

195. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

174. Mitteilung¹⁾

Eine neue Synthese des Ferrichroms; *enantio*-Ferrichrom

von Hans-Ulrich Naegeli und Walter Keller-Schierlein

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule, 8092 Zürich

(8. VI. 78)

Metabolites of Microorganisms. A New Synthesis of Ferrichrome; *enantio*-Ferrichrome

Summary

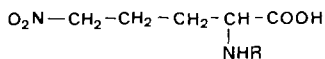
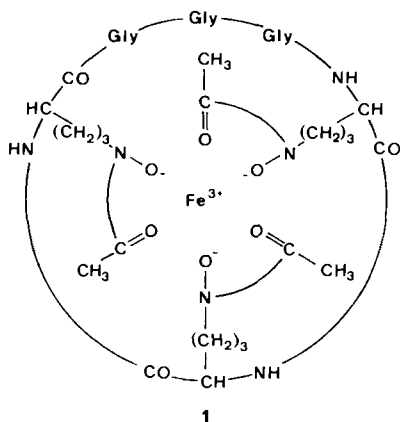
The enantiomer of the natural sideramine ferrichrome was synthesized starting from D-ornithine. The cyclohexapeptide (D-Orn)₃-Gly₃ was obtained by conventional methods of polypeptide chemistry. For the oxidation of the δ -amino groups of the D-ornithine residues to hydroxylamino groups the oxaziridine pathway was successful. The final steps - introduction of the acetyl groups and formation of the iron trihydroxamate complex - followed known procedures. The spectroscopic and chromatographic properties of the crystalline product corresponded to those of natural ferrichrome, the optical rotations and CD. curves being opposite. The biological activity of *enantio*-ferrichrome was similar to that of the natural sideramine.

Bei einer früheren Synthese von Ferrichrom (1) [2], dem Sideramin mancher Pilzstämme, verwendeten wir als Ausgangsmaterial für den Aufbau des Cyclohexapeptides das δ -Nitro-L-norvalin (2). Die bei der enzymatischen Spaltung des Racemats der Acetylderivate 3 anfallende N-Acetyl-D-aminosäure 4 [3] konnten wir bisher nicht ohne Veränderung an der Nitrogruppe zur freien δ -Nitro-D-aminosäure hydrolysieren, so dass sich die Synthese von *enantio*-Ferrichrom nach der früheren Methode nicht verwirklichen liess.

Eine 1974 von Isowa *et al.* [4] veröffentlichte Synthese des Ferrichroms ging von der L-Form des δ N-Tosyl- δ N-benzyl-oxy-ornithins (5) [5] aus, das als Racemat aus achiralen Bausteinen aufgebaut und enzymatisch in die Enantiomeren gespalten wurde. Über die Synthese des *enantio*-Ferrichroms aus der bekannten D-Form von 5 ist bisher nichts mitgeteilt worden.

Da sowohl L- wie D-Ornithin käufliche Substanzen sind, haben wir eine Synthese des Ferrichroms ausgehend von Ornithin angestrebt. Aus verschiedenen Gründen interessierte uns die Untersuchung der biologischen Eigenschaften von *enantio*-

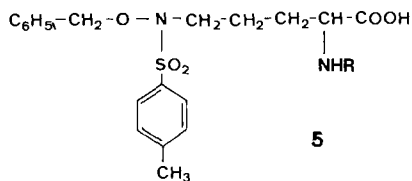
¹⁾ 173. Mitt. s. [1].



2 R = H, L-Form

3 R = CH₃CO, D,L-Form

4 R = CH₃CO, D-Form



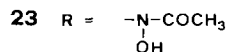
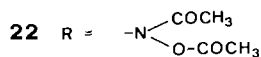
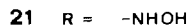
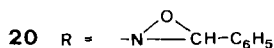
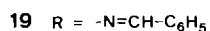
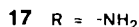
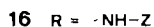
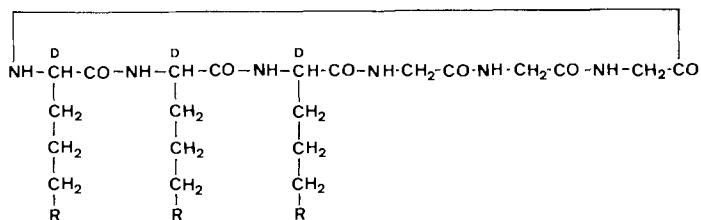
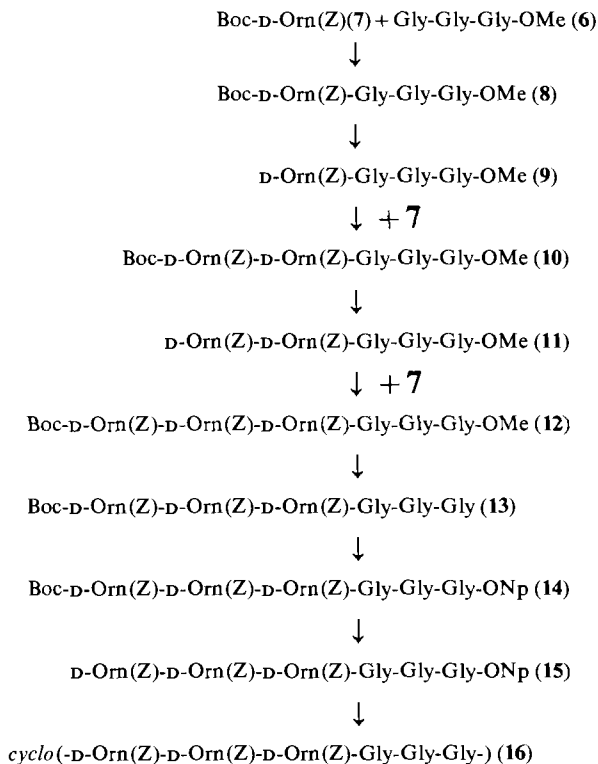
Ferrichrom, sodass im folgenden die Synthese des letzteren aus D-Ornithin beschrieben wird.

