

Koordinationschemische Untersuchungen von Myxochelin A und ausgewählter Derivate

Dissertation
zur Erlangung des Grades
des Doktors der Naturwissenschaften
der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät III
Chemie, Pharmazie, Bio- und Werkstoffwissenschaften
der Universität des Saarlandes

von

Sabine Wilbrand

Saarbrücken

2012

Tag des Kolloquiums:	12.07.2012
Dekan:	Prof. Dr. Wilhelm F. Maier
Berichterstatter:	Prof. Dr. Kaspar Hegetschweiler Prof. Dr. Andreas Speicher
Vorsitz:	Prof. Dr. Johann Jauch
Akademischer Mitarbeiter:	Dr. Angelika Ullrich

für Hannah

Mein Dank gilt:

Prof. Dr. Kaspar Hegetschweiler für die interessante Themenstellung, die Betreuung dieser Arbeit, seine ständige Diskussionsbereitschaft, so wie für sein Engagement. dem Arbeitskreis, trotz widriger Umstände, optimale Arbeitsbedingungen zu schaffen.

Prof. Dr. Rolf Müller für sein Interesse an diesem Thema und für das Bereitstellen von LC/MS-, HPLC- und Gefriertrocknungsgerätschaften am Institut für pharmazeutische Biotechnologie.

Dr. Mark Bartholomä für die Konzipierung des Diplom-Themas, ohne welches diese Dissertation nicht möglich gewesen wäre.

Thorsten Klefisch für die Hilfe bei HPLC-Trennungen, die ständige Diskussionsbereitschaft und die gute Zusammenarbeit.

Dr. Nadine Koch für ihre unersetzbaren Elektroden-Tests und ihre Diskussionsbereitschaft insbesondere zum Thema wässriges DMSO.

Dr. Stefan Stucky, Dr. Nadine Koch und Anna Goldammer für ihre Diskussionsbereitschaft zum Thema Titrationsen und deren Auswertung.

Dr. Bernd Morgenstern für die Unterstützung bei CV- und NMR-Messungen, sowie seine ständige Diskussionsbereitschaft.

Dr. Volker Huch und Dr. Christian Neis für die Messung und das Lösen der Kristalle und ihre Diskussionsbereitschaft.

Traudel Allgayer für die gute Zusammenarbeit bei der Bestimmung der Eisenkonzentrationen.

Anton Zashka für die Durchführung der CHN-Analysen und die Beschaffung der Chemikalien und Gerätschaften.

Matthias Basters für die wertvolle Unterstützung zum Thema Festkörper-Chemie und im Besonderen zum Thema Eisenoxyhydride, sowie die Beratung beim Design von Abbildungen.

Den VertiefungspraktikantInnen Philipp Barbie, Björn Finkler und Nadya Sigle für ihre interessanten Ergebnisse und wertvollen Ideen.

Tanja Hauch für ihre wertvollen Ergebnisse während der von mir betreuten Bachelorarbeit sowie für die fachlichen und fachfremden Diskussionen.

Dr. Nadine Koch, Anna Goldammer, Dr. Barbara Kutzky, Sergej Gisbrecht, Martin Becker, Dr. Thomas Schweitzer, Dr. Christian Neis, Dr. Stefan Stucky, Dr. Bernd Morgenstern, Dr. Günter Merten, Anton Zashka, Beate Tiefenbrunner, Angela Klein, Philipp Altenhofer, Sarah Kadau, Philipp Euschen, Nicolai Dennemärker, Sascha Jung, Matthias Basters, Silvia Lauria und Mandy Wild für das gute und interessante Arbeitsklima im Arbeitskreis.

Silvia Lauria im Besonderen für die kritische Durchsicht meines Manuskripts.

Allen die mich während meines Umzugs unterstützt haben.

Meinen Eltern für die ständige Unterstützung während meines Studiums und dieser Arbeit, ohne die dies nicht möglich gewesen wäre, sowie meinem Vater im Besonderen für die kritische Durchsicht meines Manuskripts.

Meinen Schwestern Eva und Kathrin für ihre Besuche und Unternehmungen während dieser Dissertation.

Meiner Tochter Hannah für ihre Geduld im Studium und bei dieser Arbeit sowie ihr Interesse an den Naturwissenschaften.

Meinem Partner Jonas für wertvolle Diskussionen während des Studiums, seine ausgezeichnete Unterstützung und Motivierung während dieser Dissertation, und die kritische Durchsicht meines Manuskripts. (@)

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Å	Angström
AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
AS	Ameisensäure
Boc	<i>t</i> -Butyl-oxycarbonyl-Schutzgruppe
Bz	Benzyl-Schutzgruppe
BOP	(Benzotriazol-1-yloxy)tris(dimethylamino)phosphonium
CHES	2-(Cyclohexylamino)ethansulfonsäure
CV	Cyclovoltammetrie
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EE	Essigsäureethylester
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HMPT	Hexamethylphosphorsäuretriamid
I	Ionenstärke oder Intensität
L	Ligand
log β	Logarithmus der Bruttostabilitätskonstante
logK	Logarithmus der individuellen Stabilitätskonstante
NMR	Kernmagnetische Resonanz (Nuclear Magnetic Resonance)
M	Metall oder mol/L
MES	(2-(<i>N</i> -Morpholino)ethansulfonsäure)
Myx A	Myxochelin A
ORTEP	Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot
pK _L	-log(K _L)
pK _S /pK _a	-log(K _S)/-log(K _a)
RP-C18	Reversed Phase (Umkehrphase mit C18-Ketten)
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TMPS	Natriumsalz der 3-(Trimethylsilyl)-propionsäure
TMS	Trimethylsilan
%wt	Gewichtsprozent
X _{DMSO}	Molenbruch DMSO
XRD	Röntgendiffraktometrie (X-Ray-Diffraction)
Z	Benzyloxycarbonyl-Schutzgruppe

INHALT

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	IV
KURZZUSAMMENFASSUNG	1
ABSTRACT	2
ZUSAMMENFASSUNG.....	3
1 Einleitung	6
1.1 Metallkomplexe in biologischen Systemen	6
1.2 Eisen als lebenswichtiger Baustein für Bakterien	8
1.3 Siderophore der Myxobakterien.....	13
1.4 Exkurs zu Myxobakterien	14
1.5 Motivation	15
2 Synthese der Liganden	17
2.1 Synthese von Myxochelin A und Didesoxy-Myxochelin A	19
2.1.1 Kristallstruktur von Didesoxy-Myxochelin A	21
2.2 Synthese von Methyl-Myxochelin A.....	23
2.3 Synthese von 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid und 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid	24
2.4 Synthese von 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid	24
2.4.1 Kristallstruktur von 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid.....	25
3 Säurekonstanten der Liganden	27
3.1 Zur verwendeten Methode.....	27
3.2 Potentiometrische Titrationsen der einzelnen Liganden.....	28
3.2.1 Myxochelin A.....	28
3.2.2 Methyl-Myxochelin A.....	31
3.2.3 Didesoxy-Myxochelin A.....	33
3.2.4 2-Hydroxybenzoesäureamid	35
3.2.5 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid	37
3.3 Diskussion der durch Potentiometrie erhaltenen Säurekonstanten	39
3.4 ¹ H-NMR-Titrationsen ausgewählter Liganden	41
3.4.1 Diskussion möglicher Deprotonierungsorte	42
3.4.2 2-Hydroxybenzoesäureamid	43
3.4.3 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid	45
3.4.4 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid	47
3.4.5 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid	49
3.4.6 Myxochelin A.....	51
3.4.7 Methyl-Myxochelin A.....	55
3.5 Diskussion der ¹ H-NMR-Untersuchungen	58
4 Untersuchung der Komplexbildung mit Eisen(III)	60

4.1	Verwendete Methoden	60
4.2	Mögliche Struktur der Komplexe.....	61
4.3	Bestimmung der Eisen(III)-Stabilitätskonstanten.....	66
4.3.1	Myxochelin A.....	66
4.3.2	Methyl-Myxochelin A.....	71
4.3.3	Didesoxy-Myxochelin A.....	74
4.3.4	2-Hydroxybenzoesäureamid	77
4.3.5	2,3-Dihydroxybenzoesäureamid	81
4.4	Vergleich der untersuchten Eisen(III)-Komplexe und Diskussion möglicher Koordinationen	86
4.5	Methode der kontinuierlichen Variation nach P. Job.....	91
4.6	Lösungen ausgewählter Liganden über Ferrihydrit	98
4.7	CV-Messungen von Myxochelin A.....	100
4.8	Diskussion der Komplexbildung mit Eisen(III)	102
5	Vergleich von Myxochelin A und Methyl-Myxochelin A	106
6	Untersuchung der Komplexbildung mit Magnesium und Calcium	110
6.1	Komplexbildung von Myxochelin A mit Magnesium.....	110
6.2	Komplexbildung von Didesoxy-Myxochelin A mit Magnesium.....	113
6.3	Komplexbildung von Calcium mit Myxochelin A	115
6.4	Komplexbildung von Calcium mit Didesoxy-Myxochelin A	118
6.5	Vergleich der Calcium- und Magnesiumkomplexe.....	120
7	Experimenteller Teil	122
7.1	Allgemeines.....	122
	<i>CHEMIKALIEN</i>	122
	<i>HPLC</i>	122
	<i>NMR-Spektroskopie</i>	123
	<i>IR-Spektroskopie</i>	124
	<i>Elementaranalysen</i>	124
	<i>Kristallstrukturanalysen</i>	125
	<i>XRD-MESSUNG</i>	125
	<i>ATOMABSORPTIONSSPEKTROSKOPIE</i>	125
	<i>Potentiometrische Titrationsen</i>	125
	<i>Diskontinuierliche spektrophotometrische Titrationsen</i>	126
	<i>CV-Messungen</i>	127
7.2	Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV).....	128
7.2.1	Konditionierung des Anionenaustauscherharzes (AAV1)	128
7.2.2	Herstellung von wässrigen DMSO-Lösungen mit definiertem Molenbruch (AAV2).....	128
7.3	Durchführung der Untersuchungen zum Auflösen von Ferrihydrit durch ausgewählte Liganden	129
7.4	Ligandsynthesen	130

7.4.1	Synthese von Myxochelin A.....	130
7.4.2	Synthese von Methyl-Myxochelin A	136
7.4.3	Synthese von Didesoxy-Myxochelin A.....	145
7.4.4	Synthese von 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid.....	149
7.4.5	Synthese von 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid.....	151
7.4.6	Synthese von 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid.....	153
7.5	Kristallsynthesen	155
7.5.1	Synthese der Didesoxy-Myxochelin A Kristalle	155
7.5.2	Synthese der 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid Kristalle.....	155
7.6	Kristallographischer Anhang.....	156
7.6.1	Kristallstruktur von Didesoxy-Myxochelin A	156
7.6.2	Kristallstruktur von 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid	161
8	Literatur.....	164

KURZZUSAMMENFASSUNG

Der Vergleich von Myxochelin A und Methyl-Myxochelin A, welcher im Zentrum dieser Arbeit steht, zeigte Unterschiede und Gemeinsamkeiten in Bezug auf die Säurekonstanten und Stabilitätskonstanten der Fe^{3+} -Komplexe und die Art der Fe^{3+} -Komplexe auf. Die mittels Potentiometrie bestimmten pK_S -Werte wurden durch $^1\text{H-NMR}$ -Titrationsen den Hydroxyfunktionen zugeordnet; bei beiden Verbindungen finden die ersten Deprotonierungen in *ortho*-Position statt. Die Hydroxyfunktionen der Aromaten des Methyl-Derivates wiesen, anders als Myxochelin A, eine unterschiedliche Acidität auf. Die sehr ähnlichen Bruttostabilitätskonstanten der Fe^{3+} -Komplexe wurden durch diskontinuierliche spektrophotometrische Titrationsen bestimmt. Der von Myxochelin A, im Gegensatz zum Methyl-Derivat, gebildete MLH_4 -Komplex macht den Liganden, besonders durch die zweifache Bindung an die Phenolat-Sauerstoffe, zum besseren Fe^{3+} -Chelator. Desweiteren wurde die Auflösung von Ferrihydrit bei $\text{pH}=5,3$ und $\text{pH}=6,1$ untersucht. Das Methyl-Derivat löste 91% respektive 85% des von Myxochelin A gelösten Fe^{3+} .

Neben diesen Liganden wurden die Säurekonstanten und die $\log\beta$ -Werte der Fe^{3+} -Komplexe von 2-Hydroxybenzoesäureamid, 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid und Didesoxy-Myxochelin A bestimmt. Ebenfalls wurde das Lösungsverhalten dieser Liganden über Ferrihydrit untersucht.

Die $\log\beta$ -Werte der Mg^{2+} - und Ca^{2+} -Komplexe konnten für Myxochelin A und Didesoxy-Myxochelin A bestimmt werden und waren deutlich kleiner als die der Fe^{3+} -Komplexe.

ABSTRACT

The main focus of this dissertation was to compare Myxochelin A and its methyl-derivative. The pKa-values of the hydroxyl groups of both molecules were determined by potentiometric titrations; and assigned by $^1\text{H-NMR}$ -measurements. This measurements showed as well that *ortho*-hydroxygroups of the methyl-derivative have, in contrast to Myxochelin A, a different acidity. The first three constants of the Fe^{3+} -complexes, which were collected by discontinuously spectrophotometric measurements, are quite similar to each other. Yet, formation of a MLH_4 -species, with the same configuration as Myxochelin A, is impossible for the methyl-derivative. It was shown that these species is very important for Myxochelin A, because of its twofold bidentate coordination to the phenoxo oxygen atoms. This renders Myxochelin A the better Fe^{3+} -chelator. Further dissolving of ferrihydrite was examined with both ligands at different pH-values. The methyl-derivative dissolved a smaller amount of Fe^{3+} than Myxochelin A (91% (pH=5.3) and 85% (pH=6.1)).

Acidity and complexation constants of Fe^{3+} were also determined for: 2-Hydroxybenzamid, 2,3-Dihydroxybenzamid and Didesoxy-Myxochelin A. Their ability to make iron soluble by complexation was examined with solutions of these ligands and hardly soluble ferrihydrite.

Constants of Mg^{2+} and Ca^{2+} -complexes were collected by potentiometric titrations for the ligands Myxochelin A and Didesoxy-Myxochelin A.

ZUSAMMENFASSUNG

Zentraler Punkt dieser Arbeit war der Vergleich von Myxochelin A und eines im Myxobakterium *M. xanthus* nachgewiesenen Methyl-Derivates. Dazu wurde zunächst die Synthese von Myxochelin A optimiert. Es gelang die Herstellung der Amidbindungen mittels Säurechlorid und freiem Amid, was gegenüber der Kupplung mit den Reagenzien BOP und HOBt einen Vorteil darstellt, da so kein erbgutveränderndes Nebenprodukt wie HMPT entsteht. Desweiteren konnte die benötigte Zeit zur Abspaltung der Benzylschutzgruppen, durch die Umstellung von der klassischen Hydrierung im Autoklaven mit elementarem Wasserstoff auf eine Transfer-Hydrierung mit Ammoniumformiat als Wasserstoffquelle, deutlich verringert werden. Diese Optimierungen wurden auch zur Entwicklung der Synthese des Methyl-Derivates genutzt. Dies gelang durch die Verwendung eines Lysins mit unterschiedlichen Schutzgruppen als Edukt. Die durch die schrittweise Entfernung frei werdenden Aminfunktionen wurden einzeln umgesetzt. Zusätzlich wurden neben den bereits angesprochenen Verbindungen Didesoxy-Myxochelin A synthetisiert, welches sich an Myxochelin A orientiert. Ebenso wurde mehrere Benzoessäureamidderivate hergestellt, wie 2,3-Dihydroxybenzoessäureamid, 2-Hydroxy-3-methoxybenzoessäureamid und 3-Hydroxy-2-methoxybenzoessäureamid. Die zuletzt genannten Verbindungen wurden ausschließlich zu ¹H-NMR-Titrationen verwendet. Von den Verbindungen Didesoxy-Myxochelin A und 3-Hydroxy-2-methoxy-benzoessäureamid wurden Kristalle gewonnen, die der Röntgenstrukturanalyse zugeführt werden konnten.

Es wurden potentiometrische Titrationen in gemischt-wässrigem Medium ($x_{\text{DMSO}}=0,2$; $I(\text{KCl})=0,1\text{M}$; 298K) durchgeführt, bei denen die Bestimmung der pK_{S} -Werte der folgenden Liganden gelang: Myxochelin A ($\text{pK}_{\text{S}1}=7,48(4)$; $\text{pK}_{\text{S}2}=8,46(2)$; $\text{pK}_{\text{S}3}=13,0(2)$; $\text{pK}_{\text{S}4}>13$), Methyl-Myxochelin A ($\text{pK}_{\text{S}1}=7,68(1)$; $\text{pK}_{\text{S}2}=8,94(3)$; $\text{pK}_{\text{S}3}=13,0(1)$), Didesoxy-Myxochelin A ($\text{pK}_{\text{S}1}=8,15(2)$; $\text{pK}_{\text{S}2}=9,09(2)$), 2-Hydroxybenzoessäureamid ($\text{pK}_{\text{S}1}=8,672(2)$) und 2,3-Dihydroxybenzoessäureamid ($\text{pK}_{\text{S}1}=8,079(7)$; $\text{pK}_{\text{S}2}=13,02(7)$). Außerdem wurden ¹H-NMR-Untersuchungen durchgeführt, mit deren Hilfe der Deprotonierungsort der untersuchten Spezies identifiziert werden konnte. Gleichzeitig konnte für diese experimentellen Bedingungen bewiesen werden, dass bei Aromaten mit zwei Hydroxyfunktionen die Hydroxyfunktion in *ortho*-Position eine höhere Acidität besitzt als jene in *meta*-

ZUSAMMENFASSUNG

Position. Ebenfalls konnten deutliche Unterschiede zwischen Myxochelin A und dem Methyl-Derivat aufgezeigt werden. Die Hydroxyfunktion, welche in Nachbarschaft zur Methoxygruppe steht, besitzt eine ausreichend niedrigere Acidität, um erst deprotoniert zu werden, nachdem die Hydroxygruppe, welche in Nachbarschaft zu einer weiteren Hydroxyfunktion steht, nahezu vollkommen deprotoniert wurde.

Mittels diskontinuierlicher spektrophotometrischer Titrationsen wurden die Bruttostabilitätskonstanten ($\log\beta$) der Fe^{3+} -Komplexe folgender Liganden erhalten:

Myxochelin A ((MLH₋₁)=1,95(4); (MLH₋₂)=-0,4(2); (MLH₋₃)=-3,4(3); (MLH₋₄)=-11,2(4)), Methyl-Myxochelin A ((MLH₋₁)=2,1(4); (MLH₋₂)=-0,3(4); (MLH₋₃)=-3,9(1)), Didesoxy-Myxochelin A ((MLH₋₁)=0,5(1); (MLH₋₂)=-2,8(2)), 2-Hydroxybenzoesäureamid ($\log\beta(\text{MLH}_{-1})=8,672(2)$) und 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid ((MLH₋₁)=1,76(9); (MLH₋₂)=-0,9(1); (ML₂H₋₃)=-2,70(4)). Die Bezeichnung L steht hierbei für den ungeladenen Liganden.

Zusätzliche Informationen über die Art der Komplexe wurden aus den UV/Vis-Spektren erhalten. Hier wurde deutlich, dass die Bindung zwischen zwei Phenolat-Sauerstoffen gegenüber der Bindung zwischen Carbonyl- und einem Phenolat-Sauerstoff mit steigendem pH bevorzugt wird und die Bildung stabiler Komplexe oberhalb von $\text{pH}\approx 4$ auch allein mit der Komplexierung durch beide Phenolat-Sauerstoffe möglich ist. Die mit Fe^{3+} gebildeten Komplexe von Myxochelin A entsprechen denen des Methyl-Derivates in ihrer Form und bezüglich der MLH₋₁- und MLH₋₂-Komplexe auch in ihrer Stabilität. Der MLH₋₃-Komplex des Methyl-Derivates besitzt eine etwas geringere Stabilität. Eine Bildung des MLH₋₄-Komplexes ist für dieses Derivat, zumindest in der gleichen Form wie bei Myxochelin A, nicht möglich. Dieser Komplex, der von Myxochelin A bei den gewählten experimentellen Bedingungen ab $\text{pH}\geq 5$ gebildet wird, ist neben dem etwas stabileren MLH₋₃ von entscheidendem Vorteil. Dies wird dadurch deutlich, dass Methyl-Myxochelin A bei den gleichen Bedingungen nicht in der Lage ist, die gleiche Menge Fe^{3+} zu komplexieren, also in Lösung zu halten, und das im Komplex gebundene Eisen gegenüber dem schwerlöslichen Eisen(III)hydroxid ab $\text{pH}>4,1$ verliert. Zusätzlich wurde am Beispiel des Ferrihydrats überprüft, wie gut die verschiedenen Liganden Fe^{3+} bei $\text{pH}=5,3$ und $\text{pH}=6,1$ aus schwerlöslichen Eisen(III)oxyhydroxiden zu lösen vermögen. Dabei wurde festgestellt, dass Didesoxy-Myxochelin A und 2-Hydroxybenzoesäureamid, welche nur Salicylpositionen besitzen, wenig (0,1(1)mg(Fe)/mmol(L) bei $\text{pH}=5,4$) bis nichtnachweisbare Mengen an Fe^{3+} zu lösen

ZUSAMMENFASSUNG

vermögen. Liganden mit Catechol-Struktur lösen deutlich mehr Fe^{3+} bei den untersuchten Bedingungen; verbrückte Catechol-Liganden lösen am meisten Fe^{3+} im Vergleich zu den übrigen Liganden.

Untersuchungen des Systems Fe^{3+} / Myxochelin A mit der Methode der kontinuierlichen Variation (Job-Plot) zeigten, dass bei deutlich sauren und stark basischen pH-Werten und bei einem geeignetem Metall-Ligand-Verhältnis die Bildung von mehrkernigen Spezies nicht auszuschließen ist.

Das Redoxverhalten der Fe^{3+} -Myxochelin A-Komplexe wurde bei $\text{pH}=2,2$ mittels Cyclovoltammetrie untersucht. Hier zeigte sich, dass die bei diesem pH-Wert gebildeten Fe^{2+} -Komplexe dieses Liganden instabil sind.

Die Bruttostabilitätskonstanten ($\log\beta$) der Mg^{2+} - und Ca^{2+} -Komplexe wurden für die Liganden Myxochelin A und Didesoxy-Myxochelin A mittels kontinuierlicher potentiometrischer Titrations bestimmt: Myxochelin A ((MgLH_3)=-21,64(6); (MgLH_4)=-30,73(5); (CaLH_2)=-13,36(9); (CaLH_3)=-23,74(5); (CaLH_4)=-35,01(2)); Didesoxy-Myxochelin A ((MgLH_2)=-14,64(6); (MgLH_3)=-25,09(3); (CaLH_1)=-6,6(1); (CaLH_2)=-15,17(6); (CaLH_3)=-26,49(6)).

Die Mg^{2+} -Komplexe waren immer stabiler als die entsprechenden Ca^{2+} -Komplexe, genauso waren die Komplexe von Myxochelin A immer stabiler als die entsprechenden Didesoxy-Myxochelin A-Komplexe. Ein Vergleich der verschiedenen Komplexe zeigte, dass mit hoher Wahrscheinlichkeit in allen Komplexen eine vierzählige Koordination vorliegt. Didesoxy-Myxochelin A bildet außerdem Komplexe mit beiden Metallen, in denen neben dem Ligand noch ein Hydroxidion am Metall koordiniert. Für Myxochelin A konnte nicht eindeutig geklärt werden, ob die MLH_4 -Komplexe aus einem vierfach deprotonierten Ligand oder einem dreifach deprotoniertem Ligand und einem Hydroxidion bestehen. Insgesamt sind die Komplexe dieser Liganden mit Mg^{2+} und Ca^{2+} deutlich schwächer als jene mit Fe^{3+} .

Insgesamt konnte damit gezeigt werden, dass Myxochelin A sehr stabile Komplexe mit Fe^{3+} formt und dass das Methyl-Derivat sich bezüglich der für den neutralen pH-Bereich entscheidenden Komplexbildung deutlich von Myxochelin A unterscheidet. Dies unterstützt die Erkenntnisse, die von T. Klefisch aus der Untersuchung der Bakterien gewonnen wurden. Es konnte eine gezielte Methylierung von Myxochelin A durch ein bestimmtes Enzym nachgewiesen werden.¹ Da diese Methylierung zu schwächeren Komplexen anderer Struktur führt, scheint dieser Prozess wichtig für die Freisetzung respektive den Transport von Fe^{3+} in die Zelle zu sein.

1 Einleitung

1.1 Metallkomplexe in biologischen Systemen

In allen Organismen spielen Metallkomplexe eine essentielle Rolle. Ihre Funktion ist dabei sehr vielfältig: Einerseits verläuft die Aufnahme, der Transport in den Zellen und die Ausscheidung von Metallionen meistens über Komplexe, andererseits erfüllen die Metalle ihre biologische Aufgabe in der Zelle oft im gebundenen Zustand. Es gibt nahezu keinen Prozess in Zellen, der ohne die Teilnahme eines Metallions auskommt.²

Das bekannteste Beispiel ist die Photosynthese, die man vor allem von Pflanzen kennt; es gibt aber auch einige Bakterien, die Photosynthese betreiben, wie zum Beispiel Cyanobakterien und Purpurbakterien.³ Eine zentrale Rolle spielt dabei das Chlorophyll, welches ein Porphyrin-Ringsystem enthält, und sowohl bei Pflanzen als auch bei Bakterien in der Regel Mg^{2+} enthält (siehe Abbildung 1-1).^{4,5}

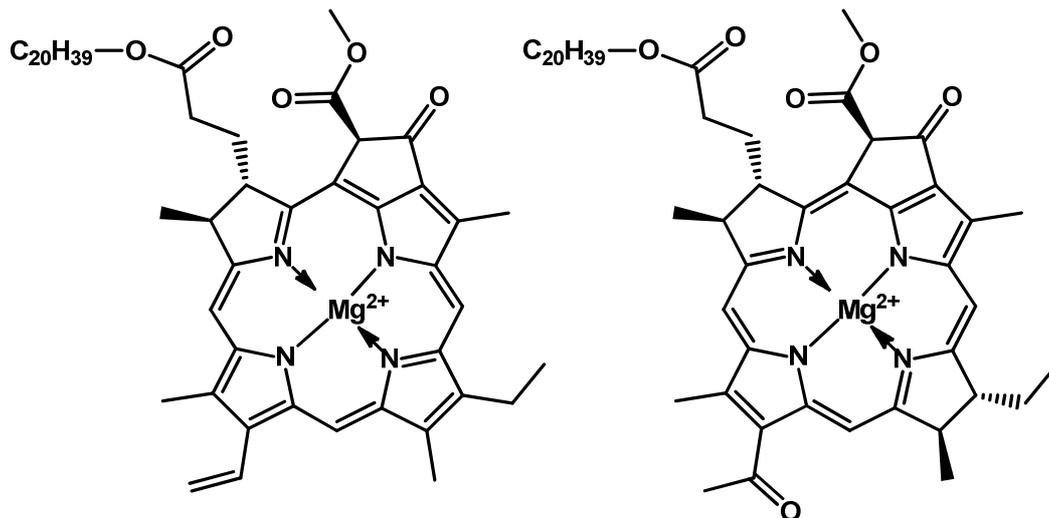


Abbildung 1-1: Chlorophyll a (links) und Bacteriochlorophyll a (rechts)

Es gibt auch Ausnahmen, wie die *Acidiphilium*-Spezies, aerobische, anoxygene Bakterien, die Zn^{2+} statt Mg^{2+} verwenden; die Farbe dieses Pigments ist im Gegensatz zu den verbreiteteren Chlorophyll Violett statt Grün.⁶ Die genaue Struktur des Chlorophylls unterscheidet sich je nach Pflanze respektive Bakterium etwas, was sich auch auf das Absorptionsmaximum auswirkt. Dieses Absorptionsmaximum (mit Mg^{2+}) liegt im sichtbaren Bereich bei 600-700nm. Hinter der Struktur dieses Komplexes steckt ein ausgeklügeltes System, da durch die Konjugation ein starrer Ring entstanden ist, der kaum Energie in Form von Molekülschwingungen vergeuden kann. Das Absorptionsmaximum liegt im Bereich des sichtbaren Lichts (350-700nm);

1.2 Eisen als lebenswichtiger Baustein für Bakterien

Im vorangegangenen Kapitel wurde deutlich, dass $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ sehr häufig an Redoxprozessen in der Zelle beteiligt ist. In Bakterien kommt Eisen in den Eisen-Schwefel-Clustern vor, aber auch in Hämgruppen. Diese Hämgruppen bestehen aus jeweils einem Fe^{2+} -Ion, welches durch die Stickstoff-Atome eines Porphyrin-Gerüsts komplexiert wird. Die Porphyrin-Gerüste von Hämgruppen unterscheiden sich durch andere Substituenten von den Porphyrinen der Chlorophylle. Viele Bakterien speichern Eisen im Inneren ihrer Zelle in Eisen-Speicher-Proteinen. Bekannt sind drei Sorten dieser Proteine, die auch nebeneinander im selben Bakterium vorliegen können: das klassische Ferritin, welches auch in Eukaryoten zu finden ist, und das Bakterioferritin, welche aus 24 identischen oder ähnlichen Proteinuntereinheiten aufgebaut ist. Alle bekannten Bakterioferritine enthalten zwölf Hämgruppen, die zwischen den Protein-Untereinheiten sitzen. Das dritte als Speicher-Protein diskutierte Protein ist das Dps-Protein, was nur aus zwölf identischen oder ähnlichen Untereinheiten aufgebaut ist. Dieses Protein kann in seinem Inneren Eisen speichern, jedoch wird auch eine Schutzfunktion der DNS vor oxidativem Stress diskutiert. In diesen Proteinen wird Eisen in Form von Ferrihydrit oder Fe(II) phosphat gebunden. Dabei werden von den Ferritinen und Bakterioferritinen 2000 bis 3000 Atome pro Protein gespeichert. Die Dps-Proteine können maximal 500 Atome binden.¹²

Die *Eisenbakterien* erzeugen ihre Energie aus der Oxidation von Fe^{2+} . Dabei hängt der Ablauf der Oxidation vom gewählten Lebensraum des Bakteriums ab. Bei niedrigen pH-Werten ($\text{pH} < 4$) ist Fe^{2+} deutlich stabiler als bei höheren pH-Werten, wo es unter aeroben Bedingungen spontan oxidiert wird. Andererseits ist unter sauren Bedingungen die Wahl Bakterien-kompatibler Elektronenakzeptoren begrenzt. In der Regel wird Sauerstoff verwendet, daher sind die bekannten acidophilen Eisenbakterien gleichzeitig an aerobe Bedingungen gebunden. Da das Reduktionspotential $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ pH-abhängig ist (1,12V (pH=2) 0,82V (pH=7)), ist die Verwendung von Sauerstoff für acidophile Bakterien deutlich attraktiver als für neutrophile. Viele dieser Bakterien, wie *Thiobacillus ferrooxidans*, besitzen zudem ein Protonenpotential an ihrer Zellmembran (innen pH=6, außen pH=2), das zur Produktion von ATP genutzt wird, welches durch die Elektronen der Eisenoxidation ausgeglichen wird. Neben den bereits erwähnten acidophilen Eisenbakterien gibt es neutrophile unter aeroben und anaeroben Bedingungen. Die

aeroben Bedingungen sind in der Regel micro-aerobe Bedingungen, das heißt, die Bakterien leben oft an der Grenze von aeroben und anoxischen Gebieten, wie zum Beispiel im Sediment von Gewässern. Der Grund dafür ist die spontane Oxidation von Fe^{2+} unter aeroben neutralen Bedingungen. Die neutrophilen anaeroben Bakterien nutzen das $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ -Potential zur Oxidation von komplexierten Fe^{2+} oder FeCO_3 . Weitere anaerobe Fe^{2+} oxidierende Spezies sind Bakterien, die mit Hilfe dieser Oxidation Photosynthese betreiben. Diese nutzen lösliches Fe^{2+} , FeCO_3 und FeS als Elektronendonoren, sie können häufig aber auch auf Thiosulfat als Ersatz-Elektronendonator zurückgreifen.¹³

Zu den wenigen Bakterien, für die Eisen nicht lebensnotwendig ist, gehören einige Lactobazillen, wie *Lactobacillus plantarum*. Diese Bakterien können aufgrund dieser Eigenschaft in Milch wachsen. Der Eisengehalt von Milch ist durch hohe Konzentrationen von Lactoferrin limitiert. Eine weitere Spezies, deren Eisengehalt unterhalb einer physiologisch relevanten Konzentration liegt (<10 Atome pro Zelle), ist der Krankheitserreger *Borellia burgdorferi*. Da dieses Bakterium jedoch sehr stark von seinem Wirt abhängig ist, dessen Organismus wiederum von Eisen abhängig ist, wäre es falsch zu behaupten, dieses Bakterium wäre vollkommen unabhängig von Eisen. Für metallhaltige Proteine verwenden diese Bakterien am häufigsten Mangan anstelle von Eisen, aber auch Zink.^{14,15}

Eisen muss von allen anderen Bakterien aus der Umgebung aufgenommen werden. Dies wird dadurch erschwert, dass Eisen bei den meist aeroben Bedingungen auf der Erde in der thermodynamisch günstigsten Oxidationstufe Fe^{3+} vorliegt. In dieser Form ist es schwerlöslich und damit bei neutralen pH-Werten ohne Komplexbildner nicht verfügbar ($44 \geq \text{pK}_L(\text{Fe}(\text{OH})_3) \geq 37$ in natürlichen Gewässern).¹⁶ Unter aeroben Bedingungen ist freies Eisen potentiell toxisch, da es oxidativen Stress auslösen kann, wobei Radikale entstehen, die RNA, DNA, Peptide und Lipide schädigen können.¹⁷

Aus diesem Grund haben die Bakterien, in Abhängigkeit von ihrer Umgebung, verschiedene Strategien entwickelt. Allgemein lassen sich die Systeme der Eisenaufnahme in Transport mit hoher und mit niedriger Affinität zu Eisen einteilen. Transport mit hoher Affinität zu Eisen erfolgt durch Siderophore (Moleküle mit kleiner Molmasse (<1000g/mol) und starker Eisenkomplexbildung), Transport mit geringer Affinität ist weniger erforscht, scheint durch nicht-biologische Prozesse abzulaufen und reicht selbst bei suffizienter Eisenkonzentration außerhalb der Zellen nicht aus, um den Eisenbedarf zu decken.^{18,12}

Die Siderophore werden in den Bakterien produziert und an die Umgebung abgegeben, um Eisen, in der Regel als Fe^{3+} , außerhalb der Zelle zu komplexieren. Anschließend werden sie als Chelatkomplexe wieder aufgenommen. Dies geschieht durch Membranproteine, die die Eisen-Siderophore mit hoher Spezifität binden; für Porine (porenformende Transmembranproteine) sind die Eisenkomplexe in der Regel zu groß. Es werden häufig nicht nur eigene, sondern auch artfremde Eisenkomplexe von den Zellen aufgenommen. Bakterien, die in Eukaryonten leben, nutzen sogar oft deren Eisenkomplexe (Transferrine, Hämoglobin etc.), um sich durch die Spaltung dieser Komplexe mit Eisen zu versorgen. Die Freisetzung bzw. der weitere Transport von Eisen in der Zelle ist von der Struktur des Siderophors und der Bakterien-Spezies abhängig. Typisch ist eine Reduktion von Fe^{3+} zu Fe^{2+} oder eine Hydrolyse des Liganden. Ob die Siderophore abgebaut, wie im Fall des Enterobactins,¹⁹ oder wiederverwertet werden, wie im Fall der Pyoverdine (siehe Abbildung 1-5), welche relativ große Siderophore aus (unter anderem) mehreren verknüpften Aminosäuren sind,^{20,21} hängt von ihrer Struktur ab.¹²

Es wurden bisher mehr als 500 verschiedene Siderophore, mit sehr unterschiedlichen Strukturen, identifiziert. Häufig werden die Siderophore nach der Art der Fe^{3+} -komplexierenden Ligandatome eingeteilt. Viele Siderophore enthalten Hydroxamatgruppen, um Fe^{3+} zu binden (siehe Abbildung 1-3). Komplexbildner mit diesen Funktionen bestehen häufig aus langen Ketten (>30 Atome) oder großen Ringen (≥ 18 Atome). Dieser Strukturtyp wird von verschiedenen Bakterien genutzt, tritt aber bevorzugt bei Pilzen auf.

