

96. Naturstoffe aus Mikroorganismen

7. Mitteilung [1]

Synthese von racemischen Proferrorosamin und Ferrorosamin¹⁾

von André Marcel Helbling und Max Viscontini

Organisch-chemisches Institut der Universität, Rämistrasse 76, CH-8001 Zürich

(15. III. 76)

Synthesis of Racemic Proferrorosamin and Ferrorosamin A. – *Summary.* The synthesis of proferrorosamin starting from methyl 2-phenylacetamido-acrylate and ethyl 3-oxo-3-(2-pyridyl)-propionate is described. Proferrorosamin A is complexed with Fe^{2+} and isolated as pure ferrorosamin A.

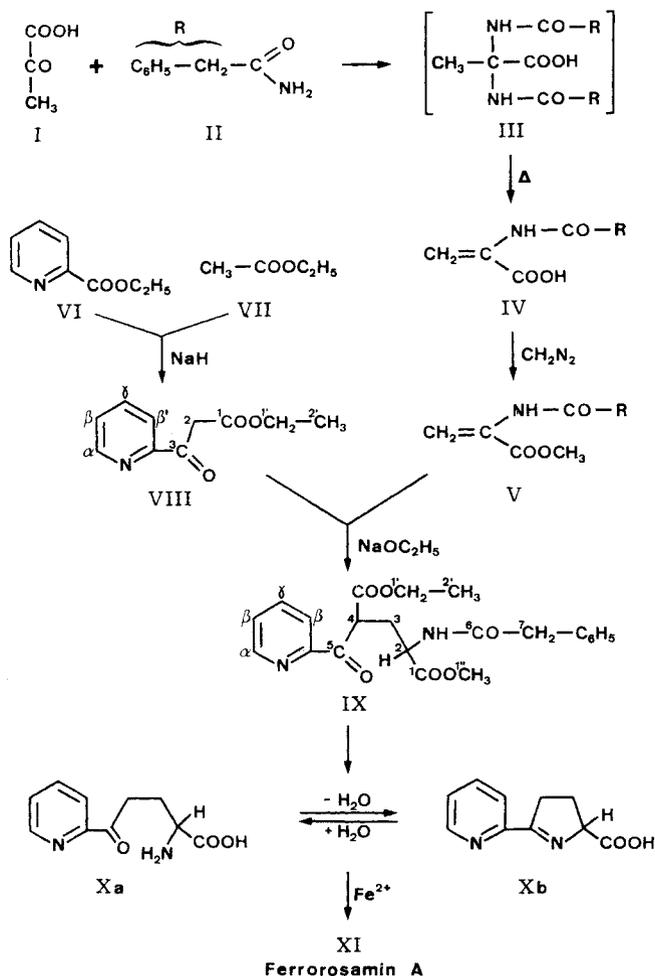
Für weitere biologische Versuche zur Abklärung der Bedeutung des Ferrorosamins A für das Wachstum des Bakteriums *Pseudomonas roseus fluorescens* J. C. MARCHAL 1937 benötigen wir synthetisches Proferrorosamin A und dessen Fe^{2+} -Komplex, das Ferrorosamin A. Eine von Neilands & Shiman [2] publizierte Synthese dieser Substanz ergab in von uns mehrmals wiederholten und sorgfältig überprüften Reaktionsschritten in keinem Fall das gewünschte Endprodukt; deswegen stellten wir Proferrorosamin A und dessen Fe^{2+} -Komplex auf dem in *Schema 1* angegebenen Weg her.

Das Phenylacetamid (II) wird mit Brenztraubensäure (I) zur 2,2-Diphenylacetamido-propionsäure (III) kondensiert [3], welche anschliessend durch Abspaltung einer Molekel Phenylacetamid zur 2-Phenylacetamido-acrylsäure (IV) führt [3]. Eine milde Behandlung der Säure IV mit Diazomethan gibt den entsprechenden Ester V [4]. Als Nucleophil für die *Michael*-Addition an V haben wir den 3-Oxo-3-(2-pyridyl)-propionsäureäthylester (VIII) gewählt, welcher durch Kondensation von Picolinsäureäthylester (VI) und Essigester (VII) in Benzol mit stöchiometrischer Menge NaH als katalysierende Base leicht und in hoher Reinheit gebildet wird. Der Acrylsäureester V lagert VIII in Gegenwart einer katalytischen Menge Natriumäthylat in Äthanol unter Bildung von IX an, welches nach hydrolytischer Abspaltung des *N*-Phenylacetyl-Restes, Decarboxylierung und Versetzen mit Fe^{2+} in das racemische Ferrorosamin A (XI) umgewandelt wird. Die im experimentellen Teil beschriebene Isolierung des synthetischen Pigmentes gestaltet sich wesentlich einfacher als diejenige des in der Bakterienlösung biologisch gebildeten Produktes²⁾. Die beiden Verbindungen sind völlig identisch. Zur weiteren Charakterisierung wird das synthetische Ferrorosamin A zu Apoferrorosamin (XII) decarboxyliert [5], welches mit dem synthetischen Produkt [6] völlig übereinstimmt.

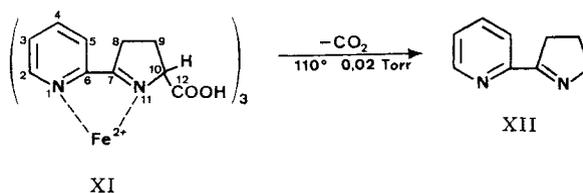
¹⁾ Teil der Dissertation von A. M. Helbling, Universität Zürich, 1975.