Der Aufbau des geschützten Hexapeptids **12** erfolgte nach gebräuchlichen Methoden der Polypeptidsynthese (s. *Schema 1*). Für die Knüpfung der Peptidbindungen diente die Methode der gemischten Anhydride (vgl. [2]). Zum Schutz des Carboxyl-Endes wurde Glycyl-glycyl-glycin mit Methanol verestert [6]. Bei den Ornithinbausteinen wurde die α -Aminogruppe durch die *t*-Butoxycarbonylgruppe (Boc) und die δ -Aminogruppe durch die Benzyloxycarbonylgruppe (Z) geschützt [7].

Zur Cyclisierung wurde das Hexapeptid **12** über die freie Säure **13** in den aktiven *p*-Nitrophenylester **14** übergeführt [2] [8]. Nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe [9] erfolgte der Ringschluss in hoher Verdünnung durch langsames Eintropfen von **15** in heisses Pyridin. Das cyclische Hexapeptid **16** konnte wegen seiner Schwerlöslichkeit in den meisten Lösungsmitteln gut von Nebenprodukten abgetrennt werden. Es wurde in schwankenden Ausbeuten von 20-53% als amorphes, blass gelbes Pulver erhalten.

Da bei Cyclisierungen von Peptiden wiederholt Cyclodimerisierung beobachtet worden war [4] [10], versuchten wir bereits auf der Stufe von **16** eine Korrelation

Schema 1



mit dem Naturstoff Ferrichrom. Abspaltung der Benzyloxycarbonylgruppen in **16** führte zum Triamin **17**, das zu **18** acetyliert wurde. Das Enantiomere des Triacetylderivates **18** wurde durch Hydrierung von natürlichem Ferrichrom mit Wasserstoff über Palladium erhalten (vgl. [11]). Die beiden Präparate zeigten

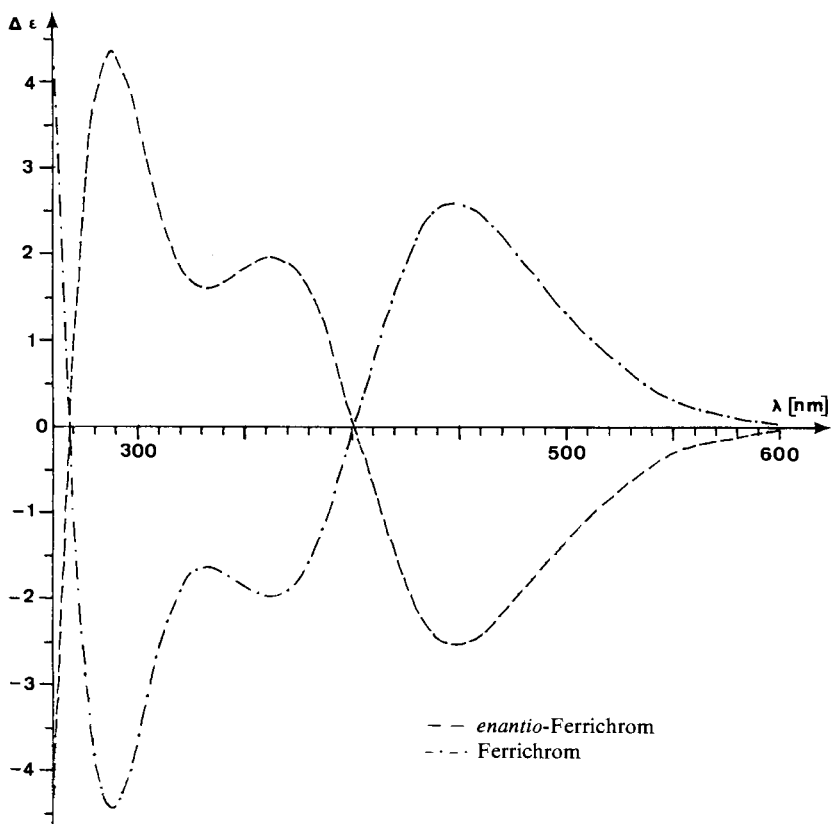


Fig. CD.-Spektren von natürlichem Ferrichrom und synthetischem enantio-Ferrichrom in Wasser

gleiches Verhalten bei der Dünnschichtchromatographie und gaben übereinstimmende Spektren. Die spezifischen Drehungen waren entgegengesetzt gleich.

