

deux groupes différents de protons. On doit par conséquent attribuer à I la structure du diméthyl-1,2-dihydro-1,2-anthracène.

Les spectres de résonance magnétique ont été déterminés à l'aide d'un appareil VARIAN, modèle HR-60, sur le composé I en solution dans le tétrachlorure de carbone. Le tétraméthylsilane a été utilisé comme référence pour la mesure des déplacements chimiques.

Nous remercions le Dr J. LANCASTER, des laboratoires de l'AMERICAN CYANAMID COMPANY à Stamford, pour sa coopération dans l'obtention des spectres RMN.

Les spectres d'absorption UV. ont été déterminés en solution éthanolique avec un spectrophotomètre CARY, modèle 11.

#### SUMMARY

The structure of 1,2-dimethyl-1,2-dihydroanthracene has been firmly established on the basis of its nuclear magnetic resonance spectrum. It is shown that the ultraviolet absorption spectra of a series of homologous 1,2-dihydroanthracenes present common characteristic bands, which can be used for their identification.

Cyanamid European Research Institute  
Cologne, Genève

## 245. Stoffwechselprodukte von Actinomyceten

30. Mitteilung<sup>1)</sup>

### Über das Ferrioxamin E; ein Beitrag zur Konstitution des Nocardamins

von W. Keller-Schierlein und V. Prelog

(3. X. 61)

Das Ferrioxamin E ist ebenso wie das vor kurzem beschriebene Ferrioxamin D<sub>1</sub><sup>1)</sup> ein neutraler, kristalliner Begleiter des basischen Ferrioxamins B<sup>2)</sup> <sup>3)</sup> <sup>4)</sup>. Die Absorptionsspektren im UV., Sichtbaren und IR. sowie das polarographische Verhalten sprechen dafür, dass es sich ebenso wie bei anderen Vertretern der Ferrioxamin-Gruppe um einen Eisen(III)-trihydroxamat-Komplex handelt. Die Analysen weisen auf eine Formel C<sub>27</sub>H<sub>45</sub>O<sub>9</sub>N<sub>6</sub>Fe hin, welche bei Berücksichtigung des neutralen Charakters der Verbindung auch auf Grund der Ergebnisse der Hydrolyse abgeleitet werden kann.

Das Ferrioxamin E unterscheidet sich von den bisher eingehender untersuchten Ferrioxaminen B und D<sub>1</sub> dadurch, dass es bei der Hydrolyse keine Essigsäure liefert. Die anderen Hydrolyseprodukte – 1,5-Diaminopentan, 1-Amino-5-hydroxyl-

<sup>1)</sup> 29. Mitt.: W. KELLER-SCHIERLEIN & V. PRELOG, *Helv.* **44**, 709 (1961).

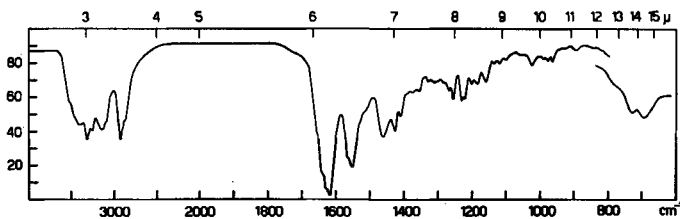
<sup>2)</sup> H. BICKEL, R. BOSSHARDT, E. GÄUMANN, P. REUSSER, E. VISCHER, W. VOSER, A. WETTSTEIN & H. ZÄHNER, *Helv.* **43**, 2118 (1960).

<sup>3)</sup> H. BICKEL, G. E. HALL, W. KELLER-SCHIERLEIN, V. PRELOG, E. VISCHER & A. WETTSTEIN, *Helv.* **43**, 2129 (1960).

<sup>4)</sup> Es ist in diesem Zusammenhang interessant zu erwähnen, dass nach einer Privatmitteilung von Dr. H. ZÄHNER eine Reihe von Mikroorganismen das Ferrioxamin E als einziges Sideramin produzieren.

