

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 29. Mitteilung: Helv. 47, 1336 (1964).
 [2] H. WEHRLI, M. S. HELLER, K. SCHAFFNER & O. JEGER, Helv. 44, 2162 (1961).
 [3] M. S. HELLER, H. WEHRLI, K. SCHAFFNER & O. JEGER, Helv. 45, 1261 (1962).
 [4] J. IRIARTE, K. SCHAFFNER & O. JEGER, Helv. 46, 1599 (1963).
 [5] J. IRIARTE, K. SCHAFFNER & O. JEGER, Helv. 47, 1255 (1964).
 [6] W. VOSER, M. MONTAVON, Hs. H. GÜNTARD, O. JEGER & L. RUZICKA, Helv. 33, 1893 (1950).
 [7] M. V. MIJOVIĆ, W. VOSER, H. HEUSSER & O. JEGER, Helv. 35, 964 (1952).
 [8] D. H. R. BARTON, R. P. BUDHIRAJA & J. F. MCGHIE, Proc. chem. Soc. 1963, 170.
 [9] N. C. YANG, A. MORDUCHOWITZ & D.-D. H. YANG, J. Amer. chem. Soc. 85, 1017 (1963); I. ORBAN, K. SCHAFFNER & O. JEGER, *ibid.* 85, 3033 (1963); K. H. SCHULTE-ELTE & G. OHLOFF, Tetrahedron Letters 1964, 1143.
 [10] G. OURISSON & P. CRABBÉ, Les triterpènes tétracycliques, S. 15, Verlag Hermann, Paris 1961.
 [11] G. SNATZKE & D. BECHER, Tetrahedron 20, 1921 (1964).
 [12] P. WIELAND, K. HEUSLER & A. WETTSTEIN, Helv. 41, 1561 (1958); J. SCHMIDLIN & A. WETTSTEIN, Helv. 43, 973 (1960); K. HEUSLER, J. KALVODA, Ch. MEYSTRE, P. WIELAND, G. ANNER, A. WETTSTEIN, G. CAINELLI, D. ARIGONI & O. JEGER, Helv. 44, 502 (1961).
 [13] K. SCHAFFNER & G. SNATZKE, Helv. 48, 347 (1965).

77. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

49. Mitteilung [1]

Die Ferrioxamine A₁, A₂ und D₂

von W. Keller-Schierlein, P. Mertens, V. Prelog und A. Walser

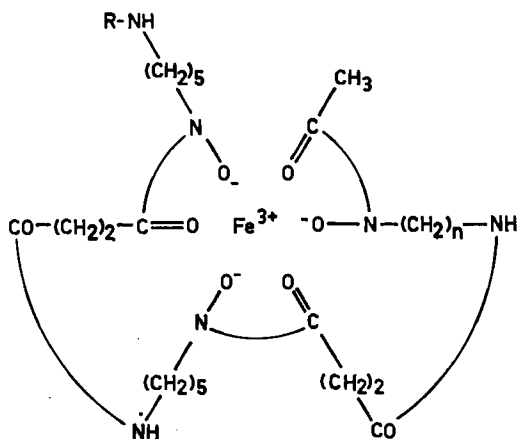
(19. III. 65)

Bei der mikrobiologischen Herstellung des Ferrioxamins B wurde vor einiger Zeit eine Reihe von Nebenkomponenten isoliert, die Ferrioxamine A, C, D₁, D₂, E, F [2] und G [3]. Von diesen wurden bisher die Komponenten D₁ [4], E [5] und G [3] in ihrer Konstitution aufgeklärt und zum Ferrioxamin B (I) [6] in Beziehung gesetzt. Im Verlauf der Herstellung grösserer Mengen von Desferri-ferrioxamin B [7] sind nun auch genügende Substanzmengen der Ferrioxamine A und D₂ für eine Konstitutionsaufklärung verfügbar geworden.

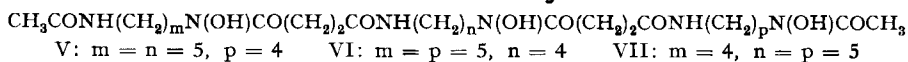
Ferrioxamin A wurde als eine einwertige Base beschrieben, die sich durch ihre Elementarzusammensetzung und ihren pK_{MCS}^{*}-Wert [2] nur wenig vom Ferrioxamin B unterscheidet. Wie das letztere besitzt es eine Acetylgruppe; die bei der Hydrolyse anfallende Essigsäure wurde papierchromatographisch identifiziert. Es wurde bisher nur als amorphes Hydrochlorid gewonnen; die Mikroanalysen erwiesen sich daher als wenig zuverlässig für die Ableitung einer genauen Bruttoformel. Immerhin deuteten die Ergebnisse der Mikrotitration [2] an, dass das Molekulargewicht des Ferrioxamins A etwas kleiner ist als dasjenige des Ferrioxamins B. Zudem stellte es sich im Verlaufe dieser Untersuchung heraus, dass das Ferrioxamin A, obwohl es sich bei der Papierchromatographie einheitlich verhält und bei einer CRAIG-Verteilung über 875 Stufen nicht aufgetrennt wurde, noch ein Gemisch zweier Verbindungen, der Ferrioxamine A₁ und A₂ ist.

Bei der N-Acetylierung von Ferrioxamin-A-hydrochlorid mit Essigsäureanhydrid in Methanol erhielten wir ein Acetylierungsprodukt, das sich durch Papierchromatographie leicht in 2 Komponenten, A₁ und A₂, aufspalten liess. Die präparative Trennung des Gemisches erfolgte durch eine CRAIG-Verteilung mit 340 Überführungen.

1. *Ferrioxamin A₁*. Das in etwas grösserer Menge anfallende Acetylderivat mit dem grösseren Rf-Wert, das sich vom Ferrioxamin A₁ ableitet, war ein amorphes braunoranges Pulver. Es wurde direkt in das kristalline Desferri-Derivat übergeführt, das die Zusammensetzung C₂₆H₄₈O₉N₆ besass. Für die weitere Untersuchung war das in Trifluoressigsäure aufgenommene NMR.-Spektrum dieser Verbindung von Bedeutung. Das Spektrum stimmte nahezu völlig mit demjenigen des Desferri-N-acetylferrioxamins B (Desferri-ferrioxamin D₁) [4] überein; der einzige Unterschied bestand darin, dass das Integral des Signalhaufens bei δ = 1,8 ppm etwas kleiner war und nur 16 statt 18 Protonen anzeigte. Da dieser Signalhaufen den inneren Methylengruppen der basischen Reste zugeschrieben werden muss, kann daraus geschlossen werden, dass im Ferrioxamin A₁ einer der drei 1-Amino-5-hydroxylamino-pentan-Reste des Ferrioxamins B durch einen 1-Amino-4-hydroxylamino-butan-Rest ersetzt ist.



- I : n = 5 ; R = H
- II : n = 5 ; R = CH₃CO
- III : n = 4 ; R = H
- IV : n = 4 ; R = CH₃CO



In Übereinstimmung damit konnten wir nach der reduktiven Hydrolyse des Desferri-ferrioxamin-A-hydrochlorids bzw. des Acetylderivates A₁ papierchromatographisch neben 1,5-Diaminopentan 1,4-Diaminobutan nachweisen. Aus dem Gemisch der Benzoylderivate liess sich das in Aceton schwerlösliche N,N'-Dibenzoyl-derivat des 1,4-Diaminobutans vom leichtlöslichen Homologen abtrennen und durch den Misch-Smp. und das IR.-Absorptionsspektrum identifizieren. Als weiterer Bau-

stein liess sich im Hydrolysat wie beim Ferrioxamin B die Bernsteinsäure nachweisen. Der Desferri-acetylverbindung kommt demnach eine der drei Formeln V, VI oder VII zu.

Für die Abklärung der Reihenfolge der Bausteine in der Ferrioxamin- A_1 -Molekel haben wir die drei isomeren Acetylderivate V, VI und VII sowie deren Eisen(III)-Komplexe totalsynthetisch hergestellt, worüber im letzten Abschnitt dieser Arbeit berichtet wird. Es erwies sich, dass die synthetische Verbindung V mit dem natürlichen Desferri-acetyl-ferrioxamin A_1 nach Misch-Smp. und IR.-Absorptionsspektrum identisch ist. Die beiden Isomeren VI und VII besaßen zwar IR.-Absorptionsspektren, die mit demjenigen des Isomeren V weitgehend übereinstimmten, liessen sich aber durch die Smp. eindeutig vom natürlichen Derivat unterscheiden. Die Eisenkomplexe der isomeren Acetate wurden papierchromatographisch miteinander verglichen. Während mit dem Fliessmittel I nach BICKEL [2] kein Unterschied im Verhalten der drei Isomeren gefunden wurde, liessen sie sich mit dem Lösungsmittel-System V beim direkten Vergleich sicher voneinander unterscheiden. Der Eisenkomplex des Isomeren V entsprach dem natürlichen Acetylderivat, während der des Isomeren VI etwas langsamer, derjenige des Isomeren VII etwas schneller wanderte. Dem Ferrioxamin A_1 kommt demnach die Strukturformel III zu.

