

Komponenten besteht hingegen von der Dosisleistung, und zwar in etwa gleichem Ausmass, wie dies aus den Versuchen Nr. 4–7 und 17–20 in Tabelle 1 von HART<sup>2)</sup> hervorgeht. Das Bestehen eines Zeitfaktors weist daraufhin, dass sich je nach Bildungsrate bzw. stationärer Konzentration an primären Reaktionsprodukten das Gleichgewicht zwischen den verschiedenen sekundären Umsetzungen etwas verschiebt. Schliesslich stellt sich die Frage, weshalb ein  $^{14}\text{CO}_2$ -Mehrumsatz in Gegenwart von Katalase erst bei Dosen ab 100 r, d. h. bei einer  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Anhäufung von ca.  $3 \cdot 10^{-7}\text{M}$ , feststellbar ist. Dies ist vermutlich auf die Resultantennatur dieses Effektes zurückzuführen, indem bei kleineren Dosen die unspezifische Hemmwirkung als Protein (wie sie bei den Versuchen in  $\text{N}_2$  zum Ausdruck kommt) über die Wirkung als Peroxydase überwiegt.

Die Ausführung dieser Untersuchungen erfolgte mit Unterstützung der KOMMISSION FÜR ATOMWISSENSCHAFT DES SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS. Den Herren Prof. W. MINDER (Bern) und Prof. F. S. DAINTON (Leeds) danken wir für wertvolle Ratschläge.

#### SUMMARY

1. Radiation induced  $^{14}\text{C}$ -formate oxidation has been studied under a variety of experimental conditions. Since the  $^{14}\text{CO}_2$ -yield can be increased by traces of catalase, an enzymatic and a non-enzymatic component may be distinguished.

2. Either component of  $^{14}\text{CO}_2$ -formation is influenced by temperature, pH, gas-phase, effectors and irradiation techniques in a different manner.

3. Highest yields are observed in  $\text{N}_2\text{O}$ -phase ( $G_{+\text{CO}_2} = 7-8$ ). Whereas an increasing effect of catalase is observed in  $\text{O}_2$  and  $\text{N}_2\text{O}$ , there is none in  $\text{N}_2$ . A small but distinct dose-rate dependency exists between 35 and 400 r/min (250 kV X-rays).

Medizinisch-chemisches Institut  
der Universität Bern

## 69. Stoffwechselprodukte von Actinomyceten

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

### Ferrioxamin G

von W. Keller-Schierlein und V. Prelog

(16. I. 62)

Bei der Herstellung grösserer Mengen von Ferrioxamin B wurde eine Nebenfraktion erhalten, die sich papierchromatographisch ähnlich dem reinen Ferrioxamin B verhielt, sich aber bei nochmaliger Ionenaustauscher-Chromatographie<sup>2)</sup> in zwei Komponenten auftrennen liess. Die schwerer eluierbare davon erwies sich tatsächlich als identisch mit Ferrioxamin B, die leichter eluierbare stellte dagegen ein bisher nicht beschriebenes Sideramin<sup>3)</sup> dar, das wir Ferrioxamin G benannten. Dieses unter

<sup>1)</sup> 33. Mitt.: Helv. 45, 138 (1962).

<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, E. GÄUMANN, W. KELLER-SCHIERLEIN, V. PRELOG, E. VISCHER, A. WETTSTEIN & H. ZÄHNER, Experientia 16, 129 (1960).

scheidet sich papierchromatographisch nur wenig aber eindeutig vom Ferrioxamin B, sehr gross ist dagegen der Unterschied bei der Papierelektrophorese bei  $\text{pH} > 6$ .

Mit Salzsäure bildet das Ferrioxamin G ein Hydrochlorid, das sich bei der CRAIG-Verteilung über 37 Stufen mit dem Lösungsmittelsystem VI nach BICKEL und Mitarb.<sup>2)</sup> als eine völlig einheitliche Verbindung mit  $K = 0,40$  verhält.

