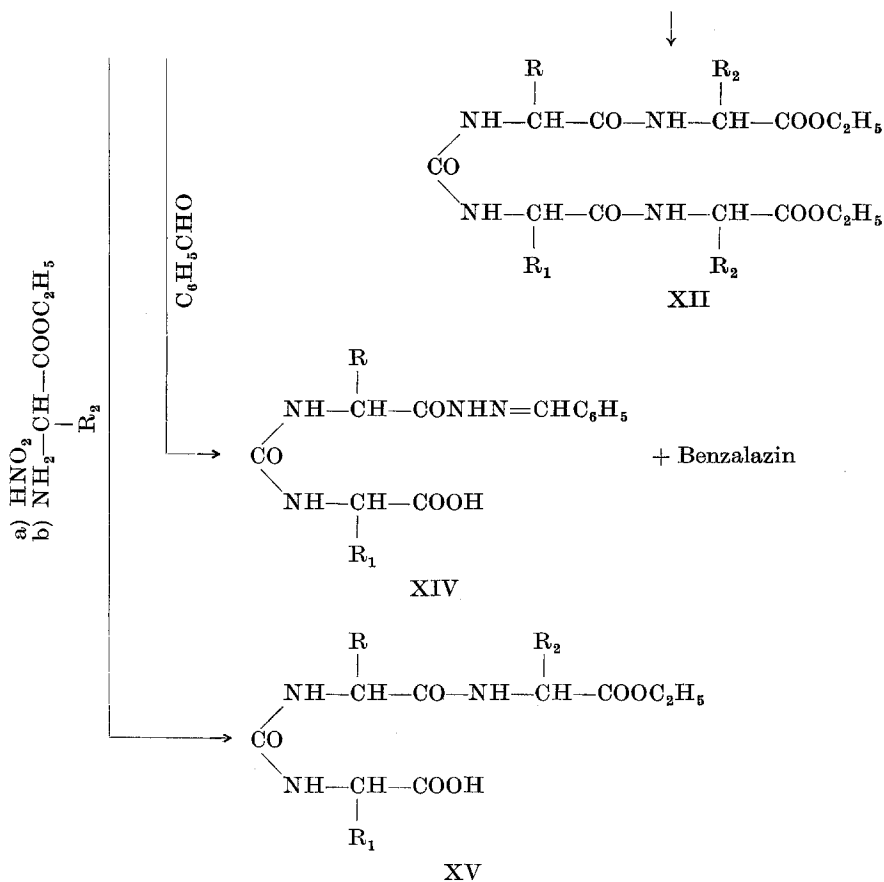
Die Aufspaltung mit Hydrazin ist überdies ein gutes Kriterium für die Stabilität des Hydantoinringes. Während beim Hydantoin-3-essigester schon durch mäßiges Erwärmen mit Hydrazin das Dihydrazid XI ($R = R_1 = H$) gebildet wird, das wir auch durch Umsetzung des Carbonyl-bis-(glycinesters) XVI mit Hydrazin erhalten haben, womit die Struktur

¹⁷ *P. Brigl* und *R. Held*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **152**, 230 (1926). — *E. Abderhalden* und *W. Kröner*, ebenda **168**, 201 (1927).

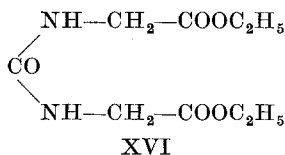
¹⁸ *E. Fischer*, Ber. dtsh. chem. Ges. **35**, 1095 (1902).

des Dihydrazides gesichert war, mußte beim 5-Benzyl-hydantoin-3-essigester schon mehrere Stunden mit einem größeren Hydrazinüberschuß erhitzt werden, bevor Öffnung des Ringes eintrat, während beim



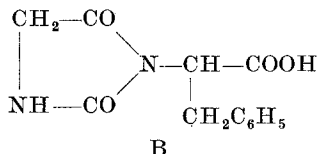
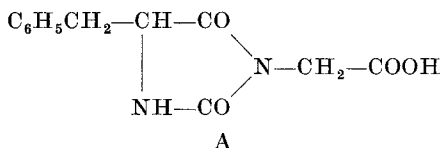


5,5-Diphenyl-hydantoin-3-essigester eine Aufspaltung mit Hydrazin bis jetzt nicht gelungen ist.