²⁾ Eine ausführliche Mitteilung über die mikrobiologische Herstellung, die Isolierung und den chemischen Abbau dieses Naturproduktes wird demnächst in dieser Zeitschrift erscheinen.

Schema 1



Schema 2



Experimenteller Teil

3-Oxo-3-(2-pyridyl)-propionsäure-äthylester (VIII). Zu einer Suspension von 0,5 g (12 mmol) NaH in 25 ml Benzol in einem mit Rückflusskühler, Trockenrohr (CaCl₂) und Tropftrichter versehenen Zweihalskolben werden 1,35 ml (10 mmol) destillierter Picolinsäureäthylester bei

60° gegeben. Danach tropft man unter Rühren eine Lösung von 1,5 ml (15 mmol) Essigester zu. Nach 20 Min. wird die Mischung langsam auf 70° erwärmt, wobei nach 1 Std. ein weisser Niederschlag ausfällt. Nach 15 Min. Weiterrühren lässt man erkalten, versetzt den Brei mit Wasser und äthert aus. Die wässrige Lösung wird langsam mit 0,5N HCl auf pH 1–2 gebracht, ausgeäthert, die ätherische Phase eingeeengt und der Rückstand i. V. destilliert (108–111°/0,07 Torr): 1,75 g VIII (90%). – NMR. (100 MHz, CCl₄; unter diesen Bedingungen liegt VIII als Keto-Enol-Gemisch (ca. 1:1) vor): 12,35 (br. s, HO–C(3)); 8,64 (*d* × *d*, *J* = 4,0 und 1,0, H–C(α)); 7,7–8,1 (*m*, H–C(β') + H–C(γ)); 7,25–7,55 (*m*, H–C(β)); 6,36 (*s*, ca. 1H von 2H–C(2) (Enolform)); 4,05–4,4 (*m*, 2H–C(1') + ca. 1H von 2H–C(2) (Ketoform)); 1,24 und 1,35 (*t*, 3H–C(2')).

Diäthylester IX. Zu einer Lösung von 0,04 g (1,75 Äquir.) Natrium in 30 ml Äthanol wird 0,92 g (5 mmol) frisch destilliertes VIII gegeben, wobei das gelbliche Na-Enolat ausfällt. Danach wird während 1 Std. unter Rühren bei 30–50° eine Lösung von 1,03 g (5 mmol) V und 30 ml Äthanol zugegeben. Nach 2 Std. ist das Gemisch klar, es wird weitere 4 Std. bei 22° gerührt und dann i. V. eingedampft. Zum gelben Rückstand wird wenig Wasser gegeben. Nach dem Ausschütteln mit Äther wird der pH der Lösung mit 0,5N HCl auf 3–4 eingestellt und der Rest von IX mit Äther extrahiert. Eindampfen der Ätherphasen liefert den Diester IX als ein bräunliches Öl, welches auf einer Kieselgel-Säule (KG 60 *Merck*, 70–230 mesh ASTM) mit Petroläther (60–90°)/Essigester 1:1 chromatographiert wird: Ausbeute 60%. Das Hauptprodukt zeigt folgende Rf-Werte (DC. Kieselgel): 0,49 (Laufmittel Petroläther/Essigester 1:1), 0,12 (Petroläther/Chloroform/Essigester 4:2:1). IX lässt sich nicht ohne Zersetzung destillieren. – NMR. (100 MHz, CDCl₃): 8,60 (*m*, H–C(α)); 7,75–8,15 (*m*, H–C(β') + H–C(γ)); 7,3–7,5 (*m*, H–C(β)); 7,3 (br. s, H₅C₆–C); 6,58 (br. s, H–N); 4,6–4,9 (*m*, H–C(2) + H–C(4)); 4,06 und 4,03 (verdoppeltes *q*, *J* = 7, 2H–C(1')); 3,65 (*s*, 3H–C(1'')); 3,55 (*s*, 2H–C(7)); 1,08 und 1,12 (verdoppeltes *t*, *J* = 7, 3H–C(2')).

Racemisches Ferrorosamin A (XI). Das rohe Öl IX wird 4 Std. mit 4N HCl unter Rückfluss gekocht. Nach dem Erkalten wird die hydrolysierte Phenylelessigsäure mit Äther extrahiert, die wässrige Lösung eingedampft (40°/12 Torr), der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen und mit 1N NaOH auf pH 4 gebracht. Das sich in der Lösung befindende Propigment X wird mit Fe²⁺ versetzt, wobei sich sofort das racemische, rote Ferrorosamin A (XI) bildet. XI wird durch Chromatographie an Sephadex LH 20 (4 × 45 cm, Methanol), gefolgt von Chromatographie an Sephadex G 10 (4 × 35 cm, Methanol/Wasser 1:1) gereinigt. Die tief karminrot Fraktion wird i. V. eingedampft und i. HV. getrocknet (10 Std. bei 50°): 0,825 g (ca. 40% bezüglich VIII).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 6^e communication: *M. Pouteau-Thouvenot, J. Paddikala, M. Barbier & M. Viscontini*, *Helv. 56*, 1067 (1973).
- [2] *R. Shiman & J. B. Neilands*, *Biochemistry J*, 2233 (1965).
- [3] *T. Wieland, G. Ohnacker & W. Ziegler*, *Chem. Ber.* 90, 194 (1957).
- [4] *M. Brenner & Rufenacht*, *Helv.* 36, 1832 (1953).
- [5] *M. Pouteau-Thouvenot, A. Gaudemer & M. Barbier*, *Bull. Soc. Chim. biol.* 47, 2085 (1965).
- [6] *M. Pouteau-Thouvenot & M. Barbier*, *Bull. Soc. chim.* 1965, 3238.