Die Oxydation des Triamins **17** zur Tris(hydroxylamino)-Verbindung **21** via Schiff'sche Base **19** und Tris(oxaziridino)-Verbindung **20**, wurde aufgrund von Modellstudien mit Cyclohexylamin durchgeführt. Besonders war darauf zu achten, dass der Oxaziridin-Ring unter Bedingungen gespalten wurde, bei denen Peptidbindungen nicht hydrolysiert werden. Es war allerdings nicht notwendig, das besonders leicht spaltbare 3-(*p*-Methoxyphenyl)-oxaziridin [12] herzustellen. Bei der Behandlung des Tris(3-Phenylloxaziridin)-Derivates **20** mit 90proz. Trifluoressigsäure bei Zimmertemperatur wurde zwar zunächst ein Gemisch von Hydroxylaminen mit ca. 10% Nitronen erhalten. Da das Primärprodukt aber keinen aktiven Sauerstoff, d.h. kein **20**, mehr enthielt [13], wurde durch eine kurze Nachbehandlung mit verd. Salzsäure nahezu quantitativ das Tris(hydroxylamin) **21** als einheitliche Verbindung erhalten. Sie gab mit Triphenyltetrazoliumchlorid erwartungsgemäss eine starke Rotfärbung [14]. Schon nach einigen Stunden wurden aber Zersetzungsprodukte beobachtet, weshalb das Rohprodukt **21** sofort zum stabilen Hexaacetyl-Derivat **22** acetyliert wurde. Dieses verhielt sich chromatographisch gleich wie das durch Acetylierung von natürlichem Desferri-ferrichrom bereitete

Enantiomere. Die selektive Abspaltung der *O*-Acetylgruppen wurde wie üblich [15] mit Ammoniak in Methanol durchgeführt und gab die Trihydroxamsäure **23**, *enantio*-Desferri-ferrichrom. Der daraus bereitete Eisen(III)-Komplex wurde durch Chromatographie am *Amberlite* XAD-2 und Kristallisation aus Wasser/Acetonitril wesentlich einfacher als früher [2] gereinigt. Er zeigte den gleichen Smp. und Rf-Wert wie Ferrichrom. Die IR.-Spektren stimmten ebenfalls überein. Die spezifischen Drehungen und die CD.-Kurven (*Fig. 1*) waren entgegengesetzt gleich.

Das *enantio*-Ferrichrom besitzt im Vergleich zu Ferrichrom eine nur wenig verminderte Wirkung als Wachstoffsstoff für verschiedene Mikroorganismen [16]. Es vermag die Wirkung von Sideromycinen im Kreuztest aufzuheben [17] und bewirkt den Eisentransport in *E. coli* [18] etwa gleich gut wie das natürliche Sideramin²⁾. Dieses ungewöhnliche Fehlen von Stereospezifität ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Der ETH Zürich danken wir für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Allgemeines. IR.-Spektren: Angaben in cm^{-1} . NMR.-Spektren: auf *Varian* HA-100 oder *Varian* T-60; Angabe der chemischen Verschiebung in ppm relativ zu TMS (= 0 ppm); mit D_2O austauschbare Protonen sind mit H* bezeichnet. Dünnschichtchromatographie (DC): Fertigplatten F_{254} (*Merck*); Fliessmittel: Chloroform/Methanol/Wasser 65:25:4; Anfärbung mit Joddampf, freie Amine mit Ninhydrin (0,1proz. in Butanol/Eisessig 300:1). Optische Drehungen: *Zeiss*-Polarimeter 141 oder *Perkin-Elmer* Polarimeter 241, 1-dm-Rohr.

[*N*²-(*t*-Butoxycarbonyl)-*N*⁵-benzyloxycarbonyl-D-ornithyl]-glycyl-glycyl-glycin-methylester (**8**). Zu 2,55 g (6,97 mmol) *N*²-(*t*-Butoxycarbonyl)-*N*⁵-benzyloxycarbonyl-D-Ornithin (**7**) [7] in 25 ml abs. Tetrahydrofuran und 3,2 g *N*-Methylmorpholin wurden bei -15° 950 mg Chlorameisensäure-isobutylester getropft. Nach 10 Min. wurden 1,66 g (6,97 mmol) Glycyl-glycyl-glycin-methylester-hydrochlorid (**6**·HCl) [6] und 700 mg *N*-Methylmorpholin in Dimethylformamid zugegeben. Nach 50 Min. Stehen bei 20° wurde i.V. eingedampft, der Rückstand in 500 ml Essigester aufgenommen und nacheinander mit 5proz. wässriger Zitronensäure, 5proz. Natriumhydrogencarbonat und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft: 3,55 g (87%) farbloses, glasiges **8**. DC.: einheitlich, Rf 0,66. $[\alpha]_{\text{D}} = +1,7^\circ$ ($c = 1,12$, Methanol). - IR. (CHCl_3): 3420, 3320, 1740, 1700-1670 br., 1510. - ¹H-NMR. (CDCl_3): 1,46 (s, 9 H); 1,66 (br., 4 H); 3,23 (br., 2 H); 3,75 (s, 3 H); 3,8-4,1 (m, 6 H); 4,31 (br., 1 H); 5,16 (s, 2 H); 5,8 (br., 2 H*); 7,41 (s, 5 H); 7,7 (br., 3 H*).