Säurebehandlung der Dihydrazide XI lieferte wieder die ursprünglichen Hydantoin-3-essigsäuren II ($\text{R}_1 = \text{H}$). Während aber beim Ringschluß des unsubstituierten Dihydrazids XI ($\text{R} = \text{R}_1 = \text{H}$), das sich von der Hydantoin-3-essigsäure ableitet, nur *ein* Hydantoin, nämlich wieder die Hydantoin-3-essigsäure zu erwarten war, bestanden bei der Benzylverbindung ($\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$, $\text{R}_1 = \text{H}$) die 2 theoretischen Möglichkeiten A und B. Daß wir jedoch bei der Säurebehandlung des Di-

hydrazids in diesem Falle nur Verbindung A, also die 5-Benzyl-hydantoin-3-essigsäure VI erhielten, ist ein weiterer Beweis für die bevorzugte Bildung



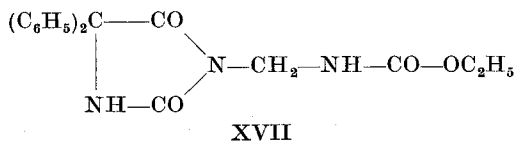
eines in 5-Stellung substituierten Hydantoins (A) gegenüber der unsubstituierten Verbindung (B)¹³.

Die Behandlung der Hydantoin-3-essigsäure mit Hydrazin in der Hitze lieferte neben wenig Dihydrazid XI viel des gewünschten Halbhhydrazids XIII. Dieses, das als Hydrazinsalz vorlag, stellte ein zähes Glas dar, konnte nicht zur Kristallisation gebracht werden und wurde deshalb in Form der Benzalverbindung XIV gefaßt, wobei das Hydrazin, das an der Carboxylgruppe salzartig gebunden war, als Benzalazin leicht von XIV abgetrennt werden konnte.

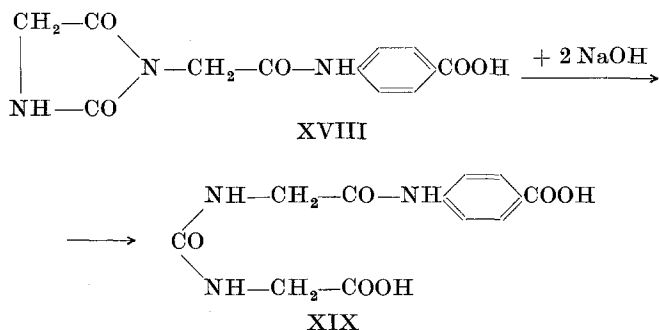
Die 5-Benzyl-hydantoin-3-essigsäure VI ergab jedoch unter den Bedingungen, unter denen ihr Ester quantitativ aufgespalten worden war, mit Hydrazin nur unverändertes Ausgangsmaterial. Dieses Verhalten erklärt sich aus der Tatsache, daß das primär gebildete Hydrazinsalz der Säure VI infolge seiner Schwerlöslichkeit ausfällt und somit der Umsetzung entzogen wird.

Die Kupplung der diazotierten Hydrazide X, XI und XIII mit Aminosäureestern zu den Verbindungen Ib, XII und XV ergab durchwegs sehr mäßige Ausbeuten. Das dürfte darauf zurückzuführen sein, daß nach unseren Erfahrungen die Azide, besonders aber die Diazide, fast alle ziemlich leicht wasserlöslich sind und daher der wäßrigen Diazotierungslösung mit organischen Lösungsmitteln nur in geringem Maße entzogen werden können.