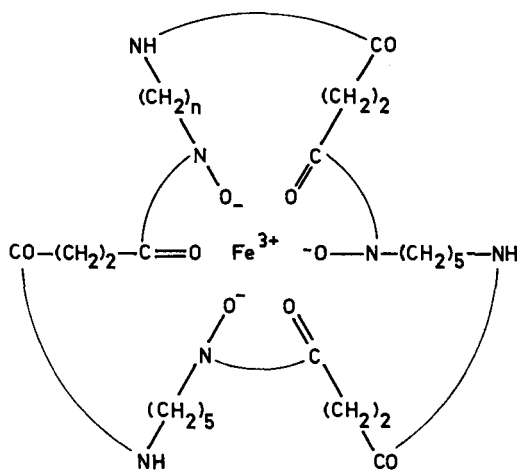
2. *Ferrioxamin A_2* . Das bei der Acetylierung von Ferrioxamin A in geringerer Menge anfallende Acetylferrioxamin A_2 mit dem kleineren Rf-Wert bildet ebenfalls ein amorphes rotbraunes Pulver. Das kristallisierte Desferri-Derivat ist eine schwerlösliche farblose Verbindung. Ihr NMR.-Spektrum (in Trifluoressigsäure) stimmt mit dem des Desferri-acetyl-ferrioxamins A_1 weitgehend überein. Das Integral des Signalaufens bei $\delta = 1,8$ ppm lag nahe bei 15 Protonen, so dass kein sicherer Entscheid zwischen 14 und 16 H möglich war. Hingegen passten die analytischen Daten gut auf die Zusammensetzung $C_{25}H_{46}O_9N_6$. Die Molekel ist demnach nochmals um CH_2 kleiner als die des Desferri-acetyl-ferrioxamins A_1 . Im Produkt der reduktiven Hydrolyse liessen sich wiederum 1,5-Diaminopentan, 1,4-Diaminobutan und Bernsteinsäure nachweisen. Eine quantitative Bestimmung der beiden basischen Bausteine führten wir durch den papierchromatographischen Vergleich eines mit Jodwasserstoffsäure hergestellten Hydrolysates mit je einer Verdünnungsreihe von 1,4-Diaminobutan-dihydrochlorid und 1,5-Diaminopentan-dihydrochlorid aus. Es ergab sich dabei, dass das Hydrolysat 2 Äquivalente 1,4-Diaminobutan auf 1 Äquivalent 1,5-Diaminopentan enthält. Das Ferrioxamin A_2 ist demnach ein weiteres niederes Homologes des Ferrioxamins B, das zweimal den 1-Amino-4-hydroxylamino-butan- und einmal den 1-Amino-5-hydroxylamino-pentan-Rest in bisher nicht aufgeklärter Sequenz enthält.

Das Verhältnis der Rf-Werte der N-Acetylferrioxamine A_1 und A_2 ist etwa das gleiche wie dasjenige der Rf-Werte von Ferrioxamin D_1 und Acetylferrioxamin A_1 .

3. *Ferrioxamin D_2* . Das Ferrioxamin D_2 ist eine neutrale Verbindung und steht in seinen Eigenschaften (Verteilungskoeffizient, Rf-Werte) den Ferrioxaminen D_1 (II) und E (VIII) nahe [2]. Bei der sauren Hydrolyse wird keine Essigsäure abgespalten. In dieser Hinsicht unterscheidet es sich also vom Ferrioxamin D_1 , das 2 Acetylgruppen besitzt [4]. Die Analysen des kristallisierten Sideramins passen gut auf eine Formel $C_{26}H_{43}O_9N_6Fe$, die um CH_2 kleiner ist als die des Ferrioxamins E.

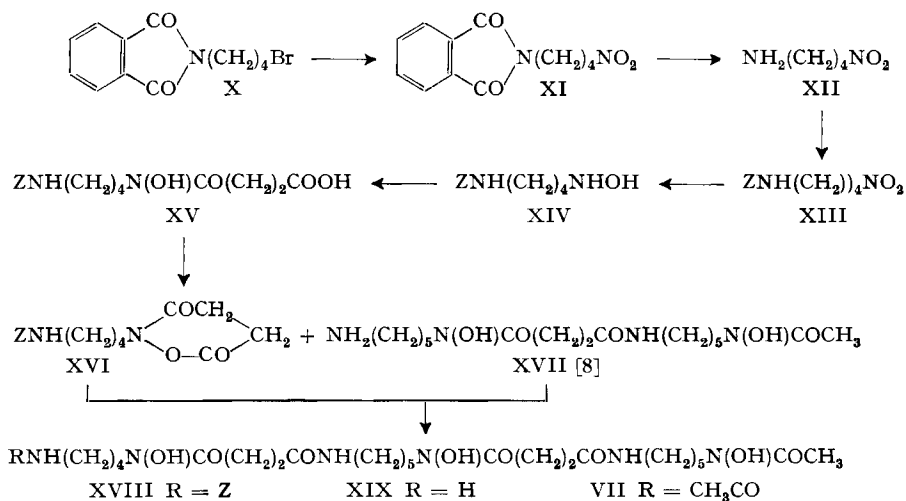
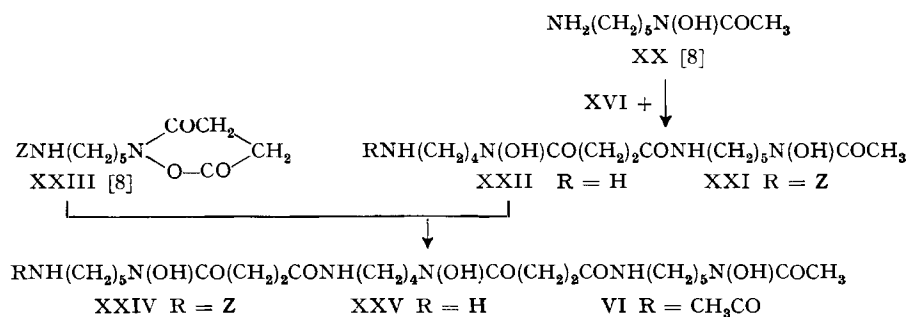
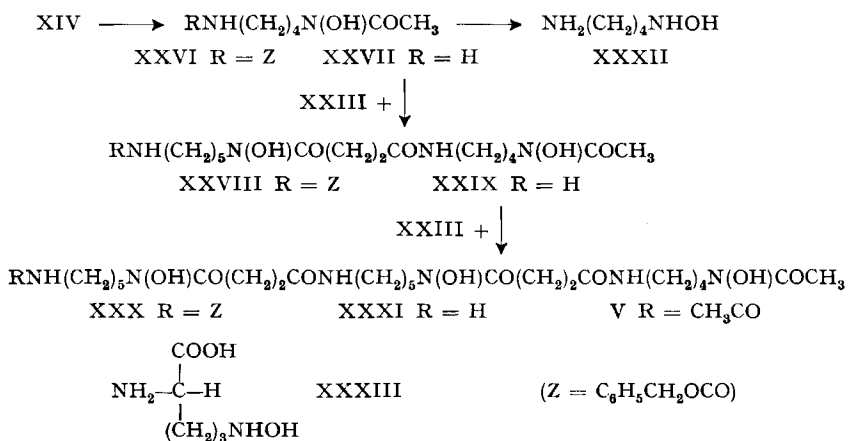
Das NMR.-Spektrum des in üblicher Weise hergestellten kristallisierten Desferri-ferrioxamins D_2 , $C_{26}H_{46}O_9N_6$, gleicht weitgehend dem des Desferri-ferrioxamins E (Nocardamins) mit dem Unterschied, dass der Signalhaufen bei $\delta = 1,8$ ppm kleiner ist und nur 16 statt 18 Protonen entspricht. Bei der reduktiven Hydrolyse der Desferri-Verbindung mit Jodwasserstoffsäure konnte ausser dem 1,5-Diaminopentan und der Bernsteinsäure wie beim Ferrioxamin A_1 das 1,4-Diaminobutan nachgewiesen werden. Aus einem Vergleich der Fleckengrösse der beiden basischen Bruchstücke im Papierchromatogramm (Verdünnungsreihe) konnte auf ein Verhältnis von 1,5-Diaminopentan zu 1,4-Diaminobutan von etwa 2:1 geschlossen werden.