[*N*⁵-Benzyloxycarbonyl-D-ornithyl]-glycyl-glycyl-glycin-methylester-hydrochlorid (**9**·HCl). 7,05 g (12,8 mmol) geschütztes Tetrapeptid **8** in 70 ml abs. Dimethoxyäthan (über LiAlH_4 dest.) und 70 ml bei 0° mit Chlorwasserstoff gesättigtes Dimethoxyäthan [19] wurden 30 Min. bei RT. unter Feuchtigkeitsausschluss gerührt und dann i.V. auf ca $\frac{1}{4}$ des Volumens eingengt. Durch Zufügen von 70 ml abs. Äther bildete sich ein weisser Niederschlag, der abfiltriert und mit Äther gewaschen wurde. Nach Umfällen aus Methanol/Äther/Benzol 1:1:2 wurden 5,45 g (87%) **9**·HCl, als amorphes, farbloses Pulver erhalten. $[\alpha]_{\text{D}} = -20,5^\circ$ ($c = 1$, Methanol). DC.: einheitlich, Rf 0,66. - IR. (KBr): 1750, 1680, 1655, 1545. - ¹H-NMR. (D_2O): 1,86 (br., 4 H); 3,26 (t, $J = 6, 2$ H); 3,85 (s, 3 H); 4,15 (br., 7 H); 5,23 (s, 2 H); 7,56 (s, 5 H).

[*N*²-(*t*-Butoxycarbonyl)-*N*⁵-benzyloxycarbonyl-D-ornithyl]-[*N*⁵-benzyloxycarbonyl-D-ornithyl]-glycyl-glycyl-glycin-methylester (**10**). Aus 2,85 g (7,78 mmol) **7** und 3,79 g (7,78 mmol) Tetrapeptid **9**·HCl wurden bei gleicher Durchführung und Aufarbeitung wie oben 5,78 g (93%) geschütztes Pentapeptid **10** als blass gelbliches, amorphes Pulver erhalten. $[\alpha]_{\text{D}} = +9,8^\circ$ ($c = 1,1$ in Methanol). DC.: einheitlich,

²⁾ Den Herren Prof. Dr. V. Braun und Prof. Dr. H. Zähler, Tübingen, danke ich für die Mitteilung dieser Ergebnisse.

Rf. 0,7. - IR.(KBr): 1750 Sch., 1690, 1660, 1525. - ¹H-NMR. (Methanol-d₄): 1,41 (s, 9 H); 1,63 (br., 8 H); 3,15 (br. t, J=6, 4 H); 3,70 (s, 3 H); 3,94 (m, 6 H); 4,08 (br., 1 H); 4,34 (m, 1 H); 5,09 (s, 4 H); 7,38 (s, 10 H).

[N⁵-Benzyloxycarbonyl-D-ornithyl]-[N⁵-benzyloxycarbonyl-D-ornithyl]-glycyl-glycyl-glycin-methylester hydrochlorid (**11** · HCl). 7,35 g (9,20 mmol) **10** wurden mit 30 ml 70proz. wässriger Trifluoressigsäure 1 Std. 20 Min. bei RT. gespalten. Der Rückstand nach dem Eindampfen i.V. wurde mehrmals mit abs. Äther verrieben und abdekantiert und gab 7,48 g (100%) **11** · CF₃COOH als farbloses, amorphes Pulver. - ¹H-NMR. (Methanol-d₄): 1,71 (br., 8 H); 3,15 (br. t, J=6, 4 H); 3,70 (s, 3 H); 3,95 (br., 6 H); 4,0-4,4 (br., 2 H); 5,08 (s, 4 H); 7,35 (s, 10 H).

Das in wenig Wasser gelöste Trifluoacetat wurde bei 0° mit 2 g festem Natriumhydrogencarbonat und dann mit 200 ml 5proz. Natriumhydrogencarbonat in Wasser versetzt [20] und 3mal mit je 200 ml Butanol ausgeschüttelt. Nach dem Einengen i.V. wurde in 200 ml Methanol aufgenommen und Chlorwasserstoffgas eingeleitet. Der nach dem Eindampfen zurückbleibende Sirup wurde mit Methanol an Sephadex LH-20 (55 × 3 cm) chromatographiert und gab 6,61 g (97%) **11** · HCl als farbloses Pulver, Smp. 88-90°, [α]_D = -8,5° (c=0,86, Methanol). DC.: einheitlich, Rf 0,5. - IR. (KBr): 1750 Sch. 1690-1660, 1530. - ¹H-NMR.: gegenüber demjenigen des Trifluoacetats kaum verändert.