Nur das Azid der 5,5-Diphenyl-hydantoin-3-essigsäure fiel bereits beim Diazotieren aus, konnte abgesaugt, zum Teil mit DL-Methioninester in guter Ausbeute umgesetzt und zum anderen Teil mit Äthanol zum Urethan XVII verkocht werden.



Abschließend sei noch erwähnt, daß die Carbonyl-aminosäurepeptide XV, die wir, wie oben ausgeführt, durch Diazotieren der Halbhydrazide XIII und Kuppeln mit Aminosäureestern — allerdings nur in einem Fall und in schlechter Ausbeute — dargestellt haben, wesentlich einfacher durch alkalische Aufspaltung der HP zugänglich sind. So konnten wir aus dem HP N-(Hydantoin-3-acetyl)-p-aminobenzoesäure XVIII (Tabelle 1, Nr. 2) durch Erhitzen mit 2 Mol 1 n NaOH und anschließendes Ausfällen mit dem Säureäquivalent 85% d. Th. der gewünschten Harnstoffverbindung XIX erhalten.



Experimenteller Teil.

Darstellung der Hydantoin-3-essigsäure-chloride. 0,005 Mol der entsprechenden Hydantoin-3-essigsäure (IV, VI und VII) erhitzen wir mit 4 bis 5 ml SOCl_2 solange am siedenden Wasserbad, bis keine Gasentwicklung mehr zu beobachten und alles in Lösung gegangen war. Die nach dem Abdampfen des überschüssigen Thionylchlorids fest zurückbleibenden Säurechloride wurden nach mehrstündigem Stehen über KOH in rohem Zustand für die Kupplungen verwendet.

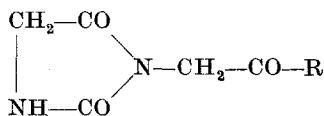
Darstellung der Hydantoin-peptide (Tabellen 1, 2 und 3). 0,001 Mol Säurechlorid, in 5 ml absol. Tetrahydrofuran (THF) gelöst, wurde bei Zimmertemp. mit einer Lösung von 0,002 Mol der entsprechenden Aminokomponente in der zum Lösen eben notwendigen Menge THF (zirka 5 bis 10 ml) versetzt. Trat nach der Vereinigung Ausscheidung eines Niederschlages ein, haben wir nach Methode A 1 bzw. A 2 aufgearbeitet, blieb hingegen die Lösung klar, nach Methode B.

A 1. Niederschlag enthält Kupplungsprodukt und Chlorhydrat der Amino-Verbindung. Der Niederschlag wurde nach 12stündigem Stehen bei Zimmertemp. abgesaugt, durch Waschen mit Wasser und verd. HCl vom beigemengten Hydrochlorid befreit und der Rest aus den in den Tabellen angegebenen Lösungsmitteln umgelöst.

A 2. Niederschlag enthält nur das Chlorhydrat der Aminoverbindung. In diesem Falle dampften wir die Mutterlauge des Chlorhydrats im Vak. ein und behandelten den Abdampfrückstand, wie unter A 1 angegeben.

B. Nach 12stündigem Stehen haben wir die klare Lösung im Vak. zur Trockene gebracht, den Rückstand in Essigester gelöst und mit verd. HCl, Wasser und Natriumhydrogenkarbonatlösung durchgeschüttelt. Das nach

1.



Aus- beute in % d. Th.	Umgelöst aus	Summenformel	Analysen		Aufarbeitung
			ber.	gef.	
84	90% Äthanol (Blättchen)	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_5\text{N}_4\text{S}$	N 17,95	17,97	A 1
81	90% Äthanol (Prismen)	$\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_5\text{N}_3$	N 15,16	15,12	A 1
80	Äthanol (Nadeln)	$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{O}_6\text{N}_3$	N 13,08	13,01	A 1
70	—	$\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{N}_3$	OC_2H_5 12,90	13,37	B
80	70% Äthanol (Nadeln)	$\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_6\text{N}_4$	OC_2H_5 9,38	9,44	B