Typische Vertreter sind die Ferrichrome aus Schimmelpilzen (*Aspergillus*), die aus einem 18-gliedrigen Ring und drei Seitenketten bestehen. Daneben gibt es die Ferrioxamine aus Actinobakterien.²² Deren Vertreter kommen sowohl in cyclischer als auch in linearer Form vor. Sehr bekannt ist das lineare Ferrioxamin B (welches häufig in seiner eisenfreien Form als Desferrioxamin bezeichnet wird). Dieses Siderophor wird in der Medizin eingesetzt, um Eisenüberladungen zu behandeln. Die beiden bereits genannten Siderophore sind in der Lage, sechszählig zu koordinieren, im Gegensatz dazu können andere Hydroxamat-Siderophore nur vierzählig koordinieren. Beispiele dafür sind das Bisucaberin, welches aus dem Meeresbakterium *Alteromonas haloplanktis* isoliert werden konnte, und Alcaligin, welches in verschiedenen Algen vorkommt, aber auch in dem pathologischen Bakterium *Bordetella pertussis*.^{23,24}

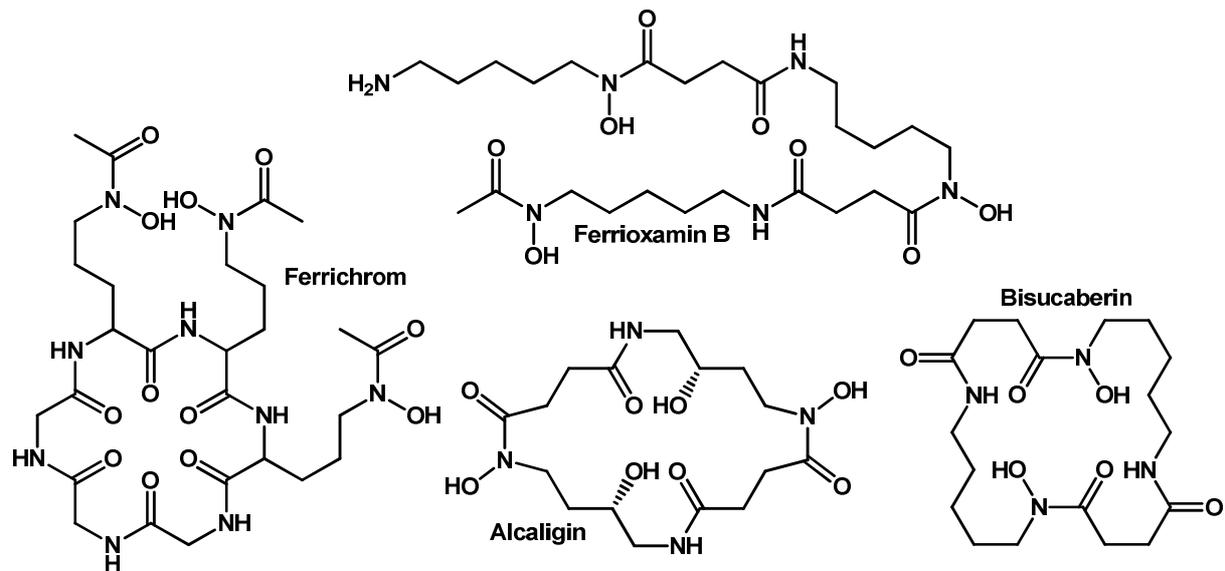


Abbildung 1-3: ausgewählte Siderophore mit Hydroxamatgruppen

Ein weiterer Strukturtyp, der häufig von Bakterien produziert wird, sind die Catechole (siehe Abbildung 1-4). Der bekannteste Vertreter der Catechole ist das Enterobactin, ein Tricatechol, welches 1970 zum ersten Mal aus *Salmonella typhimurium* isoliert werden konnte.²⁵ Es ist das wichtigste Siderophor für *Escherichia coli*, und eines der am besten untersuchten Siderophore. Zum Beispiel ist bekannt, dass durch Hydrolyse des Trilacton-Rings das Redoxpotential des Fe^{3+} -Komplexes deutlich verringert wird, was die Freisetzung des Eisens in der Zelle begünstigt.¹⁹

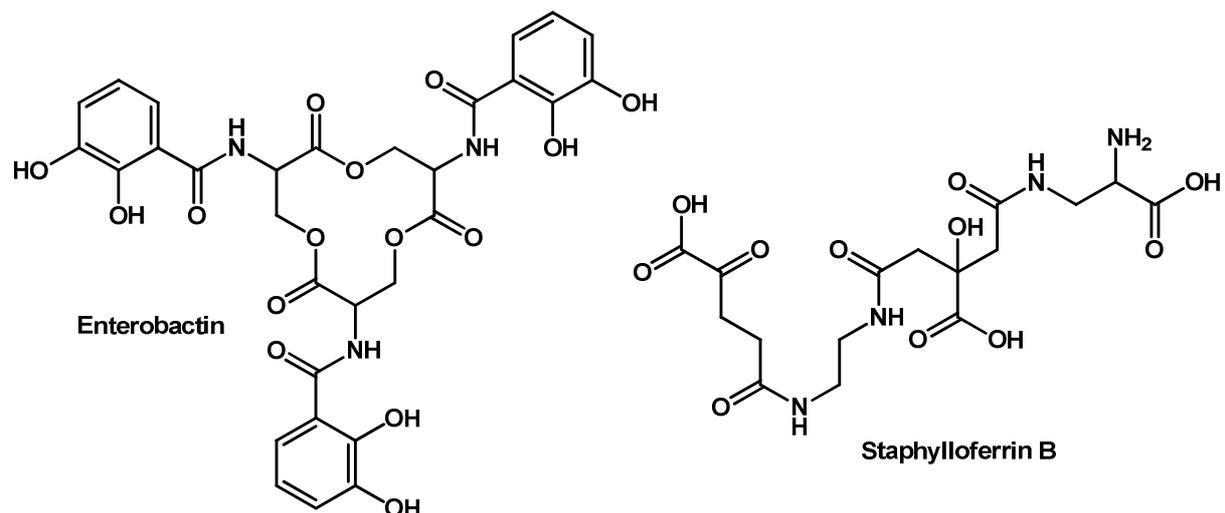


Abbildung 1-4: Die Siderophore Enterobactin und Staphyloferrin

Andere natürliche Siderophore verwenden keine Hydroxamat- oder Phenolatgruppen, sondern fast ausschließlich Carboxylat und Hydroxyfunktionen, um Fe^{3+} zu chelatisieren. Da die Eisenkomplexe dieser Verbindungen farblos sind, wurden diese

EINLEITUNG

Siderophore erst vor etwas mehr als zwanzig Jahren entdeckt. Ein bekannter Vertreter ist das Staphyloferrin B aus *Staphylococcus aureus*.²⁶

Es gibt auch Siderophore, die sich nicht in diese Gruppen einordnen lassen (siehe Abbildung 1-5), wie das Pyochelin und das Yersiniabactin (aus *Azotobacter vinelandii*), welche Fe^{3+} über Stickstoff- und Sauerstoff-Atome binden, oder die bereits oben genannten Pyoverdine, welche Catechol- und Hydroxamatgruppen tragen und wie das Pyochelin von dem Bakterium *Pseudomonas aeruginosa* hergestellt werden.^{27,28}

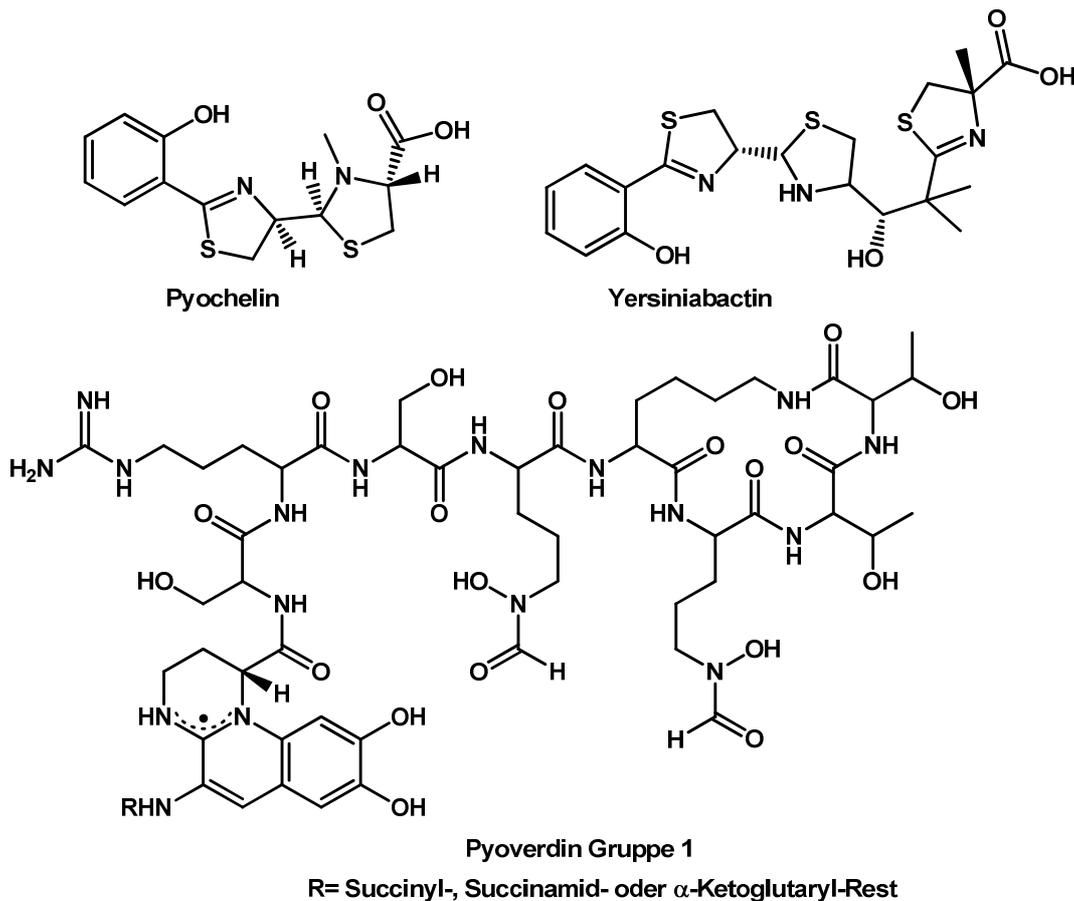


Abbildung 1-5: ausgewählte Siderophore mit verschiedenen Ligandatomen

1.3 Siderophore der Myxobakterien

Von den Myxobakterien (siehe 1.4) sind bisher nur zwei Gruppen von Siderophoren bekannt: die Nannocheline A, B und C und die Myxocheline A und B (siehe Abbildung 1-6). Die Nannocheline sind Siderophore des Hydroxymat-Typs und konnten aus dem Bakterium *Nannocystis exedens* isoliert werden. Sie wirken wachstumshemmend auf grampositive Bakterien und scheinen in dem Eisentransport des untersuchten Bakteriums involviert zu sein.²⁹

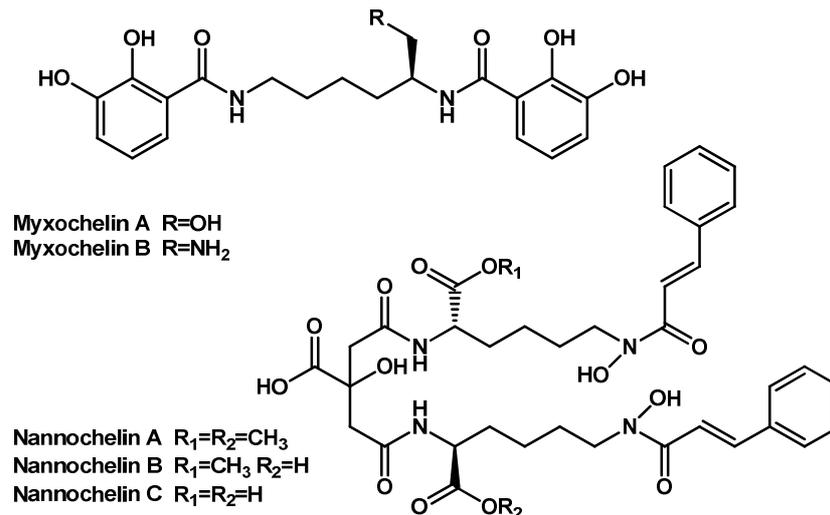


Abbildung 1-6: Die Myxocheline A und B sowie die Nannocheline A,B und C

Myxochelin A wurde als erstes Siderophor der Myxobakterien von Kunze et al. 1989 aus *Angiococcus disciformis* isoliert.³⁰ Es konnte außerdem aus den Myxobakterien *Stigmatella aurantiaca* und *Myxococcus xanthus* isoliert werden, sowie aus *Nonomuraea pusilla*, einem Actinobakterium. Neben Myxochelin A konnten auch Myxochelin B aus *Stigmatella aurantiaca* und *Myxococcus xanthus* isoliert werden.³¹ Die bisherige Aufklärung der Biosynthese der Myxocheline zeigt, dass erst der letzte Schritt der Biosynthese entscheidet, ob Myxochelin A oder B gebildet wird. An der Biosynthese sind Enzymsysteme der nichtribosomalen Peptidsynthetasen (NRPS) und der Polyketidsynthetasen (PKS) beteiligt. Zwei Einheiten 2,3-Hydroxybenzoesäure, werden durch zwei Enzyme aktiviert und sukzessive mit einem Lysin verknüpft. Anschließend wird das Myxochelin-Thioester-Mediat entweder zum Alkohol reduziert (Myxochelin A) oder durch die Aminotransferase Mxcl zum Amin umgesetzt (Myxochelin B).^{32,33} Neben seiner Eigenschaft als Siderophor besitzt Myxochelin A noch andere Eigenschaften. Zum Beispiel eine schwache antibakterielle Wirkung, was sicherlich auf seine Chelatisierung von Fe³⁺ zurückzuführen ist.³⁰ *In vitro*-Untersuchungen zeigten, dass Myxochelin A einen inhibierenden Effekt gegenüber

der Invasion von Tumorzellen durch eine Basalmembran hat (antiinvasive Wirkung).³⁴

1.4 Exkurs zu Myxobakterien

Myxobakterien sind gramnegative einzellige stäbchenförmige Bakterien. Die meisten Spezies bevorzugen gemäßigte Lebensbedingungen, wie beispielsweise einen neutralen bis leicht basischen pH-Bereich, sowie ein Temperaturoptimum von 30°C. Der häufigste Lebensraum ist der Boden, man findet sie aber auch im Kompost, auf der Rinde lebender und toter Bäume und auch auf der Oberfläche von Blättern.^{35,36}

Sie zeichnen sich besonders durch ihr „soziales Verhalten“ aus, worunter die gemeinsame Nahrungsaufnahme fällt, die kooperative Bewegung der Zellen sowie die Bildung von „Fruchtkörpern“, die unter lebensfeindlichen Bedingungen stattfindet. Das gemeinsame zielgerichtete Gleiten der Zellen auf Oberflächen beruht auf extrazellulären Wechselwirkungen. Myxobakterien besitzen keine Flagellen; es wird vermutet, dass ihre gleitende Fortbewegungsweise durch wellenförmige Kontraktionen der Zelloberflächen zustande kommt.³⁷

Die Bildung von Fruchtkörpern findet statt, wenn die Lebensbedingungen ungünstig werden. Dabei strömen die Zellen aufeinander zu und bilden die Fruchtkörper, deren Aussehen und Beschaffenheit von der Bakterienart abhängig ist. In diesen Fruchtkörpern wandeln sich die vegetativen Zellen in Sporen um. Diese Sporen sind kürzer und dicker als die vegetativen Zellen und sehr resistent gegenüber Umwelteinflüssen. Sie können über viele Jahre in diesem Zustand überleben. Die Fruchtkörper sind 50 bis 500µm groß und oft intensiv gelb bis rot gefärbt. Die Form und Beschaffenheit variiert stark, manche Fruchtkörper sehen aus wie kleine Bäume, andere sind rund.³⁸

Als Anfang des 19. Jahrhunderts die ersten Fruchtkörper des Myxobakterium *Polyangium vitellinum* entdeckt wurden, wurden sie aufgrund ihres Aussehens zunächst als Pilze identifiziert. Auch andere Myxobakterien wie *Stigmatella aurantiaca* wurden als Pilze klassifiziert, bis diese Spezies 1892 den Bakterien zugeordnet wurden. Seitdem folgten viele Studien, und mehr als 6000 Stämme wurden untersucht. Die am besten untersuchte Spezies ist *Myxococcus xanthus*.

Das große aktuelle Interesse an diesen Bakterien beruht auf ihrem bereits oben beschriebenen „sozialen“ Verhalten, aber auch auf ihrem breiten Spektrum an Sekundärmetaboliten, wofür sicherlich auch das für Bakterien relativ große Genom

(*S. cellulorum*: $13 \cdot 10^6$ Basenpaare, *M. xanthus*: $9 \cdot 10^6$ Basenpaare, im Vergleich dazu *E. coli*: 4,6 Millionen Basenpaare) verantwortlich ist.^{35,39} Ein interessanter und sehr bekannter Sekundärmetabolit ist, wegen seiner zytostatischen Wirkung, Epothilon aus *Sorangium cellulorum*.⁴⁰ Das Epothilon-Derivat Ixabepilon wird bereits als Zytostatikum eingesetzt.⁴¹

1.5 Motivation

Wie bereits oben beschrieben, ist Eisen ein lebensnotwendiges Element für die meisten Organismen, so auch für die Myxobakterien. Das Siderophor Myxochelin A hat die Aufgabe, Fe^{3+} außerhalb der Zellen zu binden und in diese hinein zu transportieren. Wie sich dieser Transport innerhalb der Zelle fortsetzt, ist bisher nicht bekannt. Es konnte jedoch ein Methyl-Derivat (siehe Abbildung 1-7) von Myxochelin A in den zwei Stämmen DK1050 und DK1622 des Myxobakterium *Myxococcus xanthus* nachgewiesen werden.⁴² Um herauszufinden ob dieses Derivat mit dem Eisenstoffwechsel in der Zelle zusammenhängt, sollten insbesondere die Fe^{3+} -Komplexe der beiden Derivate untersucht und verglichen werden. Ziel dieser Arbeit war sowohl die Synthese des Methyl-Derivates als auch die Untersuchung der Fe^{3+} -Komplexe von Myxochelin A und Methyl-Myxochelin A. Desweiteren sollten Unterschiede respektive Über-einstimmungen der Liganden und ihrer Fe^{3+} -Komplexe mithilfe von weiteren Derivaten aufgezeigt und interpretiert werden. Gleichzeitig wurde von T. Klefisch am Institut für Pharmazeutische Biotechnologie (Prof Dr. Müller (Universität des Saarlandes)) untersucht, ob es ein Enzym gibt, welches Myxochelin A zu eben jenem Methyl-Derivat umsetzt.¹

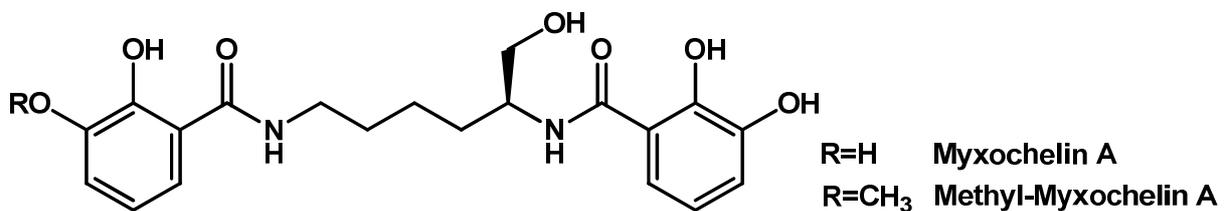


Abbildung 1-7: Myxochelin A und Methyl-Myxochelin A

Magnesium und Calcium gehören ebenfalls zu den für Organismen essentiellen Metallen. Sie kommen in der Umwelt als zweiwertige Ionen in Mineralien vor; zum Beispiel im Dolomit ($\text{MgCa}(\text{CO}_3)_2$), Calcit (CaCO_3) und im Magnesit (MgCO_2). Gleichzeitig sind sie die am häufigsten in Fluß- ($\text{Ca}^{2+}=1,5\text{mg/L}$ $\text{Mg}^{2+}=4,1\text{mg/L}$) und Meerwasser ($\text{Ca}^{2+}=4,22\text{mg/L}$ $\text{Mg}^{2+}=1,33 \cdot 10^3\text{mg/L}$) vorkommenden zweiwertigen Kationen.² Aufgrund des häufigen Vorkommens dieser Metalle in der Umwelt und

EINLEITUNG

ihrer biologischen Notwendigkeit ist es wichtig, die Komplexbildungskonstanten dieser Metalle mit Myxochelin A zu kennen. Gleichzeitig kann ein Vergleich mit den entsprechenden Komplexen des Liganden Didesoxy-Myxochelin A Erkenntnisse über die Koordination der Myxochelin A-Komplexe liefern.

2 Synthese der Liganden

Die chemische Synthese von Myxochelin A [1] ist bereits in der Literatur bekannt³⁴ und wurde während der dieser Arbeit vorangegangenen Diplomarbeit optimiert.⁴³ Schritte wie die Amidkupplung und das Entfernen der Benzylschutzgruppen konnten während dieser Dissertation noch weiter verbessert werden. Der zentrale Schritt dieser Synthese ist, wie in der Biosynthese von Myxochelin A, die Verknüpfung von Lysin und 2,3-Dihydroxybenzoesäure. Die Biosynthese von Myxochelin A wurde beispielsweise am Myxobakterium *Stigmatella aurantiaca* anhand von *in-vitro*-Untersuchungen aufgeklärt.^{32,33}

Die Synthesen von Didesoxy-Myxochelin A [3] und Methyl-Myxochelin A [2] orientieren sich an dieser optimierten chemischen Synthese. Während zur Herstellung des Didesoxy-Myxochelin A lediglich ein Molekül ausgetauscht wurde, wurde bei Methyl-Myxochelin A mit verschiedenen Schutzgruppen gearbeitet, wodurch zwei Syntheseschritte mehr notwendig wurden. Mit diesen chemischen Synthesen ist es möglich, Myxochelin A und seine Derivate im Gramm-Maßstab herzustellen.

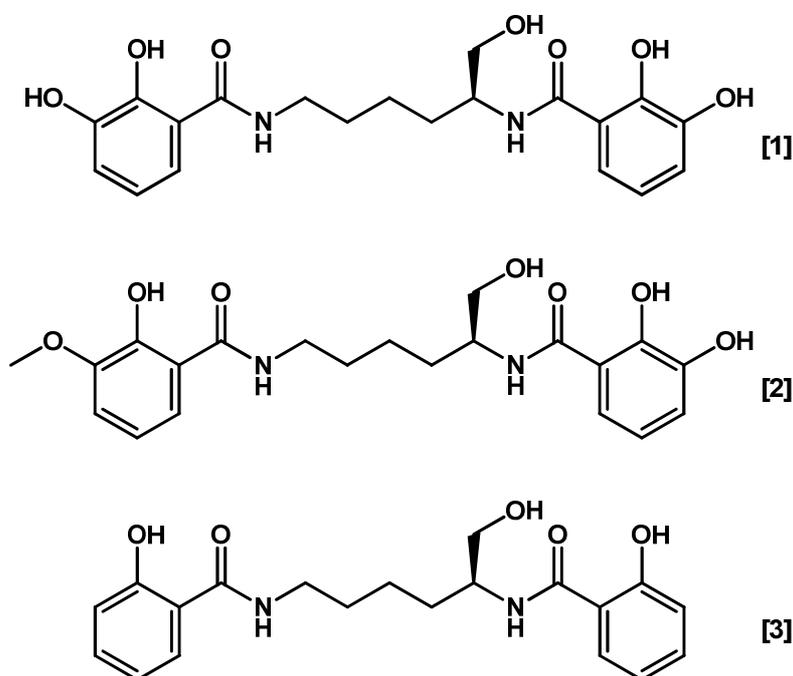


Abbildung 2-1: Myxochelin A [1], Methyl-Myxochelin A [2], Didesoxy-Myxochelin A [3]

Die Moleküle 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid [4], 2-Hydroxybenzoesäureamid [5], 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid [6] und 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid [7] sind im Vergleich zu Myxochelin A und seinen Derivaten sehr einfach

SYNTHESE DER LIGANDEN

aufgebaut. 2-Hydroxybenzoesäureamid konnte käuflich erworben und 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid aus der 2,3-Dihydroxybenzoesäure hergestellt werden. Das 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid wurde aus der käuflich erworbenen 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäure hergestellt. Das 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid konnte durch Methylierung des 2,3-Dihydroxybenzoesäureamids erhalten werden.

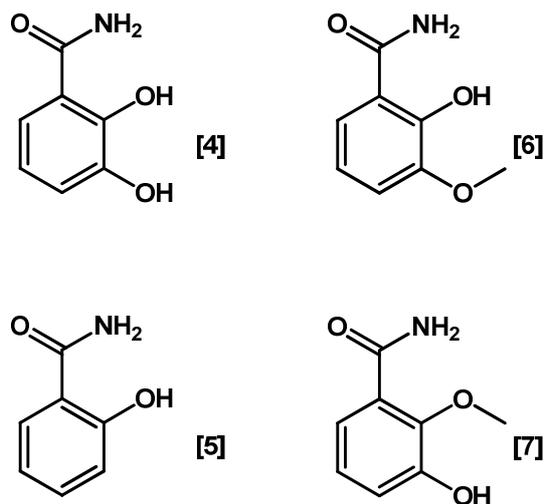


Abbildung 2-2: 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid [4], 2-Hydroxybenzoesäureamid [5], 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid [6] und 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid [7]

2.1 Synthese von Myxochelin A und Didesoxy-Myxochelin A

Der aliphatische Teil von Myxochelin A ähnelt stark der natürlichen Aminosäure Lysin; daher liegt es nahe, diesen Baustein aus der Aminosäure herzustellen. Dazu wurde das an den Aminfunktionen mit Butyloxycarbonylgruppen (Boc) geschützte (S)-Lysin [7] mit Ethylchloroformiat behandelt, um aus der Carbonsäure den Ester zu erhalten. Dieser wurde ohne vorherige Isolierung mittels Natriumborhydrid zum Alkohol [8] umgesetzt. Um das freie 2,6-Diaminohexanol [9] zu erhalten, wurden die Schutzgruppen mit Salzsäure abgespalten und durch Verwendung eines Anionenaustauschers vom Hydrochlorid befreit. Diese Synthese ist in Abbildung 2-3 dargestellt.

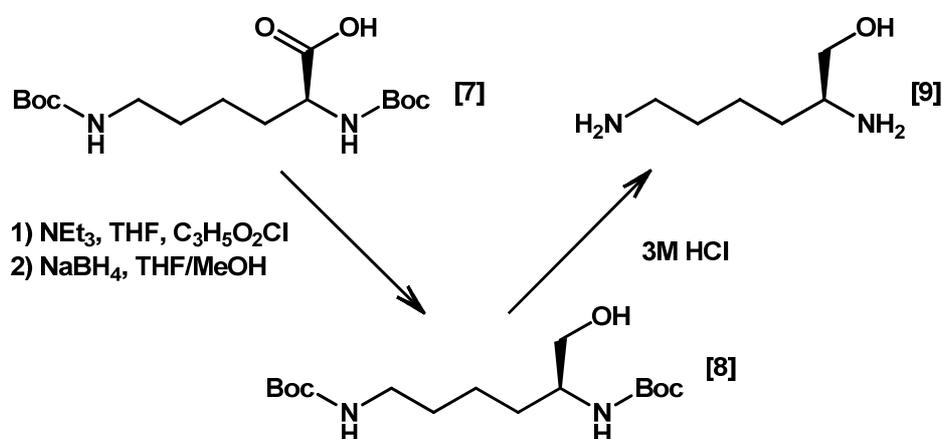


Abbildung 2-3: Synthese von 2,6-Diaminohexanol [9] aus *N-α-N-ε*-(Di-*tert*-Butoxycarbonyl)-(L)-Lysin [7] via (S)-2,6-Bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino-1-hexanol [8]

Als aromatischer Baustein wurde im Fall von Myxochelin A 2,3-Dihydroxybenzoesäure eingesetzt, im Fall von Didesoxy-Myxochelin A 2-Hydroxybenzoesäure. Die Alkoholgruppen dieser Aromaten wurden durch Benzylierung geschützt, damit bei den anschließenden Umsetzungen keine Nebenreaktionen auftraten.

Anders als in der Literatur beschrieben, wurde hier keine Kupplung mit den Reagenzien BOP und HOBt durchgeführt.^{34,43} Beim Einsatz dieser Reagenzien entsteht HMPT, welches als krebserzeugend und erbgutverändernd bekannt ist. Die hier verwendete Synthese orientiert sich an der von Phanstiel et al.⁴⁴ Diese stellten aus 3,4-Benzoxypybenzoesäure mittels Oxalylchlorid das entsprechende Säurechlorid her und setzten dieses anschließend mit einem freien Amin in einer Zweiphasenreaktion (Dichlormethan / Natronlauge (10%)) um. Zur Synthese des (S)-2,6-Bis(2,3-dibenzoxypybenzamido)-hexan-1-ol [11] wurde aus 2,3-Dibenzoxypybenzoesäure mit Thionylchlorid und katalytischen Mengen DMF das Säurechlorid [10] hergestellt, welches sofort nach Entfernen des überschüssigen Thionylchlorids mit dem freien

Amin umgesetzt wurde. Weiterhin war eine säulenchromatographische Reinigung über Kieselgel nötig. Die Ausbeute konnte jedoch von 44% auf 60% gesteigert werden.

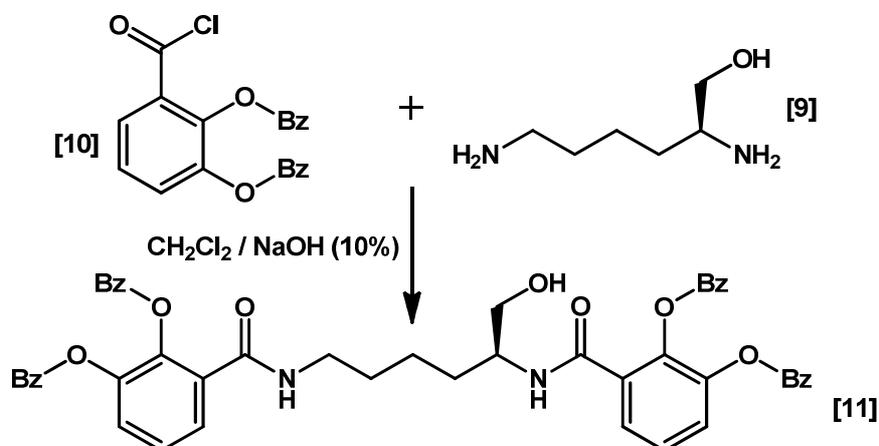


Abbildung 2-4: Synthese von (S)-2,6-Bis(2,3-dibenzyloxybenzamido)-hexan-1-ol [11] aus 2,6-Diaminohexanol [9] und 2,3-Dibenzyloxybenzoesäurechlorid [10]

Myxochelin A wurde anschließend quantitativ durch eine katalytische Transfer-Hydrierung⁴⁵ von (S)-2,6-Bis(2,3-dibenzyloxybenzamido)-hexan-1-ol erhalten. Als Wasserstoff-Donor wurde Ammoniumformiat, als Katalysator Pd/C (10wt%) und als Lösemittel Methanol eingesetzt. Der Vorteil der katalytischen Transfer-Hydrierung gegenüber der klassischen Hydrierung mit elementarem Wasserstoff lag in der vereinfachten Umsetzung der Synthese,⁴⁶ sowie hier speziell in der deutlichen Verkürzung der Reaktionszeit von mehreren Tagen auf drei Stunden.

Im Fall von Didesoxy-Myxochelin A gelang die Reinigung durch Kristallisation aus Methanol, im Fall von Myxochelin A wurde säulenchromatographisch mittels HPLC gereinigt.

2.1.1 Kristallstruktur von Didesoxy-Myxochelin A

Aus Methanol konnten sandfarbene schiefe Prismen des Didesoxy-Myxochelin A erhalten werden, die der Röntgenstrukturanalyse zugeführt wurden. Die Kristalle sind monoklin, die Punktgruppe ist $P2_1$. In Abbildung 2-5 sind zwei molekulare Untereinheiten des erhaltenen Kristalls dargestellt.

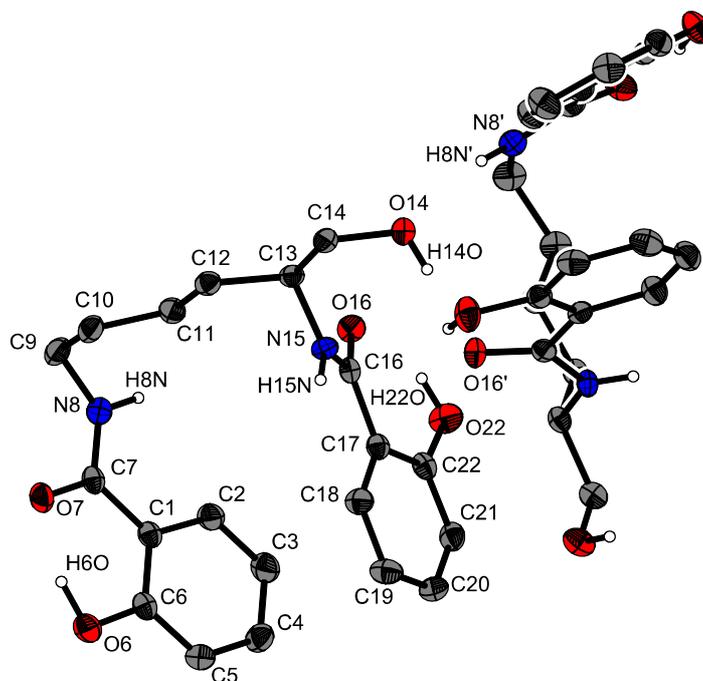


Abbildung 2-5: ORTEP-Darstellung von Didesoxy-Myxochelin A; die C-gebundenen H-Atome sind in dieser Abbildung nicht dargestellt; die Schwingungsellipsoide von C, O und N entsprechen 50% der Aufenthaltswahrscheinlichkeit; die Größe der H-Atome ist willkürlich gewählt (C:grau, O:rot, N:blau, H: weiß)

Einige Atomabstände und Winkel der erhaltenen Struktur sind in Tabelle 2-1 angegeben. Die intermolekularen Wechselwirkungen der Atome beschränken sich auf zwei Wasserstoffbrückenbindungen mit $2,86\text{\AA}$ (Abstand $\text{O16}'\cdots\text{O14}$) respektive $3,05\text{\AA}$ (Abstand $\text{O14}\cdots\text{N8}'$) zwischen dem Carbonylsauerstoff $\text{O16}'$ und dem Wasserstoff der phenolischen Hydroxygruppe H14O sowie dem aliphatischen Sauerstoff O14 und dem Wasserstoff des Amids $\text{H8N}'$. Letztere Wasserstoffbrückenbindung liegt in einem Bereich, der für eine sehr schwache Wechselwirkung spricht. Intramolekulare Wechselwirkungen finden zum Beispiel durch die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Carbonylsauerstoff O7 und der benachbarten phenolischen Hydroxyfunktion H6O ($2,53\text{\AA}$ (Abstand $\text{O7}\cdots\text{O6}$)) sowie dem Carbonylsauerstoff O16 und der benachbarten phenolischen Hydroxyfunktion H22O ($2,65\text{\AA}$ (Abstand $\text{O16}\cdots\text{O22}$)) statt. Diese unterscheiden sich um $0,12\text{\AA}$, was wahrscheinlich aus der unterschiedlichen Umgebung dieser Gruppen

SYNTHESE DER LIGANDEN

im Kristall resultiert, und nicht aus der unsymmetrischen Lysin-Brücke des Liganden. Die beiden Amidbindungen des Moleküls besitzen mit 1,34Å die gleiche Länge, und mit 120,4° bzw. 121,4° einen ähnlichen Bindungswinkel. Diese Bindungslängen und -winkel liegen in einem Bereich, der für Amide aufgrund deren Doppelbindungscharakters typisch ist. Die Aromaten eines Moleküls sind so gedreht, dass sie annähernd parallel stehen, Der Abstand zwischen den beiden Aromaten liegt bei 3,86Å; dieser Wert liegt gerade noch in dem Bereich, in dem Wechselwirkungen wie π - π -Stacking möglich sind.