[N²-(t-Butoxycarbonyl)-N⁵-benzyloxycarbonyl-D-ornithyl]-[N⁵-benzyloxycarbonyl-D-ornithyl]-[N⁵-benzyloxycarbonyl-D-ornithyl]-glycyl-glycyl-glycin-methylester (**12**). Aus 3,10 g (8,48 mmol) **7** wurde wie oben das gemischte Anhydrid bereitet und mit 6,18 g (8,41 mmol) rohem **11** · HCl umgesetzt. Der nach dem Eindampfen bleibende rote, klebrige Rückstand wurde nacheinander je 3mal mit 100 ml 5proz. wässriger Zitronensäure, 5proz. Natriumhydrogencarbonat und Wasser verrieben und das zurückbleibende gelbliche Pulver aus heissem abs. Methanol mit Hexan umgefällt: 7,21 g (81%) farbloses Pulver, Smp. 158-160°, [α]_D = +4,0° (c=0,95, DMSO). DC.: einheitlich, Rf 0,73. - IR. (KBr): 1750 Sch., 1690, 1630, 1530 cm⁻¹. - ¹H-NMR. (DMSO-d₆): 1,37 (s, 9 H); 1,48 (br., 12 H); 3,00 (br. 6 H); 3,64 (s, 3 H); 3,77-3,90 (m, 6 H); 4,32 (br., 3 H); 5,05 (s, 6 H); 6,90 (br., 1 H*); 7,25 (br., 3 H*); 7,40 (s, 15 H); 7,85 (br., 1 H*); 8,22 (br., 4 H*).

C₅₁H₆₉N₉O₁₅ (1048,15) Ber. C 58,44 H 6,64 N 12,03% Gef. C 58,08 H 6,73 N 11,92%

[N²-(t-Butoxycarbonyl)-N⁵-benzyloxycarbonyl-D-ornithyl]-[N⁵-benzyloxycarbonyl-D-ornithyl]-[N⁵-benzyloxycarbonyl-D-ornithyl]-glycyl-glycyl-glycin (**13**). Zu 4,8 g (4,59 mmol) **12** in 270 ml Dioxan und je 61 ml 1N NaOH und Wasser wurde unter Rühren Methanol getropft, bis die Lösung klar wurde. Nach weiteren 45 Min. war in DC. kein Ester mehr nachweisbar. Darauf wurde mit konz. Salzsäure auf pH 6 neutralisiert und das organische Lösungsmittel i.V. weitgehend abgedampft. Der wässrige Rückstand wurde mit 250 ml 5proz. Zitronensäure verdünnt und mit NaCl gesättigt. Nach 3maligem Ausschütteln mit Essigester/Butanol 5:1, Waschen mit Kochsalzlösung, Trocknen mit Magnesiumsulfat und Eindampfen i.V. wurden 4,73 g (100%) Säure **13** als amorphes Pulver erhalten, [α]_D = +4° (c=0,614, DMSO). DC.: einheitlich, Rf 0,32. - IR. (KBr): 1690, 1635, 1530. - ¹H-NMR. (DMSO-d₆): 1,35 (s, 9 H); 1,44 (br., 12 H); 2,95 (br., 6 H); 3,72 (br., 6 H); 4,24 (br., 3 H); 4,96 (s, 6 H); 6,81 (br., 1 H*); 7,14 (br., 3 H*); 7,28 (s, 15 H); 7,75 (br. d, J=7, 1 H*); 7,95 (br., 1 H*); 8,08 (br. t, J=5,5, 3 H*).

p-Nitrophenylester **14**. Zu 4,73 g (4,58 mmol) Säure **13** in 120 ml abs. Pyridin/Essigester 1:1 wurden bei 40° in kleinen Portionen 4,7 g (14,5 mmol) frisch bereitetes Di(p-nitrophenyl)sulfit [8] gegeben. Nach 15 Min. war im DC. kein Ausgangsmaterial mehr nachweisbar. Die Lösung wurde unter Zusatz von Benzol bei 40° i.V. eingedampft, der Rückstand in 250 ml Essigester/Butanol 4:1 aufgenommen und 2mal mit je 100 ml 2,5proz. Zitronensäure und Wasser gewaschen. Der sirup-artige Eindampfrückstand gab nach dem Verreiben mit Äther/Petroläther 1:1 5,25 g (99%) p-Nitrophenylester **14** als hellbraunes Pulver. DC.: Rf 0,80, Spuren von Verunreinigungen mit Rf ca. 0,5. Eine Analysenprobe wurde aus DMSO/Wasser umgefällt: [α]₅₇₈ = +3,8° (c=0,94, DMSO). - IR. (KBr): 1765, 1690, 1660, 1525. - ¹H-NMR. (DMSO-d₆): 1,35 (s, 9 H); 1,46 (br., 12 H); 2,95 (br., 6 H); 3,76 (br., 6 H); 4,2 (m, 3 H); 4,98 (s, 6 H); 6,8 (br. d, J=7, 1 H*); 7,12 (br., 3 H*); 7,28 (s, 15 H); 7,40 und 8,28 (AA'BB', 4 H); 7,75 (br. d, J=7, 1 H); 7,95-8,48 (m, 4 H*).