Hydrolyse von VII. Die Hydrolyse wurde durch Erhitzen von 0,5 g VII mit 15 ml einer gesättigten $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -Lösung bei 160° während 7 Stdn. ausgeführt. Nach dem Absaugen wurde im Filtrat das Ba^{++} mit CO_2 ausgefällt und die Mutterlauge im Vak. zur Trockene gedampft. Nach dem Aufnehmen in Wasser hinterblieb 0,1 g eines Rückstandes, der von 245 bis 247° schmolz (Lit.-Schmp. für C,C-Diphenylglycin 245 bis 246^{+15}). Im Filtrat konnte Glycin papierchromatographisch nachgewiesen werden.

DL- α -Aminobutyryl-glycyl-glycin-äthylester. Die Suspension von 0,5 g α -Aminobutyryl-glycyl-glycin in 10 ml absol. Äthanol sättigten wir unter Kühlung mit HCl-Gas. Anschließend wurde 5 Min. zum Sieden erhitzt und der ausfallende Niederschlag nach dem Kühlen abgesaugt. Esterchlorhydrat: 0,55 g (86% d. Th.). Da sich dieses Produkt als hygroskopisch erwies, wurde ohne weitere Reinigung der Ester in der üblichen Weise mit CHCl_3 und K_2CO_3 in Freiheit gesetzt. Aus CHCl_3 -Äther Prismen. Schmp. 120 bis 121° .

$\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{N}_3$. Ber. OC_2H_5 18,37. Gef. OC_2H_5 18,19.

5-Benzyl-3-(β -oxyäthyl)-hydantoin (VIII). 0,2 g 5-Benzyl-hydantoin-3-acetylchlorid in 5 ml absol. Dioxan gelöst, versetzten wir mit 0,18 g NaBH_4 und erhitzen anschließend 2 Stdn. am siedenden Wasserbad. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels im Vak. wurde der Rückstand mit Wasser zersetzt, mit NaHCO_3 gesättigt und mit Äther im Apparat erschöpfend extrahiert. Den Abdampfückstand nahmen wir in Essigester auf, schüttelten 2mal mit Sodalösung durch und dampften den Essigester hierauf im Vak. ab. Rückstand 0,11 g (63% d. Th.) zähes, glasiges Öl, das nach Destillation

5-Benzyl-hydantoin-3-essigsäure-peptide

Nr.	R	Schmp. ¹⁹ ° C
1	-Cl	145—146
2		264—265
3		274—275
4		217—219
5		135—137
6		170—172
7		204—208
8		113—120 (Zers.)

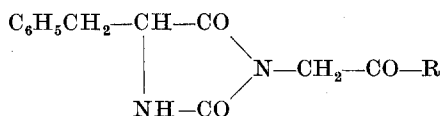
bei 0,016 Torr und 210 bis 220° Luftbadtemp. erstarrte. Aus Methanol-Äther-Petroläther Nadeln. Schmp. 120 bis 123°.

$$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{N}_2. \text{ Ber. C } 61,53, \text{ H } 6,03. \text{ Gef. C } 61,56, \text{ H } 6,21.$$

Hydantoin-3-essigsäure-hydrazid ($X, R = R_1 = H$). 0,38 g Hydantoin-3-essigsäure-äthylester wurden in 5 ml absol. Äthanol gelöst und mit 0,25 g Hydrazinhydrat (2,5 Mol) versetzt. Nach 18stündigem Stehen bei Zimmertemp. hatte sich ein Niederschlag abgeschieden, der abgesaugt und mit Alkohol und Äther gewaschen wurde. Ausbeute 0,33 g (97% d. Th.). Aus Äthanol-Wasser Stäbchen. Schmp. 183 bis 185° (Zers.).

$\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_3\text{N}_4$. Ber. N 32,56. Gef. N 33,05.

2.