Das Ferrioxamin D_2 steht somit zum Ferrioxamin E (VIII) in derselben Beziehung wie das Ferrioxamin A_1 (III) zum Ferrioxamin B (I) und besitzt die Konstitution IX.



4. *Synthesen des Ferrioxamins A_1 und seiner Isomeren.* Die in den Formelübersichten A, B und C dargestellten Synthesen des Desferri-ferrioxamins A_1 (XXXI) und seiner Isomeren XXV und XIX sind der früher beschriebenen Herstellung des Ferrioxamins B [8] nachgebildet.

Es konnten dabei die Zwischenprodukte der Ferrioxamin-B-Synthese XVII, XX und XXIII verwendet werden. Als Ausgangsmaterial für den Einbau des basischen C_4 -Bausteines diente das Hydrochlorid des 1-Amino-4-nitro-butans (XII), das nach der beim höheren Homologen bewährten Methode [9] aus 1,4-Dibrombutan über die Zwischenstufen X und XI bereitet wurde. Das 1-Amino-4-nitro-butano wurde anschliessend in das Benzyloxycarbonylderivat XIII übergeführt und zum Hydroxylamin XIV reduziert, welches einerseits die Succinhydroxamsäure XV und andererseits die Acethydroxamsäure XXVI lieferte. Die Verknüpfung der Monohydroxamsäuren zu Di- und schliesslich Trihydroxamsäuren erfolgte wieder mit Hilfe der

A. *Synthese des Isomeren VII I*B. *Synthese des Isomeren VI*C. *Synthese des Isomeren V*

reaktiven 3,6-Dioxo-tetrahydro-1,2-oxazin-Derivate XVI und XXIII, wobei mit guten Ausbeuten die Benzyloxycarbonyl-desferri-ferrioxamine XVIII, XXIV und XXX erhalten wurden. Die hydrogenolytische Entfernung der Benzyloxycarbonylgruppen mittels Palladiumkohle erfolgte in Gegenwart von 1 Äquivalent Chlorwasserstoff, wobei direkt die Hydrochloride der Basen XIX, XXV und XXXI entstanden. Diese Verbindungen kristallisierten schlecht und wurden daher einerseits in die amorphen Eisenkomplexe, andererseits in die kristallisierten N-Acetylderivate VII, VI und V übergeführt. Die Eisenkomplexe der Hydrochloride eigneten sich nicht für eine Identifizierung, da sie sich wie gesagt papierchromatographisch nicht voneinander unterscheiden lassen. Hingegen bildeten die N-Acetylderivate gut ausgebildete Kristalle mit deutlich unterscheidbaren Smp. Die IR.-Absorptionsspektren aller drei Isomeren waren, wie schon erwähnt, praktisch identisch.

Die Eisenkomplexe der Acetylderivate zeigten deutlich verschiedenes Verhalten bei der Papierchromatographie, wenn auch die Unterschiede erwartungsgemäss nicht gross waren. Es erwies sich dabei ein Verfahren als vorteilhaft, das uns schon beim Vergleich von Sideraminen aus Pilzen sehr nützlich gewesen war [10]. Zwei zu vergleichende Substanzen wurden in je vier Flecke alternierend auf die Startlinie aufgetragen. Bei Identität erscheinen die Flecke nach dem Entwickeln auf einer, meist gekrümmten Linie, während bei Verschiedenheit, auch bei kleinen Rf-Unterschieden (s. Tabelle, S. 722), eine deutliche Zickzack-Anordnung zu erkennen war. Die Verbindung mit der Basensequenz $C_5-C_5-C_4$ war nach Misch-Smp. und Papierchromatographie identisch mit dem Desferri-acetyl-ferrioxamin A_1 (V), während die beiden Isomeren VI und VII eindeutig verschieden waren.

Im Verlauf der Synthese haben wir auch das bisher unbekannte 1-Amino-4-hydroxylamino-butan (XXXII) als Dihydrochlorid rein hergestellt und charakterisiert. Die als Baustein der Ferrioxamine A_1 , A_2 und D_2 vorkommende Verbindung kann als Decarboxylierungsprodukt des δ -N-Hydroxy-L-ornithins (XXXIII) aufgefasst werden, das als Baustein zahlreicher Sideramine aus Pilzen [11] sowie des Sideromycins Albomycin [12] nachgewiesen wurde. Obwohl eine experimentelle Überprüfung noch aussteht, scheint es wahrscheinlich zu sein, dass zwischen den Verbindungen XXXII und XXXIII auch ein biogenetischer Zusammenhang besteht.

Der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, danken wir bestens für die Ausgangsmaterialien.

Experimenteller Teil

Die IR.-Absorptionsspektren wurden mit einem PERKIN-ELMER-Zweistrahlspektrophotometer, Modell 21, die NMR.-Spektren mit dem VARIAN-A-60-Spektrometer (60 MHz) aufgenommen.

Isolierung und Charakterisierung von Ferrioxaminen A. – Für die Isolierung von Ferrioxamin A standen 68 g einer Verteilungsfraction zur Verfügung, die etwa der «Sammelfraction II» von Bickel *et al.* [2] entsprach. Das Präparat wurde zunächst in Ansätzen à ca. 10 g an einer Ionenaustauschersäule [2] chromatographiert. Die mit 0,3 M Ammoniumacetat-Puffer eluierten Hauptfraktionen (total ca. 10 g nach der Aufarbeitung aller Ansätze) enthielten gemäss papierchromatographischer Analyse fast ausschliesslich die Ferrioxamine A und B. Eine völlige Trennung der Komponenten wurde nicht erreicht, wenn auch die ersten Fraktionen mehr A, die späteren mehr B enthielten.

Diese Fraktionen wurden nach CRAIG mit Hilfe einer 200stufigen Verteilungsapparatur im Umlauf-Verfahren über 875 Stufen verteilt. Lösungsmittelsystem: *n*-Butanol, Benzylalkohol, 0,001 N Salzsäure und gesätt. wäss. NaCl-Lösung im Volumenverhältnis 10:15:15:3 [2]. Ferrioxamin A bildete ein Verteilungsmaximum in Stufe 91 ($K_A = 0,12$), Ferrioxamin B in Stufe 151

($K_B = 0,21$). Diese Werte stimmen gut mit den von BICKEL mit den reinen Substanzen gefundenen Werten überein: 0,11 bzw. 0,23.

Für die Isolierung des Ferrioxamins A wurden die Stufen 71–116 vereinigt. Durch Verdünnen der oberen Phase mit Äther wurde der rotbraune Farbstoff vollständig in die wässrige Phase verdrängt. Nach Zufügen von ca. 10% Natriumchlorid wurde mehrmals mit Phenol-Chloroform 1:1 (vgl. [2]) ausgeschüttelt. Die tief rotbraunen Auszüge wurden mit 0,01N Salzsäure, die 10% Natriumchlorid enthielt, gewaschen und an einer kleinen Säule aus Celite filtriert. Darauf verdünnte man das Filtrat mit dem doppelten Volumen Äther und schüttelte mehrmals mit dest. Wasser aus. Die wässrigen Lösungen wurden mittels Äther vollständig von Phenol befreit und im Vakuum eingedampft. Man erhielt 3,442 g papierchromatographisch einheitliches Ferrioxamin-A-hydrochlorid als rotbraunes amorphes Pulver. – Die Fraktionen 130–173 lieferten bei analoger Aufarbeitung 1,74 g Ferrioxamin-B-hydrochlorid.

Desferri-ferrioxamin-A-hydrochlorid. Eine Lösung von 600 mg Ferrioxamin-A-hydrochlorid in ca. 40 ml Wasser wurde mit 1 g 8-Hydroxychinolin in 10 ml Methanol 24 Std. bei Zimmertemperatur gerührt. Dann wurde vom schwarzen Niederschlag (Eisenoxinat) abfiltriert und das Filtrat vom überschüssigen Reagens durch Ausschütteln mit Chloroform befreit. Der Eindampfrückstand der wässrigen Lösung wurde in 15 ml Methanol gelöst, mit Aktivkohle entfärbt und das Filtrat auf 3 ml eingengt. Das Desferri-ferrioxamin-A-hydrochlorid schied sich in der Kälte in farblosen hygroskopischen Kristallen ab; es wurde aus Methanol, dessen pH mit einer Spur Salzsäure auf ca. 5 eingestellt war, umkristallisiert. Smp. nach dreimaligem Umkristallisieren: 152–154°. Das Analysenpräparat wurde im Schweinchen eingewogen und über P_2O_5 nachgetrocknet.