Hydrochlorid des p-Nitrophenylesters **15**. 5,25 g (4,54 mmol) **14** wurden in 180 ml 0,1N Chlorwasserstoff in Ameisensäure 30 Min. bei 20° stengelassen. Dann wurde i.V. eingedampft. Der harzartige Rückstand war gemäss DC. einheitlich (Rf 0,6), mit Ninhydrin anfärbbar. Dieses Produkt wurde ohne weitere Reinigung für die Cyclisierung eingesetzt.

cyclo[-Tri(N⁵-benzyloxycarbonyl-D-ornithyl)-triglycyl] (**16**). Das aus 1,906 g **14** hergestellte **15** · HCl in 260 ml Dimethylformamid/Eisessig 25:1 wurde unter starkem Rühren innerhalb von 10 Std. in

2800 ml (60–65°)-heisses abs. Pyridin getropft. Nach weiteren 2 Std. wurde i.V. eingeeengt. Aus dem braunen öligen Rückstand schieden sich 822 mg bräunliches Pulver ab, das auf der Nutsche gesammelt wurde. Umfällen aus heissem Dimethylsulfoxid/Wasser ergab 807 mg (53%) **16** als gelbliches Pulver. DC.: einheitlich, Rf 0,53. $[\alpha]_D = +13,7^\circ$ ($c = 0,95$, DMSO). - IR. (KBr): 1690, 1670, 1650, 1620, 1525. - ¹H-NMR. (DMSO-*d*₆): 1,2–2,0 (br., 12 H); 2,97 (br., 6 H); 3,54–4,32 (*m*, 9 H); 4,97 (*s*, 6 H); 7,17 (br., 3 H*); 7,28 (*s*, 15 H); 7,66–8,42 (*m*, 6 H*).

In den Mutterlaugen waren *p*-Nitrophenol und mehrere, meist ninhydrinpositive Nebenprodukte nachweisbar.

cyclo[-Tri(*D*-ornithyl)-triglycyl-] (**17**). 547 mg (0,60 mmol) geschütztes Cyclohexapeptid **16** wurden bei 30° in 25 ml 33proz. Bromwasserstoff in Eisessig gelöst und nach 15 Min. i.V. eingedampft. Nach mehrmaligem Verreiben mit Äther wurden 442 mg Tris(hydrobromid) als beiges hygroskopisches Pulver erhalten, das in 5 ml Wasser gelöst an Amberlite IR-45 (OH-Form, 12×1,5 cm) chromatographiert wurde. Die ninhydrinpositiven Fraktionen gaben beim Eindampfen 304 mg (98%) freie Base **17** als farbloses Pulver, $[\alpha]_D = +16^\circ$ ($c = 2,5$, Wasser). - IR. (KBr): 1650, 1535. - ¹H-NMR. (D₂O): 1,7 (br., 12 H); 2,7 (*t*, *J* = 6, 6 H); 4,0 (*m*, 6 H); 4,35 (*m*, 3 H).

Triacetylderivat **18**. Aus 50 mg **16** wie oben bereitetes **17**·3 HBr wurde mit 4 ml Pyridin/Essigsäureanhydrid 1:1 in 2 ml Dimethylformamid über Nacht acetyliert. Der Eindampfrückstand, in wenig Wasser gelöst, wurde an Sephadex G-15 (34×2 cm) mit Wasser als Eluierungsmittel chromatographiert. Die gemäss DC. einheitlichen Fraktionen wurden darnach an Dowex-50 (3×0,5 cm), dann an Amberlite IR-45 (OH-Form, 3×0,5 cm) chromatographiert. Eindampfen gab 12 mg farbloses Glas, $[\alpha]_{365} = +33,3^\circ$ ($c = 1,17$, Wasser), $[\alpha]_D = +8,2^\circ$ ($c = 1,17$, Wasser). DC., IR. und NMR. wie das nachfolgend beschriebene Enantiomere von **18**.

Enantiomeres von **18** aus Ferrichrom (vgl. [11]). 125 mg natürliches Ferrichrom in 7 ml Wasser wurden mit 5 mg PdO₂ in H₂-Atmosphäre gerührt. Nach 8 Std. wurde abfiltriert und das Filtrat durch eine Säule aus Dowex-50 (3×0,5 cm) percoliert. Die nach dem Eindampfen erhaltene glasige Masse (92 mg, 85%) kristallisierte nach mehreren Wochen aus Methanol/Aceton in farblosen Nadeln, Smp. ca. 260° (Zers.). DC.: einheitlich, Rf 0,15. $[\alpha]_{365} = -33,3^\circ$ ($c = 0,99$, Wasser), $[\alpha]_D = -8,5^\circ$ ($c = 0,99$, Wasser). - IR. (KBr): 1660, 1615, 1530. - ¹H-NMR. (D₂O): 2,0 (br., 6 H); 2,25 (br., 6 H); 2,37 (*s*, 9 H); 3,58 (br. *t*, *J* = 6, 6 H); 4,40 (*m*, 6 H); 4,73 (br. *d*×*d*, *J*₁ = 6, *J*₂ = 14, 3 H).