Da ein wichtiger Teil des Konstitutionsbeweises für das Ferrioxamin G in seiner Überführung in das Ferrioxamin E besteht, war es besonders wichtig, festzustellen, dass das verwendete Präparat kein Ferrioxamin E enthielt. Das letztere besitzt in dem verwendeten Lösungsmittelsystem ein  $K = 1,59$ . Durch Untersuchung der entsprechenden farblosen Fraktionen der CRAIG-Verteilung liess sich zeigen, dass im untersuchten Präparat von Ferrioxamin G weniger als 0,1% Ferrioxamin E vorhanden war.

Trotz seiner Einheitlichkeit liess sich das Ferrioxamin-G-hydrochlorid ebenso wie die Hydrochloride der anderen bisher genauer untersuchten basischen Ferrioxamine A, B und C nicht kristallin erhalten. Zum Unterschied von diesen, welche bei der elektrometrischen Titration in Methylcellosolve nur eine einzige, einem Äquivalent Ammonium-Ion entsprechende Titrationsstufe liefern, weist das Ferrioxamin G zwei verschiedene elektrometrisch titrierbare Gruppen auf. Die Titrationsstufe mit dem  $\text{pK}_{\text{MCS}}^*$ -Wert 10,53 entspricht offenbar einer Ammonium-Gruppe, diejenige mit dem  $\text{pK}_{\text{MCS}}^*$ -Wert 5,79 weist dagegen auf die Anwesenheit eines Carboxyls hin.

Das UV.- und das sichtbare Absorptionsspektrum des Ferrioxamin-G-hydrochlorids unterscheiden sich nicht von denjenigen des Ferrioxamin-B-hydrochlorids und auch die IR.-Absorptionsspektren der beiden Verbindungen sind sehr ähnlich. Der einzige auffallende Unterschied ist die Anwesenheit einer Bande bei  $1720 \text{ cm}^{-1}$  im Spektrum des Ferrioxamin-G-hydrochlorids, die ebenso wie die elektrometrische Titration auf eine Carboxyl-Gruppe hinweist.

Da das Ferrioxamin-G-hydrochlorid schwankende Analysenwerte lieferte, wurde daraus durch Chromatographie an einem Anionen-Austauscherharz das Ferrioxamin G selbst hergestellt. Dieses konnte ebenfalls nicht in kristallinem Zustand erhalten werden, lieferte jedoch Analysenwerte, welche untereinander und mit anderen Ergebnissen besser übereinstimmten als diejenigen des Hydrochlorids. Im IR.-Absorptionsspektrum des freien Ferrioxamins G ist die Bande bei  $1720 \text{ cm}^{-1}$  nicht vorhanden, woraus sich schliessen lässt, dass es als Zwitterion vorliegt.

Die Amino- und die Carboxyl-Gruppe lassen sich im Ferrioxamin G auch auf chemischem Wege nachweisen. So liefert es mit Acetanhydrid und Natriumacetat in Methanol ein kristallines N-Acetyl-Derivat, welches mit Diazomethan einen kristallinen N-Acetyl-methylester gibt. Durch Ausfällen des Eisen(III)-Ions mit Natronlauge lässt sich aus dem N-Acetylferrioxamin G der farblose, kristalline eisenfreie Grundkörper herstellen.

Die saure Hydrolyse des Ferrioxamins G nach vorheriger sorgfältiger Entfernung des Eisen(III)-Ions liefert nur die drei typischen nichtflüchtigen Hydrolyseprodukte der Ferrioxamine: 1-Amino-5-hydroxylamino-pentan<sup>4)</sup>, Bernsteinsäure<sup>5)</sup> und N-

4) H. BICKEL, B. FECHTIG, G. E. HALL, W. KELLER-SCHIERLEIN, V. PRELOG & E. VISCHER, *Helv.* 43, 901 (1960).