$C_{24}H_{47}O_8N_6Cl$	Ber. C 49,43	H 8,12	N 14,41	Cl 6,08%
$C_{23}H_{45}O_8N_6Cl$	„ 48,54	„ 7,97	„ 14,77	„ 6,23%
	Gef. „ 48,93	„ 8,44	„ 13,62	„ 5,76%

Eine kleine Probe wurde mit Eisen(III)-chlorid in methanolischer Lösung wie üblich in den Eisen(III)-Komplex zurückverwandelt: Rf-Werte in den Fließmitteln I und V (nach BICKEL [2]) gleich wie bei authentischem Ferrioxamin-A-hydrochlorid.

N-Benzoyl-desferri-ferrioxamin A. Zu 25 mg Ferrioxamin-A-hydrochlorid in 0,3 ml Wasser gab man 1 ml 1N Natronlauge und zentrifugierte das abgeschiedene Eisenhydroxid ab. Die klare farblose Lösung versetzte man nochmals mit 1 ml 1N Natronlauge, fügte 150 mg Benzoylchlorid zu und liess das Gemisch unter häufigem Umschütteln 3 Std. stehen, wobei die verbrauchte Natronlauge von Zeit zu Zeit ersetzt wurde. Die alkalische Lösung wurde dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt, der Extrakt mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand, ein amorphes N, O-Polybenzoat (vgl. [2]), wurde mit 5 ml gesättigter methanolischer Ammoniaklösung über Nacht stehengelassen und dann im Vakuum eingedampft. Den farblosen Rückstand (31 mg) kochte man zuerst zweimal mit Äther aus um das Benzoessäureamid zu entfernen. Der unlösliche Anteil wurde zweimal aus Methanol umkristallisiert: feine farblose Kristalle, Smp. 188–191°; Misch-Smp. mit dem entsprechenden Derivat aus Ferrioxamin B (Smp. 178–180°) um ca. 5° erniedrigt.

$C_{31}H_{50}O_9N_6$	Ber. C 57,21	H 7,74	N 12,92%	Gef. C 57,00	H 7,72	N 13,02%
$C_{30}H_{48}O_9N_6$	„ 56,60	„ 7,60	„ 13,20%			

N-Acetyl-ferrioxamine A₁ und A₂. 600 mg Ferrioxamin-A-hydrochlorid und 100 mg wasserfreies Natriumacetat wurden in 5 ml Methanol gelöst und mit 5 ml Essigsäureanhydrid versetzt. Nach 14-stdg. Stehen bei 20° wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft. Im Papierchromatogramm (System V nach BICKEL [2]) waren 2 braunorange Flecke zu erkennen (Rf 0,60 und 0,68, gegenüber 0,25 für das Ausgangsmaterial und 0,77 für Ferrioxamin D₁). Eine präparative Trennung wurde erzielt durch eine CRAIG-Verteilung über 340 Stufen im Lösungsmittelgemisch, das für die Isolierung von Ferrioxamin A benützt worden war (s. oben). Verteilungsmaxima: $r_{max} = 143$ ($K_2 = 0,73$) und 193 ($K_1 = 1,31$). Ein geringes Nebenmaximum bei $r = 223$ ($K_3 = 1,90$) wurde nicht weiter untersucht.

Aus den Fraktionen 133–158 wurden nach der oben beschriebenen Methode 156 mg N-Acetylferrioxamin A₂ mit Rf 0,60 isoliert. Die Fraktionen 179–208 lieferten 184 mg N-Acetylferrioxamin A₁ (Rf. 0,68). Die beiden Produkte sind amorphe Pulver, die bisher nicht kristallisiert erhalten werden konnten. Beide zeigten die charakteristischen Eigenschaften von Sideraminen. Im Gegensatz zum ähnlichen Ferrioxamin D₁ lassen sie sich mit Chloroform allein nur sehr unvoll-

ständig aus NaCl-haltigen wäss. Lösungen ausziehen; es genügen aber schon 10% Phenolzusatz, um die Verteilungskoeffizienten weitgehend zugunsten der organischen Phase zu verschieben.

Die beiden gleichen Acetylderivate erhielt man auch, wenn man 50 mg Desferri-ferrioxamin-A-hydrochlorid über Nacht mit 2 ml Essigsäureanhydrid und 2 ml Pyridin stehen liess und die primär gebildeten O, N-Polyacetylderivate mit 20 ml methanolischem Ammoniak partiell spaltete. Die Umsetzung mit Eisen(III)-chlorid führte zu einem Gemisch rotbrauner Eisenkomplexe, das papierchromatographisch in die beiden Acetylverbindungen mit Rf 0,60 und 0,68 aufgetrennt wurde.

Desferri-N-acetyl-ferrioxamin A₁. 190 mg des Acetylferrioxamins A₁ (Rf 0,68) in 30 ml Wasser wurden mit 2N Natriumhydroxid alkalisch gemacht und die vom Eisenhydroxid abzentrifugierte, fast farblose Lösung mit verd. Salzsäure schwach angesäuert. Die Desferri-Verbindung liess sich mit Butanol ausziehen und gab einen farblosen Eindampfrückstand, der sich aus Methanol in Kristallen vom Smp. 152–154° gewinnen liess.

$C_{28}H_{48}O_9N_6$ Ber. C 53,04 H 8,22 N 14,27% Gef. C 52,57 H 8,28 N 14,05%

NMR.-Spektrum in Trifluoressigsäure: $\delta = 1,84$ ppm (*b*, 16 H), $\delta = 2,53$ ppm (*s*, 6 H), δ ca. 3–4 ppm (*b*, 20 H; dieser Signalhaufen ist unscharf in 3 Maxima mit δ 3,04, 3,60 und 3,91 ppm aufgetrennt). Das NMR.-Spektrum von Desferri-ferrioxamin D₁ unterscheidet sich davon nur dadurch, dass der Signalhaufen bei $\delta = 1,8$ ppm etwas grösser ist und 18 Protonen entspricht.

10 mg der Verbindung wurden mit 1,5 ml 6N Salzsäure bei 110° hydrolysiert, und das Produkt in Feinsprit mit Platinoxid hydriert. Papierchromatographie im Fließmittel Aceton-Butanol-Diäthylamin-Wasser 10:10:2:5, Sprühreagens Ninhydrin: starke Flecke bei Rf 0,74 (1,5-Diaminopentan) und 0,65 (1,4-Diaminobutan), blasser Fleck bei Rf 0,16 (Bernsteinsäure).

Desferri-N-acetyl-ferrioxamin A₂. Aus 180 mg des Acetylierungsproduktes mit Rf 0,60 wurde in gleicher Weise wie oben ein in Methanol viel schwerer lösliches Kristallinat mit Smp. 188–189° erhalten.

$C_{25}H_{46}O_9N_6$ Ber. C 52,25 H 8,07 N 14,63 COCH₃ 14,98%
Gef. „ 51,96 „ 8,04 „ 14,52 „ 14,25%

Das NMR.-Spektrum (in Trifluoressigsäure) stimmt mit dem oben für das Desferri-N-acetyl-ferrioxamin A₁ angegebenen überein, mit dem Unterschied, dass das Signal bei $\delta = 1,8$ ppm nur ca. 15 Protonen anzeigt. 10 mg der Verbindung wurden wie oben hydrolysiert und hydriert. Papierchromatographisch wurden 1,5-Diaminopentan, 1,4-Diaminobutan und Bernsteinsäure nachgewiesen.

Essigsäure aus Ferrioxamin A. 32,5 mg Ferrioxamin-A-hydrochlorid wurden mit 10 ml 10-proz. Schwefelsäure 30 Min. unter Rückfluss gekocht und anschliessend sorgfältig mit Wasser abdestilliert (Apparatur nach WIESENBERGER). Das Destillat verbrauchte 0,51 ml 0,1N Natronlauge für die Neutralisierung auf Phenolphthalein. Das neutralisierte Destillat wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand papierchromatographisch mit Natriumformiat, Natriumacetat und Natriumpropionat verglichen. Fließmittel: a) Butanol-Aceton-Diäthylamin-Wasser 10:10:2:5, Sprühreagens: Ninhydrin. b) Äthanol-Ammoniak-Wasser 8:1:1, Sprühreagens: Methylrot. Das Salz aus Ferrioxamin A stimmte nach beiden Methoden mit Natriumacetat überein.

Nachweis der basischen Bausteine und der Bernsteinsäure. 70 mg Desferri-ferrioxamin-A-hydrochlorid wurden mit 2 ml 3N Salzsäure in einem zugeschmolzenen Rohr 4 Std. auf 110° erhitzt. Der Eindampfrückstand, gelöst in 10 ml Feinsprit, wurde in Gegenwart von 50 mg vorhydriertem Platinoxid in einer Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Nach 30 Min. waren ca. 5 ml Wasserstoff verbraucht, worauf die Hydrierung zum Stillstand kam. Die Lösung wurde vom Katalysator abfiltriert und im Vakuum eingedampft. Durch Papierchromatographie (Fließmittel s. oben) einer kleinen Probe wurden 1,5-Diaminopentan (Rf 0,74), 1,4-Diaminobutan (Rf 0,65) und Bernsteinsäure (Rf 0,16) nachgewiesen.