Tabelle 2-1: exemplarische Bindungslängen und Winkel von Didesoxy-Myxochelin A*

Bindung	Länge [Å]	Bindungen	Winkel
C7—N8	1,34	O7—C7—N8	120,4°
C16—N15	1,34	O16—C16—N15	121,4°
O7...O6	2,53	O7...H6O—O6	154,3°
O16...O22	2,65	O16...H22O—O22	141,0°
C20—C4	3,68		
O16'...O14	2,86	O16'...H14O—O14	166,3°
O14...N8'	3,05	O14...H8N'—N8'	163,5°

*Die übrigen Bindungslängen und Winkel der Struktur liegen im erwarteten Bereich

2.2 Synthese von Methyl-Myxochelin A

Im Methyl-Myxochelin A ist an einem der beiden Aromaten eine Hydroxygruppe methyliert. Da eine selektive Methylierung dieser Position auf chemischem Wege nicht möglich ist, wurde eine elegantere Methode verwendet um dieses Molekül herzustellen. Durch Verwendung von Boc- und Z-Schutzgruppen am Lysin konnten die freien Amine sukzessive von diesen befreit und mit dem jeweiligen Säurechlorid umgesetzt werden. Zur selektiven Entfernung der Z-Schutzgruppe wurde die katalytische Transfer-Hydrierung angewendet, um anschließend das freie Amin mit 2-Benzoy-3-methoxy-benzoesäurechlorid umzusetzen, welches bereits die benötigte Methoxygruppe trägt.

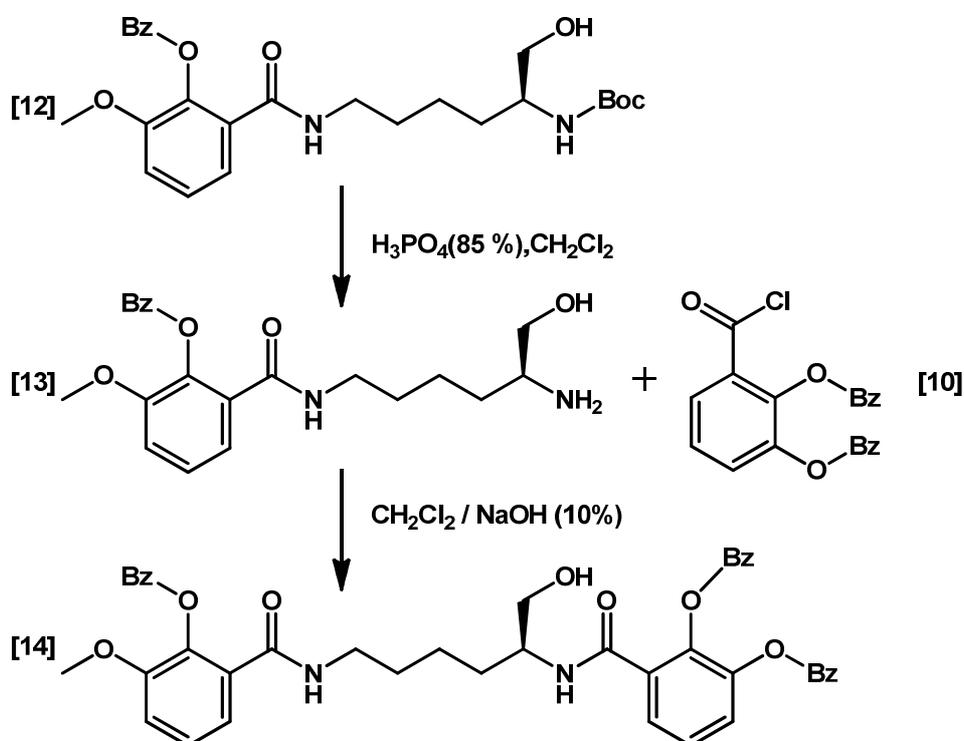


Abbildung 2-6: Synthese von (S)-2-(2,3-Dibenzoybenzamido)-6-(2-Benzoy-3-methoxybenzamido)-hexan-1-ol [14] aus (S)-2-[N- ϵ -(2-Benzoy-3-methoxybenzamido)-N- α -(tert-butoxycarbonyl)]amino-1-hexanol [12] via (S)-2-[N- ϵ -(2-Benzoy-3-methoxybenzamido)]amino-1-hexanol [13]

Das Kupplungsprodukt [12] wurde säulenchromatographisch gereinigt. Die Boc-Schutzgruppe wurde selektiv, wie bereits von Li et al. beschrieben,⁴⁷ mittels 85%iger Phosphorsäure entfernt. Das so entstandene freie Amin [13] wurde mit 2,3-Dibenzoybenzoesäurechlorid umgesetzt. Nach erneuter säulenchromatographischer Reinigung wurden die Benzyl-Schutzgruppen entfernt und Methyl-Myxochelin A erhalten, welches per HPLC aufgereinigt wurde. Die Bedingungen zur Reduktion der

Säurefunktion des Lysins zum Alkohol und zur Umsetzung der Amine mit den Säurechloriden entsprachen denen der Myxochelin A-Synthese.

2.3 Synthese von 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid und 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid

Zur Herstellung des 2,3-Dihydroxybenzoesäureamids respektive des 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid wurden zunächst die Hydroxygruppen der entsprechend substituierten Benzoesäurederivate durch eine Umsetzung mit Benzylbromid und Kaliumcarbonat in Aceton geschützt. Anschließend wurden die Verbindungen mit Thionylchlorid und katalytischen Mengen DMF in Dichlormethan zum Säurechlorid umgesetzt, um sie ohne vorherige Isolierung mittels Aminolyse zu den gewünschten Benzoesäureamiden umzusetzen. Die Entfernung der Benzyl-Schutzgruppen erfolgte, wie bei allen Liganden, mittels katalytischer Transfer-Hydrierung. Ohne die Verwendung von Schutzgruppen wurde nur ein stark verunreinigtes Produkt erhalten. Die benötigte Reinheit wurde durch eine säulenchromatographisch Reinigung erreicht.

2.4 Synthese von 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid

Das 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid wurde durch eine Methylierung des zuvor synthetisierten 2,3-Dihydroxybenzoesäureamids hergestellt. Hierzu wurde DMF als Lösemittel verwendet, Methyljodid als Methylierungs-Reagenz sowie Kaliumhydrogencarbonat als milde Base. Unter diesen Bedingungen konnten Lowell et al. mit hoher Selektivität den 3-Hydroxy-2-methoxybenzaldehyd herstellen.⁴⁸ Das entsprechende Benzoesäureamid wird unter diesen Bedingungen auch bevorzugt gebildet, jedoch entsteht ebenso das dimethylierte Produkt und in geringen Mengen das 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid. Das dimethylierte Produkt konnte durch geeignete organisch-wässrige Extraktion entfernt werden. Die beiden einfach methylierten Produkte wurden säulenchromatographisch voneinander getrennt.

2.4.1 Kristallstruktur von 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid

Aus Diethylether konnten farblose Prismen des 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid erhalten werden, die der Röntgenstrukturanalyse zugeführt wurden. Diese Verbindung kristallisiert monoklin in der Punktgruppe $P2_1/n$. In Abbildung 2-7 ist ein Ausschnitt der erhaltenen Struktur mit vier molekularen Untereinheiten dargestellt.

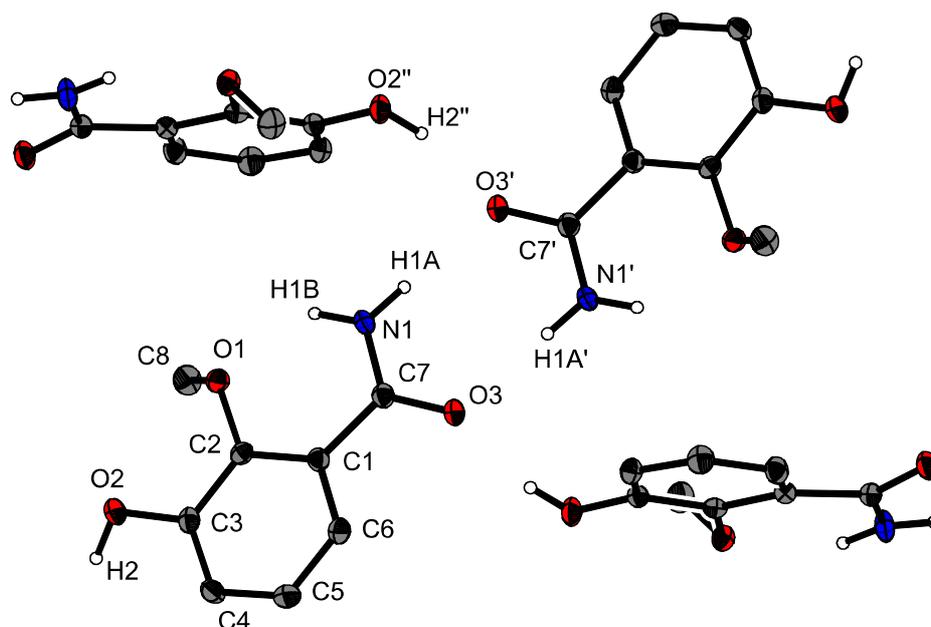


Abbildung 2-7: ORTEP-Darstellung von 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid; die C-gebundenen H-Atome sind in dieser Abbildung nicht dargestellt; die Schwingungsellipsoide von C, O und N entsprechen 50% der Aufenthaltswahrscheinlichkeit; die Größe der H-Atome ist willkürlich gewählt (C:grau, O:rot, N:blau, H: weiß)

In Tabelle 2-2 sind einige Atomabstände und Winkel der erhaltenen Struktur angegeben. Die Amidbindung zwischen C7 und N1 liegt im erwarteten Bereich mit 1,34Å; sie besitzt also den für Amide typischen Doppelbindungscharakter. Auch der Bindungswinkel zwischen O3, C7 und N1 entspricht mit 120,8° der sp^2 -Hybridisierung des Amidkohlenstoffs.

Tabelle 2-2: exemplarische Bindungslängen und Winkel der Kristallstruktur von 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid*

Bindung	Länge [Å]	Bindungen	Winkel
C7—N1	1,34	O3—C7—N1	120,8°
O1...N1	2,68	O1...H1B—N1	135,2°
O3'...O2''	2,69	O3'...H2''—O2''	165,6
O3...N1'	2,95	O3...H1A'—N1'	175,3°

*Die übrigen Bindungslängen und Winkel der Struktur liegen im erwarteten Bereich

Innerhalb des Moleküls gibt es eine Wasserstoffbrückenbindung, zwischen dem Wasserstoff des Amids H1B und dem Sauerstoff der Methoxygruppe O1 mit 2,68Å (Abstand O1...N1). Intramolekulare Wechselwirkungen treten zwischen den Amidgruppen zweier Moleküle auf. Hier gibt es zwei parallele schwache Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Carbonylsauerstoff O3' und dem Wasserstoff des Amids H1A, beziehungsweise zwischen O3 und H1A'. Diese „Bindungen“ sind mit einem Winkel von 175,3° nahezu linear. Eine weitere Wechselwirkung gibt es zwischen dem Carbonylsauerstoff O3' und dem Wasserstoff der Hydroxygruppe H2'' (2,69Å (Abstand O3'...O2'')).

3 Säurekonstanten der Liganden

3.1 Zur verwendeten Methode

Die Säurekonstanten eines Stoffes sind ein Maß dafür, in welchem thermodynamischen Verhältnis die deprotonierte zur protonierte Spezies, in Abhängigkeit vom pH-Wert, in Lösung vorliegen. Um Stabilitätskonstanten mit Metallen zu bestimmen, müssen diese Säurekonstanten bekannt sein, da es sich bei der Komplexbildung von Ligand und Metall um eine Konkurrenzreaktion zur Protonierung des Liganden handelt.

Zur Bestimmung der Säurekonstanten wurde in dieser Arbeit die potentiometrische Titration verwendet. Dazu wurden 50mL der 0,5 mM bzw. 1mM konzentrierten Ligandlösung mit 0,1M Kalilauge alkalimetrisch titriert und das Potential mit einer Glaselektrode bestimmt. In einem pH-Bereich von 2-13 kann mit den verwendeten Elektroden eine genügende Genauigkeit ($\Delta E \leq 0,3\text{mV} \triangleq \Delta \text{pH} \leq 0,005$) in diesem Medium erreicht werden. Die Methode wird im experimentellen Teil detailliert beschrieben. Beispieltitrations der einzelnen Liganden werden in den nachfolgenden Kapiteln gezeigt

Aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit von Myxochelin A und seinen Derivaten wurden diese in gemischtwässrigen DMSO-Lösungen titriert. Da die Säurekonstanten abhängig von dem verwendeten Lösemittel, der Temperatur und der Ionenstärke sind, wurden alle in dieser Arbeit untersuchten Liganden in gemischtwässrigen DMSO-Lösungen ($x_{\text{DMSO}}=0,2$) mit Kaliumchlorid als Inertelektrolyt (0,1M) bei 298K titriert.

3.2 Potentiometrische Titrations der einzelnen Liganden

3.2.1 Myxochelin A

Der Ligand Myxochelin A ist aus zwei identischen aromatischen Sechs-Ringen mit jeweils zwei Hydroxyfunktionen aufgebaut, die über eine aliphatische Brücke, die eine Hydroxyfunktion trägt, miteinander verbunden sind. Die Brücke, die sich von der Aminosäure Lysin ableitet, ist „unsymmetrisch“, was dazu führt, dass die beiden Aromaten nicht mehr chemisch äquivalent sind. Das bedeutet auch, dass die vier phenolischen Hydroxyfunktionen unterscheidbar sind. In Abbildung 3-1 ist Myxochelin A in seiner ungeladenen Form dargestellt. Diese Form entspricht der Definition der Grundkomponente L. Sofern nicht anderes gekennzeichnet, wird zur Auswertung von Titrationsen immer diese Definition von L verwendet.

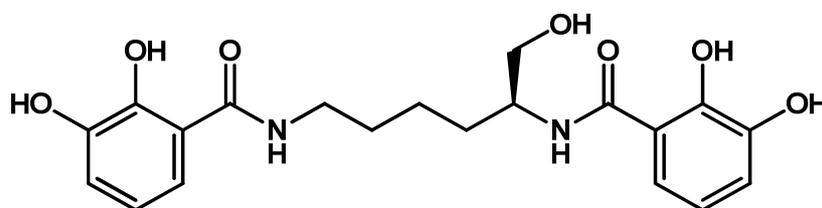


Abbildung 3-1: Grundkomponente L des Liganden Myxochelin A

Die potentiometrischen Titrationsen von Myxochelin A wurden mit fünf Äquivalenten Kalilauge bezüglich der Stoffmenge Ligand durchgeführt. In einem pH-Bereich von 4,8 bis 12,5 konnten mit dem Programm *HYPERQUAD*^{49,50} vier Säurekonstanten bestimmt werden. Die genauen Titrationsbedingungen sowie die bestimmten individuellen Deprotonierungskonstanten sind in Tabelle 3-1 aufgeführt.

Tabelle 3-1: Titrationsbedingungen und Säurekonstanten von Myxochelin A

c(Myxochelin A) [mM]	0,5	pK _S -Werte		
pH-Bereich	4,8 - 12,5		Beispieltitration	Mittelwerte
Anzahl der Schritte	50	pK _{S1} [†]	7,50(1)*	7,48(4) ^{**}
Gesamtzugabe (KOH 0,1M) [mL]	1,00	pK _{S2} [†]	8,46(1)*	8,46(2) ^{**}
Mischzeit / Wartezeit [s]	60 / 120	pK _{S3} [†]	12,96(3)*	13,0(2) ^{**}
σ [#]	0,511	pK _{S4} [†]	13,6(3)*	>13

* dreifache Standardabweichung mit *HYPERQUAD* berechnet.

** Standardabweichung bestimmt über mindestens 8 Messungen: $s_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$

sigma aus *HYPERQUAD*; Güte der Iteration^{49,50}

† pK_{S_n} ist definiert als $-\log(K_{S_n})$ mit $K_{S_n} = [\text{LH}_{1-n}] \cdot [\text{H}] \cdot [\text{LH}_{1-n}]^{-1}$ mit dem vollständig protonierten Ligand L

Die Konstanten $pK_{S1}=7,48$ und $pK_{S2}=8,46$ sind nur um eine Größenordnung verschieden und deutlich kleiner als die anderen beiden pK_S -Werte. Man kann die Deprotonierungen demnach in zwei Gruppen einteilen. Da sich jeweils zwei Hydroxyfunktionen im Molekül relativ ähnlich sind, wird hier die Annahme gemacht, dass je Aromat zuerst eine phenolische Hydroxyfunktion und anschließend die jeweils benachbarte Hydroxyfunktion deprotoniert wird. Mit der Methode der potentiometrischen Titration ist nur die Bestimmung von Makrokonstanten möglich. Um den Deprotonierungsort zu identifizieren, wurden NMR-Untersuchungen bei verschiedenen pH-Werten durchgeführt, deren Ergebnisse in Kapitel 3.4.6 beschrieben werden.

Gemäß der oben getroffenen Annahme zum Deprotonierungsort, ist anzunehmen, dass die Deprotonierung einer Hydroxyfunktion eines Aromaten die Deprotonierung einer Hydroxyfunktion des anderen kaum beeinflusst. Der Unterschied ist wenig größer als jener der sich aus dem statistischen Effekt ergibt. Bei einem rein statistischen Effekt, läge der Unterschied bei $\log(4)=0,6$, da die Bildung der einfach deprotonierten Spezies um den Faktor 4 erhöht ist. Eine Beispieltitration des Liganden Myxochelin A ist in Abbildung 3-2 dargestellt:

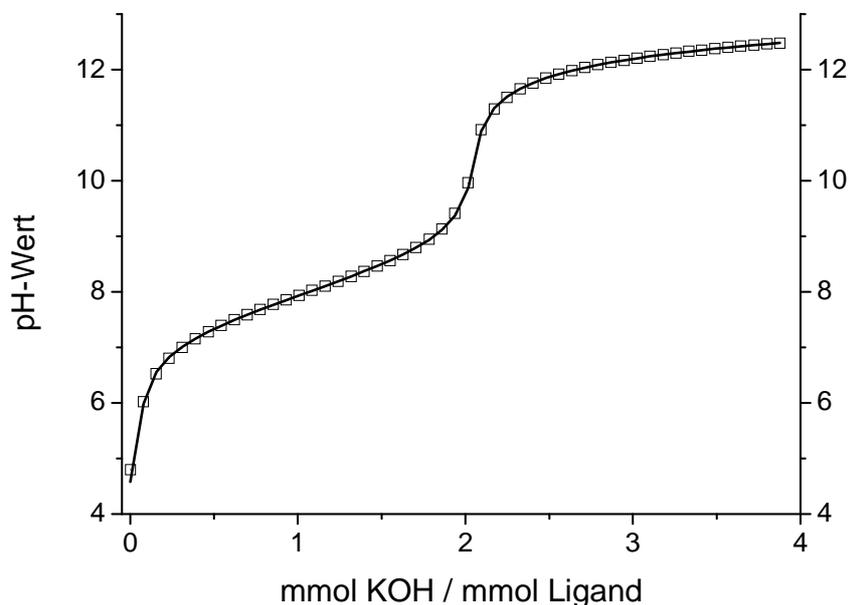


Abbildung 3-2: potentiometrische Titration von Myxochelin A mit $c(L)=0,5\text{mM}$
(Punkte: gemessene Werte, schwarze Linie: „Fit“ aus *HYPERQUAD*)

Die Titration beginnt mit einem Sprung bei $\text{pH}=5$ und besitzt einen weiteren Sprung bei einer Zugabe von zwei Äquivalenten Kalilauge bezüglich der eingesetzten Menge

Ligand. Die ersten beiden pK_S -Werte besitzen also ein gemeinsames Puffergebiet, da sie sich nur um eine Größenordnung unterscheiden.

Das Teilchenmodell von Myxochelin A ist in Abbildung 3-3 dargestellt. Die einfach deprotonierte Spezies LH_{-1} wird ab einem $pH \geq 5$ gebildet und erreicht bei $pH=8$ ihr Maximum. Ab $pH \geq 7$ beginnt die Bildung der Spezies LH_{-2} , welche ab $pH \geq 9$ bis $pH=12,5$ dominiert. Die dreifach deprotonierte Spezies LH_{-3} wird ab $pH \geq 10,5$ gebildet und liegt am Ende der Titration ($pH=12,5$) zu etwa 20% vor. Die Bildung der vierfach deprotonierten Spezies LH_{-4} beginnt erst bei $pH \geq 12$, und wird im abgebildeten Teilchenmodell aufgrund ihres geringen Vorkommens nicht dargestellt. Hier wird deutlich, dass die Bestimmung der Konstanten pK_{S3} und pK_{S4} aufgrund der hohen pK_S -Werte nur mit einem großen Fehler möglich war.

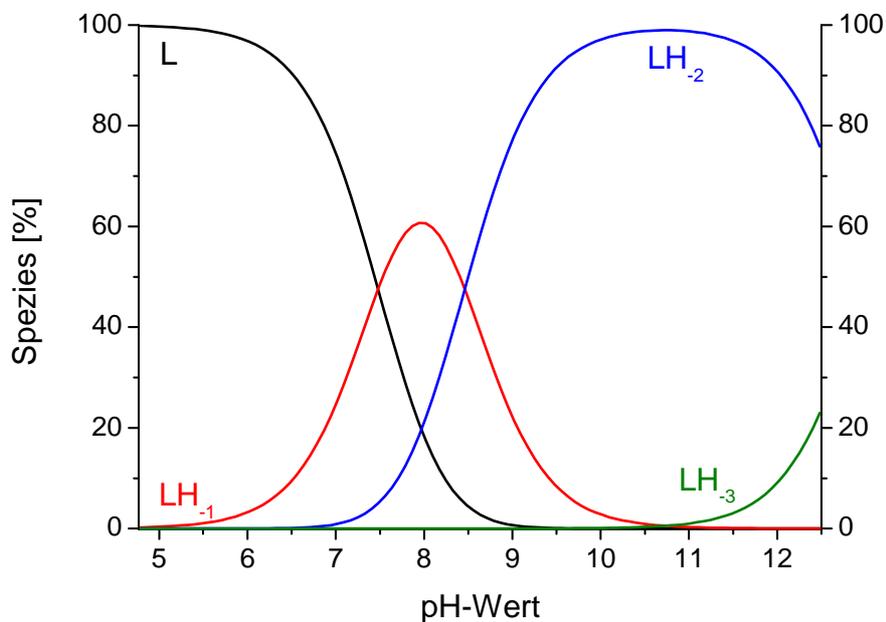


Abbildung 3-3: Teilchenmodell von Myxochelin A (Die Spezies LH_{-4} wird nicht dargestellt, da sie zu weniger als 2% vorkommt.) (berechnet mit $HYSS^{51}$ für $c(L)=0,5mM$ und mit den bestimmten Mittelwerten der Säurekonstanten)

3.2.2 Methyl-Myxochelin A

Die Struktur des Liganden Methyl-Myxochelin A entspricht der des Liganden Myxochelin A, mit Ausnahme der Methoxyfunktion, die bei diesem Liganden eine phenolische Hydroxyfunktion ersetzt. Die in Abbildung 3-4 dargestellte Struktur entspricht der Grundkomponente L, die in dieser Form zur Auswertung verwendet wird.

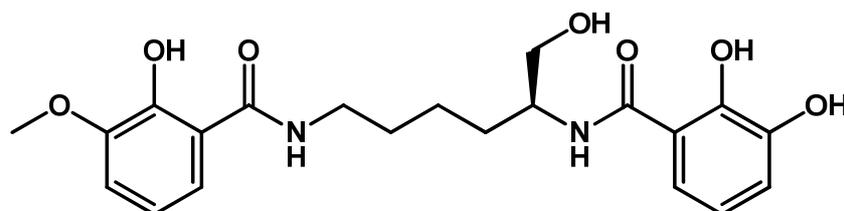


Abbildung 3-4: Grundkomponente L des Liganden Methyl-Myxochelin A

Der Ligand Methyl-Myxochelin A wurde potentiometrisch mit 0,1M Kalilauge titriert. Zur Auswertung wurden Titrations mit drei Äquivalenten Base bezüglich der Stoffmenge an Ligand verwendet, was einem pH-Bereich von 4,9 bis 12,3 entspricht. Titrations mit mehr Äquivalenten zeigten, dass durch zusätzliche Zugabe von Base keine weiteren Konstanten bestimmt werden konnten. Insgesamt konnten drei pK_S -Werte bestimmt werden (siehe Tabelle 3-2). Die Werte $pK_{S1}=7,68$ und $pK_{S2}=8,94$ unterscheiden sich um etwas mehr als eine Größenordnung. Der dritte pK_S -Wert ist mit 13,0 deutlich größer als die beiden ersten pK_S -Werte. Um die pK_S -Werte den funktionellen Gruppen zuzuordnen, wurden NMR-Untersuchungen bei verschiedenen pH-Werten durchgeführt. Diese Ergebnisse werden in Kapitel 3.4.7 diskutiert.

Tabelle 3-2: Titrationsbedingungen und Säurekonstanten von Methyl-Myxochelin A

c(Methyl-Myxochelin A) [mM]	0,5	pK_S -Werte		
pH-Bereich	4,9 - 12,3		Beispieltitration	Mittelwerte
Anzahl der Schritte	50	pK_{S1}^+	7,67(1)*	7,68(1)**
Gesamtzugabe (KOH 0,1M) [mL]	0,80	pK_{S2}^+	8,93(1)*	8,94(3)**
Mischzeit / Wartezeit [s]	60 / 120	pK_{S3}^+	13,04(2)*	13,0(1)**
$\sigma^\#$	0,272			

*,**,#,+ siehe Tabelle 3-1

Die in Abbildung 3-5 dargestellte Beispieltitration des Liganden Methyl-Myxochelin A macht die unterschiedlichen Abstände zwischen den pK_S -Werten deutlich. Die Titration beginnt mit einem pH-Sprung, welchem ein breites Puffergebiet folgt, in dem zwei Protonen des Liganden abstrahiert werden. Bei zwei Äquivalenten

Basenzugabe pro Stoffmenge Ligand folgt ein weiterer pH-Sprung. In dem nachfolgenden Puffergebiet beginnt der dritte Deprotonierungsschritt.

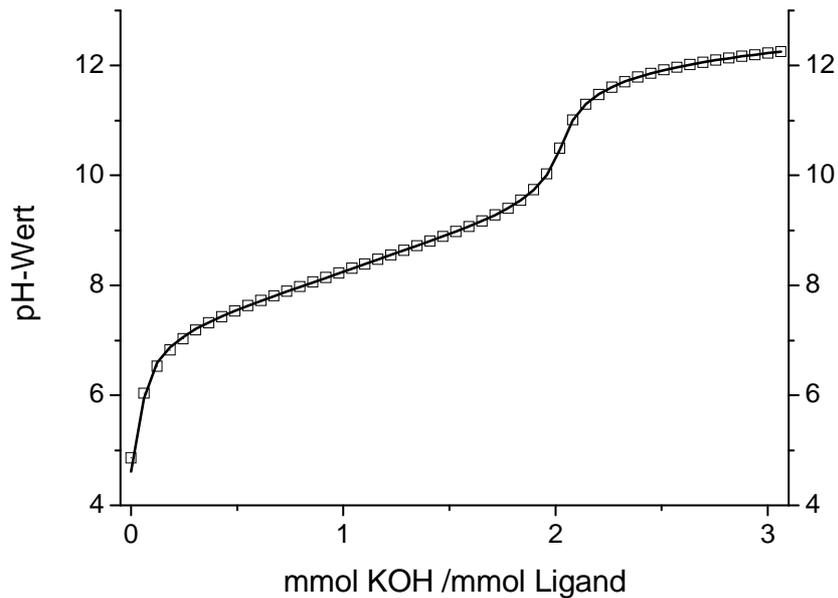


Abbildung 3-5: potentiometrische Titration von Methyl-Myxochelin A mit $c(L)=0,5\text{mM}$ (Punkte: gemessene Werte, schwarze Linie: „Fit“ aus HYPERQUAD)

Die Teilchenverteilung (siehe Abbildung 3-6) stellt sich damit wie folgt dar: Zu Beginn der Titration ($\text{pH}=4,9$) liegt der Ligand als ungeladene Spezies L vor, die bis $\text{pH}\leq 7$ dominiert. Die einfach deprotonierte Spezies LH_{-1} dominiert nur in einem schmalen pH-Bereich zwischen 8 und 9. Ab $\text{pH}\geq 9$ überwiegt der Anteil an LH_{-2} . Die dreifach deprotonierte Spezies LH_{-3} wird erst ab $\text{pH}\geq 11$ gebildet.

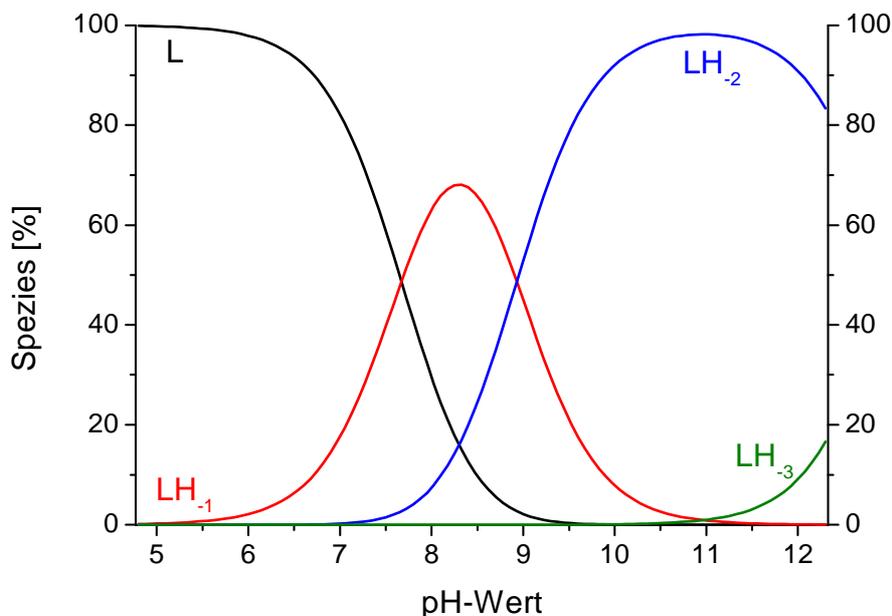


Abbildung 3-6: Teilchenmodell von Methyl-Myxochelin A (berechnet mit HYSS für $c(L)=0,5\text{mM}$ und mit den bestimmten Mittelwerten der Säurekonstanten)

3.2.3 Didesoxy-Myxochelin A

Der Ligand Didesoxy-Myxochelin A ist aus zwei identischen aromatischen Sechsringen aufgebaut. Diese tragen jeweils eine Hydroxyfunktion, die analog zum Liganden Myxochelin A über eine aliphatische Brücke, die eine weitere Hydroxyfunktion trägt, miteinander verbrückt sind. In Abbildung 3-7 ist die Struktur des Liganden dargestellt, die gleichzeitig der zur Auswertung verwendeten Grundkomponente L entspricht.

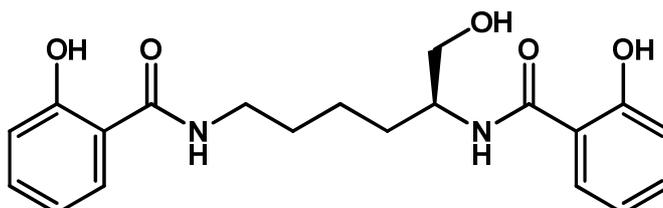


Abbildung 3-7: Grundkomponente L des Liganden Didesoxy-Myxochelin A

Die Titrations des Liganden Didesoxy-Myxochelin A wurden potentiometrisch mit vier Äquivalenten Kalilauge bezüglich der Stoffmenge Ligand durchgeführt. So konnten die Konstanten $pK_{S1}=8,15$ und $pK_{S2}=9,09$ in guter Genauigkeit bestimmt werden (vergleiche Tabelle 3-3). Die Bestimmung größerer pK_S -Werte war hier nicht möglich. Es wird hier die Annahme gemacht, dass diese pK_S -Werte den beiden phenolischen Hydroxyfunktionen zuzuordnen sind. Diese Annahme wird in Kapitel 3.3 genauer diskutiert.

Tabelle 3-3: Titrationsbedingungen und Säurekonstanten von Didesoxy-Myxochelin A

c(Didesoxy-Myxochelin A) [mM]	0,5	pK _S -Werte		
pH-Bereich	4,9 - 12,5		Beispieltitration	Mittelwerte
Anzahl der Schritte	50	pK _{S1} ⁺	8,13(1)*	8,15(2)**
Gesamtzugabe (KOH 0,1M) [mL]	1,00	pK _{S2} ⁺	9,06(1)*	9,09(2)**
Mischzeit / Wartezeit [s]	60 / 120			
σ [#]	0,266			

***, #, + siehe Tabelle 3-1

In Abbildung 3-8 ist eine Beispieltitration von Didesoxy-Myxochelin A bei den in Tabelle 3-3 angegebenen Bedingungen dargestellt. Die Titration beginnt bei pH=4,9 mit einem pH-Sprung. Im Bereich von $pH \geq 7$ und $pH \leq 10$ finden die beiden Deprotonierungen des Moleküls statt. Das Puffergebiet wird bei zwei Äquivalenten Kalilauge von einem Sprung abgeschlossen. Im in Abbildung 3-9 dargestellten Teilchenmodell erkennt man, dass die Deprotonierung des Liganden bei $pH \geq 6$

beginnt. Die hier gebildete einfach deprotonierte Spezies LH_{-1} dominiert über einen schmalen Bereich von $pH \geq 8,2$ bis $pH \leq 9,1$ und wird dann von der zweifach deprotonierten Spezies LH_{-2} abgelöst, welche ab $pH \geq 7,3$ gebildet wird und ab $pH \geq 11$ nahezu ausschließlich vorliegt.