Aus- beute in % d. Th.	Umgelöst aus	Summenformel	Analysen		Aufarbeitung
			ber.	gef.	
95	Chloroform- Äther (Blättchen)	$\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}_2\text{Cl}$	Cl 13,53	13,30	—
77	Äthanol-H ₂ O (Nadeln)	$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_4\text{S}$	C 53,72 H 4,51	54,08 4,67	A 2
82	Äthanol-H ₂ O (Nadeln)	$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{O}_5\text{N}_3$	N 11,44	11,52	A 1
93	Äthanol (Nadeln)	$\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_6\text{N}_3$	N 10,25 OC ₂ H ₅ 10,96	10,47 11,18	A 1
95	Äthanol-Äther- Petroläther (Nadeln)	$\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{O}_6\text{N}_3$	C 62,85 H 5,73 OC ₂ H ₅ 10,25	62,58 5,76 10,27	B
65	Äthanol (Nadeln)	$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{O}_5\text{N}_3\text{S}$	N 10,31	10,51	B
78	Äthanol (Nadeln)	$\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{O}_6\text{N}_4$	C 67,35 H 6,00	67,88 5,98	B
50	Äthanol-H ₂ O (amorph)	$\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_5\text{N}_4$	N 12,90	12,90	²⁰

Carbonyl-bis-(glycinhydrazid) (XI, $R = R_1 = H$). a) Durch Hydrazinolyse des Hydantoin-3-essigsäure-äthylesters. 1,86 g Hydantoin-3-essigsäure-äthylester erhitzen wir in einer Lösung von 2,5 g Hydrazinhydrat (5 Mol) in 8 ml absol. Äthanol 2 Stdn. am siedenden Wasserbad. Dabei schied sich ein Niederschlag ab, der nach dem Kühlen abgesaugt wurde. Ausbeute 1,82 g (89% d. Th.). Aus Äthanol-Wasser Blättchen. Schmp. 210 bis 212° (Zers.).

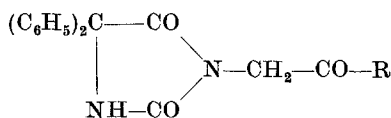
$\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}_3\text{N}_6$. Ber. N 41,17. Gef. N 40,58.

b) Durch Hydrazinolyse des Carbonyl-bis-glycinesters XVI. 1,16 g XVI wurden in der Hitze in 10 ml absol. Äthanol gelöst und mit 1,0 g Hydrazin-

²⁰ In diesem Falle wurde in wäßriger Lösung unter Zusatz von NaHCO_3 gekuppelt.

5,5-Diphenyl-hydantoin-3-essigsäure-peptide

3.



Ausbeute in % d. Th.	Umgelöst aus	Summenformel	Analysen		Aufarbeitung
			ber.	gef.	
86	Äthanol (Körner)	$\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{N}_4\text{S}$	N 12,07	12,32	A 1
87	Äthanol-H ₂ O (derbe Nadeln)	$\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{O}_5\text{N}_3$	N 9,79	9,91	A 2
60	Äthanol (Körner)	$\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{O}_6\text{N}_3$	N 8,88	9,30	A 2
84	CHCl ₃ -Äther-Petroläther (amorph)	$\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{O}_6\text{N}_3$	OC ₂ H ₅ 8,98	9,12	B
84	CHCl ₃ -Äther-Petroläther (Nadeln)	$\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{O}_5\text{N}_3\text{S}$	N 8,94	9,05	Kupplung über Azid
32	Äthanol-Äther-Petroläther (Blättchen)	$\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{O}_5\text{N}_3$	N 11,02	11,68	20
95	Äthanol-Äther-Petroläther (Körner)	$\text{C}_{37}\text{H}_{36}\text{O}_6\text{N}_4$	C 70,24 H 5,74	70,58 5,84	B
92	Äthanol-Äther (Nadeln)	$\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{O}_7\text{N}_5$	OC ₂ H ₅ 8,38	8,50	A 2

die klare Lösung in der Kälte mit einem Gemisch von Essigester und Äther durchgeschüttelt, die Lösungsmittel nacheinander mit Bikarbonatlösung und kaltem Wasser ausgeschüttelt, hierauf über Na₂SO₄ kurz getrocknet und die so behandelte Essigester-Ätherlösung des Diazids zu einer Lösung von 0,8 g (2 Mol) DL-Methionin-äthylester in 5 ml Essigester gegeben.