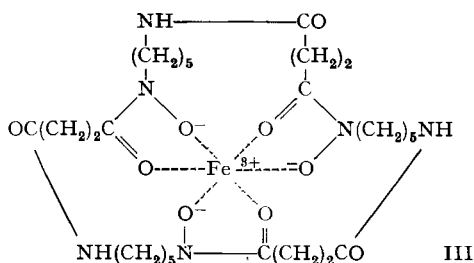
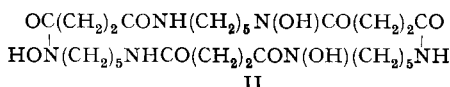
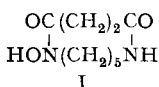
amino-pentan, N-(5-Hydroxylamino-pentyl)-succinimid und Bernsteinsäure – sind dagegen bei allen diesen drei Ferrioxaminen die gleichen. Bei der alkalischen Hydrolyse des Ferrioxamins E liessen sich 2,25 Mol. reine Bernsteinsäure fassen. Diese Befunde deuten darauf hin, dass der eisenfreie Grundkörper des Ferrioxamins E aus 3 Mol. Bernsteinsäure und 3 Mol. 1-Amino-5-hydroxylamino-pentan aufgebaut ist und 3 sekundäre Amid-Gruppen sowie 3 Hydroxamsäure-Gruppen aufweist.

Der eisenfreie, kristalline Grundkörper des Ferrioxamins E liess sich durch Entfernen der Eisen(III)-Ionen mit Natronlauge leicht gewinnen. Zu unserer Überraschung erwies er sich in jeder Hinsicht und besonders auch durch sein IR.-Absorptionsspektrum (Fig.) mit dem früher aus einem *Nocardia*-Stamm isolierten



IR.-Absorptionsspektrum des eisenfreien Grundkörpers des Ferrioxamins E

*Nocardamin* identisch<sup>5)</sup>. Für das letztere wurde unlängst die Konstitution I mit einem 11 gliedrigen Ring vorgeschlagen<sup>6)</sup>. Demnach wäre das Ferrioxamin E ein Eisen(III)-Komplex mit 3 *Nocardamin*-Anionen. Gegen eine solche Konstitution spricht jedoch sein polarographisches Verhalten. Das Ferrioxamin E unterscheidet sich nämlich, ebenso wie die anderen Ferrioxamine, von einfachen Eisen(III)-trihydroxamat-Komplexen, bei welchen die 3 Hydroxamat-Reste nicht miteinander verknüpft sind, in charakteristischer Weise dadurch, dass es ein um etwa 0,2 V negativer liegendes Halbstufenpotential besitzt<sup>7)</sup>. Es schien uns deshalb wahrscheinlich, dass auch im *Nocardamin* die 3 Hydroxamat-Reste miteinander ver-



<sup>5)</sup> A. STOLL, A. BRACK & J. RENZ, *Schweiz. Z. Path. Bakt.* 14, 225 (1951); A. STOLL, J. RENZ & A. BRACK, *Helv.* 34, 862 (1951).

<sup>6)</sup> R. F. C. BROWN, G. BÜCHI, W. KELLER-SCHIERLEIN, V. PRELOG & J. RENZ, *Helv.* 43, 1868 (1960).

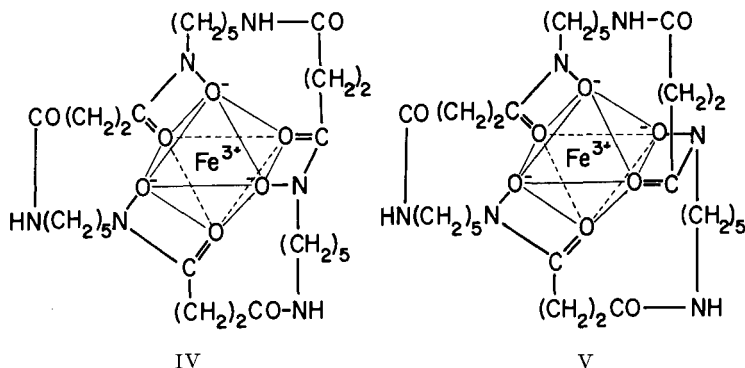
<sup>7)</sup> A. WALSER, Diplomarbeit ETH, 1960, vgl.<sup>3)</sup>.

knüpft vorliegen und dass es sich demnach um eine Verbindung mit der trimeren Formel  $C_{27}H_{48}O_9N_6$  mit einem 33 gliedrigen Ring handelt.