Die Hauptmenge des Hydrierungsgemisches wurde in 30 ml 1N Natronlauge gelöst und mit 1 g Benzoylchlorid unter häufigem Umschütteln 5 Std. stehengelassen. Das Gemisch wurde dreimal mit insgesamt 250 ml Äthylacetat ausgeschüttelt; die Auszüge wurden mit 1N Natronlauge und Wasser gewaschen. Aus dem Eindampfrückstand konnten mit Aceton 19,5 mg (0,6 Mol) des schwerlöslichen 1,4-Dibenzoylamino-butans abgetrennt werden, während das 1,5-Dibenzoylamino-pentan in den Mutterlauge angereichert wurde. Smp. und Misch-Smp. mit authentischem 1,4-Dibenzoylamino-butan: 179–180°. Das IR.-Absorptionsspektrum stimmte mit dem des Vergleichspräparates überein.

Quantitative Bestimmung der basischen Bausteine. 1,125 mg Desferri-N-acetyl-ferrioxamin A_2 wurden mit 0,5 ml 28-proz. Jodwasserstoffsäure im zugeschmolzenen Glasrohr 16 Std. auf 110° erhitzt. Das Hydrolysat wurde im Vakuum eingedampft und mehrmals nach Zugabe von etwas verd. Salzsäure wieder eingetrocknet. Der farblose Rückstand wurde in 1 ml Wasser gelöst. Von dieser Lösung wurden je 10 μ l papierchromatographisch mit je 10 μ l folgender Vergleichslösungen verglichen:

1,4-Diaminobutan, 2HCl: 3,56; 4,51; 5,55; 6,53 μ g/10 μ l;
1,5-Diaminopentan, 2HCl: 1,53; 2,61; 3,25; 3,99 μ g/10 μ l.

Fließmittel: *t*-Butanol-Eisessig – 1N HCl 2:2:1. Die Chromatogramme wurden 48 Std. laufen gelassen, anschliessend bei 120° getrocknet und nacheinander mit den beiden Sprühmitteln besprüht: Sprühmittel I: 10 mg Natriumcyanid, 355 g Natriumacetat-trihydrat und 65,5 ml Eisessig zu 1 l mit dest. Wasser gelöst. Sprühmittel II: 1 g Ninhydrin in 100 ml Methylcellosolve. Dann wurden die Chromatogramme 10 Min. bei 100° getrocknet. Auf Grund der Fleckengrösse und Farbintensität liessen sich die unbekanntenen Proben ohne Schwierigkeiten in die Verdünnungsreihe einordnen.

Ber. 2 Moläquiv. 1,4-Diaminobutan, 2HCl 6,30 μ g; 1 Moläquiv. 1,5-Diaminopentan, 2HCl 3,43 μ g
Gef. 1,4-Diaminobutan, 2 HCl $6,0 \pm 0,5$ μ g; 1,5-Diaminopentan, 2HCl $3,0 \pm 0,5$ μ g

Isolierung von Ferrioxamin D_2 . – Für die Isolierung des Ferrioxamins D_2 wurde ein Gemisch neutraler Ferrioxamine verwendet, das im wesentlichen die Komponenten D_1 , D_2 und E enthielt. Dieses war bei der Herstellung grösserer Mengen von Ferrioxamin B durch Ionenaustauscherchromatographie erhalten worden und bildete die rasch wandernde, vom Austauschharz kaum absorbierte Fraktion.

11 g dieses Gemisches, das ein dunkelbraunes Öl darstellte, wurden in 2 Ansätzen einer CRAIG-Verteilung mit 190 Überführungen unterzogen. Als Lösungsmittelsystem wurde das für Ferrioxamine übliche Gemisch verwendet: *n*-Butanol-Benzylalkohol – 0,001N Salzsäure – gesätt. wäss. Natriumchlorid-Lösung (10:5:15:3). Das Ferrioxamin D_2 liess sich in den Stufen 77–100 nachweisen ($r_{max} = 88$; $K = 0,86$). Die Stufen 108–140 enthielten die Ferrioxamine D_1 und E. Eine geringe Menge eines nicht näher charakterisierten Farbstoffs besass $r_{max} = 19$ ($K = 0,11$).

Der Inhalt der Gläser 77–100 wurde vereinigt und der Komplex durch Zusatz von Äther in die wässrige Phase verdrängt. Diese wurde nach dem Zusatz von ca. 10% Natriumchlorid dreimal mit Phenol-Chloroform (1:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit halbgesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und durch eine kurze Säule aus Celite filtriert. Das klare rotbraune Filtrat verdünnte man mit dem doppelten Volumen Äther, schüttelte mit dest. Wasser aus, wusch die rotbraune wässrige Lösung mehrmals mit Äther aus und dampfte im Vakuum zur Trockne ein. Es wurden 2,5 g rohes Ferrioxamin D_2 erhalten.

Der Eindampfrückstand wurde in ca. 50 ml Methanol gelöst, filtriert und unter Zusatz von Äther eingengt. Zunächst schied sich etwas harziges Material aus, das abgetrennt wurde. Auf weiteren Ätherzusatz kristallisierten 530 mg Ferrioxamin D_2 langsam aus. Nach nochmaligem Umkristallisieren betrug der Smp. 220–223°.

$C_{26}H_{45}O_9N_6Fe$	Ber. C 48,83	H 6,78	N 13,14	Fe 8,73%
	Gef. „ 48,80	„ 6,93	„ 12,94	„ 8,65%

Bei der Hydrolyse entstand keine flüchtige Säure. Die Absorptionsspektren im UV. und Sichtbaren entsprachen völlig denen der früher beschriebenen Ferrioxamine.

Desferri-ferrioxamin D_2 . 143 mg Ferrioxamin D_2 in 10 ml Wasser wurden mit einer Lösung von 250 mg 8-Hydroxychinolin in 3 ml Methanol versetzt und 24 Std. bei Zimmertemperatur gerührt. Die vom Eisenoxinat abgetrennte Lösung wurde dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt und die wässrige Lösung im Vakuum eingedampft. Der ölige Rückstand wurde in 3 ml Methanol gelöst. Nach mehrstündigem Stehen begann das farblose Desferri-ferrioxamin D_2 auszukristallisieren, Smp. 173–176°.

NMR.-Spektrum in Trifluoressigsäure: $\delta = 1,8$ ppm (*b*, 16 H; 8 CH_2 -Gruppen); $\delta = 3,1$ ppm (*b*, 12 H; $-CH_2-CO-$ der Bernsteinsäurereste); $\delta = 3,58$ ppm (*b*, 6 H; $-CH_2-N$); $\delta = 3,95$ ppm (*b*, 6 H; $-CH_2-N-O-$); die drei Signalhaufen mit δ zwischen 3 und 4 ppm sind nicht vollständig voneinander getrennt.

Nachweis von 1,4-Diaminobutan. 65 mg Desferri-ferrioxamin D_2 wurden mit 3 ml 57-proz. Jodwasserstoffsäure im zugeschmolzenen Glasrohr 20 Std. auf 110° erhitzt. Der braune Eindampfrückstand des Hydrolysegemisches wurde mehrmals nach Zufügen von 1 ml Wasser erneut ein-

gedampft. Es wurde schliesslich ein farbloser, teilweise kristallisierter Rückstand erhalten. Durch papierchromatographische Untersuchung, wie beim Ferrioxamin A beschrieben, liessen sich 1,5-Diaminopentan (Rf 0,65), 1,4-Diaminobutan (Rf 0,54) und Bernsteinsäure (Rf 0,16) nachweisen. Der Fleck des 1,4-Diaminobutans war deutlich schwächer als der des 1,5-Diaminopentans. Die Identifizierung erfolgte durch direkten Vergleich mit authentischen Proben.

Die Hauptmenge des Hydrolysates wurde in 13 ml 1N Natronlauge gelöst und mit 0,7 g Benzoylchlorid bei häufigem Umschütteln mehrere Stunden stehengelassen. Das Gemisch wurde dreimal je 50 ml Äthylacetat ausgeschüttelt, der Extrakt mit Natronlauge und Wasser gewaschen und getrocknet. Aus dem Gemisch der beiden Dibenzoylderivate wurde das schwerlösliche 1,4-Dibenzoylamino-butan vom leichtlöslichen 1,5-Dibenzoylamino-pentan durch Kristallisation aus Aceton abgetrennt. Man erhielt 12 mg farblose Kristalle, die nach zweimaligem Umkristallisieren bei 178–179° schmolzen und durch den Misch-Smp. und IR.-Absorptionsspektrum identifiziert wurden.