Nach 12stündigem Stehen bei 0° wurde mit verd. HCl, Bikarbonatlösung und Wasser gewaschen und nach dem Trocknen im Vak. abgedampft. Rückstand 0,18 g (15% d. Th.). Aus Äthanol-Äther Nadeln. Schmp. 148 bis 150°.

$\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_7\text{N}_4\text{S}_2$. Ber. C 46,14, H 6,92. Gef. C 46,16. H 6,54.

Carbonyl-bis-(glycyl-p-amino-benzoesäure). 0,5 g Dihydrazid wurden, wie oben ausgeführt, diazotiert und die Lösung des Azids mit einer Lösung von 0,7 g PAB (2 Mol) in 5 ml Essigester versetzt. Nach Stehen bei 0° hatte sich nach 12 Stdn. ein Niederschlag abgeschieden, der abgesaugt und aus

viel Äthanol umgelöst wurde. Ausbeute 0,25 g (25% d. Th.). Körnchen. Schmp. 218 bis 220° (Zers.). Aus der Mutterlauge konnte keine Substanz mehr isoliert werden.

$C_{19}H_{18}O_7N_4$. Ber. N 13,52. Gef. N 13,27.

Carbonyl-bis-glycin-monohydrazid (XIII, $R = R_1 = H$). 1,0 g Hydantoin-3-essigsäure haben wir in 15 ml warmen Äthanol gelöst, mit 1,5 g Hydrazinhydrat (5 Mol) versetzt und 3 Stdn. zum Sieden erhitzt. Die trübe Lösung wurde im Vak. zur Trockene gebracht, der Rückstand im Exsikkator über H_2SO_4 von überschüssigem Hydrazin befreit, in wenig Wasser gelöst und mit Äthanol bis zur Trübung versetzt. Nach einigem Stehen bei 0° hatten sich 0,11 g Dihydrazid XI ($R = R_1 = H$) vom Schmp. 210 bis 212° abgeschieden, das keine Depression im Mischschmp. mit einer authentischen Probe gab.

Die Mutterlauge wurde erneut im Vak. eingedampft und lieferte 0,9 g glasige Substanz, die nicht zur Kristallisation zu bringen war. Leicht löslich in Wasser, unlöslich in Äthanol.

Zur Charakterisierung stellten wir die *Benzalverbindung XIV* ($R = R_1 = H$) dar. Dazu wurden 0,4 g des glasigen Hydrazinsalzes in 5 ml Wasser gelöst, mit 1 Tropfen verd. H_2SO_4 angesäuert und unter Schütteln portionenweise mit 0,6 g Benzaldehyd (3 Mol) versetzt, wobei bald ein dichter gelblicher Niederschlag ausfiel. Dieser wurde nach einigem Stehen abgesaugt und nach dem Trocknen durch Auskochen mit Äther von beigemengtem Benzalazin befreit. 0,4 g farbloses Pulver (80% d. Th.). Die Reinigung erfolgte durch Lösen in viel heißem Äthanol, Einengen der Lösung und Fällern mit Äther. Körnchen. Schmp. 190 bis 192° (Zers.).

$C_{12}H_{14}O_4N_4$. Ber. N 20,14. Gef. N 20,50.