Bei einer Nachprüfung konnten die früheren Ergebnisse der Molekulargewichtsbestimmungen, die zur Formel I für das Nocardamin führten, nicht bestätigt werden. Die Methode nach RAST mit Campher als Lösungsmittel ist nicht anwendbar, weil das Nocardamin damit beim Erhitzen reagiert. Die Methode nach SIGNER mit Methanol als Lösungsmittel gibt ausserordentlich grosse Streuungen wegen der geringen Löslichkeit des Nocardamins und ist unbrauchbar. Die inzwischen in unserem Laboratorium entwickelte, viel empfindlichere thermoelektrische Methode zur Molekulargewichtsbestimmung<sup>8)</sup> ergab in Methanol und Pyridin als Lösungsmittel für das Nocardamin ein Molekulargewicht von  $545 \pm 55$  ( $C_{27}H_{48}O_9N_6$ , ber. 601) und für das besser lösliche «Acetyl-nocardamin»<sup>8)</sup>  $716 \pm 14$  ( $C_{33}H_{54}O_{12}N_6$ , ber. 727). Diese neuen Werte sprechen eindeutig dafür, dass das Nocardamin tatsächlich die trimere Konstitution II besitzt.

Diese Konstitution konnte neuerdings *eindeutig* auf chemischem Wege durch die Partialsynthese des Ferrioxamins E aus dem Ferrioxamin G bestätigt werden, über die wir bald im Zusammenhang mit der Konstitutionsaufklärung von Ferrioxamin G berichten werden. Für das Ferrioxamin E folgt daraus die Konstitution III.

Von einer Verbindung solcher Konstitution sind wegen der Unmöglichkeit, die Hydroxamat-Reste in einer oktaedrisch-diagonalen Lage mit 9 gliedrigen Ketten zu verknüpfen<sup>8)</sup>, und wegen der Symmetrie des Nocardamins nur zwei diastereomere Racemate möglich, von welchen je ein Enantiomer in den Formeln IV bzw. V dar-



gestellt ist. Da das Nocardamin mit Eisen(III)-Salzen spontan das kristalline Ferrioxamin E liefert, ziehen wir für das letztere die relative Konfiguration V mit der energetisch günstigeren räumlichen Verteilung der Ladungen der Konfiguration IV vor.

Der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT in Basel danken wir für die Überlassung von Ferrioxamin E.

<sup>8)</sup> Vgl. W. SIMON & C. TOMLINSON, *Chimia* 14, 301 (1960); D. WEGMANN, C. TOMLINSON & W. SIMON, International Symposium on microchemical techniques, August 13–18, 1961, The Pennsylvania State University. Wir danken Herrn Dr. W. SIMON für die Ausführung der Molekulargewichtsbestimmungen.

**Experimentelles<sup>9)</sup>.** – *Ferrioxamin E*. Aus viel heissem Methanol erhält man sehr feine, zu Pölsterchen vereinigte Nadelchen, die bei 280° ihre Doppelbrechung verlieren und bei weiterem Erhitzen ohne Schmelzen schwarz werden. Das *Ferrioxamin E* ist in allen gebräuchlichen Lösungsmitteln ausser Eisessig, insbesondere auch in kaltem Methanol und in Wasser, sehr schwer löslich. Es verhält sich bei der Papierelektrophorese neutral und besitzt keine titrierbaren Gruppen. Absorptionsspektren im UV., Sichtbaren und IR. siehe <sup>2)</sup>.