Schiffsche Base **19**. Zu 112 mg (0,22 mmol) freier Base **17** in 0,5 ml Wasser wurden bei 4° 68 µl (0,66 mmol) Benzaldehyd getropft und die entstandene Emulsion mit etwas Methanol geklärt. Während 20 Min. wurden ca. 9 ml Wasser zugetropft, wobei die Schiffsche Base als farbloser Niederschlag ausfiel. Dieser wurde auf der Nutsche mit Wasser und wenig Methanol gewaschen und getrocknet: 128 mg (75%) amorphes Pulver, Smp. ca. 240° (Zers.), $[\alpha]_D = +7,6^\circ$ ($c = 0,86$, DMSO). In DC. wurde das Produkt wieder in freie Base und Benzaldehyd gespalten. - IR. (KBr): 1660, 1640, 1575_w, 1520. - ¹H-NMR. (DMSO-*d*₆): 1,73 (br., 12 H); 3,55 (br., 6 H); 3,75 (br., 6 H); 3,9–4,5 (br., 3 H); 7,3–7,85 (*m*, 15 H); 7,8–8,6 (*m*, 6 H*), 8,30 (*s*, 3 H).

Tris(oxaziridino)-Verbindung **20**. 147,7 mg (0,19 mmol) Schiffsche Base **19**, suspendiert in 1 ml Methylenchlorid, wurden bei 5° unter Rühren in kleinen Portionen mit 133,6 mg (0,625 mmol) fester *m*-Chlorperbenzoesäure versetzt. Durch langsames Zutropfen von 3 ml Methanol entstand eine nahezu klare Lösung, die noch 2 Std. bei RT. gerührt wurde. Nach Zugabe von 4 ml 2,5proz. Natriumhydrogencarbonat wurde das organische Lösungsmittel i.V. abgedampft. Aus dem wässrigen Rückstand fiel **20** in der Kälte aus. Nach dem Waschen mit Wasser und Methanol wurden 133,7 mg (85%) amorphes, farbloses Pulver erhalten. DC.: einheitlich, Rf 0,66, Braunfärbung beim Besprühen mit Kaliumjodid/Stärke-Lösung und Schwefelsäure. $[\alpha]_D = +8,8^\circ$ ($c = 1,06$, DMSO). - IR. (KBr): 1660, 1520. - ¹H-NMR. (DMSO-*d*₆): 1,77 (br., 12 H); 2,4–3,3 (br., 6 H); 3,77 (br., 6 H); 3,8–4,6 (br., 3 H); 4,77 (*s*, 3 H), charakteristisch für *trans*-Oxaziridine [21]); 7,4 (*s*, 15 H); 7,2–8,8 (*m*, 6 H*).

Tris(hydroxylamino)-Verbindung **21**. 300 mg (0,363 mmol) Tris(oxaziridin)-Verbindung **20** wurden mit 15 ml 90proz. wässriger Trifluoressigsäure 40 Min. bei RT. stehen gelassen, wonach Kaliumjodid/Stärke-Lösung auf der Tüpfelplatte nicht mehr oxydiert wurde. Nach dem Eindampfen enthielt der Rückstand gemäss DC. nebst Benzaldehyd mehrere Verbindungen, die z.T. noch aromatische Reste enthielten (Fluoreszenzlöschung auf der DC.-Platte; Nitrone). Er wurde daher 20 Min. mit 15 ml *N* Salzsäure bei RT. nachbehandelt. Darauf zeigte das DC. nebst Benzaldehyd nur noch eine Komponente, die sich mit Triphenyltetrazoliumchlorid anfärben liess (charakteristisch für Hydroxylamine). Durch Eindampfen i.V. wurde ein glasiges Produkt erhalten, das an Dowex-50 (H-Form, 9×1,2 cm) aus Methanol/Wasser 1:4 adsorbiert wurde. Nach Waschen mit Methanol/Wasser 1:1 wurde mit

3proz. wässrigen Ammoniak/Methanol 3:1 eluiert. Die triphenyltetrazolium-positiven Fraktionen gaben 187 mg (92%) glasigen Schaum, $[\alpha]_D = +18^\circ$ ($c=0,976$, Wasser). - IR. (KBr): 1650, 1530. - $^1\text{H-NMR}$. (D_2O): 1,3-2,65 (br., 12 H); 2,9 (br. t, $J=6$, 6 H); 4,0 (br., 6 H); 4,2-4,5 (m , 3 H).

enantio-Ferrichrom (enantio-1). 187 mg (0,333 mmol) Tris(hydroxylamin) **21** wurden in 2 ml Dimethylformamid mit 20 ml Pyridin/Essigsäureanhydrid 1:1 2 Std. bei 20° acetyliert. Eindampfen i.V. ergab das Hexaacetyl-Derivat **22** als gelben glasigen Rückstand. DC.: Rf 0,5 wie das durch Acetylieren von natürlichem Desferri-ferrichrom erhaltene Enantiomere von **22** (Joddampf positiv, Triphenyltetrazoliumchlorid negativ, FeCl_3 negativ).