Synthese des Desferri-ferrioxamin-A₁-Isomeren XIX. – 1-Phthalimido-4-brom-butan (X). Zu einer siedenden Lösung von 500 g 1,4-Dibrombutan in 1,2 l wasserfreiem Aceton wurden im Verlauf von 6 Std. in 4 Portionen 200 g Phthalimidkalium gegeben und das Gemisch während weiteren 20 Std. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde vom Natriumbromid abfiltriert und das Aceton im Vakuum entfernt. Das überschüssige Dibrombutan wurde im Vakuum bei einer Badtemperatur von 150° abgetrieben, der Rückstand in Benzol aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Der Eindampfrückstand der getrockneten Lösung wurde nach Abtrennung eines unlöslichen Nebenproduktes aus Methanol umkristallisiert. Smp. 77–80°; Ausbeute 130 g (42,5%).

1-Phthalimido-4-nitro-butan (XI). Zu einer auf 60–70° erwärmten Lösung von 10 g 1-Phthalimido-4-brom-butan (X) in 50 g Nitropropan wurden 6,5 g Silbernitrat innert 45 Min. in kleinen Portionen gefügt. Dann wurde während 4 Std. unter Stickstoff auf 125° erwärmt, das Silberbromid abgetrennt und das Nitropropan im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand liess sich nach Abtrennung eines schwerlöslichen Nebenproduktes aus Methanol umkristallisieren: 5,45 g (68%) farblose Kristalle. Zur Analyse wurde eine Probe an Kieselgel mit Benzol-Chloroform (3:1) chromatographiert und nochmals umkristallisiert: Smp. 82–84°.

$C_{12}H_{12}O_4N_2$ Ber. C 58,06 H 4,87 N 11,29% Gef. C 58,17 H 4,91 N 11,34%

1-Amino-4-nitro-butan-hydrochlorid (XII HCl). 3 g 1-Phthalimido-4-nitro-butan (XI) wurden in 20 ml abs. Alkohol gelöst und mit 650 mg Hydrazinhydrat 4 Std. stehengelassen. Nach dem Ansäuern mit konz. Salzsäure wurde das ausgefallene Phthalhydrazid abgetrennt, die alkoholische Lösung eingengt und mit Wasser versetzt. Die filtrierte Lösung wurde im Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand aus Methanol-Äther umkristallisiert. Das Hydrochlorid bildet farblose Nadeln mit einem Smp. von 84–88°, Ausbeute 45%.

$C_4H_{11}O_2N_2Cl$ Ber. C 31,13 H 7,15 N 18,15 Cl 22,92%
Gef. „ 31,21 „ 7,34 „ 18,08 „ 22,69%

1-Benzoyloxycarbonylamino-4-nitro-butan (XIII). 5,5 g 1-Amino-4-nitro-butan-hydrochlorid (XII) wurden in 40 ml 2N Natronlauge gelöst und unter Eiskühlung tropfenweise mit 7,5 g Chlorameisensäure-benzylester und 12 ml 6N Natronlauge versetzt. Nach 30 Min. wurde die trübe Lösung mit Äther ausgeschüttelt und die wässrige Phase filtriert. Beim Ansäuern des Filtrates fiel das Benzoyloxycarbonylderivat als Öl aus. Durch Aufnehmen in Chloroform, Trocknen und Eindampfen erhielt man 8 g eines gelben Öls, das sich nicht unzersetzt destillieren liess. Eine Probe davon wurde an Kieselgel mit Chloroform chromatographiert. Das Eluat erwies sich im Dünnschichtchromatogramm (Chloroform) als einheitlich; Ausbeute 89,5%.

$C_{12}H_{16}O_4N_2$ Ber. C 57,13 H 6,39 N 11,11% Gef. C 57,06 H 6,41 N 10,94%

1-Benzoyloxycarbonylamino-4-hydroxylamino-butan (XIV). Zu einer Lösung von 4 g chromatographisch gereinigtem 1-Benzoyloxycarbonylamino-4-nitro-butan (XIII) in 80 ml Äthylalkohol, wurden 60 ml 10-proz. wäss. Ammoniumchloridlösung und dann bei 30° im Verlauf von 10 Min. 4 g Zinkstaub gegeben. Nach 30 Min. wurde filtriert, das Filtrat eingedampft, der Rückstand in 2N Salzsäure aufgenommen und mit Äther ausgeschüttelt. Die wäss. Schicht wurde mit Ammoniak alkalisch gemacht und dreimal mit Chloroform ausgezogen. Die getrockneten Auszüge wurden eingedampft und der Rückstand aus Chloroform-Äther umkristallisiert. Man erhielt 2,5 g (66%)

des Hydroxylamins XIV vom Smp. 97–100° Zur Analyse wurde eine Probe in üblicher Weise in das Hydrochlorid übergeführt und aus Methanol Äther umkristallisiert: Smp. 78–80°.

$C_{12}H_{19}O_3N_2Cl$ Ber. C 52,46 H 6,97 N 10,19 Cl 12,92%
Gef. „ 52,44 „ 7,02 „ 10,24 „ 12,99%

1-Benzylloxycarbonylamino-4-(N-succinyl-hydroxylamino)-butan (XV). 2,5 g des Hydroxylamins XIV wurden in 20 ml Pyridin mit 1,7 g Bernsteinsäureanhydrid über Nacht stehengelassen. Nach dem Eindampfen wurde der Rückstand 30 Min. in 1N Natronlauge stehengelassen und dann mit Salzsäure auf pH 2 eingestellt. Die Säure XV fiel kristallin aus. Sie wurde mit Wasser gewaschen und aus Äthylacetat-Methanol oder Benzol-Methanol umkristallisiert: 3,2 g (90%) farblose Kristalle vom Smp. 129°.

$C_{16}H_{22}O_6N_2$ Ber. C 56,79 H 6,55 N 8,28% Gef. C 56,96 H 6,79 N 8,23%

2-(4'-Benzylloxycarbonylamino-butyl)-3,6-dioxo-tetrahydro-1,2-oxazin (XVI). 1 g der Succinylhydroxamsäure XV wurde in abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 700 mg Dicyclohexyl-carbodiimid über Nacht stehengelassen. Vom ausgeschiedenen Dicyclohexylharnstoff wurde abfiltriert, die Lösung eingedampft und der halbkristalline Rückstand in Äthylacetat aufgenommen. Es konnte noch einmal etwas unlöslicher Dicyclohexylharnstoff abgetrennt werden. Aus dem Filtrat kristallisierten nach Zugabe von Äther 720 mg (76%) Cyclisierungsprodukt XVI. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Äthylacetat-Äther, Smp. 98°.

$C_{16}H_{20}O_5N_2$ Ber. C 59,99 H 6,29 N 8,75% Gef. C 60,05 H 6,39 N 8,63%

1-Benzylloxycarbonylamino-5,16-dihydroxy-26-(N-acetyl-hydroxylamino)-6,9,17,20-tetraoxo-5,10,16,21-tetraaza-hexaeikosan (XVIII). 400 mg des Hydrochlorids der Base XVII [8] wurden in Methanol gelöst und mit der äquivalenten Menge Natriummethylat in die Base übergeführt. Nach dem Abdampfen des Methanols wurde die Base in Tetrahydrofuran aufgenommen und vom unlöslichen Natriumchlorid abgetrennt. Darauf wurden 320 mg des Tetrahydro-oxazins XVI in Tetrahydrofuran zugegeben und das Gemisch 15 Min. auf dem Wasserbad erwärmt. Nach dem Eindampfen wurde der Rückstand aus Methanol-Wasser bei 0° kristallisiert. Mehrmals aus Methanol umkristallisiert: feinkörnige Kristalle (270 mg; 42%), Smp. 160°.

$C_{32}H_{52}O_{10}N_6$ Ber. C 56,45 H 7,70 N 12,35% Gef. C 56,37 H 7,68 N 12,28%

1-Acetylamino-5,16-dihydroxy 26-(N-acetyl-hydroxylamino)-6,9,17,20-tetraoxo-5,10,16,21-tetraaza-hexaeikosan (XIX). 100 mg der Benzylloxycarbonylverbindung XVIII wurden in Eisessig gelöst und in Gegenwart von 50 mg 10-proz. Palladiumkohle 3 Std. im Wasserstoffstrom geschüttelt. Der Katalysator wurde abgetrennt, das Filtrat langsam im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit Essigsäureanhydrid und Pyridin über Nacht acetyliert. Das rohe Acetylierungsprodukt wurde 15 Min. mit 1N Kalilauge bei 20° stehengelassen, angesäuert und im Vakuum etwas konzentriert. Beim Stehen bei 0° kristallisierten 55 mg (63%) der Trihydroxamsäure XIX aus, die aus Methanol umkristallisiert wurden. Smp. 170°.