Carbonyl-[(glycin)-(glycyl-DL-methionin-äthylester)] (XV, $R = R_1 = H$, $R_2 = CH_2CH_2SCH_3$). 0,55 g des oben beschriebenen glasigen Hydrazinsalzes haben wir in gewohnter Weise mit 2 Mol $NaNO_2$ diazotiert, die Lösung, aus der sich kein Azid abgeschieden hatte, mit Essigester ausgeschüttelt, in der üblichen Weise gereinigt und die Lösung des Azids zu einer Lösung von 0,50 g (1,1 Mol) DL-Methionin-äthylester in wenig Essigester gegeben. Nach Stehen über Nacht wurde mit verd. HCl und Wasser durchgeschüttelt, im Vak. abgedampft und der Rückstand (0,17 g = 20% d. Th.) durch Behandeln mit Chloroform-Äther-Petroläther zur Kristallisation gebracht. Stäbchen. Schmp. 140 bis 145°.

$C_{12}H_{21}O_6N_3S$. Ber. Äqu.-Gew. 335. Gef. Äqu.-Gew. 328.

5-Benzyl-hydantoin-3-essigsäure-hydrazid (X, $R = C_6H_5CH_2$, $R_1 = H$). Dieses Hydrazid wurde in 80%iger Ausbeute durch Lösen des 5-Benzyl-hydantoin-3-essigsäure-äthylesters in warmem, absol. Äthanol und Versetzen mit 2 Mol Hydrazinhydrat erhalten. Das nach einiger Zeit ausfallende Produkt wurde mehrmals durch Aufwärmen in Lösung gebracht, da erst dann eine quantitative Umwandlung des Esters, der anfänglich mit dem Hydrazid mit ausfiel, in das Hydrazid erreicht werden konnte. Aus Methanol-Äther Nadeln. Schmp. 166 bis 168°.

$C_{12}H_{14}O_3N_4$. Ber. N 21,37. Gef. N 21,15.

Carbonyl-[(glycinhydrazid)-(DL-phenylalaninhydrazid)] (XI, $R = CH_2C_6H_5$, $R_1 = H$). Das Dihydrazid konnte durch 3stündiges Erhitzen sowohl des 5-Benzyl-hydantoin-3-essigesters, wie auch des Hydrazids mit

5 Mol Hydrazinhydrat in absol. Äthanol gewonnen werden. Die Ausbeute an dem gewünschten Produkt, das schon während des Erhitzens aus der anfangs klaren Lösung ausfiel und nach dem Erkalten abgesaugt wurde, betrug 89% d. Th. Aus Äthanol-Wasser. Schmp. 192 bis 193°. Leicht löslich in Wasser, schwer löslich in Äthanol.

$C_{12}H_{18}O_3N_6$. Ber. C 48,90, H 6,16. Gef. C 48,30, H 6,25.

Mehrständiges Erhitzen mit konz. HCl, anschließendes Abdampfen im Vak. und Extraktion des in verd. HCl aufgenommenen Rückstandes mit Äther lieferte 5-Benzylhydantoin-3-essigsäure VI, die im Mischschmp. mit einer synthetischen Probe keine Depression zeigte.

Carbonyl-[(glycyl-L-tyrosinäthylester)-(DL-phenylalanyl-L-tyrosinäthylester)] (XII, $R = CH_2C_6H_5$, $R_1 = H$, $R_2 = CH_2C_6H_4OH$). Das Dihydrazid XI wurde in normaler Weise mit Natriumnitrit diazotiert, das in geringer Menge ausfallende Diazid in Essigester aufgenommen, mit Bikarbonatlösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat kurz getrocknet und mit einer Lösung von 2 Mol L-Tyrosin-äthylester in Essigester gekuppelt. Die Aufarbeitung erfolgte, wie bereits mehrfach beschrieben. Dabei erhielten wir 42% d. Th. an einem amorphen Produkt, das sich nicht zur Kristallisation bringen ließ.

$C_{34}H_{40}O_9N_4$. Ber. OC_2H_5 13,89. Gef. OC_2H_5 14,39.

Auch die Kupplung mit PAB lieferte nur ein amorphes Produkt, das sich ebenfalls nicht reinigen ließ.