$C_{27}H_{45}O_9N_6Fe$  Ber. C 49,62 H 6,94 N 12,86 Fe 8,55%  
 Gef. „ 49,80 „ 7,37 „ 12,48 „ 8,14%

**Saure Hydrolyse.** 5 mg *Ferrioxamin E* wurden in 0,5 ml 2N Salzsäure 2 Std. im siedenden Wasserbad erhitzt. Das Hydrolysat dampfte man im Vakuum zur Trockne ein und löste den Rückstand in 100  $\mu$ l Wasser. Proben à 10  $\mu$ l wurden papierchromatographisch untersucht. Es liessen sich nach den früher beschriebenen Methoden<sup>1) 3)</sup> folgende Produkte nachweisen: *Bernsteinsäure*, *1-Amino-5-hydroxylamino-pentan*, *1,5-Diaminopentan*, *N-(5-Hydroxylamino-pentyl)-succinimid* und *Eisen(II)-Ion*.

50 mg *Ferrioxamin E* wurden mit 5 ml 10-proz. Schwefelsäure zuerst gekocht und dann mit Wasserdampf destilliert. Im Destillat konnten durch Titration mit 0,1N Natriumhydroxyd keine Säuren nachgewiesen werden. Unter den gleichen Bedingungen wurden aus den *Ferrioxaminen B* und *D*<sub>1</sub> ca. 1 bzw. 2 Mol. Essigsäure erhalten<sup>1) 3)</sup>.

**Alkalische Hydrolyse.** 155 mg *Ferrioxamin E* wurden in 3 ml 2N Natronlauge 4<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Std. im siedenden Wasserbad erwärmt. Darauf wurde vom ausgefallenen Eisen(III)-hydroxyd abfiltriert und mit Wasser nachgewaschen. Das Filtrat säuerte man mit Salzsäure an und extrahierte während 8 Std. mit Äther. Der weisse kristalline Rückstand nach dem Eindampfen des Ätherauszuges wurde im Hochvakuum bei 100–110° sublimiert. Man erhielt 63 mg (2,25 Mol.) *Bernsteinsäure*, Smp. und Misch-Smp. 189–190°.

**Nocardamin aus *Ferrioxamin E*.** Da sich *Ferrioxamin E* in Wasser sehr schwer löst, wurde 1 g *Ferrioxamin E* zunächst in einem Gemisch aus 75 g Phenol und 75 ml Chloroform gelöst. Die Lösung wurde mit 300 ml Äther verdünnt und dreimal mit je ca. 50 ml Wasser ausgeschüttelt, wobei das rotbraune *Ferrioxamin* vollständig in die wässrige Phase überging. Die wässrigen Auszüge wurden dreimal mit Äther gewaschen und dann vereinigt. Eine so bereitete wässrige Lösung ist kurze Zeit stabil. Sie wurde sofort mit 2N Natronlauge stark alkalisch gemacht und der sehr feinflockige Niederschlag in der Zentrifuge abgetrennt. Die fast farblose Lösung wurde mit 2N Salzsäure schwach angesäuert, dreimal mit *n*-Butanol ausgeschüttelt, die Auszüge mit wenig Wasser gewaschen und im Vakuum bei ca. 45° eingedampft. Der Rückstand wurde zweimal aus 15 ml heissem Methanol umkristallisiert. Man erhielt 345 mg reines *Nocardamin*, sehr feine weisse Nadelchen vom Smp. 192–195°. Ein Gemisch mit authentischem *Nocardamin*<sup>10)</sup> (Smp. 190–193°) zeigte keine Smp.-Erniedrigung. Die IR.-Absorptionsspektren der beiden Präparate in KBr waren identisch (Fig. 1).

$C_{27}H_{48}O_9N_6$  Ber. C 53,98 H 8,06% M.G. 601 Gef. C 54,23 H 8,41% M.G. 545  $\pm$  55<sup>8)</sup>

Das nach <sup>5)</sup> hergestellte *Triacetyl-nocardamin* («Acetyl-nocardamin») schmolz bei 115–118°.