$C_{26}H_{43}O_9N_6$ Ber. C 53,04 H 8,22 N 14,28% Gef. C 52,86 H 8,33 N 14,06%

Das IR.-Absorptionsspektrum in KBr stimmt mit dem von Desferri-N-acetyl-ferrioxamin A_1 in allen wesentlichen Teilen überein, hingegen konnte der in üblicher Weise hergestellte Eisen(III)-Komplex papierchromatographisch von N-Acetylferrioxamin A_1 unterschieden werden (s. Tabelle S. 722).

Synthese des Desferri-ferrioxamin- A_1 -Isomeren XXV. – **1-Benzylloxycarbonylamino-5-hydroxy-15-(N-acetyl-hydroxylamino)-6,9-dioxo-5,10-diaza-pentadecan (XXI).** 400 mg 1-Amino-5-(N-acetyl-hydroxylamino)-pentan-hydrochlorid (XX) [8] wurden in Methanol gelöst und mit 0,9 ml 2,22N Natriummethylatlösung neutralisiert. Der Eindampfrückstand wurde mit abs. Dimethoxyäthan ausgezogen und die vom Natriumchlorid abfiltrierte Lösung mit 660 mg Benzylloxycarbonylverbindung XVI in abs. Dimethoxyäthan vermischt. Nach 15 Min. Rühren bei 60° wurde erkalten gelassen, wobei das Reaktionsprodukt auskristallisierte. Aus Methanol-Äther erhielt man 800 mg (83,5%) Dihydroxamsäure XXI vom Smp. 133–134°.

$C_{23}H_{36}O_7N_4$ Ber. C 57,48 H 7,55 N 11,66% Gef. C 57,48 H 7,55 N 11,64%

1-Amino-5-hydroxy-15-(N-acetyl-hydroxylamino)-6,9-dioxo-5,10-diaza-pentadecan (XXII). Die oben beschriebene Benzylloxycarbonylverbindung XXI wurde wie üblich in methanolischer Salz-

säure hydriert und das Hydrochlorid des Hydrogenolyseproduktes XXII aus Methanol-Äther umkristallisiert. Smp. 128–129°, Ausbeute 95%.

$C_{15}H_{31}O_5N_4Cl$ Ber. C 47,05 H 8,16 N 14,65% Gef. C 47,00 H 8,18 N 14,71%

1-Benzylloxycarbonylamino-6,16-dihydroxy-26-(N-acetyl-hydroxylamino)-7,10,17,20-tetraoxo-6,11,16,21-tetraaza-hexaeikosan (XXIV). Die aus 255 mg Hydrochlorid des Amins XXII in 10 ml Methanol durch Zusatz von 0,3 ml 2,22N Natriummethylatlösung und Eindampfen im Vakuum bereitete Base wurde in abs. Dimethylformamid aufgenommen. 250 mg des Oxazins XXIII [8] wurden in abs. Dimethoxyäthan gelöst, mit der Lösung des Amins vereinigt und das Ganze 30 Min. bei 70° gerührt. Beim Erkalten kristallisierte die Trihydroxamsäure XXIV aus. Aus heissem Methanol 400 mg (88%) vom Smp. 158–160°.

$C_{32}H_{52}O_{10}N_6$ Ber. C 56,45 H 7,70 N 12,35% Gef. C 56,31 H 7,61 N 12,37%

1-Amino-5,16-dihydroxy-26-(N-acetyl-hydroxylamino)-7,10,17,20-tetraoxo-6,11,16,21-tetraaza-hexaeikosan (XXV). 340 mg der Benzylloxycarbonylverbindung XXIV wurden wie üblich in Gegenwart von 1 Äquiv. Chlorwasserstoff in Methanol hydriert. Das Hydrochlorid der Base XXV war in Methanol schwer löslich und wurde ohne Reinigung weiterverarbeitet.

Eisen(III)-Komplex. 120 mg des Hydrochlorids wurden in Wasser gelöst und mit einem 10-proz. Überschuss wäss. Eisen(III)-chlorid-Lösung versetzt. Die tief violettbraune Lösung wurde durch Zugabe von etwas krist. Natriumacetat gepuffert, wobei die Farbe nach rotorange umschlug. Nach mehrstündigem Stehen wurde die Lösung mit Natriumchlorid halb gesättigt und mehrmals mit Phenol-Chloroform (1:1) ausgeschüttelt. Die mit Celite geklärte organische Lösung wurde mit dem doppelten Volumen Äther verdünnt und der Eisenkomplex mit dest. Wasser ausgezogen. Nach dem Eindampfen im Vakuum wurde der Komplex aus Methanol-Äther umgefällt. Das erhaltene rotbraune amorphe Pulver liess sich papierchromatographisch von natürlichem Ferrioxamin-A-hydrochlorid nicht unterscheiden. Die biologische Wirkung im Antagonismus-Test [13] entsprach derjenigen des Naturproduktes.

N-Acetylderivat VI. 100 mg rohes Hydrochlorid der Base XXV wurden mit 100 mg Essigsäureanhydrid in 2 ml Pyridin acetyliert und der Eindampfrückstand mit 2N Kalilauge bei Zimmertemperatur partiell verseift. Das Acetylierungsprodukt fiel beim Ansäuern kristallin aus. Aus Methanol erhielt man 70 mg (69%) Kristalle vom Smp. 184–186°.

$C_{26}H_{48}O_9N_6$ Ber. C 53,04 H 8,22 N 14,28% Gef. C 53,19 H 7,95 N 14,05%

Das Produkt ist nach Smp. und Misch-Smp. verschieden von den Desferri-N-acetyl-ferrioxaminen A_1 und A_3 . Papierchromatographie des Eisenkomplexes s. Tabelle S. 722.

Synthese des Ferrioxamins A_1 (III). – *1-Benzylloxycarbonylamino-4-(N-acetyl-hydroxylamino)-butan (XXVI)*. 2,4 g 1-Benzylloxycarbonylamino-4-hydroxylamino-butan (XIV) wurden mit 2 g Essigsäureanhydrid und 20 ml Pyridin 12 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen und dann im Vakuum eingedampft. Den Rückstand löste man in wenig Alkohol und fügte einen 10fachen Überschuss 2N Kalilauge bei. Die Lösung wurde 15 Std. bei Zimmertemperatur gehalten und dann unter Eiskühlung angesäuert. Die Hydroxamsäure XXVI fiel dabei kristallin aus und wurde durch Kristallisation aus Methanol-Äther gereinigt. 2,3 g (81%) vom Smp. 74–75°.

$C_{14}H_{20}O_4N_2$ Ber. C 59,98 H 7,19 N 9,99% Gef. C 59,90 H 7,13 N 10,00%

1-Amino-4-(N-acetyl-hydroxylamino)-butan-hydrochlorid (XXVII-HCl). 1 g 1-Benzylloxycarbonylamino-4-(N-acetyl-hydroxylamino)-butan (XXVI) wurde in 25 ml Methylalkohol in Gegenwart von 200 mg 10-proz. Palladiumkohle und 1 Äquiv. methanolischer Salzsäure 4 Std. im Wasserstoffstrom gerührt. Nach Abtrennung des Katalysators wurde eingedampft und der Rückstand aus Methanol-Äther kristallisiert: 1,2 g (92%) feine Nadeln vom Smp. 161°.

$C_6H_{15}O_2N_2$ Ber. C 39,45 H 8,28 N 15,34 Cl 19,41%
Gef. „ 39,49 „ 8,36 „ 15,16 „ 19,49%

1-Amino-4-hydroxylamino-butan-dihydrochlorid (XXXII-2HCl). Eine Probe des 1-Amino-4-(N-acetyl-hydroxylamino)-butan-hydrochlorids (XXVII) wurde in 1N Salzsäure so lange auf 95° erwärmt, bis ein Tropfen der Lösung mit Eisen(III)-chlorid keine Farbreaktion mehr zeigte (ca. 30 Min.). Nach dem Eindampfen wurde der Rückstand aus Äthanol-Äther umkristallisiert: Smp. 136–138°.

$C_4H_{14}ON_2Cl_2$ Ber. C 27,13 H 7,97 N 15,82% Gef. C 27,33 H 8,14 N 15,80%

1-Benzoyloxycarbonylamino-6-hydroxy-15-(N-acetyl-hydroxylamino)-7,10-dioxo-6,11-diaza-pentadecan (XXVIII). 360 mg 1-Amino-4-(N-acetyl-hydroxylamino)-butan-hydrochlorid (XXVII) und 700 mg 2-(5'-Benzoyloxycarbonylamino-pentyl)-3,6-dioxo-tetrahydro-1,2-oxazin (XXIII) [8] wurden analog zur Herstellung der Hydroxamsäure XXI mit Natriummethylat umgesetzt. Aus Methanol-Äther umkristallisiert, Smp. 144–146°; Ausbeute 855 mg (89%).