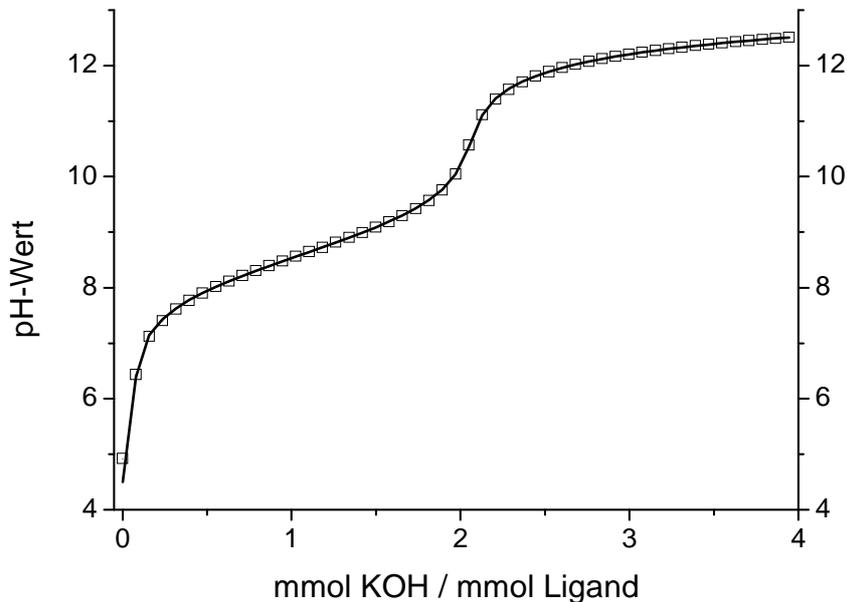


Abbildung 3-8: potentiometrische Titration von Didesoxy-Myxochelin A mit $c(L)=0,5\text{mM}$ (Punkte: gemessene Werte, schwarze Linie: „Fit“ aus *HYPERQUAD*)

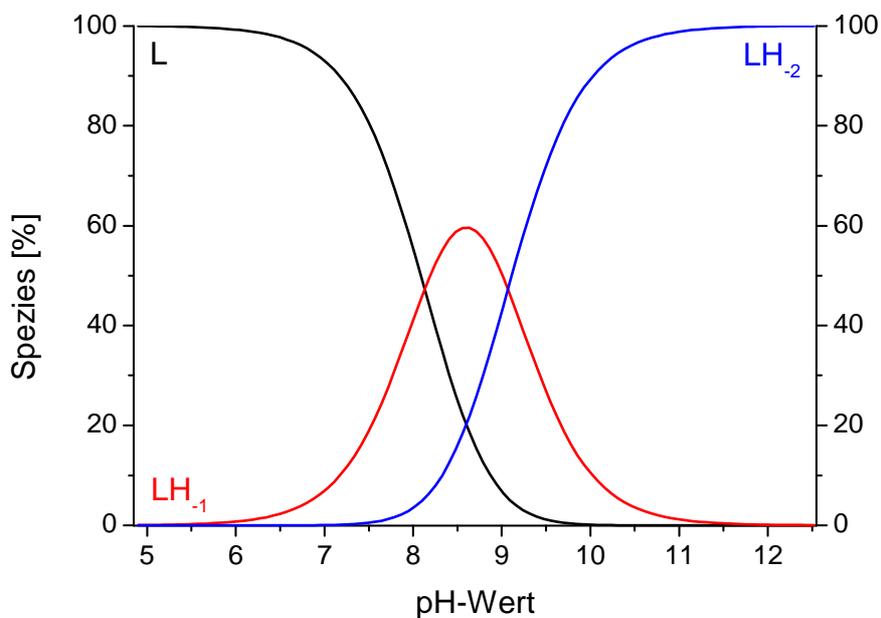


Abbildung 3-9: Teilchenmodell von Didesoxy-Myxochelin A (berechnet mit *HYSS* für $c(L)=0,5\text{mM}$ und mit den bestimmten Mittelwerten der Säurekonstanten)

3.2.4 2-Hydroxybenzoesäureamid

Die Struktur des 2-Hydroxybenzoesäureamids, die auch der zur Auswertung verwendeten Grundkomponente L entspricht, ist in Abbildung 3-10 dargestellt. Dieser Ligand entspricht den aromatischen Einheiten von Didesoxy-Myxochelin A.

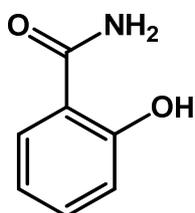


Abbildung 3-10: Grundkomponente L des Liganden 2-Hydroxybenzoesäureamid

Dieser Ligand wurde bereits von A. Ågren et al. neben ähnlichen Verbindungen in rein wässriger Lösung mittels Photometrie im ultravioletten Spektralbereich untersucht.⁵² Dabei wurde für 2-Hydroxybenzoesäureamid ein pK_S -Wert von 8,89(5) erhalten.

Die von A. Ågren et al. gewählten Bedingungen unterscheiden sich nicht nur durch das rein wässrige System, sondern auch durch die Wahl des Interelektrolyts (Natriumperchlorat) und dessen Konzentration (0,3M) von den hier gewählten Bedingungen. Daher war es notwendig, die Säurekonstanten von 2-Hydroxybenzoesäureamid in partiell wässriger DMSO-Lösung zu bestimmen, um diese mit Myxochelin A und seinen Derivaten vergleichen zu können. Diese Untersuchungen wurden von T. Hauch, unter meiner Betreuung, im Rahmen ihrer Bachelor-Arbeit durchgeführt.⁵³ Der Ligand wurde potentiometrisch mit knapp anderthalb Äquivalenten Kalilauge titriert. So konnte der pK_S -Wert 8,672 bestimmt werden. Diese Konstante liegt in der gleichen Größenordnung, wie der von Ågren et al. in rein wässrigem Medium bestimmte Wert. Der pK_S -Wert kann aufgrund der Schlichtheit des Moleküls direkt der Hydroxyfunktion zugeordnet werden.

Tabelle 3-4: Titrationsbedingungen und Säurekonstanten von 2-Hydroxybenzoesäureamid

c(2-Hydroxybenzoesäureamid) [mM]	1,0	pK_S -Wert		
pH-Bereich	6,1 - 12,3		Beispieltitration	Mittelwert
Anzahl der Schritte	50	pK_{S1}^+	8,668(3)*	8,672(2)**
Gesamtzugabe (KOH 0,1M) [mL]	0,75			
Mischzeit / Wartezeit [s]	60 / 120			
$\sigma^\#$	0,274			

***, #, + siehe Tabelle 3-1

Die Titrationskurve (siehe Abbildung 3-11) des Säureamids beginnt mit einem pH-Sprung vom sauren in den basischen pH-Bereich. Im Bereich $\text{pH} \geq 7,5$ bis $\text{pH} \leq 9,5$ befindet sich das Puffergebiet des pK_S -Werts. Der zweite pH-Sprung ergibt sich bei einem Äquivalent Basenzugabe. Die Titration endet bei $\text{pH}=12,3$.

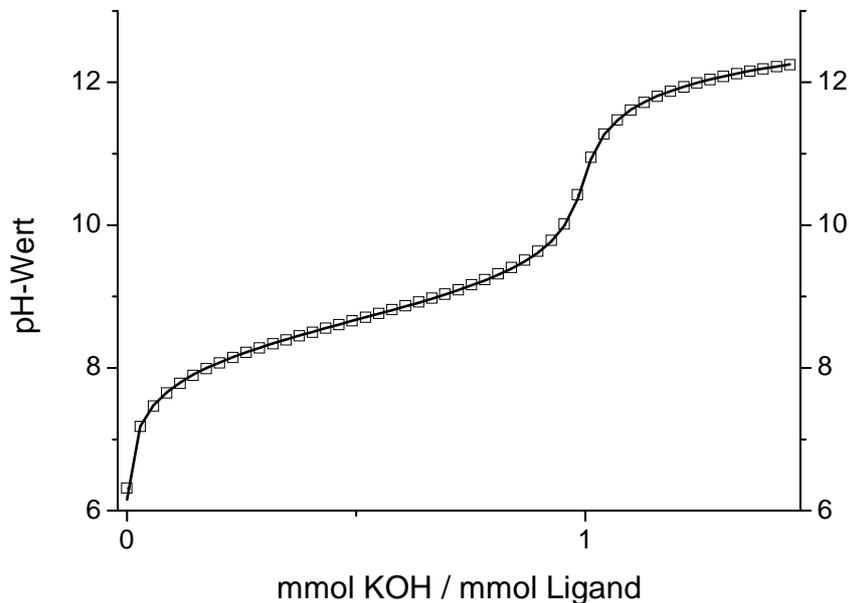


Abbildung 3-11: potentiometrische Titration von 2-Hydroxybenzoesäureamid mit $c(L)=1,0\text{mM}$ (Punkte: gemessene Werte, schwarze Linie: „Fit“ aus *HYPERQUAD*)

Im Teilchenmodell erkennt man, dass die Deprotonierung des Liganden bei etwa $\text{pH} \geq 6$ beginnt, die einfach deprotonierte Spezies LH_{-1} dominiert ab $\text{pH} \geq 8,7$ bis zum Ende der Titration bei $\text{pH}=12,3$.

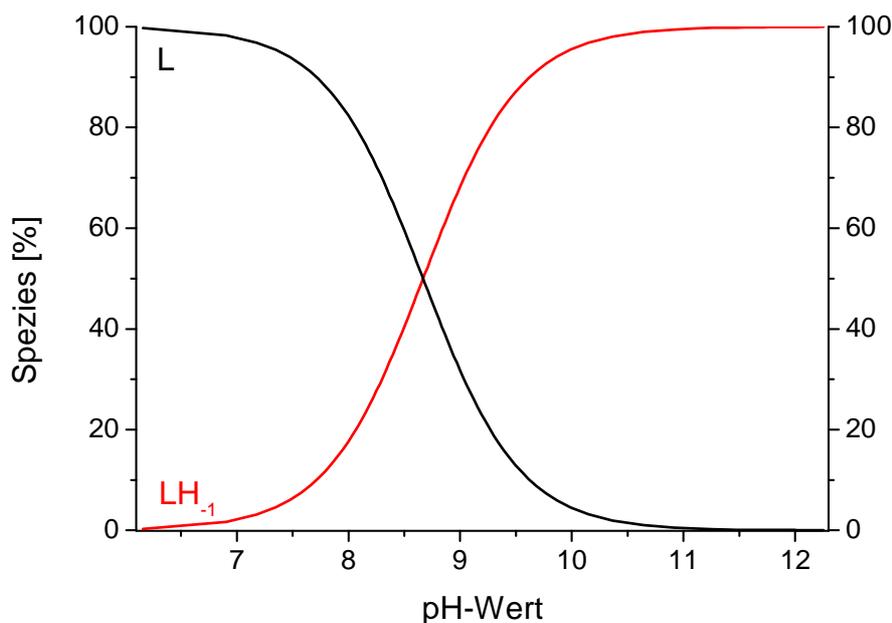


Abbildung 3-12: Teilchenmodell von 2-Hydroxybenzoesäureamid (berechnet mit *HYSS* für $c(L)=1,0\text{mM}$ und mit dem bestimmten Mittelwerte der Säurekonstante)

3.2.5 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid

Die Verbindung 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid ist in Abbildung 3-13 dargestellt. Diese Struktur entspricht den aromatischen Teilen des Liganden Myxochelin A.

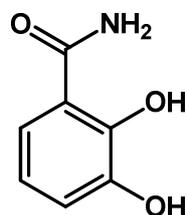


Abbildung 3-13: Grundkomponente L des Liganden 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid

Die 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid strukturell sehr ähnliche Verbindung 2,3-Dihydroxy-*N,N*-dimethylbenzoesäureamid wurde bereits von Raymond et al. im rein wässrigen Lösung bezüglich ihrer Acidität untersucht. Dabei wurden im rein wässrigen 0,1M Kaliumnitrat-Medium bei 298K die Werte $pK_{S1}=8,42(1)$ und $pK_{S2}=12,1(3)$ erhalten.⁵⁴

Die Untersuchung des Liganden 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid wurden im gemischt-wässrigen DMSO-System mit Kaliumchlorid als Inertelektrolyt von T. Hauch, unter meiner Betreuung, im Rahmen ihrer Bachelorarbeit durchgeführt (siehe Tabelle 3-5).⁵³ Es konnten die Konstanten $pK_{S1}=8,079$ und $pK_{S2}=13,02$ bestimmt werden, die sich nur wenig von den für 2,3-Dihydroxy-*N,N*-dimethylbenzoesäureamid bestimmten Konstanten unterscheiden.

Tabelle 3-5: Titrationsbedingungen und Säurekonstanten von 2,3-Dihydroxy-benzoesäureamid

c(2,3-Dihydroxybenzoesäureamid) [mM]	1,0	pK _S -Werte		
pH-Bereich	5,7 - 12,6		Beispieltitration	Mittelwert
Anzahl der Schritte	50	pK_{S1}^+	8,08(2)*	8,079(7)**
Gesamtzugabe (KOH 0,1M) [mL]	1,00	pK_{S2}^+	13,10(2)*	13,02(7)**
Mischzeit / Wartezeit [s]	60 / 120			
$\sigma^{\#}$	0,672			

*,**,#,+ siehe Tabelle 3-1

In Abbildung 3-14 ist der Verlauf der durchgeführten Titrations exemplarisch dargestellt. Die Titration beginnt bei pH=5,7 im ersten pH-Sprung. Zwischen pH \geq 7 und pH \leq 9 findet die erste Deprotonierung des Liganden statt. Bei einem Äquivalent Basenzugabe pro Stoffmenge Ligand befindet sich der zweite pH-Sprung; an dieser Stelle ist die erste Deprotonierung vollständig. Das Puffergebiet der zweiten Deprotonierung beginnt bei pH \approx 11. Anhand des Teilchenmodells in Abbildung 3-15

ist zu erkennen, dass sich die einfach deprotonierte Spezies LH_{-1} bereits zu Beginn der Titration bildet und ab $pH \geq 8,1$ dominiert. Die Bildung der zweifach deprotonierten Spezies LH_{-2} beginnt bei $pH \geq 11$ und liegt zu maximal 20% am Ende der Titration bei $pH = 12,6$ vor.

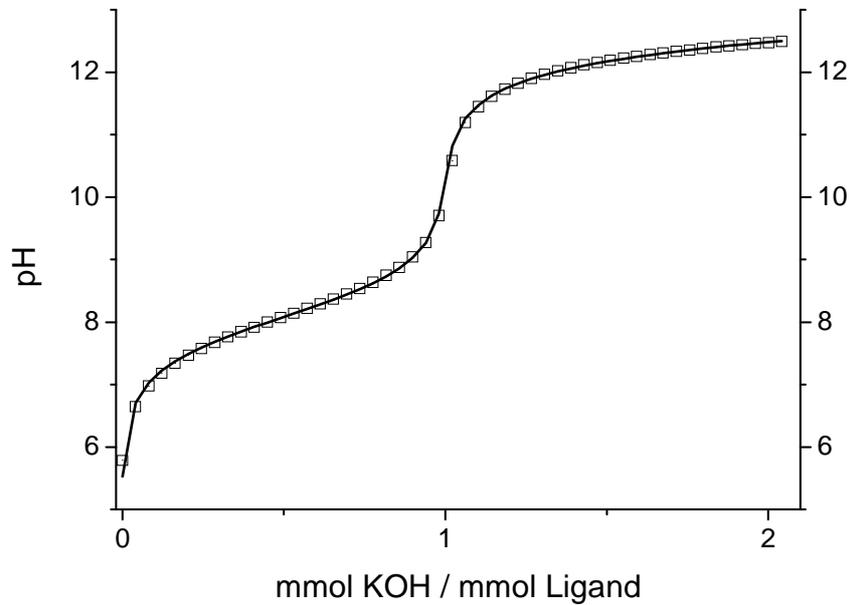


Abbildung 3-14: potentiometrische Titration von 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid mit $c(L) = 0,5\text{mM}$ (Punkte: gemessene Werte, Schwarze Linie: „Fit“ aus HYPERQUAD)

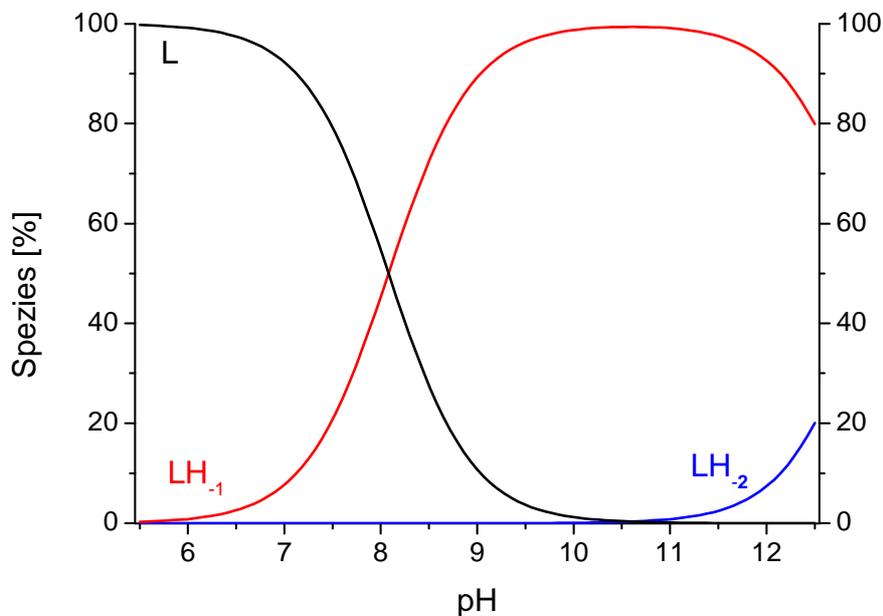


Abbildung 3-15: Teilchenmodell von 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid (berechnet mit HYSS für $c(L) = 1,0\text{mM}$ und mit den bestimmten Mittelwerten der Säurekonstanten)

3.3 Diskussion der durch Potentiometrie erhaltenen Säurekonstanten

Vergleicht man die erhaltenen Konstanten (siehe Tabelle 3-6), so wird deutlich, dass sich die Hydroxyfunktionen der Liganden in zwei Größenordnungen einteilen lassen: in einen ersten Bereich der pK_S -Werte von 7,5 bis 9,1 und einen zweiten Bereich ≥ 13 . Der pK_S -Wert einer Hydroxyfunktion, die an einem Benzolring (in *ortho*-Position bezüglich des Amids) sitzt, an dem keine weitere Hydroxyfunktion ist liegt bei den untersuchten Verbindungen im ersten Bereich. Besitzt ein Benzolring zwei Hydroxyfunktionen, so liegt der pK_S -Wert der Hydroxygruppe, die zuerst deprotoniert wird, im ersten Bereich, die der anderen im zweiten Bereich.

Desweiteren fällt auf, dass die Werte pK_{S1} und pK_{S2} sich bei Myxochelin A und dem Didesoxy-Derivat sich um etwa eine Größenordnung unterscheiden. Dieser Unterschied kann, wie in Kapitel 3.2.1 bereits angesprochen, zu einem großen Anteil auf den statistischen Effekt zurückgeführt werden. Dies bedeutet, dass die Deprotonierung einer Hydroxyfunktion eines Aromaten sehr wenig Einfluss auf die Deprotonierung der Hydroxyfunktion des anderen Aromaten besitzt.

Tabelle 3-6: über potentiometrische Titrationsen erhaltene pK_S -Werte der untersuchten Liganden

Ligand	pK_{S1}	pK_{S2}	pK_{S3}	pK_{S4}
Myxochelin A	7,48(4)**	8,46(2)**	13,0(2)**	>13
Methyl-Myxochelin A	7,68(1)**	8,94(3)**	13,0(1)**	
Didesoxy-Myxochelin A	8,15(2)**	9,09(2)**		
2-Hydroxybenzoesäureamid	8,672(2)**			
2,3-Dihydroxybenzoesäureamid	8,079(7)**	13,02(7)**		

** Standardabweichung bestimmt über mindestens 8 Messungen: $s_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$

Ein weiterer wichtiger Vergleich ist der zwischen Myxochelin A und 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid sowie zwischen Didesoxy-Myxochelin A und 2-Hydroxy-benzoesäureamid. Bei diesen Molekülen verhält es sich so, dass das jeweils zuerst genannte zwei Einheiten des nachstehend genannten Moleküls trägt. Bei der Betrachtung der pK_S -Werte fällt auf, dass beispielsweise der erste pK_S -Wert des 2,3-Dihydroxybenzoesäureamids zwischen den ersten pK_S -Werten von Myxochelin A liegt. Da es bei Myxochelin A doppelt so viele Protonen einer „Sorte“ gibt, steigt die Wahrscheinlichkeit, dass dieses Molekül deprotoniert wird. Daher ist

der erste pK_S -Wert kleiner und der zweite größer als der von 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid. Durch diese Beobachtung wird deutlich, dass man Myxochelin A als zwei verbrückte Einheiten des Benzoesäureamids betrachten kann und die funktionellen Gruppen der Brücke keinen messbaren Einfluss auf die ermittelten Säurekonstanten haben.

Bei der weiteren Betrachtung der erhaltenen Konstanten fällt auf, dass der erste pK_S -Wert umso kleiner ist, je mehr Hydroxyfunktionen der untersuchte Ligand trägt. Dies bedeutet, dass ein Ligand der untersuchten Gruppe mit steigender Anzahl von Hydroxyfunktionen saurer wird.

In Tabelle 3-7 sind die pK_S -Werte von ausgewählten Molekülen aufgeführt, die in der Regel in wässrigem Medium bestimmt wurden. Die im Rahmen dieser Arbeit bestimmten Konstanten zeigen eine gute Übereinstimmung mit den pK_S -Werten der Moleküle Nr. 1-7, berücksichtigt man die Unterschiede der zur pK_S -Wert-Bestimmung verwendeten Methoden. Jedes dieser Moleküle trägt eine bis zwei phenolische Hydroxyfunktionen. Die Beispiele 8 und 9 zeigen, dass die pK_S -Werte von Amiden und aliphatischen Hydroxygruppen deutlich größer sind. Daher können die hier bestimmten pK_S -Werte den Hydroxyfunktionen der Aromaten zugeordnet werden.

Tabelle 3-7: pK_S -Werte ausgewählter Moleküle

Nr.		pK_S -Werte
1	3-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyd (<i>iso</i> -Vanillin)	8,89 ⁵⁵
2	2-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd (<i>ortho</i> -Vanillin)	7,9 ⁵⁵
3	4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd (Vanillin)	7,40 ⁵⁵
4	2,3-Dihydroxy- <i>N,N</i> -dimethylbenzoesäureamid	8,41 ⁵⁴ / 12,2 ⁵⁴
5	1,2-Dihydroxybenzol (Catechol)	9,26 ⁵⁶ / 11,66 ⁵⁶
6	2-Hydroxybenzoesäure (Salicylsäure)	13,6 ⁵⁶
7	Phenol	9,78 ⁵²
8	<i>N</i> -Methylbenzoesäureamid	>19 ⁵⁷
9	Ethanol	15,9 ⁵⁸

3.4 ^1H -NMR-Titrations ausgewählter Liganden

Die chemische Verschiebung eines Atomkerns ist davon abhängig, wie gut er von seiner Umgebung abgeschirmt wird. Dadurch kann von der Verschiebung eines Kerns (und seiner Kopplung) auf seine Umgebung, und somit auf die Struktur des untersuchten Moleküls geschlossen werden. Findet in der Nähe eines Protons eine Deprotonierung statt, führt dies in der Regel zu einer stärkeren Abschirmung und somit zu einer Hochfeldverschiebung. So ist es möglich, Rückschlüsse auf den Ort der Deprotonierung zu ziehen. Im Fall von aliphatischen Protonen ist in der Regel das dem Deprotonierungsort am nächsten liegende Proton am stärksten verschoben. Dies wurde unter anderem von Reilley et al. anhand von Polyaminen und Aminocarboxylaten gezeigt.⁵⁹ Bei aromatischen Molekülen wird im Fall einer Protonierung oder Deprotonierung die positive respektive negative Ladung über das System verteilt; diese Ladungsverteilung kann über mesomere Grenzformeln beschrieben werden.

Die ^1H -Spektren können nicht nur qualitativ ausgewertet werden, es ist zusätzlich möglich, die pK_S -Werte mittels des Programms *NMR-TIT*⁶⁰ zu berechnen. Diese Werte weichen in der Regel von den potentiometrisch bestimmten pK_S -Werten ab. Dafür gibt es mehrere Ursachen: Zur NMR-Titration werden deuterierte Lösemittel verwendet (Isotopeneffekt), deren pH^* mittels einer in undeuterten Pufferlösungen kalibrierten Glaselektrode gemessen wird. Desweiteren wird kein Inertelektrolyt verwendet und die Konzentration von Kaliumionen durch Basenzugabe erhöht sich mit steigendem pH -Wert.

3.4.1 Diskussion möglicher Deprotonierungsorte

Myxochelin A und seine beiden Derivate tragen zwei aromatische Einheiten, die über eine lange unsymmetrische Brücke verbunden sind. Hier ist es wichtig aufzuklären, ob eine und, wenn ja, welche aromatische Einheit zuerst deprotoniert wird.

Die Liganden Myxochelin A, Methyl-Myxochelin A und 2,3-Dihydroxy-Myxochelin A tragen sowohl in *ortho*- als auch in *meta*-Position zur Amidfunktion Hydroxyfunktionen, die deprotoniert werden können. Eine Deprotonierung in *ortho*-Position wird durch die Stabilisierung negativer Ladung über die Carbonylfunktion begünstigt (siehe Abbildung 3-16). Gleichzeitig kann das in *ortho*-Position gebundene Proton über den Carbonyl-Sauerstoff stabilisiert werden, was eine Deprotonierung in *meta*-Position begünstigen würde. Der zwitterionischen Charakter des Carbonsäureamids (Z1) sollte eher eine Deprotonierung in *meta*-Position begünstigen.

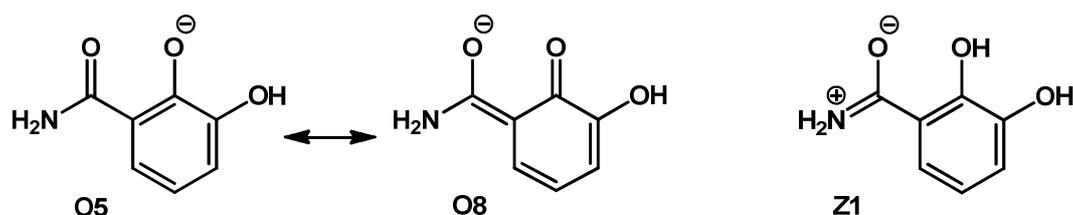


Abbildung 3-16: exemplarische mesomere Grenzformeln einer Deprotonierung in *ortho*-Position (links), sowie die zwitterionische Form des Benzoessäureamids (rechts)

Von M. Llinás, D.M. Wilson und J.B. Neiland wurden ¹³C-NMR-Studien und Berechnungen durchgeführt, um die Koordination des Eisenchelators Enterobactin aufzuklären. Diese gehen davon aus, dass Enterobactin, welches das in Abbildung 3-16 dargestellte Molekül dreimal enthält, zuerst in *ortho*-Position deprotoniert wird.⁶¹ Um die genaue Deprotonierungsstelle zu klären, wurden nicht nur die untersuchten Liganden mittels ¹H-NMR-Titration untersucht, sondern auch die Moleküle 2-Hydroxy-3-methoxybenzoessäureamid und 3-Hydroxy-2-methoxybenzoessäureamid, in denen der Deprotonierungsort eindeutig ist, um so das erhaltene Signalverschiebungsmuster einer bestimmten Deprotonierungsstelle zuzuordnen.

3.4.2 2-Hydroxybenzoesäureamid

Der pK_S -Wert der Hydroxyfunktion des 2-Hydroxybenzoesäureamids wurde durch potentiometrische Titration bestimmt. Durch die $^1\text{H-NMR}$ -Titration dieses Moleküls wurde bestimmt, welche Signalverschiebungen während einer Deprotonierung in *ortho*-Position stattfinden.

Untersucht wurden 11 Lösungen des 2-Hydroxybenzoesäureamids im deuterierten gemischt-wässrigen Medium ($x_{\text{DMSO-d}_6}=0,2$) zwischen $\text{pH}^*\geq 7,67$ und $\text{pH}^*\leq 11,34$. Mittels des Programms *NMR-TIT*⁶⁰ konnte ein pK_{S1} -Wert von 9,80 bestimmt werden. Dieser Wert ist eine gute Einheit größer als der aus der Potentiometrie erhaltene Wert. Der Verlauf der Signale ist in Abbildung 3-17 dargestellt.

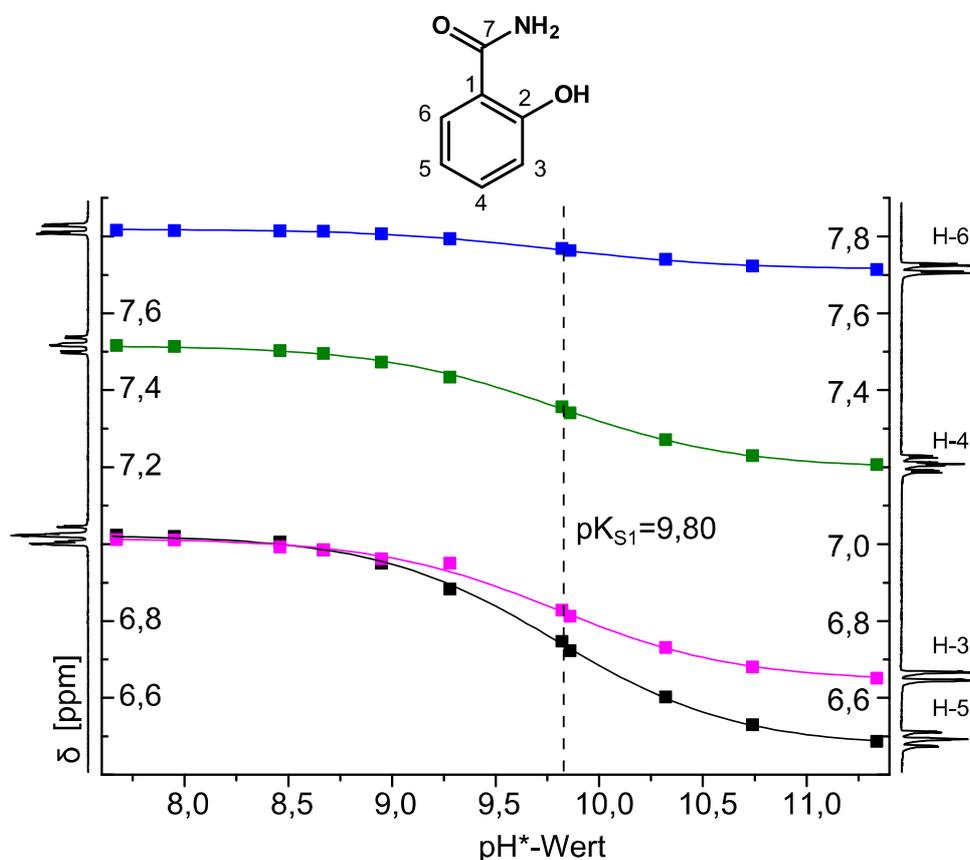


Abbildung 3-17: $^1\text{H-NMR}$ -Titration von 2-Hydroxybenzoesäureamid mit den berechneten „Fits“ der Auswertung mit *NMR-TIT*

Alle Signale erfahren eine Hochfeldverschiebung. Die deutlichste Signalverschiebung zeigt H-5, welches *para* bezüglich der deprotonierten Funktion liegt, mit $\Delta\text{ppm}=0,5$. Die Signale von H-3 und H-4 werden analog um $0,3=\Delta\text{ppm}$ verschoben. Die Verschiebung von H-6 ist mit $\Delta\text{ppm}=0,1$ minimal. Die erhaltenen Verschiebungen lassen sich mit den mesomeren Grenzformeln (siehe Abbildung 3-18) der deprotonierten Spezies von 2-Hydroxybenzoesäureamid erklären.

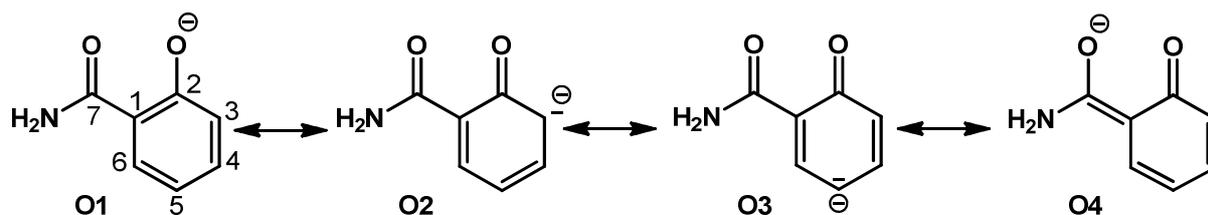


Abbildung 3-18: exemplarische mesomere Grenzformeln des deprotonierten 2-Hydroxybenzoesäureamids

Die negative Ladung, die durch die Abstrahierung eines Protons von der Hydroxyfunktion übrig bleibt, kann über den aromatischen Ring verteilt werden (siehe Grenzformel O2 respektive O3). Ebenfalls ist es möglich, dass diese Ladung über das Säureamid stabilisiert wird. Betrachtet man die chemischen Verschiebungen der aromatischen Protonen, so wird der tatsächliche Zustand eine große Übereinstimmung mit der mesomeren Grenzformel O3 aufweisen. Denn hier ist die negative Ladung an C-5 lokalisiert, und H-5 zeigt die deutlichste Verschiebung innerhalb der Titration.

Tabelle 3-8: exemplarische chemische Verschiebungen und pK_s -Werte von 2-Hydroxybenzoesäureamid

Signal	H-3	H-4	H-5	H-6
pH=7,67	7,01	7,52	7,02	7,82
pH=11,34	6,65	7,21	6,49	7,71
	¹ H-NMR-Titration		Potentiometrie	
pK_{s1}	9,80*		8,672(2)	

$$*\sigma=0,0099 \text{ mit } \sigma = \sum(\delta_{ber} - \delta_{exp})^2$$

3.4.3 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid

Durch potentiometrische Titrations des Liganden 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid wurden die pK_S -Werte $pK_{S1}=8,079$ und $pK_{S2}=13,02$ bestimmt. Zwecks der Zuordnung dieser pK_S -Werte wurden Untersuchungen mittels NMR durchgeführt. Die ^1H -NMR-Titration von 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid wurde über einen pH^* -Bereich von 6,81 bis 13,47 mit 15 Proben durchgeführt.

In Abbildung 3-19 sind die zur Auswertung verwendeten ppm-Werte in Abhängigkeit vom eingestellten pH^* -Wert dargestellt, ebenso der mit dem Programm *NMR-TIT*⁶⁰ ermittelte Fit.

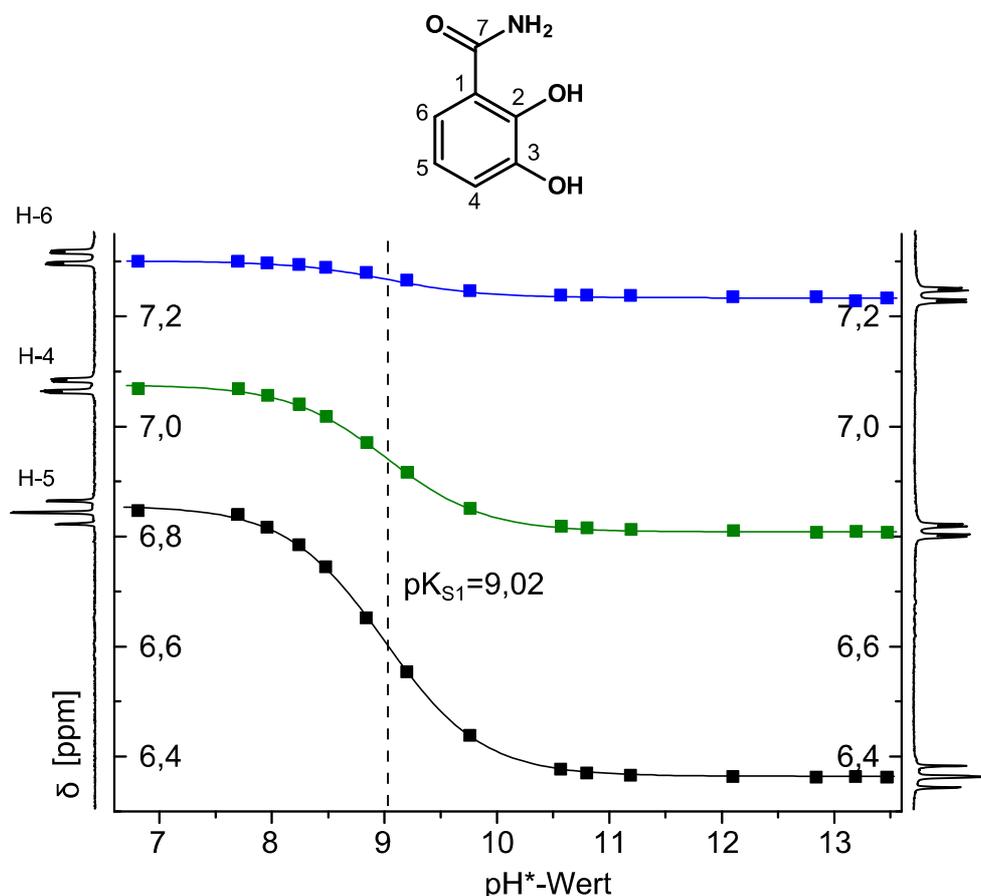


Abbildung 3-19: ^1H -NMR-Titration von 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid mit den berechneten „Fits“ der Auswertung mit *NMR-TIT*

Der ermittelte pK_{S1} -Wert betrug 9,02. Damit ist dieser Wert um eine Einheit größer als der über die potentiometrische Titration ermittelte ($pK_{S1}=8,08$) (siehe Tabelle 3-9). Ein weiterer pK_S -Wert konnte in diesem pH -Bereich nicht bestimmt werden. Die drei aromatischen Protonen erfahren durch die pH -Wert-Erhöhung eine leichte bis deutliche Hochfeldverschiebung. Das Signal des Protons H-5 wird am stärksten verschoben ($\Delta\text{ppm}=0,5$). Die Signalverschiebung des Protons H-4 liegt bei knapp

$\Delta\text{ppm}=0,3$ und die des Protons H-6 unter $\Delta\text{ppm}=0,1$. Diese Verschiebungen können über die mesomeren Grenzformeln in Abbildung 3-20 erklärt werden.