Das rohe Acetylierungsprodukt wurde mit 10 ml methanolischem Ammoniak (bei 0° gesättigt) 1 Std. stehen gelassen [2]. Eindampfen i.V. gab **23** als ein farbloses Glas. DC.: Rf 0,25 wie natürliches Desferri-ferrichrom, FeCl_3 positiv.

Die rohe Trihydroxamsäure **23** wurde mit 500 mg Eisen(III)chlorid und 2 g Natriumacetat in 8 ml Wasser/Methanol 1:1 in den braunen Eisenkomplex übergeführt. Nach 1 Std. Stehen bei RT. wurde auf die Hälfte eingengt und der Rückstand an Amberlite XAD-2 ($21 \times 1,2$ cm) adsorbiert. Die Säule wurde mit 100 ml Wasser gewaschen und mit Alkohol/Wasser 4:1 eluiert. Die orangenbraunen Fraktionen gaben beim Eindampfen 145 mg amorphes Rohprodukt. Nach Chromatographieren an Sephadex G-15 (48×2 cm) und Umkristallisieren aus Wasser/Acetonitril wurden 88 mg (0,119 mmol) filzige, orange Nadeln erhalten. Die Mutterlaugen und Nebenfraktionen der Chromatographie gaben durch präp. DC. (Kieselgel, Chloroform/Methanol 3:2) und Umkristallisieren weitere 33 mg reines enantio-Ferrichrom. Ausbeute 49% bzgl. **21**, Smp. $240-250^\circ$ (Zers.). DC.: Rf 0,4, wie natürliches Ferrichrom. $[\alpha]_D = -319,7^\circ$ ($c=0,027$, Wasser). In gleicher Weise gereinigtes natürliches Ferrichrom: $[\alpha]_D = +320^\circ$ ($c=0,04$, Wasser). - IR. (KBr): völlige Übereinstimmung. CD.-Kurven: s. *Figur 1*.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. V. Höltje, J. Bacteriol. (im Druck).
- [2] W. Keller-Schierlein & B. Maurer, Helv. 52, 603 (1969).
- [3] B. Maurer & W. Keller-Schierlein, Helv. 52, 388 (1969).
- [4] Y. Isowa, M. Ohmori & H. Kurita, Bull. chem. Soc. Japan 47, 215 (1974).
- [5] Y. Isowa, T. Takashima, M. Ohmori, H. Kurita, M. Sato & K. Mori, Bull. chem. Soc. Japan 45, 1461 (1972).
- [6] L. A. A. Shlyterman & M. Kooistra, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 71, 277 (1952).
- [7] T. Kato & N. Izumiya, Bull. chem. Soc. Japan 39, 2242 (1966).
- [8] B. Iselin, W. Rittel, P. Sieber & R. Schwyzer, Helv. 40, 373 (1957); B. Iselin & R. Schwyzer, Helv. 43, 1760 (1960).
- [9] K. Okamoto, K. Nonaka & N. Izumiya, Bull. chem. Soc. Japan 50, 231 (1977).
- [10] R. Schwyzer & P. Sieber, Helv. 41, 2186 (1958).
- [11] S. J. Rogers, R. A. J. Warren & J. B. Neilands, Nature 200, 167 (1963).
- [12] M. Ohno, H. Iinuma, N. Yagisawa, S. Shibahara, Y. Suhara, S. Kondo, K. Maeda & H. Umezawa, Chem. Commun. 1973, 147; J. Widmer & W. Keller-Schierlein, Helv. 57, 657 (1974).
- [13] L. Horner & E. Jürgens, Chem. Ber. 90, 2184 (1957).
- [14] H. Bickel, B. Fechtig, G. E. Hall, W. Keller-Schierlein, V. Prelog & E. Vischer, Helv. 43, 901 (1960).
- [15] W. Keller-Schierlein, Helv. 46, 1920 (1963).
- [16] H. Zähler, W. Keller-Schierlein, R. Hütter, K. Hess-Leisinger & A. Déer, Arch. Mikrobiol. 45, 119 (1963).
- [17] W. Keller-Schierlein, V. Prelog & H. Zähler, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe 22, 279 (1964).
- [18] K. Hantke & V. Braun, FEBS Letters 49, 301 (1975).
- [19] D. A. Laufer & E. R. Blout, J. Amer. chem. Soc. 89, 1246 (1967).
- [20] E. Schnabel, H. Klostermeyer & H. Berndt, Liebigs Ann. Chem. 749, 90 (1971).
- [21] D. M. Jerina, D. R. Boyd, L. Paolillo & E. D. Becker, Tetrahedron Letters 1970, 1483.