5,5-Diphenyl-hydantoin-3-essigsäure-hydrazid. 1,1 g 5,5-Diphenyl-hydantoin-3-essigsäure-äthylester lösten wir in 10 ml warmem, absol. Äthanol und fügten 0,65 g (4 Mol) Hydrazinhydrat zu. Nach 24 Stdn. wurde die Lösung im Vak. abgedampft und der Rückstand durch Zusatz von Äthanol-Äther zur Kristallisation gebracht. Ausbeute 0,75 g (70% d. Th.). Aus Äthanol-Äther-Petroläther Blättchen. Schmp. 216 bis 218°.

$C_{17}H_{16}O_3N_4$. Ber. N 17,29. Gef. N 16,90.

Behandlung des Esters mit Hydrazinhydrat in der Siedehitze durch mehrere Stdn. führte ebenfalls zu dem Mono-hydrazid vom Schmp. 216 bis 218°. Es war also keine Sprengung des Hydantoinringes eingetreten.

N-(5,5-Diphenyl-hydantoin-3-acetyl)-DL-methionin-äthylester (Tabelle 3, Nr. 5). 0,64 g obigen Hydrazids suspendierten wir in einer Mischung von 2 ml konz. HCl und 2 ml Wasser und diazotierten mit einer Lösung von 0,14 g (1 Mol) $NaNO_2$ in 2 ml Wasser. Nach einigem Rühren wurde der dichte Niederschlag abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Ausbeute 0,55 g (83% d. Th.). 0,23 g Azid in 35 ml Essigester gelöst, wurden mit einer Lösung von 0,2 g DL-Methionin-äthylester (1,5 Mol) in 3 ml Essigester vereinigt und nach 12ständigem Stehen auf Eis in üblicher Weise aufgearbeitet. Ausbeute 0,27 g (84% d. Th.). Aus Chloroform-Äther-Petroläther Nadeln. Schmp. 148 bis 151° (Zers.).

$C_{24}H_{27}O_5N_3S$. Ber. N 8,94. Gef. N 9,05.

N-(5,5-Diphenyl-hydantoin-3-methylen)-äthylurethan (XVII). 0,22 g 5,5-Diphenyl-hydantoin-3-essigsäureazid wurden mit 10 ml absol. Äthanol 2 Stdn. am siedenden Wasserbad erhitzt und nach 12ständigem Stehen der auskristallisierte Niederschlag abgesaugt. Ausbeute 0,1 g (43% d. Th.). Aus 90%igem Äthanol Körner. Schmp. 233 bis 234° (Zers.).

$C_{19}H_{19}O_4N_3$. Ber. C 64,58, H 5,42. Gef. C 64,51, H 5,40.

Carbonyl-[glycin)-(glycyl-p-aminobenzoessäure)] (XIX). 0,4 g N-(Hydantoin-3-acetyl)-p-aminobenzoessäure XVIII wurden mit 2,9 ml (2 Mol) 1 n NaOH 2 Stdn. am siedenden Wasserbad erhitzt und der nach dem Abkühlen und Neutralisieren mit konz. HCl ausfallende Niederschlag abgesaugt. Ausbeute 0,36 g (85% d. Th.). Aus Äthanol-Wasser Blättchen. Schmp. 235 bis 236° (Zers.).

$C_{12}H_{13}O_6N_3$. Ber. Äqu.-Gew. 147,6. Gef. Äqu.-Gew. 151.

N 14,23.

N 14,17.

Die Mikro-C-, H- und N-Analysen sowie die Halogenbestimmung wurden von Herrn Dr. G. Kainz im Mikroanalytischen Laboratorium des II. Chem. Institutes durchgeführt.

Zusammenfassung.

Es wird eine neue Klasse von N-substituierten Peptiden beschrieben, die einer gegebenen Definition zufolge als *Hydantoinpeptide* (HP) bezeichnet werden sollen. Die diesen HP zugrunde liegenden offenkettigen Harnstoffderivate wurden einer etwas eingehenderen Untersuchung unterzogen.