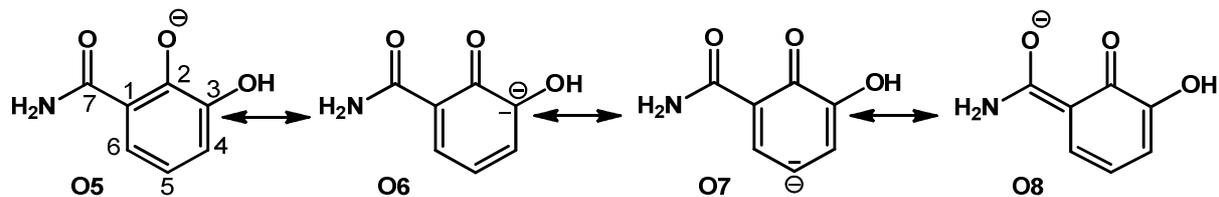


Abbildung 3-20: exemplarische mesomere Grenzformeln des einfach deprotonierten 2,3-Dihydroxybenzoesäureamids

Besonders gut gelingt dies durch Grenzformel O7, in der die negative Ladung in *para*-Position zur Deprotonierung stabilisiert wird, was hier dem C-5 entspricht. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die erste Deprotonierung in *ortho*-Position zum Carbonsäureamid stattfindet.

Tabelle 3-9: exemplarische chemische Verschiebungen und pK_S -Werte von 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid

Signal	H-4	H-5	H-6
pH=6,81	7,07	6,84	7,30
pH=13,47	6,81	6,36	7,23
	$^1\text{H-NMR-Titration}$		Potentiometrie
$\text{pK}_{\text{S}1}$	9,02*		8,079(7)
$\text{pK}_{\text{S}2}$	-		13,02(7)

$$*\sigma=0,005 \text{ mit } \sigma = \sum(\delta_{\text{ber}} - \delta_{\text{exp}})^2$$

3.4.4 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid

Die Deprotonierung des 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamids, welches einer aromatischen Einheit des Methyl-Myxochelin A entspricht, wurde mittels einer NMR-Titration untersucht, um die chemischen Verschiebungen mit denen des Methyl-Myxochelin A zu vergleichen. Untersucht wurde ein pH*-Bereich von 7,69 bis 12,71 mit 17 Proben aus 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid im deuterierten gemischt-wässrigem Medium ($x_{\text{DMSO-d}_6}=0,2$). Zur Auswertung wurden nur die Hochfeld-Verschiebungen der aromatischen Protonen herangezogen. Es konnte mittels des Programms *NMR-TIT*⁶⁰ ein pK_{S1} -Wert von 9,62 erhalten werden (siehe Tabelle 3-10). Der Verlauf der ^1H -NMR-Titration ist in Abbildung 3-21 dargestellt.

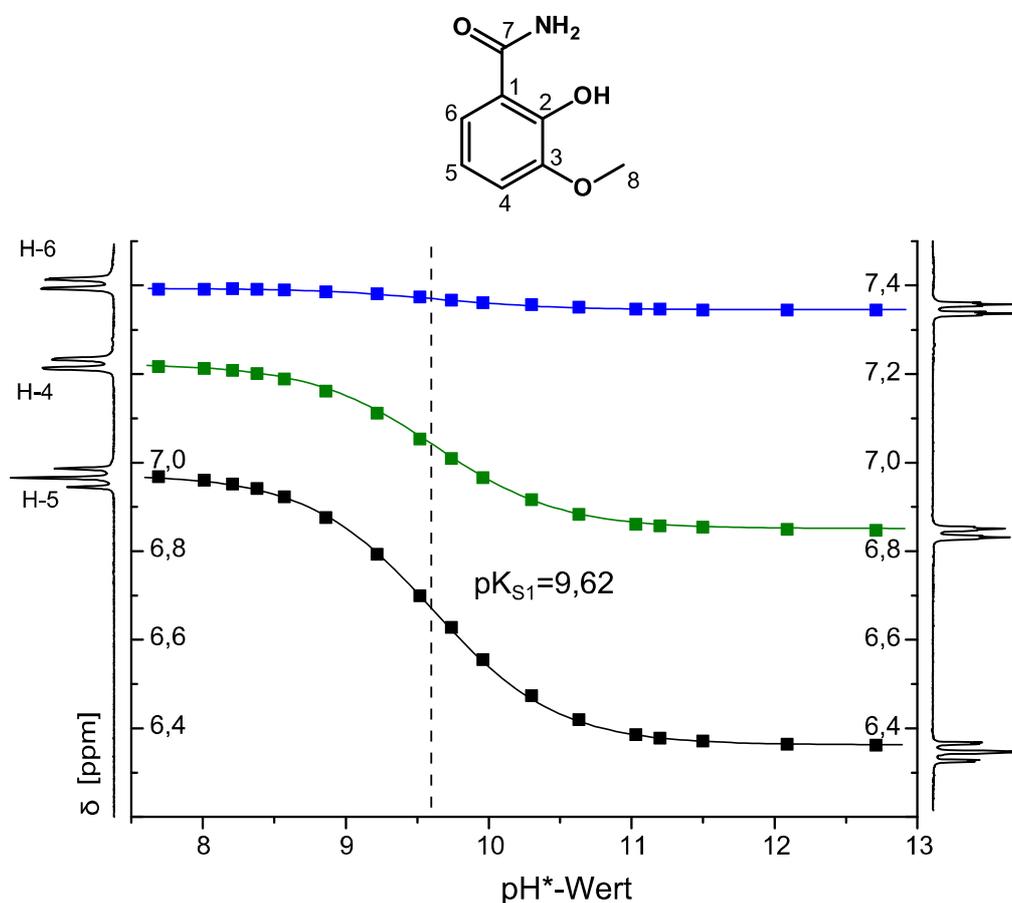


Abbildung 3-21: ^1H -NMR-Titration von 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid mit den berechneten „Fits“ der Auswertung mit *NMR-TIT*

SÄUREKONSTANTEN DER LIGANDEN

Die deutlichste Verschiebung erfährt das Signal von H-5 mit $\Delta\text{ppm}=0,6$. Die Verschiebung von H-4 liegt bei etwa $\Delta\text{ppm}=0,4$. Die Signale der Methoxy-Protonen wurden um etwa $\Delta\text{ppm}=0,15$ hochfeldverschoben. Die stärkste Änderung der chemischen Verschiebung findet analog zum 2-Hydroxybenzoesäureamid (und 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid) in *para*-Position zur deprotonierten Hydroxyfunktion statt. Eine Erklärung hierfür ist die in Kapitel 3.4.1 bereits beschriebene Ladungsverteilung über das aromatische System, welche wieder rum durch die mesomeren Grenzformeln in Abbildung 3-18 beschrieben werden kann.

Tabelle 3-10: exemplarische chemische Verschiebungen und der pK_S -Wert von 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid

Signal	H-4	H-5	H-6
pH=7,69	7,22	6,97	3,87
pH=12,71	6,85	6,36	7,31
	¹ H-NMR-Titration		Potentiometrie
pK_S1	9,62*		-

$$*\sigma=0,004 \text{ mit } \sigma = \sum(\delta_{\text{ber}} - \delta_{\text{exp}})^2$$

3.4.5 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid

Um zu untersuchen, wie die Signale der Protonen während einer Deprotonierung in *meta*-Position zum Amid verschoben werden, wurde eine $^1\text{H-NMR}$ -Titration des Moleküls 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid durchgeführt. Dieses Molekül trägt die gleichen funktionellen Gruppen wie das 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid; lediglich die Position der Methoxy- und der Hydroxyfunktion ist vertauscht.

Der untersuchte pH^* -Bereich lag zwischen 8,1 und 13,2. In diesem Bereich wurden 18 Proben hergestellt und untersucht. Zur Auswertung mit *NMR-TIT*⁶⁰ wurden die chemischen Verschiebungen der drei aromatischen Protonen herangezogen. Es wurde ein $\text{pK}_{\text{S}1}$ -Wert von 10,89 bestimmt (siehe Tabelle 3-11). Der Verlauf der chemischen Verschiebungen in Abhängigkeit zum pH^* -Wert ist in Abbildung 3-22 dargestellt:

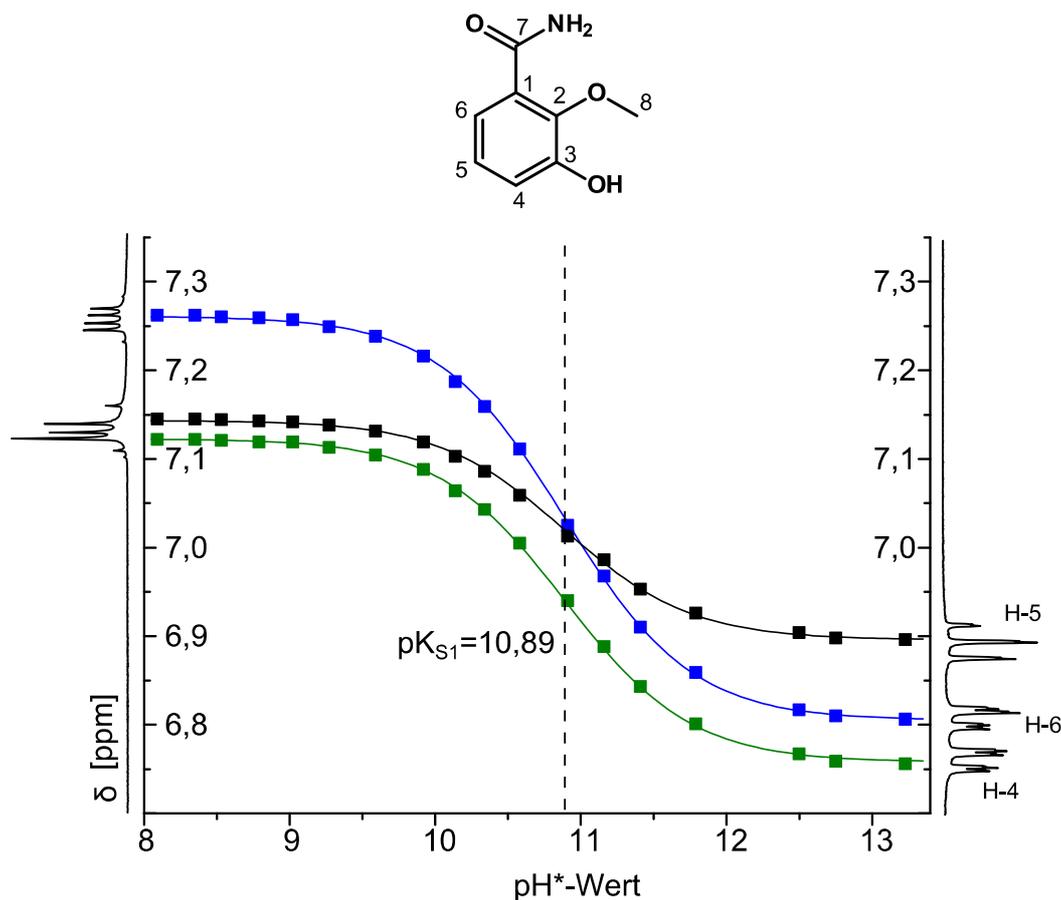


Abbildung 3-22: $^1\text{H-NMR}$ -Titration von 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid mit den berechneten „Fits“ der Auswertung mit *NMR-TIT*

Mit der Erhöhung des pH*-Werts findet für alle dargestellten Signale eine Hochfeld-Verschiebung statt. Die deutlichste Änderung der ppm-Werte, bei gleichzeitiger Veränderung des pH*-Werts, ereignet sich bei Proton H-6 mit $\Delta\text{ppm}=0,45$. Die ppm-Werte des Protons H-5 werden um $\Delta\text{ppm}=0,25$ und die des Protons H-4 um etwa $\Delta\text{ppm}=0,35$ verschoben. Dieses Verschiebungsmuster spiegelt die Ladungsverteilung wider, die in Abbildung 3-23 durch mesomere Grenzformeln beschrieben ist.

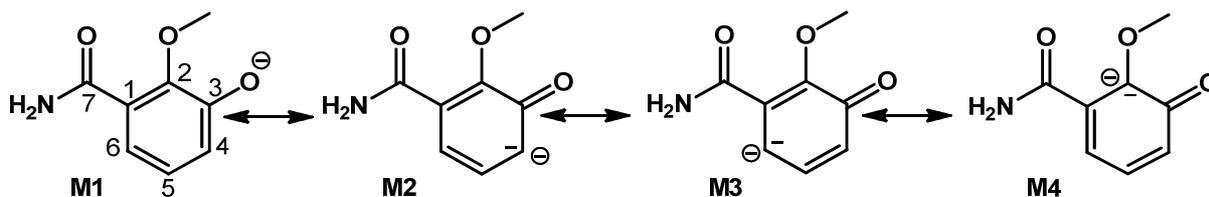


Abbildung 3-23: exemplarische mesomere Grenzformeln des deprotonierten 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid

Die negative Ladung wird in *ortho*- und *para*-Position zur deprotonierten Hydroxyfunktion stabilisiert. Dies entspricht den Grenzformeln M2 und M3. Eine Stabilisierung der negativen Ladung über das Carbonsäureamid ist hier nicht möglich.

Tabelle 3-11: exemplarische chemische Verschiebungen und der pK_S -Wert von 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid

Signal	H-4	H-5	H-6
pH=8,09	7,12	7,15	7,26
pH=13,23	6,81	6,90	6,81
	¹ H-NMR-Titration		Potentiometrie
pK_{S1}	10,89*		-

$$*\sigma=0,004 \text{ mit } \sigma = \sum(\delta_{ber} - \delta_{exp})^2$$

3.4.6 Myxochelin A

Um die Deprotonierungsstellen innerhalb des Moleküls Myxochelin A zu lokalisieren, wurde eine $^1\text{H-NMR}$ -Titration mit 15 Proben über einen pH^* -Bereich von 6,6 bis 13,5 durchgeführt. Der Verlauf dieser Titration ist in Abbildung 3-24 dargestellt.

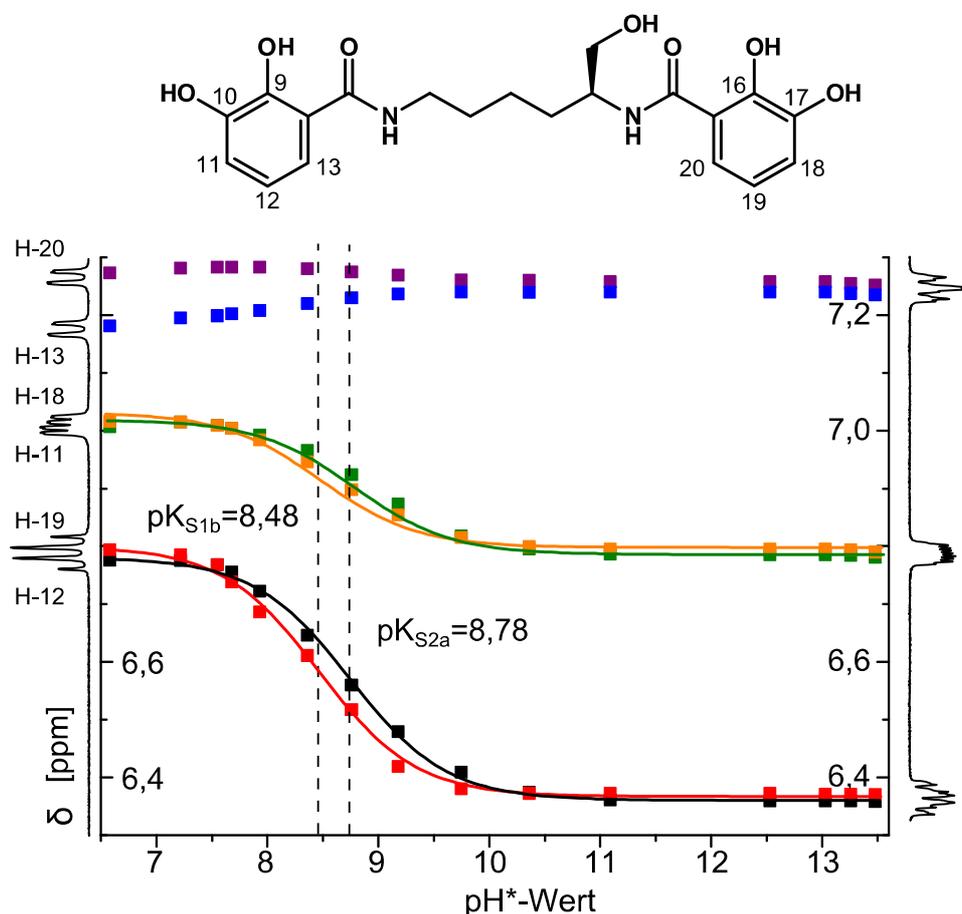


Abbildung 3-24: $^1\text{H-NMR}$ -Titration von Myxochelin A mit den berechneten „Fits“ der Auswertung mit *NMR-TIT*

Es wird deutlich, dass die stärksten Hochfeldverschiebungen an den Signalen der Protonen H-12 und H-19 um jeweils $\Delta\text{ppm} = 0,4$ stattfinden. Eine Hochfeldverschiebung von jeweils $\Delta\text{ppm} = 0,2$ erfolgt an den Signalen der Protonen H-11 und H-18. Das Signal des Protons H-13 zeigt nur eine leichte Verschiebung und H-20 eine leichte Tieffeldverschiebung. Da die Verschiebungen der Protonen H-13 und H-20 sehr gering sind, wurden sie nicht zur Auswertung verwendet. Das Muster der Signalverschiebungen zeigt, dass die Protonen, die in *para*-Position zu den Hydroxyfunktionen stehen, welche in direkter Nachbarschaft zu den Amidgruppen sitzen, am stärksten verschoben werden. Dieses Muster kann nur durch eine Deprotonierung der Hydroxyfunktionen, die an C-9 und C-16 gebunden sind, erklärt werden. Diese stehen jeweils in *ortho*-Position zu einem Amid. Die

Ladungsverteilung verläuft analog der in Kapitel 3.4.3 in Abbildung 3-20 dargestellten mesomeren Grenzformel O7.

Myxochelin A besitzt im Gegensatz zu den in den vorangegangenen Kapiteln mittels $^1\text{H-NMR}$ -Titration untersuchten Verbindungen zwei Aromaten. Diese sind soweit voneinander entfernt, dass anzunehmen ist, dass eine Deprotonierung der Phenolatgruppen des einen Aromaten kaum Einfluss auf die des anderen Aromaten hat. Die mittels Potentiometrie für Myxochelin A bestimmten pK_S -Werte $\text{pK}_{\text{S}1}=7,48$ und $\text{pK}_{\text{S}2}=8,46$ verstärken diese Annahme. Dies bedeutet auch, dass eine Deprotonierung an einem Aromaten keinen oder einen nur geringen Einfluss auf die chemischen Verschiebungen der Protonen des anderen Aromaten hat.

Für die erste Deprotonierung von Myxochelin A können daher zwei sinnvolle Deprotonierungsorte diskutiert werden (siehe Abbildung 3-25). Entweder wird eine *ortho*-Hydroxyfunktion des Aromaten mit H-11 bis H-13 (Tautomer A) deprotoniert oder eine *ortho*-Hydroxyfunktion des Aromaten mit H-18 bis H-20 (Tautomer B). Diese beiden Tautomere sind die Mikroteilchen der Spezies LH_1 . Zwischen diesen liegt ein Gleichgewicht vor, was durch die Konstante K_T beschrieben wird. Die zweite Deprotonierung läuft dann je nach Tautomer an der anderen *ortho*-Hydroxyfunktion ab.

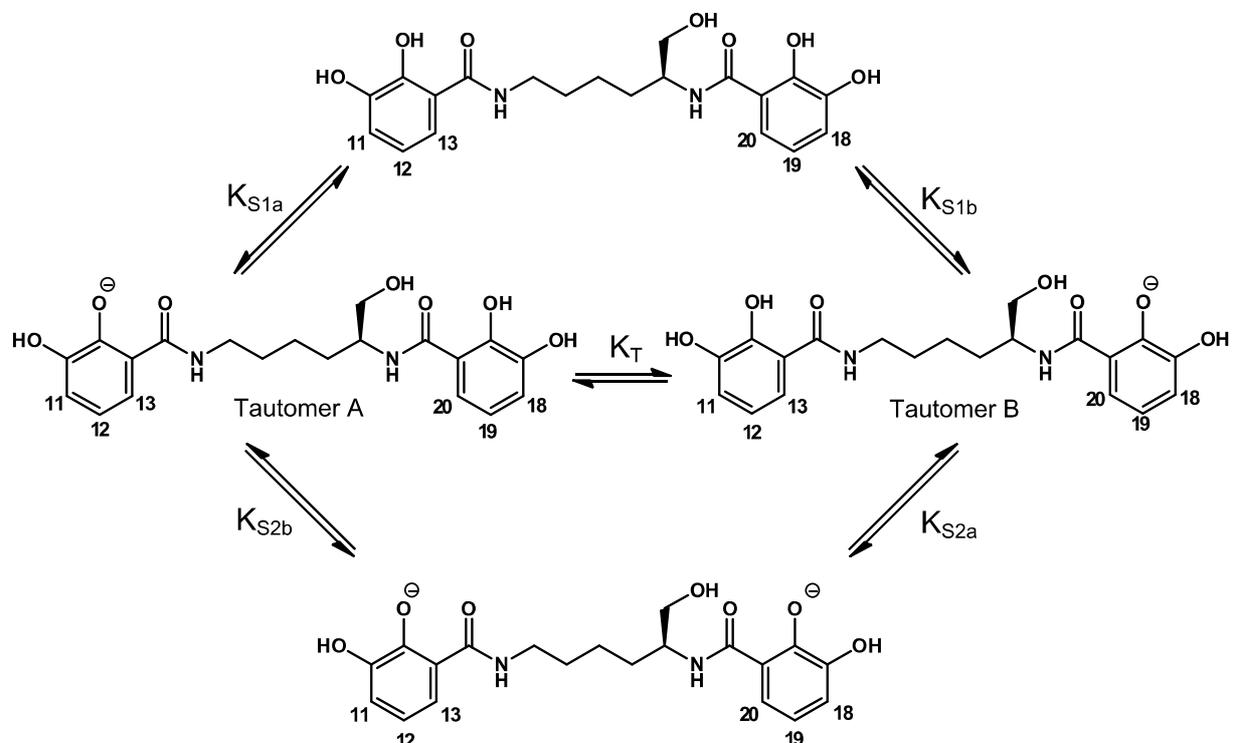


Abbildung 3-25: Überblick über die Gleichgewichtsreaktionen der beiden Mikrospezies des einfach deprotonierten Myxochelin A (LH_1)

Um eine Aussage über die Lage des Gleichgewichts der Tautomere zu treffen, wurde als Näherung angenommen, dass die beiden Deprotonierungen, die durch K_{S1b} und K_{S2a} beschrieben werden, bevorzugt stattfinden. Daher wurde mittels des Programms *NMR-TIT*⁶⁰ jeweils für die Signale von H-11 und H-12 und für die Signale von H-18 und H-19 ein pK_S -Wert bestimmt. Die Auswertung der Signale von H-11 und H-12 lieferte den $pK_{S2a}=8,78$ und die der Signale von H-18 und H-19 den $pK_{S1b}=8,48$.

Da angenommen wird, dass die Deprotonierung eines Aromaten kaum Einfluss auf die des anderen Aromaten hat, kann pK_{S1a} mit pK_{S2a} gleichgesetzt werden und pK_{S1b} mit pK_{S2b} . Dadurch kann K_T über die Formel 3-1 berechnet werden, wodurch für das Tautomerengleichgewicht $K_T=2$ erhalten wird.

Formel 3-1: Berechnung der Tautomeriekonstante K_T

$$\frac{K_{S1a}}{K_{S1b}} = K_T$$

Dies entspricht einem Verhältnis des Tautomers A zu B von 1 zu 2. Das bedeutet, dass die erste Protonierung leicht bevorzugt über das Tautomer B verläuft. Dieses Ergebnis zeigt, dass die Näherung die gemacht wurde bezüglich der bevorzugten Bildung von Tautomer B, qualitativ zutrifft. Eine exakte Beschreibung liefert diese Näherung jedoch nicht, da das Tautomer A laut der erhaltenen Konstante K_T in nicht zu vernachlässigendem Umfang vorkommt. Der Verlauf der ¹H-NMR-Titration unterstützt das erhaltene Tautomerengleichgewicht, da die Sprünge der Signalverschiebungen leicht versetzt zueinander sind und die Deprotonierung des Aromaten mit den Protonen H-18 bis H-19 im Vergleich zum anderen Aromaten bei etwas niedrigeren pH-Werten beginnt. Besonders zeigt sich dies dadurch, dass die Signale der aromatischen sich entsprechenden Protonen (wie H-12 und H-19) beim nicht deprotonierten Myxochelin A geringere Unterschiede bezüglich ihrer Verschiebung aufweisen als bei $pH=8,76$, wo der Ligand einfach deprotoniert vorliegt (siehe Abbildung 3-26).

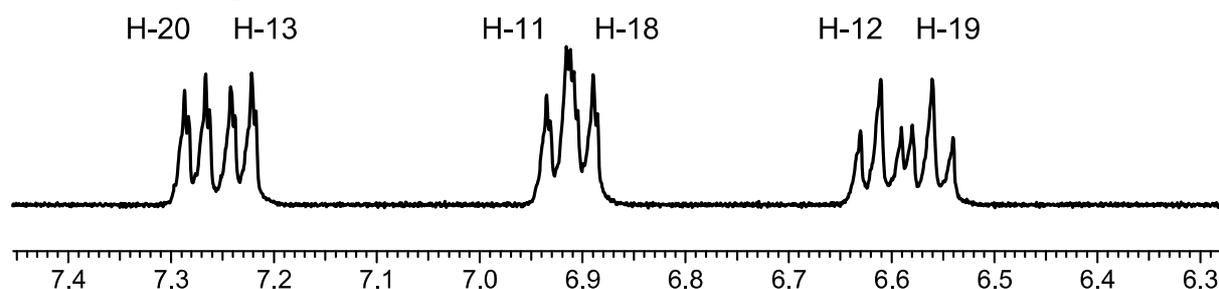


Abbildung 3-26: Ausschnitt aus dem ¹H-NMR-Spektrum von Myxochelin A bei $pH=8,76$

SÄUREKONSTANTEN DER LIGANDEN

Anhand dieser Signalverschiebungen ist anzunehmen, dass tatsächliche Tautomerenverhältnis etwas kleiner als 2 ist, aber auf der Seite des Tautomers B liegt.

Aus den Konstanten K_{S2a} und K_{S1b} können durch die Annahme $K_{S1a}=K_{S2a}$ und $K_{S1b}=K_{S2b}$ die Makrokonstanten K_{S1} und K_{S2} über die Formel 3-2 berechnet werden.

Formel 3-2: Definition von K_{S1} und K_{S2} mit L als ungeladenes Myxochelin A und H_1L^a respektive H_1L^b als die beiden Tautomere A und B des einfach deprotoniertes Makroteilchen H_1L

$$K_{S1} = \frac{[H_{-1}L][H]}{[L]} = \frac{([H_{-1}L^a] + [H_{-1}L^b])[H]}{[L]} = \frac{[H_{-1}L^a][H]}{[L]} + \frac{[H_{-1}L^b][H]}{[L]} = K_{S1a} + K_{S1b}$$

$$K_{S2} = \frac{[H_{-2}L][H]}{[H_{-1}L]} \quad \frac{1}{K_{S2}} = \frac{[H_{-1}L]}{[H_{-2}L][H]} = \frac{[H_{-1}L^a]}{[H_{-2}L][H]} + \frac{[H_{-1}L^b]}{[H_{-2}L][H]} = \frac{1}{K_{S2a}} + \frac{1}{K_{S2b}}$$

Man erhält so für die Makrokonstanten $pK_{S1}=8,30$ und für $pK_{S2}=8,96$. Der Unterschied zwischen diesen Konstanten ist etwas geringer als der zwischen den mittels Potentiometrie bestimmten Werten. Dies ist in anbeacht der Messungengenauigkeit durch die kleine Anzahl an Messwerten akzeptabel. Der Grössenunterschied zu den potentiometrisch bestimmten Konstanten resultiert aus dem bereits angesprochenen Isotopeneffekt.

Tabelle 3-12: exemplarische chemische Verschiebungen und pK_S -Werte von Myxochelin A

Signal	H-11	H-12	H-13	H-18	H-19	H-20
pH=6,58	7,01	6,78	7,18	7,02	6,79	7,27
pH=12,53	6,79	6,36	7,24	6,80	6,37	7,26
	¹ H-NMR-Titration				Potentiometrie	
pK_{S1b}	8,48*			pK_{S1}	7,48(4)	
pK_{S2a}	8,78**			pK_{S2}	8,46(2)	
	-			pK_{S3}	13,0(2)	
	-			pK_{S4}	>13	

* $\sigma=0,013$ mit $\sigma = \sum(\delta_{ber} - \delta_{exp})^2$ ** $\sigma=0,0011$ mit $\sigma = \sum(\delta_{ber} - \delta_{exp})^2$

3.4.7 Methyl-Myxochelin A

Der Ligand Methyl-Myxochelin A wurde ebenfalls mit ^1H -NMR-Messungen bei verschiedenen pH-Werten zwischen $\text{pH}=7,25$ und $\text{pH}=11,27$ untersucht. Der Verlauf der Signale der aromatischen Protonen ist in Abbildung 3-27 dargestellt:

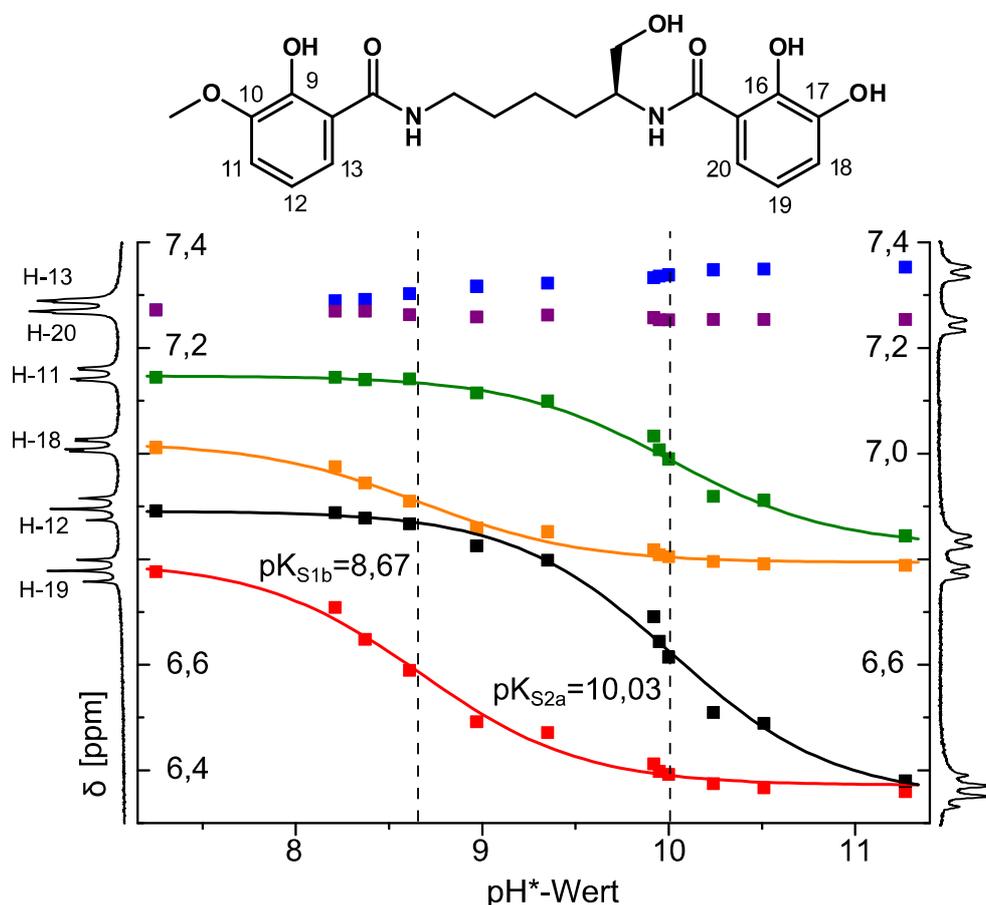


Abbildung 3-27: ^1H -NMR-Titration von Methyl-Myxochelin A mit den berechneten „Fits“ der Auswertung mit *NMR-TIT*

Zwischen $\text{pH}=7$ und $\text{pH}=9$ werden die Signale von H-18 ($\Delta\text{ppm}\approx 0,2$) und H-19 ($\Delta\text{ppm}\approx 0,3$) deutlich verschoben. Im Vergleich dazu werden die Signale der Protonen H-11 ($\Delta\text{ppm}\approx 0,05$) und H-12 ($\Delta\text{ppm}\approx 0,1$) nur leicht verschoben. Bei etwa $\text{pH}=10$ werden die Signale von H-11 und H-12 um $\Delta\text{ppm}\approx 0,2$ beziehungsweise $\Delta\text{ppm}\approx 0,3$ verschoben. Die Verschiebung der Signale von H-18 ($\Delta\text{ppm}\approx 0,05$) und H-19 ($\Delta\text{ppm}\approx 0,1$) ist im Vergleich dazu wesentlich geringer. Daraus lässt sich ableiten, dass die erste Deprotonierung deutlich bevorzugt an dem Aromaten stattfindet, der zwei Hydroxyfunktionen trägt. Da hier das Signal von H-19 die deutlichste Verschiebung zeigt, im Vergleich zu den Signalen der Protonen in direkter Nachbarschaft, findet auch hier eine Deprotonierung in *ortho*-Position bezüglich des Carbonsäureamids statt. Die zweite Deprotonierung findet an der Hydroxyfunktion

des anderen Aromaten statt und kann nur in *ortho*-Position erfolgen. Man erkennt, dass H-18 die stärkste Signalverschiebung im Vergleich zu den Signalen der benachbarten Protonen zeigt. Zur Verdeutlichung der stark unterschiedlichen Hochfeldverschiebungen der Signale ist in ein Ausschnitt mit den aromatischen Protonen von Methyl-Myxochelin A bei pH=8,47 dargestellt.

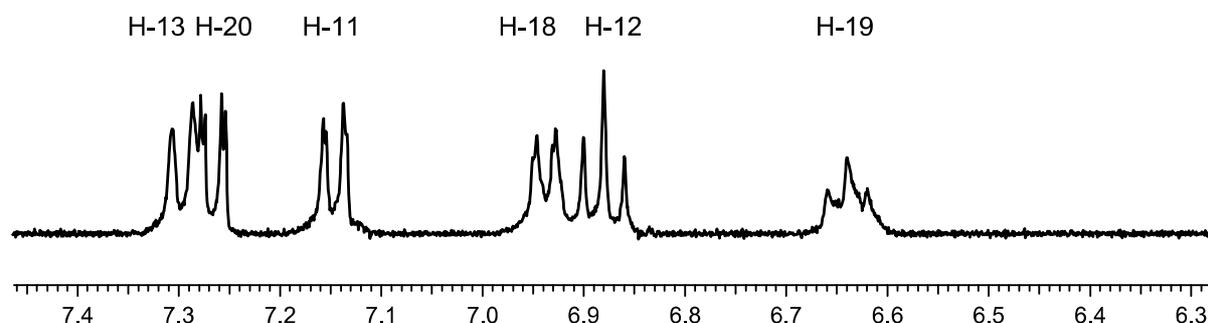


Abbildung 3-28: Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum von Methyl-Myxochelin A bei pH=8,47

Man erkennt beispielsweise, dass die Protonen H-18 und H-12 bei diesem pH-Wert ähnliche chemische Verschiebungen besitzen als im ungeladenen Zustand des Liganden.