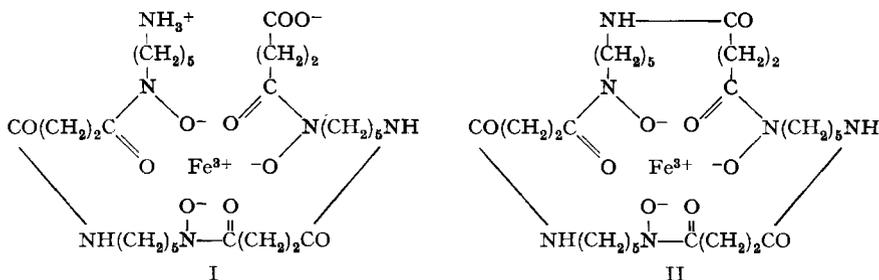
5) H. BICKEL, G. E. HALL, W. KELLER-SCHIERLEIN, V. PRELOG, E. VISCHER & A. WETTSTEIN, *Helv.* 43, 2129 (1960).

(5-Hydroxylamino-pentyl)-succinimid<sup>6)</sup> 6). Essigsäure und andere wasserdampf-flüchtige Säuren liessen sich dagegen nicht nachweisen.

Die analytischen Daten von Ferrioxamin G und besonders diejenigen seiner kristallinen Derivate weisen darauf hin, dass es die Formel  $C_{27}H_{47}O_{10}N_6Fe$  besitzt, woraus für seinen eisenfreien Grundkörper die Formel  $C_{27}H_{50}O_{10}N_6$  folgt. Die letztere Formel lässt sich aus 3 Molekeln 1-Amino-5-hydroxylamino-pentan,  $C_5H_{14}ON_2$ , und 3 Molekeln Bernsteinsäure,  $C_4H_6O_4$ , unter Abspaltung von 5 Molekeln Wasser ableiten. Auf Grund dieser Formel, der bisher erwähnten Tatsachen und der gleichen stereochemischen Überlegungen, die zur Konstitution des Ferrioxamins B<sup>5)</sup> führten, kam für das Ferrioxamin G besonders die Konstitution I in Frage. Diese liess sich beweisen durch seine Verknüpfung mit dem Ferrioxamin E<sup>7)</sup>. Das Ferrioxamin G liefert mit einem grossen Überschuss von Dicyclohexyl-carbodiimid in wässrigem Dimethylformamid in relativ schlechter Ausbeute das bekannte Ferrioxamin E (II). Dieses wurde aus dem Reaktionsgemisch durch CRAIG-Verteilung in kristalliner Form isoliert und durch seinen Verteilungskoeffizienten, IR.-Absorptionsspektrum und auf papierchromatographischem Wege eindeutig identifiziert.

Die experimentelle Verknüpfung der beiden Ferrioxamine G und E bildet nicht nur einen Beweis für die Konstitution I des ersteren, sondern bestätigt zugleich die makrocyclische Konstitution II des Ferrioxamins E und seines eisenfreien Grundkörpers, des Nocardamins<sup>7)</sup>.

Die biologische Wirksamkeit des Ferrioxamins G im Antagonismus-Test mit Ferrimycin A ist etwa 10mal kleiner als diejenige des Ferrioxamins B und ist somit vergleichbar mit derjenigen des Ferrioxamins E<sup>8)</sup>.



Der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT in Basel danken wir für das Ausgangsmaterial.

### Experimenteller Teil<sup>9)</sup>

*Isolierung von Ferrioxamin G.* Bei der Isolierung von grösseren Mengen von Ferrioxamin B durch Ionenaustauscher-Chromatographie wurde unmittelbar vor dem reinen Ferrioxamin B eine Fraktion eluiert, die sich papierchromatographisch von diesem nur durch etwas kleineren Rf-Wert unterschied. 4,0 g dieser Fraktion wurden in 25 ml 0,1 M Ammoniumacetat-Puffer (pH 4,6-

<sup>6)</sup> W. KELLER-SCHIERLEIN & V. PRELOG, *Helv.* **44**, 709 (1961).

<sup>7)</sup> W. KELLER-SCHIERLEIN & V. PRELOG, *Helv.* **44**, 1981 (1961).

<sup>8)</sup> H. ZÄHNER, R. HÜTTER & E. BACHMANN, *Arch. Mikrobiol.* **36**, 325 (1960). Frl. Dr. E. BACHMANN danken wir für die Ausführung der biologischen Teste.