$C_{33}H_{54}O_{12}N_6$  Ber. M.G. 727 Gef. M.G. 716  $\pm$  14

***Ferrioxamin E* aus *Nocardamin*.** 30 mg authentisches *Nocardamin*<sup>10)</sup> wurden in 2 ml warmem Methanol gelöst. Nach dem Abkühlen wurde eine Lösung von 15 mg  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  in 1 ml Methanol zugefügt, wobei sofort eine tiefviolette Farbe entstand. Darauf fügte man etwas krist. Natriumacetat zu, bis die Farbe von Violettbraun nach Rotbraun umschlug. Nach dem Konzentrieren auf ca. 1 ml begann das *Ferrioxamin* auszukristallisieren. Man erhielt 22 mg rotbraune Kristalle, die sich nach dem Umkristallisieren aus Methanol nach Smp., IR.- und UV.-Absorptionsspektren und Papierchromatographie in 2 Lösungsmittelsystemen<sup>2)</sup> wie *Ferrioxamin E* verhielten. Auch in der biologischen Wirkung im Antagonismus-Test<sup>11)</sup> mit Ferrimycin A war kein Unterschied festzustellen.

<sup>9)</sup> Die Smp. wurden unter dem Mikroskop bestimmt und sind korrigiert. Die IR.-Absorptionsspektren wurden mit einem PERKIN-ELMER-Spektrographen, Modell 21, aufgenommen.

<sup>10)</sup> Für die Überlassung eines authentischen Vergleichspräparates danken wir Herrn Dr. J. RENZ, SANDOZ AG., Basel.

<sup>11)</sup> H. ZÄHNER, R. HÜTTER & E. BACHMANN, Arch. Mikrobiologie 36, 325 (1960). Die biologischen Teste verdanken wir Frl. Dr. E. BACHMANN.

## SUMMARY

Ferrioxamine E, a minor component of the natural mixture of ferrioxamines, is an iron(III)-complex of nocardamine to which the constitution II may be now assigned on the basis of new evidence. Ferrioxamine E thus possesses the constitution III and probably the relative configuration V.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

## 246. Die Orientierung bei der Azokupplung von 2-Aminodiphenylen

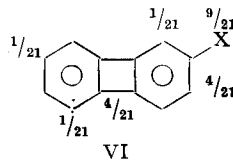
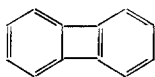
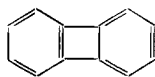
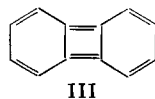
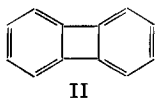
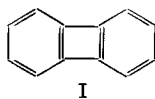
16. Mitteilung zur Kenntnis der Kupplungsreaktion<sup>1)</sup>

von H. H. Bosshard und Hch. Zollinger

(3. X. 61)

Struktur und Reaktionsverhalten von Diphenylen und seinen Derivaten sind wegen der Verwandtschaft dieser Verbindung mit Cyclobutan, Cyclobuten und Cyclobutadien von erheblichem theoretischem Interesse. Im Rahmen dieses Problemkreises hat LONGUET-HIGGINS vor einiger Zeit<sup>2)</sup> darauf hingewiesen, dass die Molecular-Orbital-Theorie (MO-Theorie) und die einfachste Resonanztheorie zu verschiedenen Aussagen in bezug auf die Orientierung bei der Azokupplung von 2-Hydroxydiphenylen führen.

Diphenylen besitzt 5 KEKULÉ-Grenzstrukturen (I–V); bei gleichem Gewicht dieser Strukturen kommt man zum Schluss, dass die Bindung zwischen den Kohlenstoffatomen 1 und 2 einen höheren Doppelbindungscharakter (nämlich  $\frac{3}{5}$ ) hat als die 2,3-Bindung ( $\frac{2}{5}$ ). Auf Grund der Resonanztheorie ist deshalb zu erwarten, dass die 1-Stellung bevorzugt elektrophil substituiert wird. Mittels der MO-Theorie hingegen berechnete LONGUET-HIGGINS für das 2-Methylcarbanion des Diphenylens, dass sich die negative Ladung des überschüssigen Elektrons gemäss VI auf die verschiedenen Kohlenstoffatome verteilt. Die 3-Stellung hat eine höhere negative Ladung als die 1-Stellung, so dass die Kupplung am Kohlenstoffatom 3 erfolgen sollte.



<sup>1)</sup> 15. Mitt.: R. ERNST, O. A. STAMM & HCH. ZOLLINGER, *Helv.* 41, 2274 (1958).

<sup>2)</sup> H. C. LONGUET-HIGGINS, *Proc. chem. Soc.* 1957, 157.