Um die Beobachtung quantifizieren, dass die erste Deprotonierung deutlich bevorzugt an dem Aromaten stattfindet der zwei Hydroxyfunktionen trägt. Wurde hier die gleiche Näherung angewandt wie bei Myxochelin A. Entsprechend Abbildung 3-25 wurden die Konstanten $\text{pK}_{\text{S1b}}=8,67$ und $\text{pK}_{\text{S2a}}=10,03$ mittels des Programms *NMR-TIT*⁶⁰ bestimmt. Dabei wurden für den pK_{S1b} die Signale der Protonen H-18 und H-19 herangezogen und für pK_{S2a} die Signale der Protonen H-11 und H-12. Aus diesen Konstanten wurden analog zu Myxochelin A $K_{\text{T}}=23$ und die Makrokonstanten $\text{pK}_{\text{S1}}=8,65$ und $\text{pK}_{\text{S2}}=10,05$ berechnet.

Vergleicht man die zu Beginn der Titration ($\text{pH}\approx 7$) gemessenen chemischen Verschiebungen von Myxochelin A mit dem Methyl-Derivat, so wird deutlich, dass die Signale des aromatischen Rings, der die Methoxygruppe trägt, zu tieferem Feld verschoben sind als die entsprechenden Signale im Myxochelin A. Die Signalverschiebungen des anderen Aromaten (H18-20) sind bei beiden Liganden analog. Die Signalverschiebung der Protonen H-13 und H-20 des Methyl-Derivats bei der Erhöhung des pH-Werts ist vergleichbar mit der Verschiebung der entsprechenden Signale des Myxochelin A.

Die berechnete Konstante K_{T} zeigt, dass das Tautomeriegleichgewicht mit 96% deutlich auf der Seite des Tautomers B steht; dem Tautomer welches zuerst am

SÄUREKONSTANTEN DER LIGANDEN

Aromaten mit zwei Hydroxyfunktionen deprotoniert wird. Daher entspricht hier die Näherung, dass die Deprotonierung nur über das Tautomer B verläuft besser den erhaltenen Ergebnissen. Der Unterschied zwischen pK_{S1} und pK_{S2} ist etwas größer als der zwischen den potentiometrisch bestimmten pK_S -Werten, diese Abweichung ist bei dieser kleinen Anzahl an Proben akzeptabel.

Tabelle 3-13: exemplarische chemische Verschiebung von Methyl-Myxochelin A

Signal	H-11	H-12	H-13	H18	H-19	H-20
pH=7,25	7,14	6,89	7,27	7,01	6,78	7,27
pH=11,27	6,84	6,38	7,35	6,79	6,36	7,25
	¹ H-NMR-Titration			Potentiometrie		
pK_{S1b}	8,67*		pK_{S1}	7,68(1)		
pK_{S2a}	10,03**		pK_{S2}	8,94(3)		
			pK_{S3}	13,0(1)		
			pK_{S4}			

* $\sigma=0,017$ mit $\sigma = \sum(\delta_{ber} - \delta_{exp})^2$ ** $\sigma=0,0022$ mit $\sigma = \sum(\delta_{ber} - \delta_{exp})^2$

3.5 Diskussion der $^1\text{H-NMR}$ -Untersuchungen

Die $^1\text{H-NMR}$ -Titrationsen wurden mit allen mittels Potentiometrie untersuchten Liganden durchgeführt, mit Ausnahme des Liganden Didesoxy-Myxochelin A. Dieser konnte nicht mittels NMR-Titration untersucht werden, da die Löslichkeit im gemischt wässrigen Lösemittel zu gering für NMR-Experimente ist. Zusätzlich wurden noch die Moleküle 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid und 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid untersucht. Die durch diese Methode bestimmten pK_S -Werte sind durchschnittlich um eine Größenordnung größer als die mittels Potentiometrie bestimmten Werte (siehe Tabelle 3-14).

Tabelle 3-14: Vergleich der über $^1\text{H-NMR}$ -Titrationsen erhaltenen pK_S -Werte mit denen aus der Potentiometrie erhaltenen Werten

untersuchte Liganden	$^1\text{H-NMR}$ -Titration		Potentiometrie	
	$\text{pK}_{\text{S}1}$	$\text{pK}_{\text{S}2}$	$\text{pK}_{\text{S}1}$	$\text{pK}_{\text{S}2}$
Myxochelin A	8,48	8,78	7,48(4)	8,46(2)
Methyl-Myxochelin A	8,65	10,05	7,68(1)	8,94(3)
Didesoxy-Myxochelin A	-	-	8,15(2)	9,09(2)
2-Hydroxybenzoesäureamid	9,80	-	8,672(2)	-
2,3-Dihydroxybenzoesäureamid	9,02	-	8,079(7)	13,02(7)
2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid	9,62	-	-	-
3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid	10,89	-	-	-

Die Untersuchung von Myxochelin A zeigte, dass beide aromatischen Einheiten in annähernd gleichem Maße deprotoniert werden. Im Vergleich dazu werden die aromatischen Einheiten des Methyl-Myxochelin A in sehr unterschiedlichem Maße deprotoniert. Die erste Deprotonierung findet an der aromatischen Einheit statt, die zwei Hydroxyfunktionen trägt.

Das Molekül 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid trägt eine Hydroxyfunktion in *ortho*-Position, das Molekül 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid trägt eine Hydroxyfunktion in *meta*-Position zur Amidfunktion. Die $^1\text{H-NMR}$ -Titrationsen zeigten, dass im Verlauf einer Deprotonierung die deutlichste Hochfeld-Verschiebung bei dem Signal des der Hydroxyfunktion gegenüberliegenden Protons auftritt. Dies ist unabhängig von der Position der Hydroxyfunktion bezüglich der Amidfunktion. Dies konnte durch mesomere Grenzformeln in den vorangegangenen Kapiteln erklärt werden.

Alle untersuchten Moleküle, mit Ausnahme des 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamids, tragen mindestens eine Hydroxyfunktion in direkter Nachbarschaft zur Amidfunktion (*ortho*-Position). Es konnte gezeigt werden, dass bei den Molekülen, die eine Hydroxyfunktion in dieser Position tragen, jeweils das Signal dieser Hydroxyfunktion „gegenüberliegenden“ Protons die deutlichste Hochfeld-Verschiebung bei gleichzeitiger pH-Wert-Erhöhung erfährt. Dies war unabhängig davon, ob der untersuchte Aromat eine weitere Hydroxyfunktion trug. Dies bedeutet, dass bei Benzoesäureamiden, die Hydroxyfunktionen in *ortho*- und *meta*-Position zur Amidfunktion tragen, die Funktion in *ortho*-Position zuerst deprotoniert wird. Der Vergleich der mittels $^1\text{H-NMR}$ -Titration bestimmten pK_S -Werte zeigt, dass der pK_S -Wert des 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamids ($\text{pK}_\text{S}=10,89$) deutlich größer ist als die ersten pK_S -Werte der übrigen Moleküle ($\text{pK}_\text{S}\leq 9,80$). Eine Hydroxyfunktion in *ortho*-Position zum Amid reagiert also saurer als eine in *meta*-Position.

4 Untersuchung der Komplexbildung mit Eisen(III)

4.1 Verwendete Methoden

Zur Bestimmung der Stabilitätskonstanten von Myxochelin A mit Fe^{3+} sollten kontinuierliche potentiometrische Titrations durchgeföhrt werden. Bereits während der dieser Arbeit vorangegangenen Diplomarbeit wurde deutlich, dass das System: Fe^{3+} / Myxochelin A mehrere Tage benötigt, bis sich ein thermodynamisches Gleichgewicht eingestellt hat.⁴³ Dies zeigte sich zunächst durch eine deutliche Hysterese der durch alkalimetrische Hin- und acidimetrische Rücktitration erhaltenen Titrationskurven. Außerdem wurden die UV/Vis-Spektren der Fe^{3+} -Myxochelin A Lösungen bei verschiedenen pH-Werten über einen Zeitraum von 14 Tagen aufgezeichnet. Als Methode der Wahl wurde dann die diskontinuierliche spektrophotometrische Titration gewählt, da die Eisenkomplexe von Myxochelin A sich durch eine intensive Färbung auszeichnen.

Als Ursache für die lange Gleichgewichtseinstellungen wurde zunächst die Struktur des Liganden Myxochelin A angenommen. Die beiden aromatischen Einheiten sind durch ein langes Brückenstück verbunden, welches nicht starr ist, sondern sich frei im Raum drehen kann. Wenn die Koordinationsstellen eines Aromaten an ein Metallzentrum gebunden sind, muss sich dieses Brückenstück soweit „verbiegen“, damit die Koordinationsstellen des anderen Aromaten an das gleiche Metallion binden können. Durch diese Beschreibung wird auch deutlich, dass die Bildung von mehrkernigen Komplexen denkbar ist, da die noch nicht bindenden Koordinationsstellen sterisch kaum durch die Bindung der Koordinationsstellen des anderen Aromaten behindert werden. Um zu überprüfen, ob und bei welchen pH-Werten sich mehrkernige Komplexe bilden, wurde das System Fe^{3+} / Myxochelin A mit der Methode der kontinuierlichen Variation untersucht. Um die Koordination der einkernigen Komplexe zu untersuchen, wurden diskontinuierliche spektrophotometrische Titrations mit Derivaten von Benzoesäureamiden bzw. Myxochelin A ähnlichen Derivaten durchgeföhrt.

4.2 Mögliche Struktur der Komplexe

Die Koordinationsstellen der im Folgenden auf ihre Komplexbildung mit Fe^{3+} untersuchten Liganden werden zunächst am Beispiel des 2,3-Dihydroxybenzoesäureamids diskutiert. Eine mögliche Koordinationsstelle ist die zwischen einem Carbonyl-Sauerstoff und einer deprotonierten Hydroxyfunktion. Diese Position wird als „Salicylposition“ bezeichnet, und durch die Bindung des Metalls in dieser Position wird hier ein Chelat-Sechs-Ring gebildet. Sofern ein zweifach deprotoniertes 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid vorliegt, wechselt Fe^{3+} von der Salicyl- in die Catecholposition. Als „Catecholposition“ wird die Koordinationsstelle zwischen zwei deprotonierten Hydroxyfunktionen bezeichnet. Durch Bindung von Fe^{3+} in dieser Position wird ein Chelat-Fünf-Ring gebildet. Der Wechsel von einer Sechs-Ring-Koordination in eine Fünf-Ring-Koordination läuft ab, da dies zu einem energetischen Gewinn führt.⁶² Beispiele dieser Koordinationen sind in Abbildung 4-1 dargestellt.

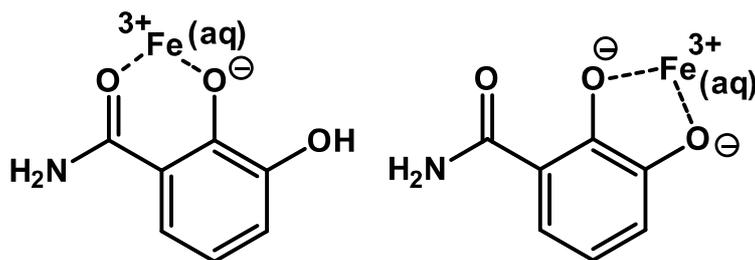


Abbildung 4-1: Bindung von Fe^{3+} in Salicyl-(links) und in Catecholposition (rechts) des 2,3-Dihydroxybenzoesäureamids

Es wäre auch denkbar, dass bei einer Deprotonierung in *ortho*-Position Fe^{3+} zwischen dem Amin-Stickstoff und der deprotonierten Hydroxylfunktion gebunden wird. Da Sauerstoff für Fe^{3+} das bevorzugte Ligandatom ist, und Amine außerdem einen zwitterionischen Charakter besitzen, wodurch die negative Partialladung am Carbonylsauerstoff erhöht wird, wird Fe^{3+} bei einer einfachen Deprotonierung des Liganden nur zwischen dem Carbonyl-Sauerstoff und der deprotonierten Hydroxyfunktion gebunden. Auch IR-Untersuchungen von Salicylamid durch Pannu und Chopra bestätigen diese Koordination.⁶³ Der Ligand 2-Hydroxybenzoesäureamid besitzt nur eine Salicylposition zur Komplexbildung von Metallen.

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Der Koordinationspolyeder eines Fe^{3+} -Komplexes wird in wässrigen Systemen in der Regel durch einen Oktaeder beschrieben, daher können für Metallkomplexe mit zwei Ligand-Einheiten *cis*- und *trans*-Komplexe formuliert werden. Beispiele dieser Komplexe sind für 2,3-Dihydroxybenzoesäure in Abbildung 4-2 dargestellt.

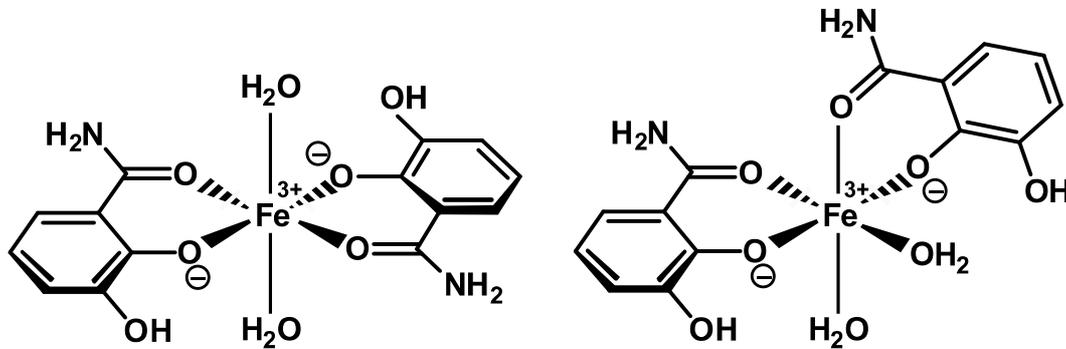


Abbildung 4-2: *trans*-(links) und *cis*-Komplexe(rechts) von jeweils zwei Einheiten 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid mit Fe^{3+}

Kristallstrukturen von Catecholat, Malonat und Oxalat-Komplexen zeigen, dass zwei an ein Fe^{3+} -Zentrum koordinierende benachbarte Hydroxyfunktionen in der Regel *cis*-Komplexe formen. Die gelösten Komplexe können davon abweichen und die hier verwendeten Methoden können keine Aussage darüber treffen, ob *cis*- und/oder *trans*-Komplexe vorliegen.^{64,65}

Der Ligand Myxochelin A und die von ihm abgeleiteten Derivate besitzen jeweils zwei aromatische Einheiten die durch eine Brücke verknüpft sind. Es ist anzunehmen, dass die Phenolatfunktionen beider aromatischen Einheiten an ein Metallkation koordinieren können. Dies zeigen Komplexe des Myxochelin A sehr ähnlichen Liganden LICAM (1,5-Bis(2,3-dihydroxybenzamido)-pentan) (siehe Abbildung 4-3).⁶⁶

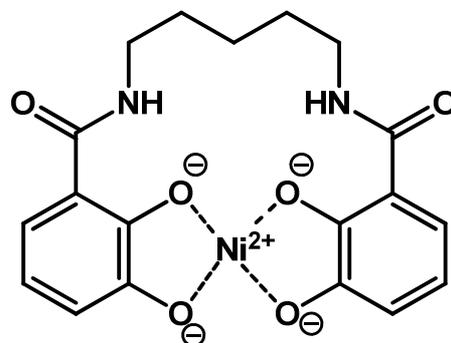


Abbildung 4-3: Nickel(II)-Komplex des Liganden LICAM

Dieser Ligand besitzt die gleichen aromatischen Einheiten wie Myxochelin A und auch die Länge der verknüpfenden Brücke stimmt überein. Der einzige Unterschied zu Myxochelin A ist das Fehlen des CH_2OH -Restes, daher besitzt dieser Ligand auch

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

kein Chiralitätszentrum. In den Kristallstrukturen von LICAM mit Ni^{2+} beziehungsweise Co^{2+} koordinieren die vier deprotonierten Phenolatfunktionen quadratisch planar an das Metallzentrum. Dieser Komplex entspricht einem MLH_4 Komplex von Myxochelin A in dem ein Metall in zwei Catecholpositionen gebunden ist. Über die genaue räumliche Anordnung soll hier jedoch keine Aussage getroffen werden.

Myxochelin A besitzt zwei Salicyl- und zwei Catecholpositionen. Das Methyl-Derivat besitzt zwei Salicyl- und eine Catecholposition, das Didesoxy-Derivat nur zwei Salicylpositionen. Durch verschiedene Protonierungs-Grade können unterschiedliche Koordinationen entstehen, zum Beispiel hätte ein MLH_2 -Komplex von Myxochelin A die Möglichkeit, zweizählig in einer Catecholposition zu koordinieren oder vierzählig in zwei Salicylpositionen. Eine Koordinationsmöglichkeit des MLH_3 -Komplexes von Myxochelin A ist in Abbildung 4-4 dargestellt, hier wird Fe^{3+} in Salicyl- und in Catecholposition gebunden.

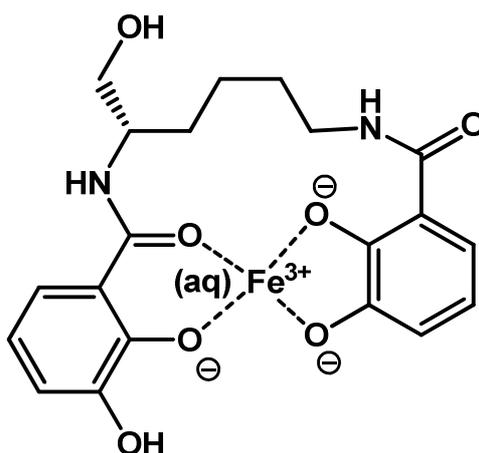


Abbildung 4-4: Struktur eines MLH_3 -Komplexes für Myxochelin A mit Fe^{3+}

Aufgrund der sehr ähnlichen pK_S -Werte der beiden Ringe ist es auch denkbar, dass die Koordinationen der beiden Aromaten vertauscht sind.

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Außer den oben beschriebenen einkernigen Komplexen kann für Myxochelin A auch ein $M_2L_3H_x$ -Komplex ($x=6-12$) (siehe Abbildung 4-5) diskutiert werden. Dieser könnte gebildet werden, wenn zwei einkernige Komplexe über einen Liganden verbrückt werden.

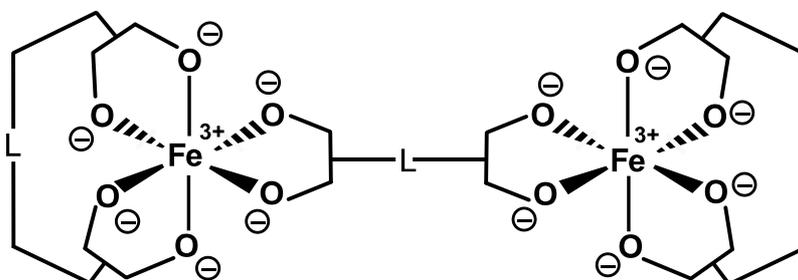


Abbildung 4-5: schematisierter $M_2L_3H_{12}$ -Komplex von Myxochelin A (Die dargestellten O-Atome entsprechen den Hydroxyfunktionen von Myxochelin A)

Ebenso wäre ein Komplex denkbar bei dem jede „Seite“ des Liganden Myxochelin A ein Metall bindet. Dies entspräche einem M_2LH_x -Komplex ($x=2-4$). Aus diesem Komplex lässt sich die Struktur eines weiteren Komplexes ableiten, von dem ähnliche in der Literatur bekannt sind.

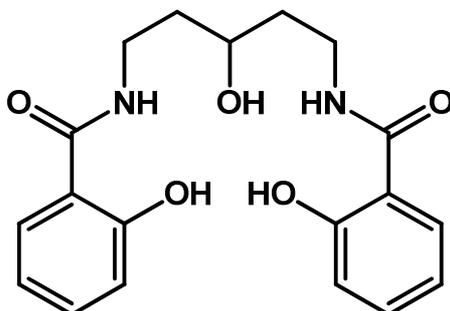


Abbildung 4-6: Struktur von 1,5-Bis(2-hydroxybenzamido)-3-pentanol

Die dem Didesoxy-Myxochelin A ähnlichen Liganden wie 1,5-Bis(2-hydroxybenzamido)-3-pentanol (siehe Abbildung 4-6) und $H_4Hbapen$ (1,5-Bis(2-hydroxybenzamido)-pentan) bilden mehrkernige Komplexe mit folgender Struktur: Jeder Ligand bindet mit einer Salicylposition an jeweils ein Metallzentrum. Die Metallzentren sind zweimal durch jeweils eine Methoxygruppe mit einander verbunden.^{67,68}

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Aus dieser Struktur lässt sich ein weiterer Komplex für Myxochelin A und das Didesoxy-Derivat ableiten. Der Komplex $M_2L_2H_{-8}(OH)_2$ entspricht dem oben bereits beschriebenen Komplex, nur dass die Methoxyfunktionen durch Hydroxyfunktionen ersetzt wurden.

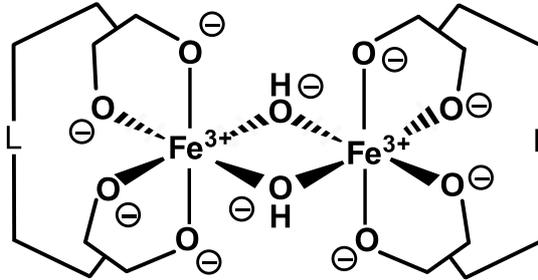


Abbildung 4-7: schematisierter $M_2L_2H_{-8}(OH)_2$ -Komplex von Myxochelin A

Da mit der Methode der spektrophotometrischen Titration nur Konstanten von Makroteilchen bestimmt werden können, sollte durch den Vergleich von Individualspektren der Eisenkomplexe der Derivate des Benzoessäureamids mit denen von Myxochelin A und seinen Derivaten aufgeklärt werden in welcher Position und mit wieviel Ligandatomen Fe^{3+} gebunden wird.

4.3 Bestimmung der Eisen(III)-Stabilitätskonstanten

4.3.1 Myxochelin A

Zur Untersuchung der Komplexbildung des Liganden Myxochelin A mit Fe^{3+} wurden diskontinuierliche spektrophotometrische Titrations bei verschiedenen Konzentrationen und pH-Bereichen (siehe Tabelle 4-1) durchgeführt. Dies war notwendig, da die Gesamtabsorption der untersuchten Lösungen sich bei verschiedenen Konzentrationen stark unterscheidet. Außerdem fiel auf, dass sich bei höheren pH-Werten ($\text{pH} > 9$) die Lösungen bei ihrer Herstellung zunächst dunkelrot färbten. Einige Stunden später bildete sich Niederschlag von Eisen(III)hydroxid und die Lösungen wurden gelb-orange. Aufgrund des hohen pH-Wertes, dem Vorhandensein von Fe^{3+} , der redoxempfindlichen Struktur des Liganden und dem nicht vollkommenen Ausschluss von Sauerstoff besteht die Möglichkeit, dass der Ligand unter anderem durch Oxidation zum *ortho*-Chinon zerstört wurde^{69,70} und daher keine Messungen durchgeführt werden konnten.

Tabelle 4-1: Titrationsbedingungen und Stabilitätskonstanten des Systems Fe^{3+} / Myxochelin A

Titrationsbedingungen	1:1	1:1	1:1
c(Myxochelin A) [mM]	0,5	0,5	0,25
c(Eisen(III)chlorid) [mM]	0,45	0,45	0,24
pH-Bereich	1,1-2,9	1,1-4,9	2,9-8,1
Ionenstärke (KCl) [mol/L]	0,1	0,1	0,1
Anzahl der Proben	20	40	40
Molenbruch (DMSO)	0,2	0,2	0,2
Wartezeit [Tagen]	5	14	14
Wellenlängenbereich	380-900	380-900	380-900
Auswertung SPECFIT			
$\log\beta(\text{MLH}_{.1})^+$	1,95(4)*	$\log K(\text{MLH}_{.1})^+$	9,43
$\log\beta(\text{MLH}_{.2})^+$	-0,4(2)*	$\log K(\text{MLH}_{.2})^+$	15,6
$\log\beta(\text{MLH}_{.3})^+$	-3,4(3)*	$\log K(\text{MLH}_{.3})^+$	25,6
$\log\beta(\text{MLH}_{.4})^+$	-11,2(4)*	$\log K(\text{MLH}_{.4})^+$	31,4

* Mittelwerte und Standardabweichung bestimmt über 5 bzw. 3 ($\log\beta(\text{MLH}_{.4})$) Messungen

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

+ bezüglich des vollständig protonierten Liganden L ist $\beta(\text{MLH}_{.n}) = [\text{MLH}_{.n}] \cdot [\text{H}]^n \cdot [\text{L}]^{-1} \cdot [\text{M}]^{-1}$ und $K(\text{MLH}_{.n}) = [\text{MLH}_{.n}] \cdot [\text{LH}_{.n}]^{-1} \cdot [\text{M}]^{-1}$

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Durch die Auswertung der erhaltenen UV/Vis-Spektren bis $\text{pH} \leq 8,1$, mit den zugehörigen pH-Werten, konnten mit dem Programm *SPECFIT* die Bruttostabilitätskonstanten der Fe^{3+} -Komplexe MLH_{-1} ($\log\beta=1,95$), MLH_{-2} ($\log\beta=-0,4$), MLH_{-3} ($\log\beta=-3,4$), und MLH_{-4} ($\log\beta=-11,2$) für Myxochelin A bestimmt werden. Für Titrations ab $\text{pH} \geq 2,9$ wurde zur Auswertung das Individualspektrum des MLH_{-1} -Komplexes, welches aus der Auswertung der Titration von $\text{pH} \geq 1$ und $\text{pH} \leq 2,9$ erhalten wurde, als konstant vorgegeben. Das anhand der bestimmten Stabilitätskonstanten berechnete Teilchenmodell ist in Abbildung 4-8 dargestellt. Im Teilchenmodell bezeichnet M sowohl das Hexaaquaion von Fe^{3+} , als auch die hydratisierten Spezies $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$ und $\text{Fe}(\text{OH})_2^+$. Die pK_S -Werte dieser Spezies liegen in wässrigem Medium bei 2,51 und 5,76.⁷¹ Dies gilt für die Komplexbildung aller untersuchten Liganden mit Fe^{3+} .

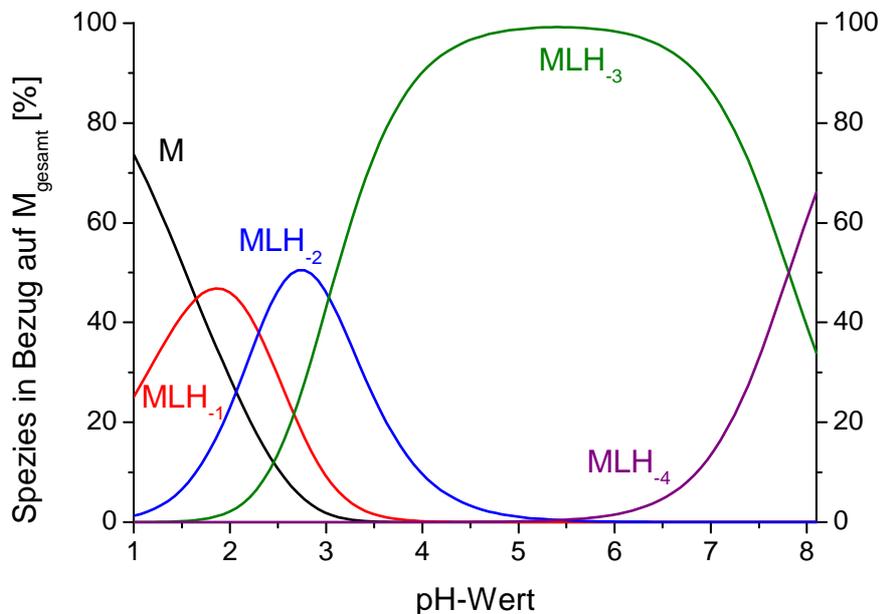


Abbildung 4-8: Teilchenmodell des Systems Fe^{3+} / Myxochelin A bei den Bedingungen: $c(\text{L})=0,5\text{mM}$ und $c(\text{M})=0,45\text{mM}$ und den in Tabelle 4-1 angegebenen Konstanten

Die Fe^{3+} -Komplexbildung von Myxochelin A findet schon bei sehr niedrigen pH-Werten statt. Ein Viertel des eingesetzten Fe^{3+} ist bereits bei $\text{pH}=1,1$ in Form des MLH_{-1} -Komplexes gebunden. Dieser wird bis zu maximal 47% bei $\text{pH}=1,9$ gebildet. Die Bildung des MLH_{-2} -Komplexes, der den zweifach deprotonierten Liganden enthält, findet ebenfalls bereits ab $\text{pH} \geq 1$ statt. Dieser Komplex bildet sich aus der MLH_{-1} -Spezies und komplexiert maximal die Hälfte des eingesetzten Metalls bei $\text{pH}=2,8$. Aus dieser Spezies bildet sich der MLH_{-3} -Komplex, der über einen breiten Bereich von $\text{pH} \geq 3,1$ bis $\text{pH} \leq 7,7$ dominiert und bei $\text{pH}=5,5$ das eingesetzte Fe^{3+}

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

nahezu vollständig komplexiert. Die Bildung des MLH_4 -Komplexes beginnt bei $pH \geq 5,4$ und dominiert ab $pH \geq 7,8$.

Exemplarische UV/Vis-Spektren der durchgeführten Titrationsen sind in Abbildung 4-9 ($pH \geq 1,1$ bis $pH \leq 2,9$) und Abbildung 4-10 ($pH \geq 2,9$ bis $pH \leq 8,1$) dargestellt. Das Absorptionsmaximum der Fe^{3+} -Komplexe liegt bei $pH=1,1$ und den verwendeten Bedingungen bei 567nm und wird bei gleichzeitiger pH-Wert-Erhöhung zunächst zu größeren Wellenlängen verschoben. Bei $pH=2,4$ liegt das Absorptionsmaximum bei 601nm und wird bei weiterer Erhöhung des pH-Werts wieder zu niedrigeren Wellenlängen verschoben, bis es bei $pH=2,9$ bei 584nm liegt. Die Intensität der Absorption steigt in dem oben beschriebenen Bereich stetig mit der pH-Wert-Erhöhung.

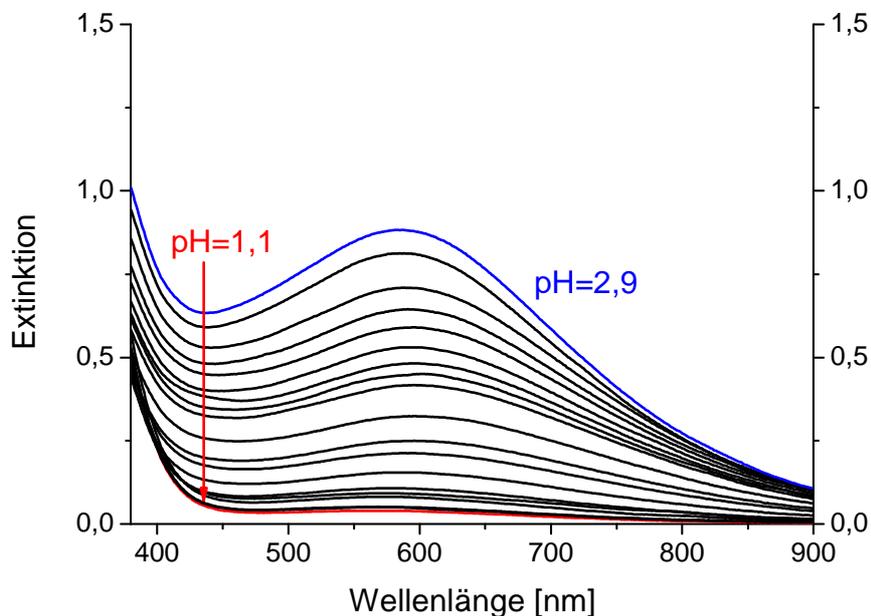


Abbildung 4-9: UV/Vis-Spektren von Fe^{3+} mit Myxochelin A zwischen $pH \geq 1,1$ und $pH \leq 2,9$ mit $c(L)=0,5mM$ und $c(M)=0,45mM$

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Betrachtet man die bei niedrigeren Konzentrationen aufgenommenen UV/Vis-Spektren, so liegt das Absorptionsmaximum auch hier bei etwa 584nm.

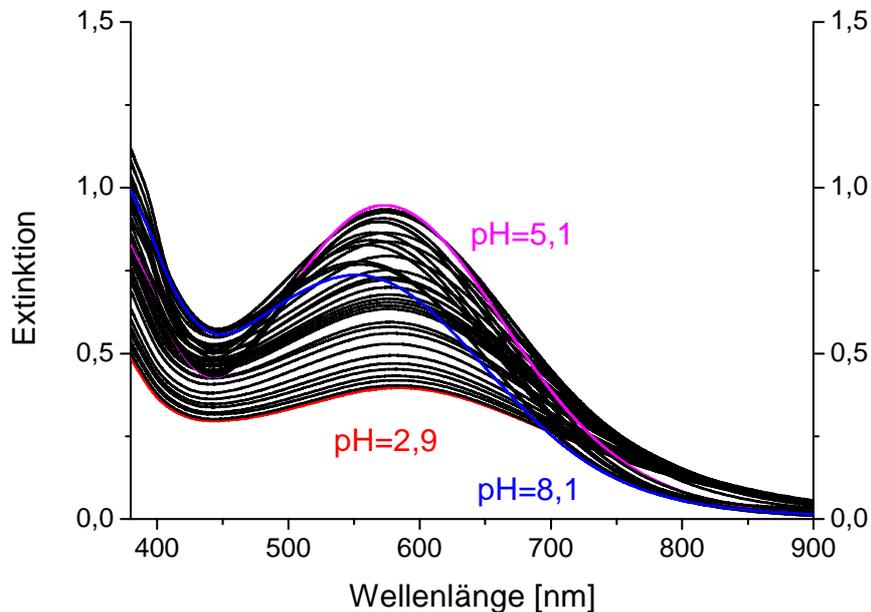


Abbildung 4-10: UV/Vis-Spektren von Fe^{3+} mit Myxochelin A zwischen $\text{pH} \geq 2,9$ und $\text{pH} \leq 8,1$ mit $c(\text{L})=0,25\text{mM}$ und $c(\text{M})=0,24\text{mM}$

Die Intensität steigt bis zu $\text{pH}=5,1$ und die Wellenlänge des Maximums verschiebt sich bis zu 572nm. Bei weiterer pH-Wert Erhöhung wird dieses Maximum weiter zu niedrigeren Wellenlängen verschoben und die Intensität sinkt. Bei $\text{pH}=8,1$ liegt das Maximum bei 552nm. Diese Verschiebungen des Absorptionsmaximums lassen sich durch die ermittelten Individualspektren (siehe Abbildung 4-11) erklären.