<sup>9)</sup> Die Smp. wurden unter dem Mikroskop bestimmt und sind korrigiert. Die Absorptionsspektren im UV. und im Sichtbaren wurden mit einem BECKMAN-Spektrophotometer, Mod. DK 1, die IR.-Absorptionsspektren mit einem PERKIN-ELMER-Zweistrahl-Spektrophotometer, Mod. 21, aufgenommen.

4,7) auf eine Säule aus Dowex 50 W 2 (100/200 mesh, Ammoniumsalz-Form, Durchmesser der Säule 3 cm, Länge 57 cm) aufgetragen. Beim Eluieren mit 0,1 M Pufferlösung trennte sich der braune Farbstoff in zwei Zonen auf, von welchen die erste mit 0,1 M und die zweite mit 0,3 M Ammoniumacetat-Pufferlösung eluiert wurde. Die Eluate wurden mit 20% Natriumchlorid versetzt, mit Phenol-Chloroform-Gemisch (1 kg Phenol und 1 l Chloroform) ausgeschüttelt und die Extrakte 3mal mit 10% Natriumchlorid enthaltender 0,01 N Salzsäure gewaschen. Die durch eine kleine Celite-Säule filtertierten Phenol-Chloroform-Lösungen verdünnte man mit dem gleichen Volumen Äther und schüttelte die Eisen(III)-Komplexe mit Wasser aus. Durch Eindampfen der mit Äther gewaschenen wässrigen Auszüge erhielt man die Ferrioxamin-hydrochloride als amorphe rotbraune Pulver.

Die leichter eluierbare Zone lieferte 2,28 g rohes Ferrioxamin-G-hydrochlorid. Aus der zweiten Zone erhielt man 0,92 g Ferrioxamin-B-hydrochlorid, welches als Hydrochlorid und als N-Acetyl-Derivat (Ferrioxamin D<sub>1</sub>)<sup>6</sup>) papierchromatographisch identifiziert wurde.

Zur Analyse wurde das *Ferrioxamin-G-hydrochlorid* 2mal aus Methanol mit Äther umgefällt und im Hochvakuum bei 70° getrocknet:  $pK_{MCS}^*$  5,79 und 10,53.

$C_{27}H_{48}O_{10}N_6FeCl$  Ber. Fe 7,89% Äq.-Gew. 708 Gef. Fe 7,45% Äq.-Gew. 746; 795

Absorptionsspektrum im UV. und im Sichtbaren (in Wasser): kein Maximum zwischen 210–400 m $\mu$ ,  $\lambda_{max}$  440 m $\mu$  (log  $\epsilon$  3,32). IR.-Absorptionsspektrum (in KBr)  $\nu_{max}$  1720 (m), 1643 (s) und 1580 (s)  $cm^{-1}$ .

Über das papierchromatographische Verhalten siehe Seite 594. Die relativen Wanderungsgeschwindigkeiten bei der Papierelektrophorese bezogen auf die Wanderungsgeschwindigkeit von Ferrioxamin-B-hydrochlorid waren: bei pH 2,1 0,92, bei pH 6,1 0,44 und bei pH 8,0 0,11.

Bei der CRAIG-Verteilung von 120 mg Ferrioxamin-G-hydrochlorid über 37 Stufen im Lösungsmittelsystem: Butanol-Benzylalkohol-0,001 N-Salzsäure-gesättigte wässrige Natriumchlorid-Lösung, 10:5:15:3, zeigte die Verbindung einen Verteilungskoeffizienten  $K = 0,40$ . Die kolorimetrisch bestimmte Verteilungskurve stimmte sehr gut mit der berechneten überein. Die Fraktionen 20–27, welche Ferrioxamin E ( $K = 1,59$ ) enthalten sollten, waren vollständig farblos. Sie wurden trotzdem auf übliche Weise aufgearbeitet, wobei nur 0,5 mg eines schwach bräunlichen Öles erhalten wurden.