$C_{28}H_{36}O_7N_4$ Ber. C 57,48 H 7,55% Gef. C 57,58 H 7,80%

1-Amino-6-hydroxy-15-(N-acetyl-hydroxylamino)-7,10-dioxo-6,11-diaza-pentadecan (XXIX). Das durch übliche katalytische Hydrierung mit 94-proz. Ausbeute hergestellte Hydrochlorid schmolz nach Umkristallisieren aus Methanol-Äther bei 147–148°.

$C_{15}H_{31}O_5N_4Cl$ Ber. C 47,05 H 8,16 N 14,65% Gef. C 46,75 H 8,46 N 14,34%

1-Benzoyloxycarbonylamino-6,17-dihydroxy-26-(N-acetyl-hydroxylamino)-7,10,18,21-tetraoxo-6,11,17,22-tetraaza-hexaeikosan (XXX). Aus 255 mg des Hydrochlorids der Base XXIX wurde wie bei XXIV beschrieben die Trihydroxamsäure XXX bereitet; Smp. 159–160°, Ausbeute 88%.

$C_{32}H_{52}O_{10}N_6$ Ber. C 56,45 H 7,70 N 12,35% Gef. C 56,30 H 7,92 N 12,21%

1-Amino-6,17-dihydroxy-26-(N-acetyl-hydroxylamino)-7,10,18,21-tetraoxo-6,11,17,22-tetraaza-hexaeikosan (XXXI). Durch Hydrogenolyse der Benzoyloxycarbonylverbindung XXX wurde das Hydrochlorid der Base XXXI quantitativ in schwerlöslichen farblosen Kristallen erhalten, die ohne Reinigung weiterverarbeitet wurden.

Eisenkomplex (Ferrioxamin A₁). Der wie beim Isomeren XXV hergestellte Eisenkomplex, ein amorphes orangebraunes Pulver, liess sich papierchromatographisch von natürlichem Ferrioxamin-A-hydrochlorid nicht unterscheiden und besass dessen biologische Wirkung im Antagonismus-Test [13].

Acetylderivat V. Das analog dem Isomeren VI aus dem Hydrochlorid der Base XXXI bereitete Acetylderivat blieb beim Ansäuern der alkalischen Lösung gelöst und wurde durch Ausschütteln mit *n*-Butanol isoliert. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol und wenig Äther, Smp. 146–147°; Misch-Smp. mit Desferri-N-acetyl-ferrioxamin A₁ ohne Erniedrigung. Das IR.-Absorptionsspektrum stimmte mit dem eines Vergleichspräparates aus dem Naturprodukt überein; Ausbeute 60%.

$C_{26}H_{48}O_9N_6$ Ber. C 53,04 H 8,22 N 14,28% Gef. C 53,00 H 8,24 N 14,32%

Papierchromatographisches Verhalten der Eisenkomplexe. – Je 2 mg der Acetylverbindungen V, VI und VII wurden in 1 ml Methanol gelöst, mit 3 mg Eisen(III)-chlorid in Methanol vermischt und mit etwas krist. Natriumacetat gepuffert. Nach mehrstündigem Stehen wurden diese Lösungen papierchromatographisch miteinander verglichen. Das Fließmittel Butanol-Eis-essig-Wasser 4 : 1 : 1 erlaubte keine Unterscheidung der drei Isomeren; diese gelang mittels des Systems V nach BICKEL [2]: *t*-Butanol – 0,004 N Salzsäure – gesätt. wäss. Kochsalzlösung 2 : 1 : 1; das Papier wird vor Gebrauch mit Aceton-Wasser-gesätt. NaCl-Lösung 6 : 3 : 1 imprägniert. Resultate s. Tabelle.

Papierchromatographische Rf-Werte der Eisenkomplexe im System V

N-Acetyl-ferrioxamin A ₁ (nat.): 0,68	Eisenkomplex von VII: 0,72
N-Acetyl-ferrioxamin A ₂ (nat.): 0,60	Eisenkomplex von VI: 0,65
	Eisenkomplex von V: 0,68

Die Mikroanalysen wurden in unserem Mikrolaboratorium (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

SUMMARY

The structures of the ferrioxamines A₁, A₂, and D₂, minor components of the sideramine mixtures from cultures of *Streptomyces*, have been determined by degradation and, in part, by synthesis. Whereas the previously investigated ferrioxamines B, D₁, E, and G contain but a single basic component, 1-amino-5-hydroxylamino-pentane, the ferrioxamines A₁, A₂, and D₂ contain in addition to this base its lower homologue, 1-amino-4-hydroxylamino-butane.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 48. Mitt.: R. HÜTTER, W. KELLER-SCHIERLEIN, J. NÜESCH & H. ZÄHNER, Arch. Mikrobiol. (im Druck).
- [2] H. BICKEL, R. BOSSHARDT, E. GÄUMANN, P. REUSSER, E. VISCHER, W. VOSER, A. WETTSTEIN & H. ZÄHNER, Helv. 43, 2118 (1960); vgl. auch H. BICKEL, E. GÄUMANN, W. KELLER-SCHIERLEIN, V. PRELOG, E. VISCHER, A. WETTSTEIN & H. ZÄHNER, Experientia 16, 129 (1960).
- [3] W. KELLER-SCHIERLEIN & V. PRELOG, Helv. 45, 590 (1962); V. PRELOG & A. WALSER, Helv. 45, 1732 (1962).
- [4] W. KELLER-SCHIERLEIN & V. PRELOG, Helv. 44, 709 (1961).
- [5] W. KELLER-SCHIERLEIN & V. PRELOG, Helv. 44, 1981 (1961).
- [6] H. BICKEL, G. E. HALL, W. KELLER-SCHIERLEIN, V. PRELOG, E. VISCHER & A. WETTSTEIN, Helv. 43, 2129 (1960).
- [7] H. BICKEL, H. KEBERLE & E. VISCHER, Helv. 46, 1385 (1963).
- [8] V. PRELOG & A. WALSER, Helv. 45, 631 (1962).
- [9] H. BICKEL, B. FECHTIG, G. E. HALL, W. KELLER-SCHIERLEIN, V. PRELOG & E. VISCHER, Helv. 43, 901 (1960).
- [10] H. ZÄHNER, W. KELLER-SCHIERLEIN, R. HÜTTER, K. HESS-LEISINGER & A. DEÉR, Arch. Mikrobiol. 45, 119 (1963).
- [11] T. EMERY & J. B. NEILANDS, J. Amer. chem. Soc. 82, 3658 (1960); 83, 1626 (1961); S. ROGERS & J. B. NEILANDS, Biochemistry 2, 6 (1963); W. KELLER-SCHIERLEIN & A. DEÉR, Helv. 46, 1907 (1963); W. KELLER-SCHIERLEIN, Helv. 46, 1920 (1963).
- [12] J. TURKOVÁ, O. MIKEŠ & F. ŠORM, Coll. czechoslov. chem. Commun. 27, 591 (1962).
- [13] H. ZÄHNER, R. HÜTTER & E. BACHMANN, Arch. Mikrobiol. 36, 325 (1960).

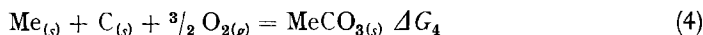
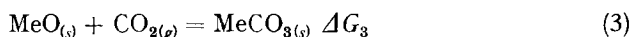
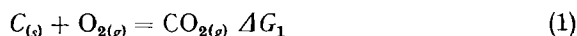
78. Zur Thermodynamik der Metallcarbonate

1. Mitteilung

**Löslichkeitskonstanten und Freie Bildungsenthalpie
von Cadmiumcarbonat,**
ein Beitrag zur Thermodynamik des ternären Systems $\text{Cd}_{\text{aq}}^{2+}$ - $\text{H}_2\text{O}_{(l)}$ - $\text{CO}_{2(g)}$
von H. Gamsjäger¹⁾, H. U. Stuber und P. Schindler

(12. III. 65)

Einleitung. – Die Freie Bildungsenthalpie eines Metallcarbonates MeCO_3 lässt sich aus den Freien Enthalpien folgender Reaktionen berechnen:



Das Ergebnis der eleganten Rechnung, die in der grundlegenden Arbeit von KELLEY & ANDERSON [1] vorwiegend zur Anwendung kam, kann meist nicht befriedigen, weil die Basiswerte nicht hinreichend genau bekannt sind. So bereitet die Selektion zuver-

¹⁾ Institut für physikalische Chemie der Montanistischen Hochschule Leoben, Österreich.