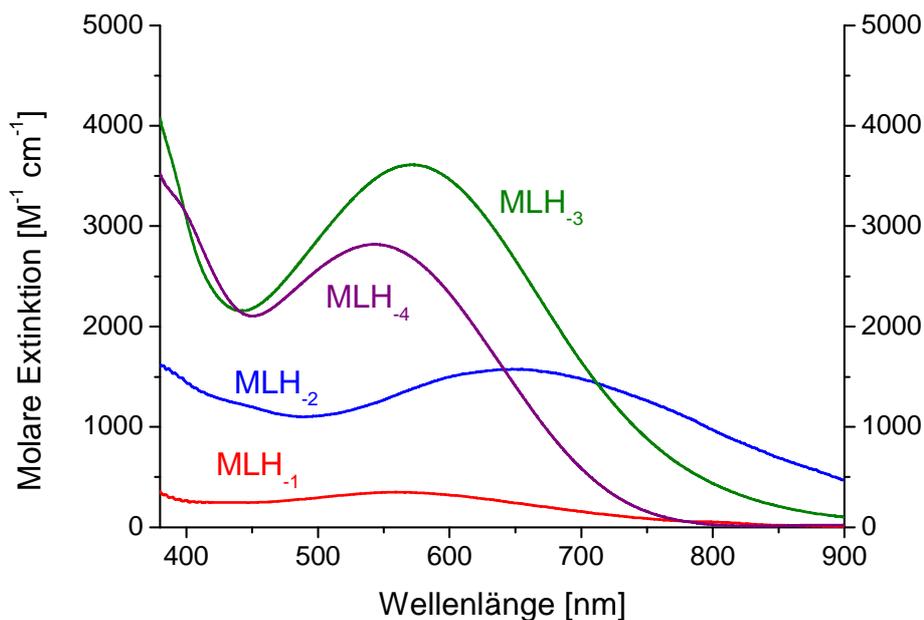


Abbildung 4-11: Individualspektren der Fe^{3+} -Komplexe von Myxochelin A

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Das Individualspektrum des MLH₁-Komplexes besitzt mit $384\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ nur eine schwache molare Extinktion bei 567nm, was dem Extinktionsmaximum entspricht. Das Spektrum des MLH₂-Komplexes zeigt, dass dieser Komplex über den gesamten untersuchten Wellenlängenbereich eine relativ starke Extinktion hat. Das Maximum liegt bei 655nm und $1577\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Dieses Spektrum lässt vermuten, dass es sich hier um das Summenspektrum zweier Spezies handelt. Diese Spezies besitzen zwar die gleiche Zusammensetzung, jedoch koordiniert der Ligand jeweils unterschiedlich an das Metallzentrum. Das Maximum des MLH₃-Komplexes ist gegenüber dem MLH₂-Komplex mit 571nm und $3612\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ deutlich zu niedrigeren Wellenlängen verschoben und besitzt bei 710nm eine deutlich stärkere Extinktion. Das Maximum des MLH₄-Komplexes besitzt ein niedrigeres Extinktionsmaximum bei 543nm und $2819\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Die genaue Koordination von Myxochelin A am Fe³⁺-Zentrum wird in Kapitel 4.4 diskutiert durch den Vergleich mit den Absorptionen der anderen Liganden, insbesondere der Fe³⁺-Komplexe des 2,3-Dihydroxybenzoesäureamids.

4.3.2 Methyl-Myxochelin A

Die Fe³⁺-Komplexierung des Liganden Methyl-Myxochelin A wurde zwischen pH≥1,0 und pH≤4,1 untersucht. Bei pH>4,1 bilden sich, bei den in Tabelle 4-2 angegebenen Bedingungen, Niederschläge von Eisen(III)hydroxid. Die Wartezeit zwischen der Herstellung der zu untersuchenden Lösungen und deren Vermessung betrug zehn Tage, um die Gleichgewichtseinstellung abzuwarten und Proben mit Eisen(III)hydroxid auszuschließen. Die Auswertung der UV/Vis-Spektren zwischen 380-800nm lieferte die Bruttostabilitätskonstanten der Fe³⁺-Komplexe MLH₁ (logβ=2,1), MLH₂ (logβ=-0,3) und MLH₃ (logβ=-3,9).

Tabelle 4-2: Titrationsbedingungen und Stabilitätskonstanten des Systems Fe³⁺ / Methyl-Myxochelin A

Titrationsbedingungen		1:1	
c(Methyl-Myxochelin A) [mM]		0,6	
c(Eisen(III)chlorid) [mM]		0,5	
pH-Bereich		1,0-4,1	
Ionenstärke (KCl) (mol/L)		0,1	
Anzahl der Proben		25	
Molenbruch (DMSO)		0,2	
Wartezeit [Tagen]		10	
Wellenlängenbereich		380-800	
Auswertung SPECFIT			
logβ(MLH ₁) ⁺	2,1(4)	logK(MLH ₁) ⁺	9,8
logβ(MLH ₂) ⁺	-0,3(4)	logK(MLH ₂) ⁺	16,3
logβ(MLH ₃) ⁺	-3,9(1)	logK(MLH ₃) ⁺	25,7

* Mittelwerte und Standardabweichung bestimmt über 3 Messungen: $\sigma_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$

+ bezüglich des vollständig protonierten Liganden L ist $\beta(\text{MLH}_{-n}) = [\text{MLH}_{-n}] \cdot [\text{H}]^n \cdot [\text{L}]^{-1} \cdot [\text{M}]^{-1}$ und $K(\text{MLH}_{-n}) = [\text{MLH}_{-n}] \cdot [\text{LH}_{-n}]^{-1} \cdot [\text{M}]^{-1}$

Das Teilchenmodell in Abbildung 4-12 wurde anhand der bestimmten Konstanten und den Konzentrationen c(L)=0,5mM und c(M)=0,45mM berechnet. Bei pH=1,0 sind 30% des eingesetzten Fe³⁺ in Form des MLH₁-Komplexes gebunden. Dieser Komplex ist über den gesamten untersuchten pH-Bereich vorhanden. Er wird zu maximal 53% bei pH=1,9 gebildet. Die Bildung des MLH₂-Komplexes beginnt bei

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

pH=1 und liegt ebenfalls überall im untersuchten pH-Bereich vor. Er wird zu maximal 65% bei pH=3,0 gebildet. Aus diesem Komplex bildet sich ab pH \geq 1,7 durch eine weitere Deprotonierung des Liganden der MLH₃-Komplex. Bei pH=4,1 liegt dieser zu 76% vor.

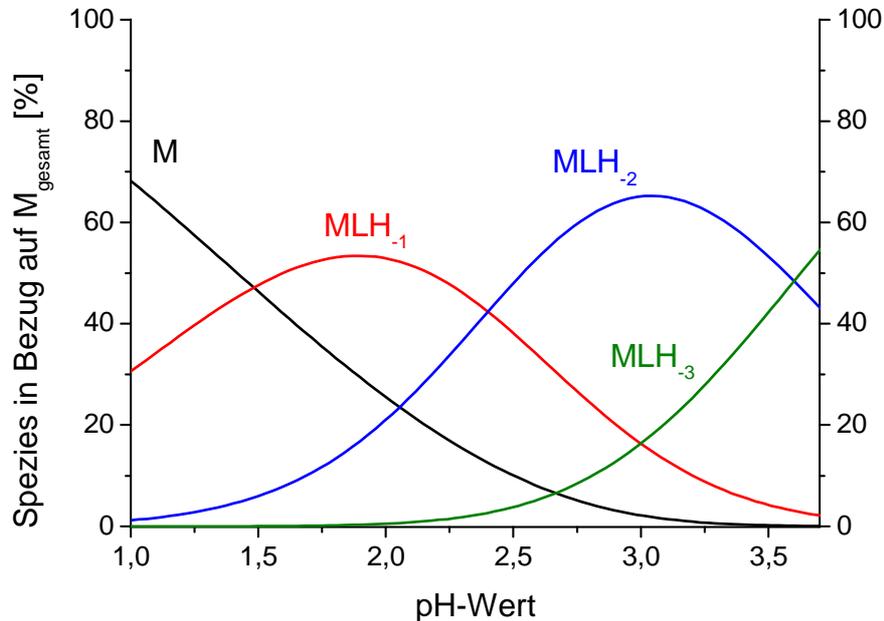


Abbildung 4-12: Teilchenmodell des Systems Fe³⁺ / Methyl-Myxochelin A bei den Bedingungen: c(L)=0,5mM und c(M)=0,45mM und den Tabelle 4-2 angegebenen Konstanten

Die UV/Vis-Spektren des untersuchten pH-Bereichs sind in Die gesamte Extinktion erhöht sich mit steigendem pH-Wert. dargestellt. Die erhaltenen Spektren weisen alle ein breites Extinktionsmaximum über den gesamten Wellenlängenbereich auf.

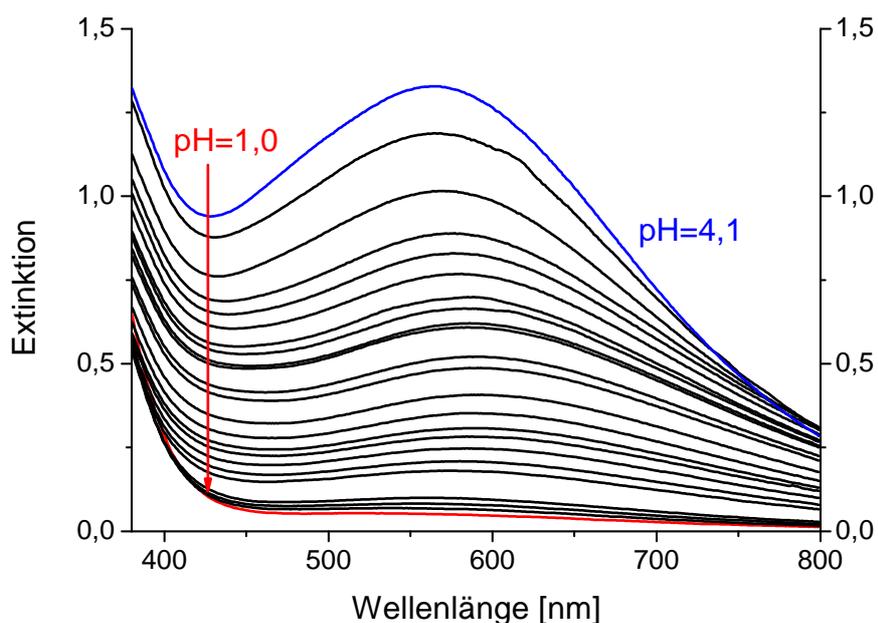


Abbildung 4-13: UV/Vis-Spektren von Fe³⁺ mit Methyl-Myxochelin A von pH \geq 1,0 bis pH \leq 4,1 mit c(L)=0,0mM und c(M)=0,5mM

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Die gesamte Extinktion erhöht sich mit steigendem pH-Wert. Bei pH=1,0 ist die Extinktion noch schwach und das Maximum liegt bei 519nm. Bis pH=2,4 wird das Maximum zu größeren Wellenlängen verschoben. Von pH \geq 2,4 bis pH \leq 4,1 wird das Maximum wieder zu niedrigeren Wellenlängen verschoben, bis es bei pH=4,1 bei 563nm liegt. Die aus *SPECFIT* erhaltenen Individualspektren der drei Fe³⁺-Komplexe sind in Abbildung 4-14 dargestellt. Der MLH₁-Komplex weist eine schwache Extinktion auf, sein Maximum liegt bei 556nm und 316M⁻¹cm⁻¹. Das Spektrum des MLH₂-Komplexes zeigt eine deutliche molare Extinktion über den gesamten Wellenlängenbereich. Das Maximum dieses Komplexes liegt bei 622nm und 1555M⁻¹cm⁻¹. Das Spektrum des MLH₃-Komplexes besitzt eine starke Extinktion und ein Maximum bei 561nm und 2767M⁻¹cm⁻¹. Der Ligand Methyl-Myxochelin A besitzt drei mögliche Koordinationstellen. Da nur deprotonierte Hydroxyfunktionen koordinieren können, wird der Ligand im MLH₁-Komplex zweizählig in Salicylposition koordinieren. Bei den MLH₂ und MLH₃-Komplexen sind verschiedene Koordinationen möglich. Diese werden in Kapitel 4.4 im Vergleich mit den anderen Liganden diskutiert. Das breite Extinktionsmaximum des MLH₂-Komplexes weist darauf hin, dass das erhaltene Individualspektrum die Summe verschiedener Spektren darstellen könnte, die durch unterschiedliche Koordination des Liganden zustande kommen.

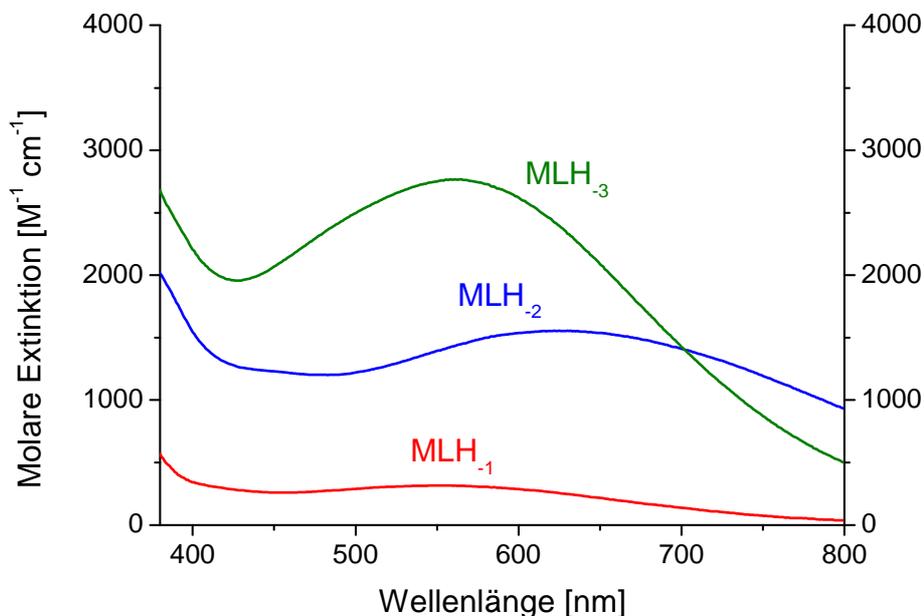


Abbildung 4-14: Individualspektren der Fe³⁺-Komplexe von Methyl-Myxochelin A

4.3.3 Didesoxy-Myxochelin A

Die diskontinuierlichen spektrophotometrischen Untersuchungen des Systems Fe^{3+} / Didesoxy-Myxochelin A wurden bei den in Tabelle 4-3 angegebenen Bedingungen im Bereich zwischen $\text{pH} \geq 1,9$ und $\text{pH} \leq 3,8$ durchgeführt. Dieser Bereich wurde durch die Bildung von Eisen(III)hydroxid ab $\text{pH} > 3,8$ stark eingeschränkt. Es konnten die Bruttostabilitätskonstanten der Komplexe MLH_{-1} ($\log\beta=0,5$) und MLH_{-2} ($\log\beta=-2,8$) bestimmt werden.

Tabelle 4-3: Titrationsbedingungen und Stabilitätskonstanten des Systems Fe^{3+} / Didesoxy-Myxochelin A

Titrationsbedingungen		1:1	
c(Didesoxy-Myxochelin A) [mM]		0,25	
c(Eisen(III)chlorid) [mM]		0,24	
pH-Bereich		1,9-3,8	
Ionenstärke (KCl) [mol/L]		0,1	
Anzahl der Proben		20	
Molenbruch (DMSO)		0,2	
Wartezeit [Tagen]		5	
Wellenlängenbereich		330-800	
Auswertung SPECFIT			
$\log\beta(\text{MLH}_{-1})^*$	0,5(1)*	$\log K(\text{MLH}_{-1})^*$	8,6
$\log\beta(\text{MLH}_{-2})^*$	-2,8(2)*	$\log K(\text{MLH}_{-2})^*$	14,4

* Mittelwerte und Standardabweichung bestimmt über 3 Messungen: $s_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$

+ bezüglich des vollständig protonierten Liganden L ist $\beta(\text{MLH}_{-n}) = [\text{MLH}_{-n}] \cdot [\text{H}]^n \cdot [\text{L}]^{-1} \cdot [\text{M}]^{-1}$ und $K(\text{MLH}_{-n}) = [\text{MLH}_{-n}] \cdot [\text{LH}_{-n}]^{-1} \cdot [\text{M}]^{-1}$

In dem mit *HYSS* anhand der erhaltenen Stabilitätskonstanten berechneten Teilchenmodell (siehe Abbildung 4-15) erkennt man, dass bei $\text{pH}=1,9$ knapp 6% des eingesetzten Metalls in Form der MLH_{-1} -Komplexes gebunden sind. Der Anteil dieses Komplexes steigt nur mäßig bei der Erhöhung pH-Werts an. Bei $\text{pH}=3,2$ liegt er zu maximal 29% vor. Die Bildung des MLH_{-2} -Komplexes beginnt bei etwa $\text{pH}=2$; bei $\text{pH}=3,8$ liegt er zu 62% vor. Da bei $\text{pH}=3,8$ immer noch 18% freies Fe^{3+} vorliegen, ist es nicht überraschend, dass bei ab $\text{pH} > 3,8$ Eisen(III)hydroxid ausfällt.

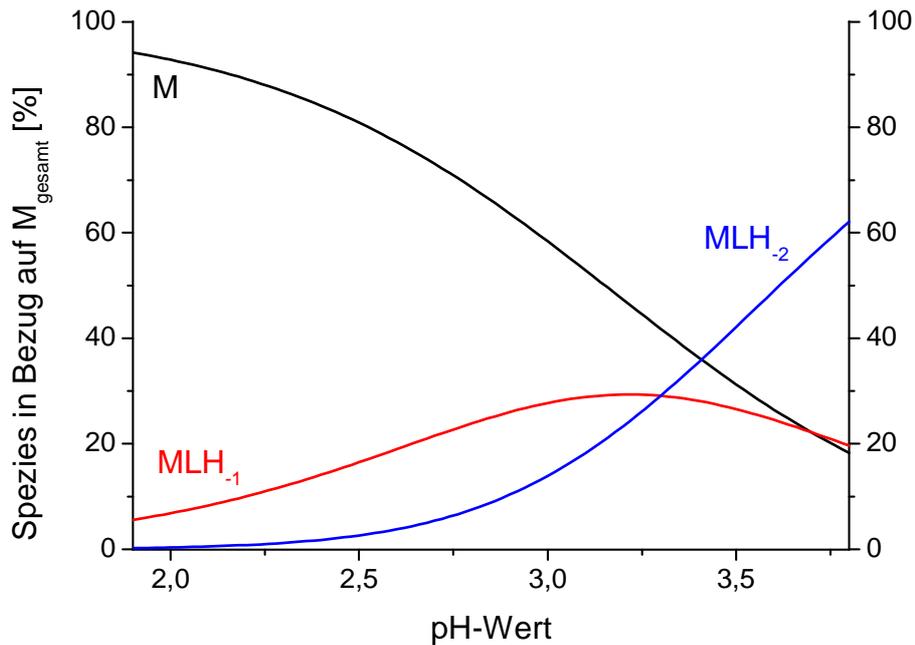


Abbildung 4-15: Teilchenmodell des Systems Fe^{3+} / Didesoxy-Myxochelin A bei den Bedingungen: $c(\text{L})=0,25\text{mM}$ und $c(\text{M})=0,24\text{mM}$ und den in Tabelle 4-3 angegebenen Konstanten

Die verwendete UV/Vis-Spektren (siehe Abbildung 4-16) wurden über einen Bereich von 330-800nm aufgenommen. In diesem Wellenlängenbereich besitzen alle Spektren zwischen $\text{pH} \geq 1,9$ und $\text{pH} \leq 1,8$ ein Extinktionsmaximum zwischen 495nm und 523nm, sowie intensive Extinktionen bei Wellenlängen $\leq 390\text{nm}$. Es fällt auf, dass das Extinktionsmaximum mit zunehmenden pH-Wert steigt und sich von größeren zu kleineren Wellenlängen verschiebt.

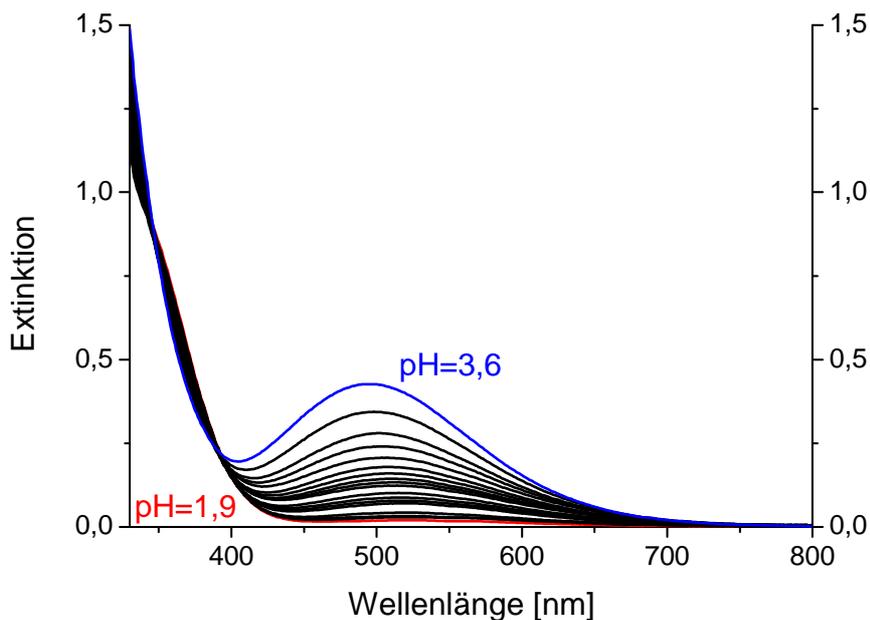


Abbildung 4-16: UV/Vis-Spektren von Fe^{3+} mit Didesoxy-Myxochelin A zwischen $\text{pH} \geq 1,9$ und $\text{pH} \leq 3,6$ mit $c(\text{L})=0,25\text{mM}$ und $c(\text{M})=0,24\text{mM}$

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Diese Verschiebung lässt sich durch die Individualspektren der beiden Fe^{3+} -Komplexe (siehe Abbildung 4-17) erklären. Das Spektrum des MLH_{-1} -Komplexes hat ein Maximum bei 528nm und $1599\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Das Extinktionsmaximum des MLH_{-2} -Komplexes ist, im Vergleich dazu mit 488nm und $2991\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ zu geringeren Wellenlängen verschoben und besitzt eine deutlich stärkere Extinktion.

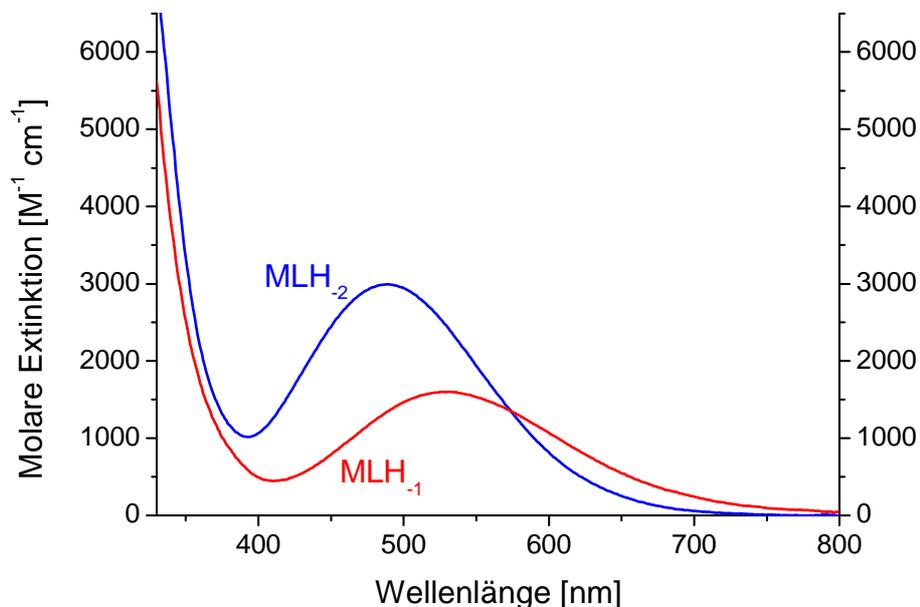


Abbildung 4-17: : Individualspektren der Fe^{3+} -Komplexe von Didesoxy-Myxochelin A

Da der Ligand Didesoxy-Myxochelin A nur zwei mögliche Koordinationsstellen besitzt, wird der Ligand zuerst zweizählig mit einer deprotonierten Hydroxyfunktion und dem Carbonyl-Sauerstoff koordinieren. Durch die zweite Deprotonierung ist eine vierzählige Koordination möglich, so dass Fe^{3+} in beiden Salicylpositionen des Liganden gebunden ist. Dies ist sehr wahrscheinlich, da eine Hydroxyfunktion im sauren Medium nicht deprotoniert würde, ohne dass sie gleichzeitig an ein anderes positives Zentrum bindet. Die vor allem bezüglich ihrer Extinktion stark unterschiedlichen Spektren der beiden Fe^{3+} -Komplexe unterstützten diese Theorie.

4.3.4 2-Hydroxybenzoesäureamid

Die Bestimmung der Stabilitätskonstanten des Fe^{3+} -Komplexes des 2-Hydroxybenzoesäureamids wurde von T. Hauch⁵³, unter meiner Betreuung, während ihrer Bachelorarbeit durchgeführt. Dazu wurde das System Fe^{3+} / 2-Hydroxybenzoesäureamid zunächst mittels kontinuierlicher potentiometrischer Titration untersucht. Es wurde festgestellt, dass bei einem Metall-Ligand-Verhältnis von 1:3 bei $\text{pH} > 3,6$ Eisen(III)hydroxid ausfällt. Die Stabilitätskonstanten wurden daher über diskontinuierliche spektrophotometrische Titrationskurven bestimmt. Die Wartezeit zwischen Herstellung und Messung der Lösungen betrug vier Tage, um die Proben mit Eisen(III)hydroxid sicher ausschließen zu können.

Das System Fe^{3+} / 2-Hydroxybenzoesäureamid wurde in den Metall-Ligand-Verhältnissen 1:1, 1:2 und 1:3, mit jeweils leichtem Ligand-Überschuss untersucht. Durch die Auswertung der UV/Vis-Spektren konnte mit *SPECFIT*^{72,73} die Stabilitätskonstante des $\text{MLH}_{.1}$ -Komplexes ($\log\beta = 0,6$) bestimmt werden. Mit *HYPERQUAD* konnten die Titrationskurven aller gemessenen Verhältnisse gemeinsam ausgewertet werden. Dadurch wurde die Konstante $\log\beta(\text{MLH}_{.1}) = 0,6$ erhalten, was den Ergebnissen der Auswertung mit *SPECFIT* entspricht. Bei den untersuchten Bedingungen ist nur die Bildung des $\text{MLH}_{.1}$ -Komplexes möglich.

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Tabelle 4-4: Titrationsbedingungen und Stabilitätskonstanten des Systems Fe³⁺ / 2-Hydroxybenzoesäureamid

Titrationsbedingungen		1:1	1:2	1:3
c(2-Hydroxybenzoesäureamid) [mM]		1,0	1,0	1,0
c(Eisen(III)chlorid) [mM]		0,9	0,45	0,3
pH-Bereich		1,9-3,2	2,2-3,4	2,4-3,6
Ionenstärke (KCl) [mol/L]		0,1	0,1	0,1
Anzahl der Punkte		38	36	40
Zugabe KOH (0,1M) pro Schritt [mL]		0,032	0,017	0,01
Molenbruch (DMSO)		0,2	0,2	0,2
Wartezeit [Tagen]		4	4	4
Wellenlängenbereich [nm]		350-800	330-800	330-800
Auswertung SPECFIT				
logβ(MLH₁)⁺	0,6(2)[*]	logK(MLH₁)⁺	9,27	
Auswertung HYPERQUAD				
logβ(MLH₁)⁺	0,6(1)^{**}	logK(MLH₁)⁺	9,27	
σ[#]	1,266			

* Mittelwert und Standardabweichung bestimmt über drei Messungen: $\sigma_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$

** dreifacher Wert der mit *HYPERQUAD* berechneten Standardabweichung

sigma aus *HYPERQUAD* (gemeinsame Auswertung der drei Titrationen); Güte der Iteration^{74,75}

+ bezüglich des vollständig protonierten Liganden L ist $\beta(\text{MLH}_{-n}) = [\text{MLH}_{-n}] \cdot [\text{H}]^n \cdot [\text{L}]^{-1} \cdot [\text{M}]^{-1}$ und $K(\text{MLH}_{-n}) = [\text{MLH}_{-n}] \cdot [\text{LH}_{-n}]^{-1} \cdot [\text{M}]^{-1}$

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Stellvertretend für alle Untersuchungen des Systems Fe^{3+} / 2-Hydroxybenzoesäureamid werden hier die erhaltenen Ergebnisse des Metall-Ligand-Verhältnis 1:2 diskutiert: Das Teilchenmodell des Fe^{3+} / 2-Hydroxybenzoesäureamid-Systems ist für das Metall-Ligand-Verhältnis 1:2 in Abbildung 4-18 dargestellt. Das Teilchenmodell beginnt bei $\text{pH}=2,2$. Hier liegen bereits 36% des MLH_{-1} -Komplexes vor. Ab $\text{pH}\geq 2,5$ dominiert der Fe^{3+} -Komplex gegenüber dem freien Fe^{3+} . Am Ende der Titration, bei $\text{pH}=3,4$, liegt dieser Komplex zu 87% vor.

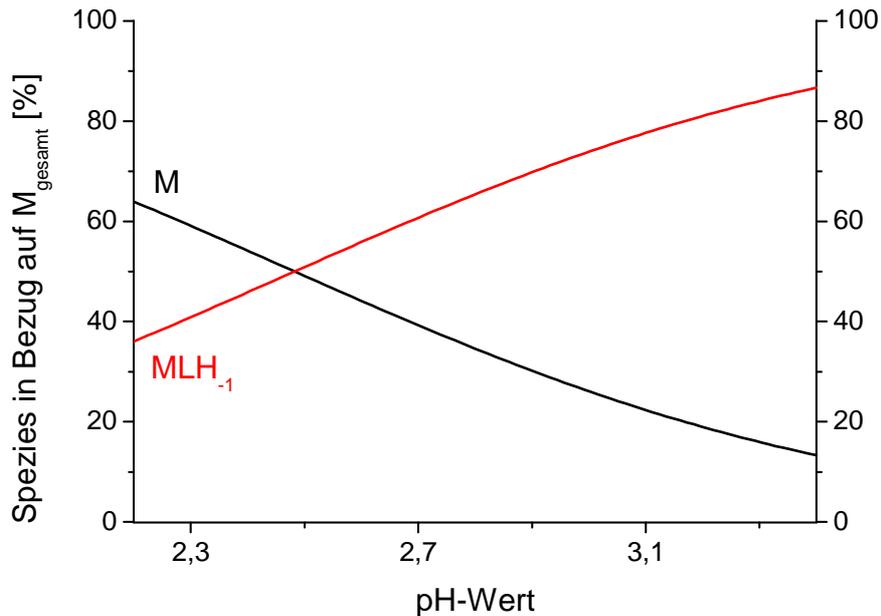


Abbildung 4-18: Teilchenmodell des System Fe^{3+} : 2-Hydroxybenzoesäureamid bei den Bedingungen: $c(\text{L})=1,0\text{mM}$ und $c(\text{M})=0,45\text{mM}$ und den in Tabelle 4-4 angegebenen Konstanten

In Abbildung 4-19 sind die UV/Vis-Spektren der Titration des Systems Fe^{3+} / 2-Hydroxybenzoesäureamid im Verhältnis 1:2 dargestellt. Der pH-Bereich der Titration lag zwischen $\text{pH}\geq 2,2$ und $\text{pH}\leq 3,4$. Man erkennt ein durchgängiges Absorptionsmaximum bei 520nm, welches mit zunehmenden pH-Wert eine stärkere Extinktion aufweist. Das erhaltene Individualspektrum des MLH_{-1} -Komplexes (siehe Abbildung 4-20) besitzt ein Absorptionsmaximum bei 520nm, was durch Charge-Transfer-Übergänge des Komplexes hervorgerufen wird. Die hohen Extinktionswerte ab Wellenlängen $<400\text{nm}$ kommen durch die aromatischen Einheiten des Liganden zustande. Die Bindung von Fe^{3+} erfolgt bei diesem Liganden in Salicylposition.

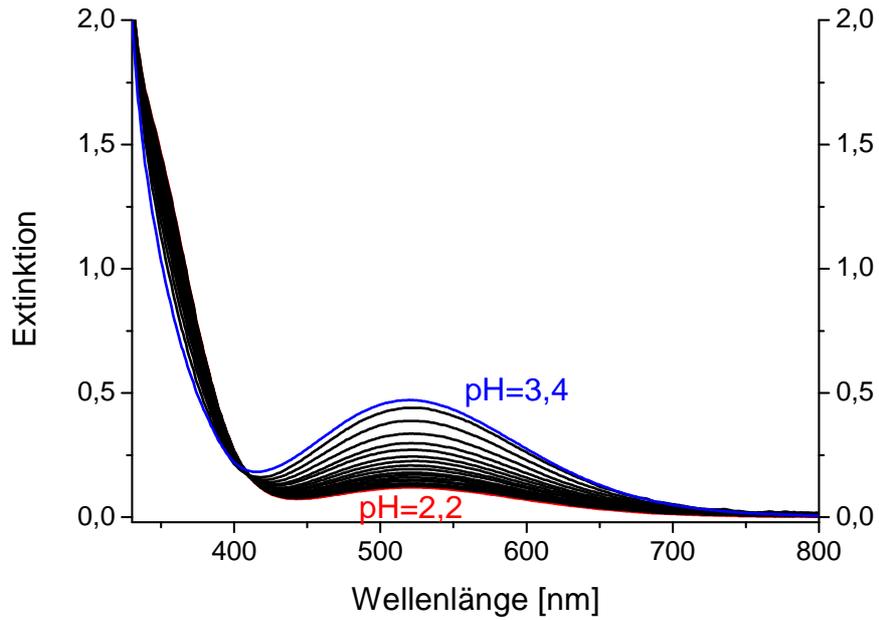


Abbildung 4-19: UV/Vis-Spektren von Fe³⁺ mit 2-Hydroxybenzoesäureamid im Verhältnis 1:2 zwischen pH≥2,2 und pH≤3,4 mit c(L)=1,0mM und c(M)=0,45mM

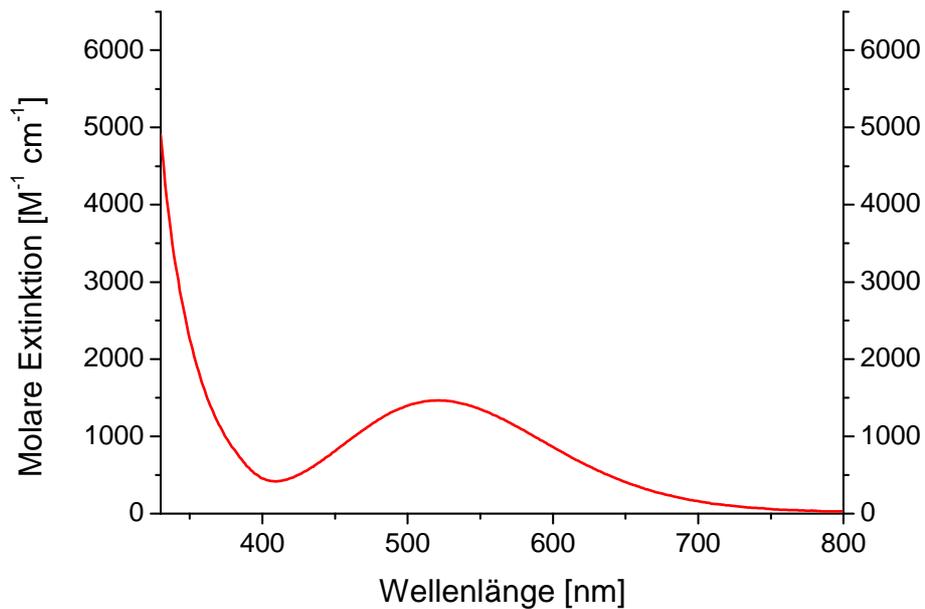


Abbildung 4-20: Individualspektrum des Fe³⁺-Komplexes des 2-Hydroxybenzoesäureamid

4.3.5 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid

Die Bestimmung der Stabilitätskonstanten des Fe^{3+} -Komplexes des 2,3-Dihydroxybenzoesäureamids erfolgte durch diskontinuierliche spektrophotometrische Titration mit einer Wartezeit zwischen Herstellung und Vermessung der Lösungen von zwei Wochen. Die Untersuchungen bei $\text{pH} \geq 1,9$ in den Metall-Ligand Verhältnissen 1:1, 1:2 und 1:3 wurden von T. Hauch⁵³, unter meiner Betreuung, während ihrer Bachelorarbeit durchgeführt. Weitere Messungen zwischen $\text{pH} \geq 1,0$ und $\text{pH} \leq 1,9$ wurden von mir durchgeführt. Bei allen Messungen wurde darauf geachtet, dass der Ligand im leichten Überschuss vorliegt. Der untersuchte pH-Bereich wurde durch den Niederschlag von Eisen(III)hydroxid bei leicht sauren bis neutralen pH-Werten eingeschränkt. Dies war abhängig von dem verwendeten Metall-Ligand-Verhältnis.