Zur Herstellung des *freien Ferrioxamins G* wurden 450 mg des Hydrochlorids in 5 ml Wasser an einer Säule aus Dowex 1-X8 (20/50 mesh, Hydroxylion-Form, Durchmesser der Säule 1 cm, Länge 12 cm) chromatographiert. Die ersten 30 ml Eluat gaben beim Eindampfen im Vakuum einen amorphen rotbraunen Rückstand, der 3mal aus Methanol mit Äther umgefällt und mehrere Tage über Kalilauge im Exsikkator getrocknet wurde. Zur Analyse wurde im Schweinchen über Phosphorpentoxid 24 Std. nachgetrocknet. Im IR.-Absorptionsspektrum (in KBr) fehlte die Bande bei 1720  $cm^{-1}$ .

$C_{27}H_{47}O_{10}N_6Fe$  Ber. C 48,29 H 7,05 N 12,52 Fe 8,31%  
Gef. „ 48,85 „ 7,45 „ 12,00 „ 8,20%

*N-Acetylferrioxamin G*. 535 mg Ferrioxamin-G-hydrochlorid wurden in 10 ml Methanol gelöst und mit 100 mg wasserfreiem Natriumacetat und 9 ml Acetanhydrid 4 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Der Rückstand nach dem Eindampfen des Reaktionsgemisches im Vakuum wurde in Wasser gelöst, die Lösung mit Natriumchlorid gesättigt und mit Chloroform ausgeschüttelt, wobei das Acetylierungsprodukt in Chloroform überging. Die mit Natriumchlorid gewaschenen und mit Natriumsulfat getrockneten Chloroform-Auszüge hinterliessen beim Eindampfen im Vakuum 483 mg eines amorphen braunen Rückstandes. Beim Umlösen aus Methanol-Äther fielen zuerst amorphe Flocken aus, welche abfiltriert wurden. Das Filtrat lieferte nach weiterem Zusatz von Äther feine rotbraune Prismen vom Smp. 201–206°, Ausbeute 250 mg. Zur Analyse wurde 2 Tage über Phosphorpentoxid getrocknet. IR.-Absorptionsspektrum (in KBr):  $\nu_{max}$  1733 (m), 1650 (s), 1580 (s)  $cm^{-1}$ .

$C_{29}H_{49}O_{11}N_6Fe$  Ber. C 48,81 H 6,92 N 11,78 Fe 7,83 1 (C)–CH<sub>3</sub> 2,11%  
Gef. „ 48,99 „ 7,35 „ 11,61 „ 7,76 „ 2,18%

*N-Acetylferrioxamin-G-methylester*. 67 mg N-Acetylferrioxamin G gelöst in 5 ml Methanol wurden mit 2 ml einer 2-proz. ätherischen Diazomethan-Lösung 30 Min. stehen gelassen und dann im Vakuum eingedampft. Der Eindampfungsrückstand wurde aus Methanol durch Zugabe von

Äther umkristallisiert, Smp. 194–199°. IR.-Absorptionsspektrum (in KBr):  $\nu_{max}$  1728 (m), 1642 (s), 1580 (s)  $\text{cm}^{-1}$ .

$\text{C}_{30}\text{H}_{51}\text{O}_{11}\text{N}_6\text{Fe}$	Ber. C 49,52	H 7,07	N 11,55	Fe 7,68%
	Gef. „ 49,70	„ 7,39	„ 11,59	„ 7,39%

*Papierchromatographisches Verhalten von Ferrioxamin G und Derivaten.* Mit Lösungsmittelsystemen I und V nach BICKEL und Mitarb.<sup>2)</sup> wurden folgende Rf-Werte gefunden:

	I	V
Ferrioxamin-G-hydrochlorid . . . . .	0,40	0,26
Ferrioxamin-B-hydrochlorid . . . . .	0,43	0,32
N-Acetyl-ferrioxamin G . . . . .	0,77	0,86
N-Acetyl-ferrioxamin B (Ferrioxamin D <sub>1</sub> )	0,72	0,77
N-Acetyl-ferrioxamin-G-methylester . .	0,68	0,76

*N-Acetyl-Derivat des eisenfreien Grundkörpers von Ferrioxamin G.* 100 mg N-Acetyl-ferrioxamin G in 3 ml Wasser wurden mit 1N Natronlauge versetzt, das ausgefallene Eisen(III)-hydroxid abzentrifugiert und die Lösung mit 1N Salzsäure angesäuert. Durch Ausschütteln mit Butanol und Eindampfen der Auszüge im Vakuum erhielt man einen kristallinen, fast farblosen Rückstand, der nach 4maligem Umkristallisieren aus Methanol ein feines Kristallpulver vom Smp. 169–170° bildete. IR.-Absorptionsspektrum (in KBr):  $\nu_{max}$  1712 (m), 1623 (s), 1568 (s)  $\text{cm}^{-1}$ .

$\text{C}_{26}\text{H}_{52}\text{O}_{11}\text{N}_6$	Ber. C 52,71	H 7,93	N 12,72%	Gef. C 52,83	H 8,51	N 12,45%
---	--------------	--------	----------	--------------	--------	----------

15 mg der Verbindung in 3 ml Methanol wurden mit 10 mg Eisen(III)-chlorid,  $6\text{H}_2\text{O}$  in 1 ml Methanol versetzt; dann wurde etwas Natriumacetat zugegeben, so dass die zuerst tief violettbraune Farbe nach rotbraun umschlug. Der Eisen(III)-Komplex im Rückstand nach dem Eindampfen der Lösung im Vakuum wurde papierchromatographisch als N-Acetyl-ferrioxamin G identifiziert.

*Saure Hydrolyse von Ferrioxamin G.* 200 mg Ferrioxamin-G-hydrochlorid in 8 ml 6N Salzsäure wurden zuerst 2 Std. im KÜTSCHER-STEUDEL-Apparat extrahiert und dann 3 Std. unter Rückfluss erhitzt. Durch erschöpfende Extraktion des Hydrolyseproduktes mit Äther wurden 36,5 mg Kristalle erhalten, aus welchen durch Umkristallisation und Sublimation im Hochvakuum 28 mg reine Bernsteinsäure erhalten werden konnten. Diese wurde durch Smp., Misch-Smp. und Papierchromatographie identifiziert.

Die nach der Extraktion mit Äther verbleibende wässrige Lösung lieferte durch Eindampfen im Vakuum 175 mg eines braunen Öls, welches mit folgenden Fließmitteln und Reagentien papierchromatographisch untersucht wurde:

a) Alkohol-Ammoniak-Wasser 8:1:1; Methylrot: einzige nachweisbare Säure Salzsäure.

b) Butanol-Aceton-Diäthylamin-Wasser 10:10:2:5; Ninhydrin: neben viel 1-Amino-5-hydroxylamino-pentan war etwas 1,5-Diamino-pentan und N-(5-Hydroxylamino-pentyl)-succinimid nachweisbar.

c) Butanol-6N Salzsäure 7:3; Triphenyl-tetrazolium-chlorid: ausser 1-Amino-5-hydroxylamino-pentan und N-(5-Hydroxylamino-pentyl)-succinimid keine reduzierenden Verbindungen nachweisbar.

*Cyclisierung von Ferrioxamin G zu Ferrioxamin E.* 120 mg Ferrioxamin-G-hydrochlorid wurden in 1 ml Wasser gelöst, mit 35 ml Dimethylformamid verdünnt und mit einer Lösung von 4 g Dicyclohexyl-carbodiimid in 25 ml Dimethylformamid versetzt<sup>10)</sup>. Nach 6 Std. wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und der Rückstand bei 0° mit 20 ml N Essigsäure versetzt. Nach einigem Stehen wurde vom ausgeschiedenen, rötlich gefärbten Dicyclohexyl-harnstoff abgenutscht und letzterer aus Alkohol umkristallisiert. Das Filtrat und die Mutterlaugen dampfte man im Vakuum ein und unterwarf das so erhaltene Produkt einer 37-stufigen CRAIG-Verteilung mit dem gleichen Lösungssystem mit welchem die Einheitlichkeit von Ferrioxamin G geprüft worden war. Es bildeten sich dabei zwei Maxima: ein schwächeres in den Fraktionen 22–23 und ein stärkeres in der Fraktion 30. Die Fraktionen 18–27 wurden vereinigt, mit 500 ml Äther versetzt und die braune wässrige Schicht abgetrennt. Die ätherische Lösung wurde noch 2mal mit

<sup>10)</sup> Vgl. K. VOGLER, R. O. STUDER, W. LERGIER & P. LANZ, *Helv.* 43, 1751 (1960); R. O. STUDER, K. VOGLER & W. LERGIER, *Helv.* 44, 131 (1961).

Wasser gewaschen, wobei der gesamte Farbstoff in Wasser ging. Die wässrige Lösung versetzte man mit etwa 20% Natriumchlorid und schüttelte das Ferrioxamin mit dem Phenol-Chloroform-Gemisch aus. Die rotbraunen, durch eine Celite-Säule filtrierten Auszüge versetzte man mit Äther und schüttelte dann 3mal mit wenig Wasser aus. Die mit Äther gewaschenen wässrigen Auszüge lieferten beim Eindampfen im Vakuum 15 mg Rückstand, der aus 1 ml heissem Methanol 5 mg feine rotbraune Nadelchen lieferte, die bei 280° die Doppelbrechung verlieren ohne zu schmelzen, wie das Ferrioxamin E. Das IR.-Absorptionsspektrum und das papierchromatographische Verhalten waren identisch mit denjenigen des authentischen Ferrioxamins E.

Aus den Fraktionen 28–33 der CRAIG-Verteilung erhielt man bei gleicher Aufarbeitung 110 mg rotbraunes Harz, welches im Papierchromatogramm einen einheitlichen Fleck (Lösungsmittelsystem I: Rf 0,89; V: Rf 0,87) gibt.

Verschiedene Änderungen der Cyclisierungsbedingungen (Verlängerung der Reaktionszeit, Erhöhung der Reaktionstemperatur, Verminderung des Wassergehaltes und Erhöhung der Menge des Dicyclohexyl-carbodiimids) gaben keine besseren Ausbeuten an Ferrioxamin E. Die niedrige Cyclisierungsausbeute scheint demnach hauptsächlich durch eine Konkurrenzreaktion unbekannter Natur bedingt zu sein.

Die Mikroanalysen wurden in unserm mikroanalytischen Laboratorium (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

#### SUMMARY

A new sideramine ferrioxamine G,  $C_{27}H_{47}O_{10}N_6Fe$ , has been isolated and its constitution I proven by conversion into the known ferrioxamine E (II).

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

## 70. Selbstintegrierende Methode zur raschen Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff in organischen Verbindungen an Milligramm- und Submilligramm-Mengen unter Verwendung von Katharometern

Vorläufige Mitteilung

von P. F. Sommer<sup>1)</sup>, W. Sauter, J. T. Clerc und W. Simon<sup>2)</sup>

(16. I. 62)

1. *Einleitung.* Eine Methodik zur Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff in organischen Verbindungen, die dazu geeignet wäre, die allgemein üblichen PREGLschen Methoden zu ersetzen, muss die folgenden Bedingungen erfüllen:

- a) Es muss eine Bestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff in einem Analysengang an Proben organischer Verbindungen verschiedenster Zusammensetzung möglich sein.
- b) Die Standardabweichung einer Einzelbestimmung darf bei einer Probemenge von rund einem Milligramm nicht grösser sein als jene der konventionellen gravimetrischen Verfahren mit Probemengen von etwa 3 bis 4 mg (Standardfehler einer Einzelbestimmung < 0,2% absolut).

<sup>1)</sup> Gegenwärtige Adresse: Firma HOFFMANN-LA ROCHE & Co., AG., Basel.

<sup>2)</sup> Vgl. W. SIMON, Complete Automation of the Micro Determination of Carbon and Hydrogen in Organic Compounds (Vortrag anlässlich des Eastern Analytical Symposium, November 1961, New York).