Die erste Auswertung der Titrations in den drei Metall-Ligand-Verhältnissen zwischen $\text{pH} \geq 1,9$ und $\text{pH} \leq 6,9$ lieferte die Konstante des zu Beginn der Titration (bei niedrigen pH-Werten) gebildeten Komplexes MLH_{-1} nur mit großer Ungenauigkeit. Um diesen Wert genauer zu bestimmen, wurde eine diskontinuierliche spektrophotometrische Titration zwischen $\text{pH} \geq 1,0$ und $\text{pH} \leq 1,9$ durchgeführt. Dabei konnten die Stabilitätskonstanten $\log\beta(\text{MLH}_{-1})=1,8$ und $\log\beta(\text{MLH}_{-2})=-0,8$ mit *SPECFIT* bestimmt werden. Das durch diese Auswertung von *SPECFIT* errechnete Individualspektrum des MLH_{-1} -Komplexes wurde zur Auswertung der übrigen Titrations verwendet. Es wurden folgende Mittelwerte für die Bruttostabilitätskonstanten erhalten: $\log\beta(\text{MLH}_{-1})=1,76$, $\log\beta(\text{MLH}_{-2})=-0,9$ und $\log\beta(\text{ML}_2\text{H}_{-3})=-2,70$. Konstanten mit mehr als zwei Liganden pro Metallzentrum konnten unter diesen Bedingungen nicht erhalten werden. Die erhaltenen Konstanten aus den einzelnen Auswertungen sind in Tabelle 4-5 dargestellt. Die gemeinsame Auswertung der Titrationskurven mit dem Programm *HYPERQUAD* lieferte hier nur Ergebnisse mit großen Ungenauigkeiten, was in der geringen Anzahl der Punkte bezüglich der Anzahl zu bestimmender Konstanten begründet ist.

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Tabelle 4-5: Titrationsbedingungen und Stabilitätskonstanten des Systems
Fe³⁺ / 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid

Titrationsbedingungen	1:1	1:1	1:2	1:3
c(2,3-Dihydroxybenzoesäureamid) [mM]	1,0	1,0	1,0	1,0
c(Eisen(III)chlorid) [mM]	0,9	0,9	0,45	0,3
pH-Bereich	1,0-1,9	1,9-3,9	2,2-6,4	2,3-6,9
Ionenstärke (KCl) [mol/L]	0,1	0,1	0,1	0,1
Anzahl der Punkte	11	39	40	37
Zugabe KOH (0,1M) pro Schritt [mL]	-**	0,035	0,020	0,015
Molenbruch (DMSO)	0,2	0,2	0,2	0,2
Wartezeit [Tagen]	5	14	14	14
Wellenlängenbereich	380-900	380-900	380-900	380-900
Auswertung SPECFIT				
logβ(MLH₁)⁺	1,76(9)*	logK(MLH₁)⁺	9,86	
logβ(MLH₂)⁺	-0,9(1)*	logK(MLH₂)⁺	20,2	
logβ(ML₂H₃)⁺	-2,70(4)*	logK(ML₂H₃)⁺	26,94	

* Mittelwert und Standardabweichung bestimmt über drei Messungen: $\sigma_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$

** hier wurde das Volumen der Proben wurde konstant gehalten

⁺ bezüglich des vollständig protonierten Liganden L ist $\beta(\text{ML}_m\text{H}_n) = [\text{ML}_m\text{H}_n] \cdot [\text{H}]^n \cdot [\text{L}]^{-m} \cdot [\text{M}]^{-1}$ und
 $K(\text{M}(\text{LH}_w)_x(\text{LH}_z)_y) = [\text{MLH}_n] \cdot [\text{LH}_w]^{-x} \cdot [\text{LH}_z]^{-y} \cdot [\text{M}]^{-1}$

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Aus den erhaltenen Mittelwerten der Konstanten wurde das Teilchenmodell der (1:2)-Titration mit dem Programm *HYSS* berechnet (siehe Abbildung 4-21). Bereits bei $\text{pH}=1$ liegen 30% des Fe^{3+} als MLH_{-1} -Komplex vor. Die Bildung des MLH_{-2} -Komplex beginnt bei pH -Werten $>1,0$. Bei $\text{pH}=2$ erreicht die einfach deprotonierte MLH_{-1} -Spezies ihr Maximum mit 64%. Die zweifach deprotonierte Spezies MLH_{-2} dominiert einen breiten pH -Bereich von $\text{pH}\geq 2,6$ bis $\text{pH}\leq 5,3$, mit einem Maximum von 90% bei $\text{pH}=3,9$. Die Bildung des ML_2H_{-3} -Komplexes, der einen einfach und einen zweifach deprotonierten Liganden beinhaltet, beginnt bei $\text{pH}\geq 2,5$. Dieser Komplex dominiert ab $\text{pH}\geq 5,4$ bis zum maximalen bei diesem Metall-Ligand-Verhältnis gemessenen pH -Wert von 6,4.

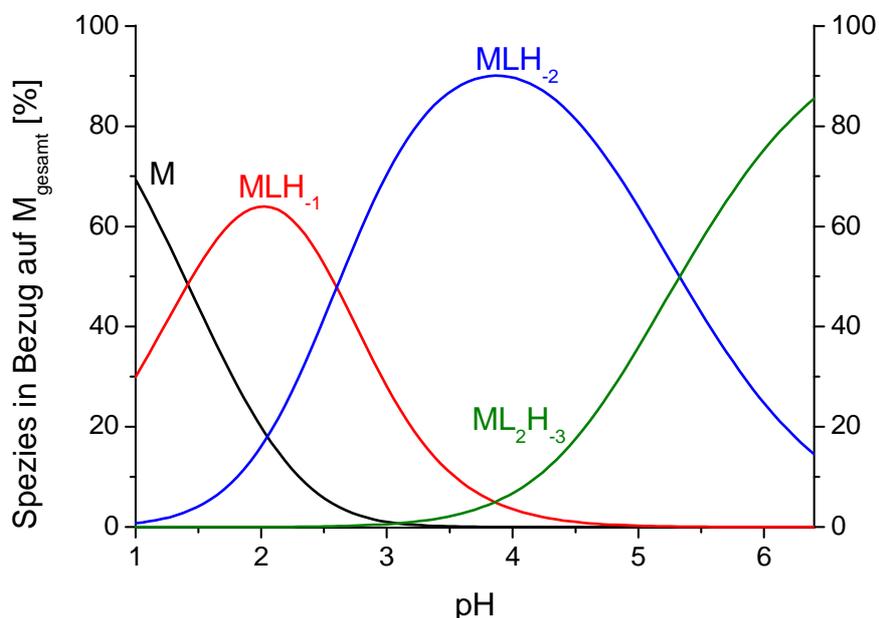


Abbildung 4-21: Teilchenmodell des Systems Fe^{3+} / 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid bei den Bedingungen: $c(\text{L})=1,0\text{mM}$ und $c(\text{M})=0,45\text{mM}$ und den in Tabelle 4-5 angegebenen Konstanten

Die UV/Vis-Spektren der Titration von $\text{pH}\geq 1,0$ bis $\text{pH}\leq 1,9$ im Metall-Ligand-Verhältnis 1:1 sind in Abbildung 4-22 dargestellt. Das Absorptionsmaximum bei $\text{pH}=1,0$, bei einer Wellenlänge 570nm, driftet zu 615nm bei $\text{pH}=1,9$. Dadurch wird deutlich, dass sich bereits in diesem pH -Bereich zwei farbige Teilchen bilden. Bei Betrachtung der UV/Vis-Spektren der (1:2)-Titration in Abbildung 4-23 fällt auf, dass das zuvor angesprochene Absorptionsmaximum zu größeren Wellenlängen bei gleichzeitiger pH -Wert-Erhöhung verschoben wird, bis es eine Wellenlänge von 580nm erreicht. Ab $\text{pH}=4,1$ verschiebt sich das Absorptionsmaximum zu kleineren Wellenlängen. Die fünf Spektren mit den höchsten pH -Werten schneiden sich alle in einem Punkt, der auch isobestischer Punkt genannt wird. Dies bedeutet, dass diese fünf Gesamt-Spektren nur zwei farbige Spezies enthalten.

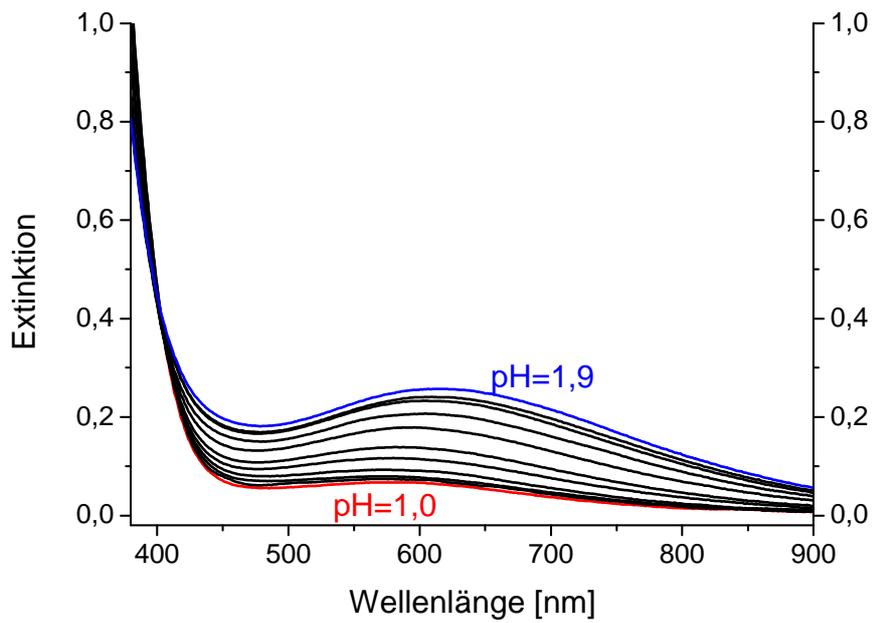


Abbildung 4-22: UV/Vis-Spektren von Fe³⁺ mit 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid im Verhältnis 1:1 zwischen pH \geq 1,0 und pH \leq 1,9 mit c(L)=1,0mM und c(M)=0,9mM

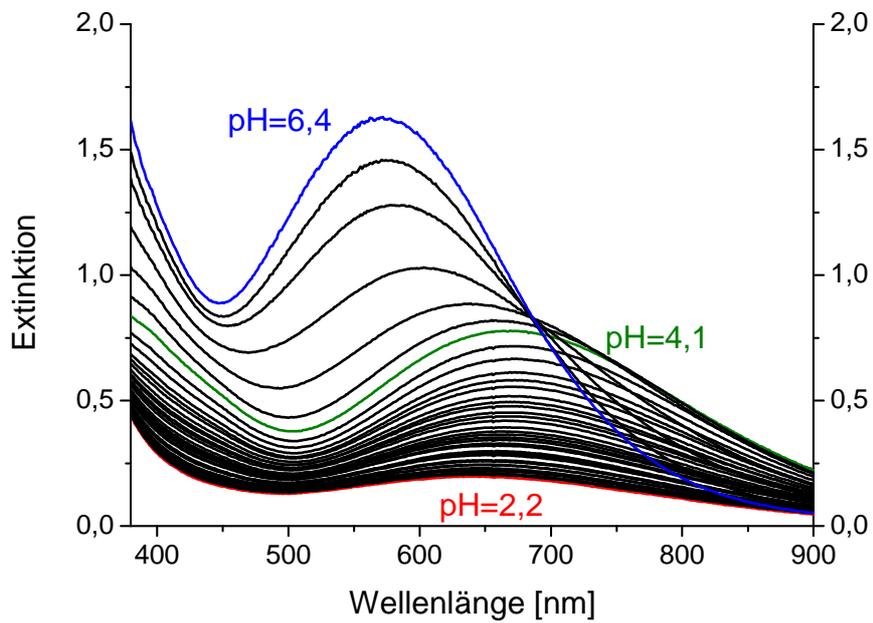


Abbildung 4-23: UV/Vis-Spektren von Fe³⁺ mit 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid im Verhältnis 1:2 zwischen pH \geq 2,2 und pH \leq 6,4 mit c(L)=1,0mM und c(M)=0,45mM

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Die berechneten Individualspektren der Komplexe MLH_{-1} , MLH_{-2} und ML_2H_{-3} sind in Abbildung 4-24 dargestellt. Das Absorptionsmaximum des MLH_{-1} -Komplexes liegt bei 558nm und hat mit $226M^{-1}cm^{-1}$ eine schwache molare Extinktion. Die Maxima des MLH_{-2} -Komplexes und des ML_2H_{-3} -Komplexes liegen bei 680nm und 570nm und haben mit $1926M^{-1}cm^{-1}$ und $4320M^{-1}cm^{-1}$ eine starke molare Extinktion.

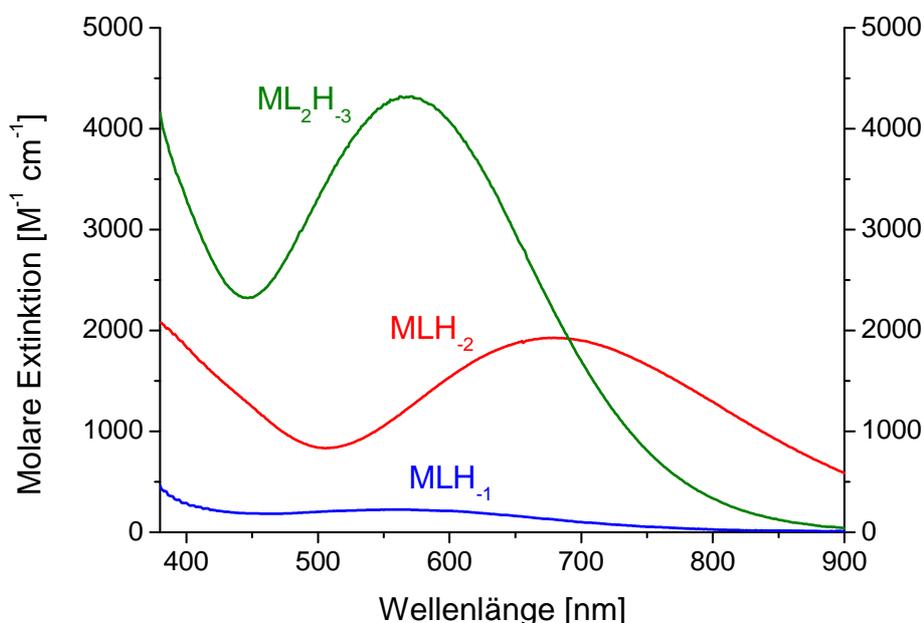


Abbildung 4-24: Individualspektren der Fe^{3+} -Komplexe von 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid

Da die Hydroxyfunktion in *ortho*-Position, bezüglich der Amidfunktion, saurer ist als die Funktion in *meta*-Position (siehe Kapitel 3.4.3), wird Fe^{3+} im MLH_{-1} -Komplex in Salicylposition gebunden. Durch die Deprotonierung der zweiten Hydroxyfunktion ist es möglich, dass Fe^{3+} in der günstigeren Catecholposition koordiniert. Dies führt zu einer deutlichen Veränderung des UV/Vis-Spektrum des Komplexes, sowohl in der Intensität wie auch in der Position des Extinktionsmaximums. Der Komplex ML_2H_{-3} entsteht, indem ein weiterer Ligand an einen MLH_{-2} -Komplex koordiniert. Dieser neu hinzugekommene Ligand ist einfach deprotoniert und koordiniert mit der Salicylposition an Fe^{3+} . Diese deutliche Veränderung des Komplexes macht sich, wie bereits oben beschrieben, stark im Individualspektrum des Komplexes bemerkbar.

4.4 Vergleich der untersuchten Eisen(III)-Komplexe und Diskussion möglicher Koordinationen

Alle Liganden bildeten unter den verwendeten Bedingungen farbige Komplexe mit Fe^{3+} . Anhand der diskontinuierlichen spektrophotometrischen Titrations war es möglich, für alle Liganden Bruttostabilitätskonstanten zu bestimmen, sowie Informationen über die Koordination des jeweiligen Liganden am Metallzentrum zu erhalten. Aufgrund der gewählten Definition L für den jeweils ungeladenen Liganden können die Komplexe und die entsprechenden Bruttostabilitätskonstanten (Tabelle 4-6) direkt miteinander verglichen werden.

Tabelle 4-6: erhaltene Bruttostabilitätskonstanten der untersuchten Fe^{3+} -Komplexe

	Myxochelin A	Methyl-	Didesoxy-	2-Hydroxy-	2,3-Dihydroxy-*
		Myxochelin A		benzoesäureamid	
$\log\beta(\text{MLH}_{.1})^+$	1,95(4)	2,1(4)	0,5(1)	0,6(2)	1,76(9)
$\log\beta(\text{MLH}_{.2})^+$	-0,4(2)	-0,3(4)	-2,8(2)	-	-0,2(1)
$\log\beta(\text{MLH}_{.3})^+$	-3,4(3)	-3,9(1)	-	-	-
$\log\beta(\text{MLH}_{.4})^+$	-11,2(4)	-	-	-	-
pH-Bereich	1,1-8,1	1,0-4,1	1,9-3,8	1,9-3,6	1,0-6,9

+ bezüglich des vollständig protonierten Liganden L ist $\beta(\text{MLH}_{.n})=[\text{MLH}_{.n}]\cdot[\text{H}]^n\cdot[\text{L}]^{-1}\cdot[\text{M}]^{-1}$

* für diesen Liganden konnte zusätzlich der $\text{ML}_2\text{H}_{.3}$ -Komplex bestimmt werden mit $\log\beta(\text{ML}_2\text{H}_{.3})=-2,70$

Myxochelin A bildet bei den untersuchten Bedingungen vier Komplexe im Metall-Ligand-Verhältnis 1:1 mit Fe^{3+} . Diese Komplexe unterscheiden sich jeweils um ein Proton, beginnend beim einfach deprotonierten Liganden bezüglich der phenolischen Hydroxyfunktionen vollständig deprotonierten Liganden. Die beiden von ihm abgeleiteten Derivate, Didesoxy- und Methyl-Myxochelin A, bilden entsprechende Komplexe. Aufgrund der geringeren Anzahl an phenolischen Hydroxyfunktionen bildet Methyl-Myxochelin A drei und Didesoxy-Myxochelin A zwei Komplexe.

Die Liganden 2-Hydroxy- und 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid bilden ebenfalls im Metall-Ligand-Verhältnis 1:1 Fe^{3+} -Komplexe. Die Anzahl dieser Komplexe entspricht auch der Anzahl der Hydroxyfunktionen. Das 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid bildet außerdem einen $\text{ML}_2\text{H}_{.3}$ -Komplex, in dem zwei Liganden an ein Fe^{3+} -Zentrum koordinieren. Die Bruttostabilitätskonstanten des $\text{MLH}_{.1}$ -Komplexes von Myxochelin A, Methyl-Myxochelin A und 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid liegen in

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

einer Größenordnung. Sie weisen, aufgrund der Messungenauigkeit, keine signifikanten Unterschiede auf. Die Konstanten der MLH_{-2} -Komplexe dieser Liganden liegen ebenfalls in einer Größenordnung und unterscheiden sich noch weniger von einander; sie können unter Berücksichtigung der erhaltenen Standardabweichung als etwa gleich groß angesehen werden. Die Konstanten der MLH_{-1} -Komplexe der Liganden Didesoxy-Myxochelin A und 2-Hydroxybenzoesäureamid liegen ebenfalls in einer Größenordnung. Den MLH_{-3} -Komplex bilden nur Myxochelin A und sein Methyl-Derivat mit Fe^{3+} . Die Konstanten liegen in einer Größenordnung, die Bruttostabilitätskonstante des Komplexes von Myxochelin A ist etwas größer als die des Methyl-Derivates. Den MLH_{-4} -Komplex kann nur der Ligand Myxochelin A mit Fe^{3+} bilden.

Die untersuchten pH-Bereiche waren von der Niederschlagsbildung des Eisen(III)hydroxids abhängig. Es fällt auf, dass Myxochelin A bis zu einem deutlich höheren pH-Wert untersucht werden konnte als die anderen Liganden. Die Struktur dieses Liganden ist also bei höheren pH-Werten von Vorteil.

Zur Klärung der Koordination werden die hier erhaltenen Individualspektren miteinander verglichen: In Abbildung 4-25 sind die Individualspektren des Didesoxy-Myxochelin A und des 2-Hydroxybenzoesäureamids einander gegenübergestellt.

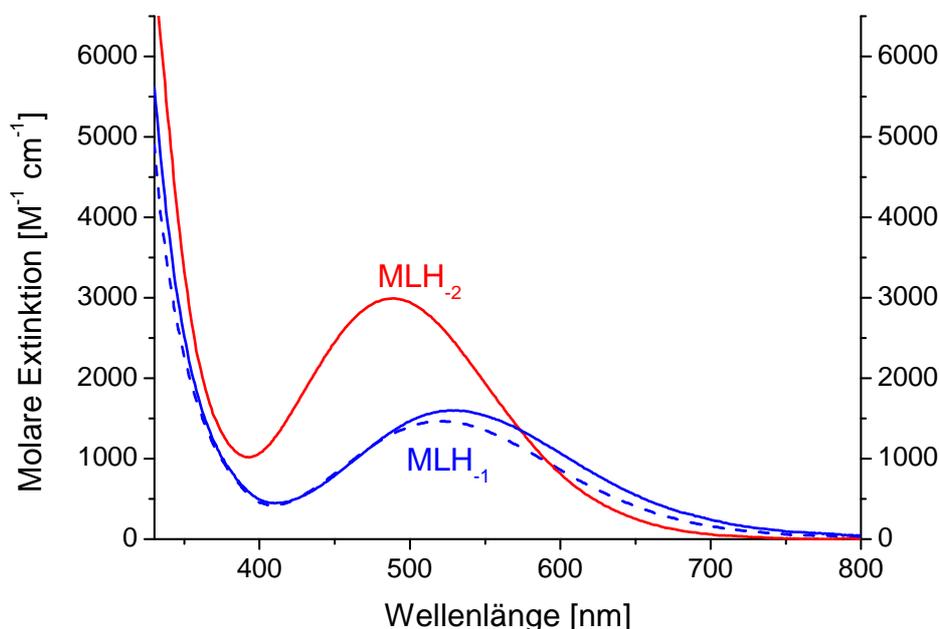


Abbildung 4-25: Individualspektren der Fe^{3+} -Komplexe von 2-Hydroxybenzoesäureamid (gestrichelte Linie) und Didesoxy-Myxochelin A (durchgezogene Linie)

Die Spektren der MLH_{-1} -Komplexe weisen eine große Übereinstimmung untereinander auf. Dies bestätigt die Annahme, dass Didesoxy-Myxochelin A im MLH_{-1} -Komplex in Salicylposition an Fe^{3+} koordiniert. Das Extinktionsmaximum des

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

MLH₂-Komplexes ist gegenüber dem einfach deprotonierten Komplex zu kürzeren Wellenlängen hin verschoben und besitzt bei 488nm mit 2991M⁻¹cm⁻¹ eine stärkere Extinktion. Wie bereits in Kapitel 4.3.2 diskutiert, wird Fe³⁺ im MLH₂-Komplex in zwei Salicylpositionen gebunden.

Die Individualspektren von Myxochelin A und 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid sind in Abbildung 4-26 dargestellt:

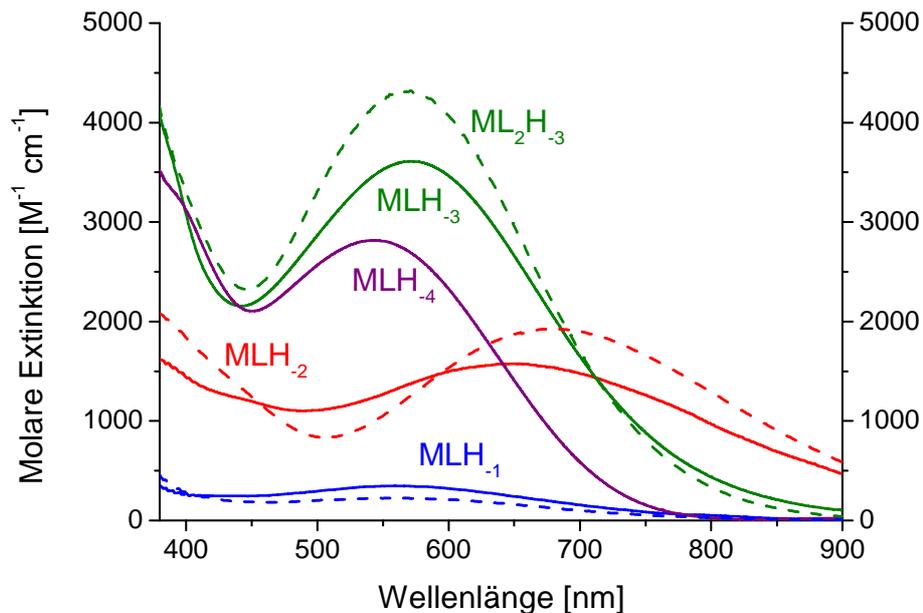


Abbildung 4-26: Individualspektren der Fe³⁺-Komplexe von 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid (gestrichelte Linie) und Myxochelin A (durchgezogene Linie)

Die MLH₁-Komplexe weisen beide eine schwache Extinktion im gleichen Wellenlängenbereich auf. Hier ist davon auszugehen, dass die Liganden Fe³⁺ zunächst in Salicylposition binden, da das Proton in dieser Position saurer ist und damit leichter abstrahiert wird. Myxochelin A besitzt zwei solche Positionen. Da diese annähernd gleichmäßig deprotoniert werden, wie in der ¹H-NMR-Titration gezeigt werden konnte, sollte die Bindung von Fe³⁺ auch zu gleichen Teilen an beiden Positionen stattfinden. [Anmerkung: Die Spektren der MLH₁-Komplexe dieser Liganden unterscheiden sich deutlich von denen des Didesoxy-Myxochelin A und des 2-Hydroxybenzoesäureamids. Die Ursache hierfür ist die zusätzliche Hydroxyfunktion des/der Aromaten.] Die Spektren der MLH₂-Komplexe besitzen eine ähnliche molare Extinktion, unterscheiden sich jedoch um 25nm in der Lage des Maximums. Im Fall von 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid wird Fe³⁺ im MLH₂ in der Catecholposition gebunden, da dies zur Bildung eines Fünf-Rings führt, der energetisch gegenüber dem Sechs-Ring bevorzugt wird. Im Fall von Myxochelin A besitzt der Ligand mehr Möglichkeiten der Koordination: Fe³⁺ kann in

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Catecholposition gebunden werden, sofern die zweite Deprotonierung am gleichen Aromaten stattfindet. Es wäre ebenfalls möglich, dass die zweite Protonierung am anderen Aromaten stattfindet und Fe^{3+} vierzählig durch zwei Sechs-Ringe gebunden wird.

[Anmerkung: Während der NMR-Titration konnte beobachtet werden, dass die ersten beiden Deprotonierungen an unterschiedlichen Aromaten stattfinden. Da es sich hier jedoch um die Deprotonierung des Fe^{3+} -Komplexes handelt, die im sauren pH-Bereich stattfindet, muss dies nicht mit der Deprotonierung des reinen Liganden übereinstimmen.] Da die Konstanten dieser beiden Komplexe jedoch annähernd gleich sind und die erhaltenen Spektren nicht völlig unterschiedlich, ist davon auszugehen, dass Fe^{3+} von Myxochelin A hauptsächlich zweizählig in Catecholposition an einen der beiden Aromaten gebunden wird und zu einem geringen Anteil der andere Komplex gebildet wird, was die Verschiebung des Extinktionsmaximums zu niedrigeren Wellenlängen erklären würde. Der MLH_3 -Komplex von Myxochelin A entspricht bezüglich der Anzahl an Metall und deprotonierten Hydroxyfunktionen dem ML_2H_3 -Komplex von 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid. Die Spektren dieser Komplexe besitzen beide ein Extinktionsmaximum bei etwa 570nm. Die Intensität dieser Maxima unterscheidet sich um $700\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Da die Form dieser Spektren jedoch sehr ähnlich ist, ist davon auszugehen, dass beide Liganden in gleicher Weise an Fe^{3+} binden: Fe^{3+} wird vierzählig gebunden, in einer Catechol- und in einer Salicylposition. Myxochelin A besitzt auch hier die Möglichkeit, zwei Komplexe zu bilden, da die Hydroxyfunktionen der beiden Aromaten sich nicht signifikant bezüglich ihrer Acidität unterscheiden. In Analogie zum MLH_1 - und MLH_2 -Komplex ist anzunehmen, dass Fe^{3+} im MLH_4 -Komplex zweimal in Catecholposition gebunden ist.

Die Individualspektren von Myxochelin A und Methyl-Myxochelin A sind in Abbildung 4-27 dargestellt:

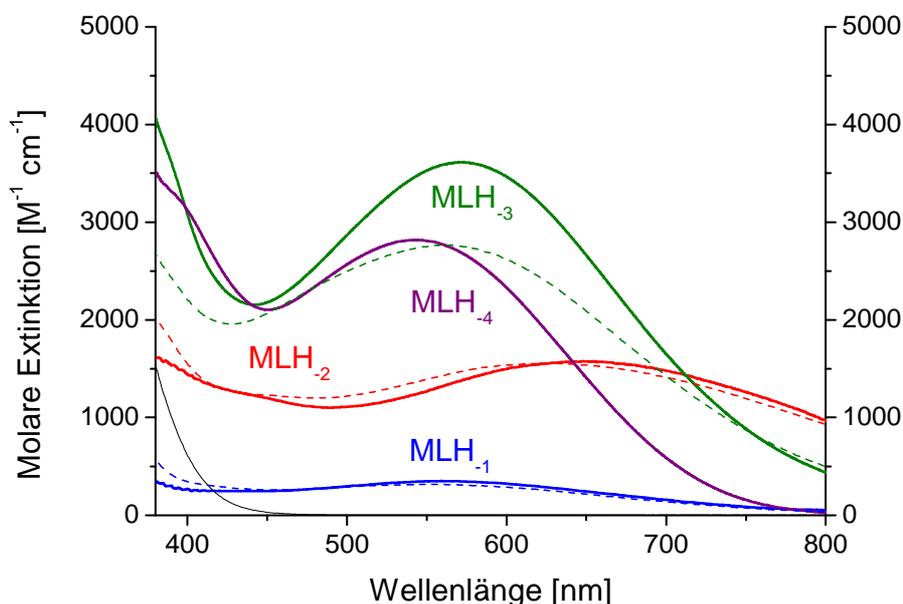


Abbildung 4-27: Individualspektren der Fe^{3+} -Komplexe von Myxochelin A (durchgezogene Linie) und Methyl-Myxochelin A (gestrichelte Linie)

Die Individualspektren des MLH_1 -Komplexes entsprechen einander. Beide Liganden besitzen die Möglichkeit, Fe^{3+} in zwei möglichen Salicylpositionen zu binden. Aus der $^1\text{H-NMR}$ -Titration von Methyl-Myxochelin A (siehe 3.4.7) wurde deutlich, dass die beiden Aromaten nicht gleichzeitig deprotoniert werden. Daher ist davon auszugehen, dass Fe^{3+} in der Salicylposition des Aromaten mit zwei Hydroxyfunktionen gebunden wird. Die Spektren der MLH_2 -Komplexe von Methyl-Myxochelin A und Myxochelin A weisen eine starke Übereinstimmung auf. Auch aufgrund der Stabilitätskonstanten dieser Komplexe ist eine gleiche Koordination anzunehmen. Die Spektren der MLH_3 -Komplexe der beiden Liganden besitzen ein ähnliches Extinktionsmaximum, aber eine deutlich unterschiedliche molare Extinktion ($\Delta=850\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Es ist sehr wahrscheinlich, dass Methyl-Myxochelin A wie Myxochelin A Fe^{3+} in Salicyl- und in Catecholposition bindet. Die unterschiedlich starke Extinktion der MLH_3 -Komplexe dieser Liganden kommt wahrscheinlich durch das Vorhandensein einer Methoxygruppe, statt einer Hydroxygruppe, zustande. Durch diese Methoxygruppe besitzt dieser Ligand im Gegensatz zu Myxochelin A nur eine Möglichkeit dieser Koordination im MLH_3 -Komplex. Die etwas größere Stabilitätskonstante von Myxochelin A resultiert möglicherweise aus dem strukturellen Unterschied der beiden Verbindungen.

In den Strukturen der Eisen(III)komplexe von Myxochelin A und den Methyl- und Didesoxy-Derivaten ist Fe^{3+} , wie bereits in Kapitel 4.2 diskutiert, vierzählig koordiniert. Der MLH_4 -Komplex von Myxochelin A entspricht bezüglich der Koordination dem Ni^{2+} -Komplex des Liganden LICAM (siehe Abbildung 4-3), wobei mittels der hier durchgeführten Untersuchungen keine Aussage darüber gemacht werden kann, ob eine quadratisch-planare Koordination vorliegt. Mehrkernige Komplexe, wie sie die in Kapitel 4.2 angesprochenen Liganden 1,5-Bis(2-hydroxybenzamido)-3-pentanol und 1,5-Bis(2-hydroxybenzamido)-pentan formen, konnten durch die diskontinuierlichen spektrophotometrischen Titrations nicht nachgewiesen werden. Dies liegt an den, im Vergleich zur Literatur, anderen experimentellen Bedingungen. Dort wurden mehrkernige Komplexe zum Beispiel durch Verwendung von Methanol als Lösemittel und Triethylamin als Base erhalten. Die zuvor besprochenen einkernigen Komplexe wurden während Titrations in wässrigem DMSO, bei nur in Ausnahmefällen basischem pH-Wert, erhalten.

4.5 Methode der kontinuierlichen Variation nach P. Job

Mit der Methode der kontinuierlichen Variation kann das Verhältnis von Metall zu Ligand in einem Metallkomplex bestimmt werden. Hierzu werden UV/Vis-Spektren von Metall-Ligandlösung bei verschiedenen Molenbrüchen und einem konstanten pH-Wert aufgenommen. Die Molenbrüche werden gegen die Intensitäten bei mehreren Wellenlängen aufgetragen. Diese Auftragung wird nach P. Job auch als „Job-Plot“ bezeichnet. Wichtig sind hier besonders die Konstanz des pH-Wertes innerhalb einer solchen Auftragung und die konstante Summe aus den Molmengen von Ligand und Metall. Außerdem sollten die untersuchten Lösungen im Idealfall nur einen Metallkomplex enthalten.⁷⁶

Letztere Bedingung gestaltet sich beim System Fe^{3+} / Myxochelin A schwierig, da sich in der Lösung meist mehr als eine farbige Spezies befindet. Außerdem kann bei der Verwendung von Fe^{3+} -haltigen Lösungen die Bildung von Eisen(III)hydroxid-Niederschlägen nur bei vollständiger Komplexbildung des Metalls ausgeschlossen werden. Diese Messungen können jedoch ein Hinweis darauf sein, ob die Bildung von mehrkernigen Komplexen oder Komplexen mit einem Metall und mehreren Liganden im Fall von Myxochelin A möglich ist.

Es wurden Job-Plots bei drei pH-Werten erstellt. Alle Messungen wurden in wässrigem DMSO mit einem Molenbruch $x_{\text{DMSO}}=0,2$ durchgeführt. Die

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Konzentrationen der Lösungen wurden so gewählt, dass die Extinktion unter 2 lag. Die Konzentrationen der verwendeten Lösungen, inklusive der im Fall von Job-Plot Nr.2 und 3 verwendeten Puffer, sind in Tabelle 4-7 aufgeführt.

Tabelle 4-7: Konzentrationen der verwendeten Lösungen

Job-Plot-Nummer	1	2	3
Myxochelin A + Fe ³⁺ (mmol/L)	2,0	1,0	0,5
Puffer / Konzentration (mol/L)	-	MES / 0,5	CHES / 0,5
Ionenstärke (mol/L)	0,1	0,4	0,25
pH-Wert	2,7(1) ⁺	7,55(4) ⁺	11,24(5) ⁺

⁺ Mittelwert über 9 Messungen mit der Standardabweichung: $s_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Das bei $\text{pH}=2,7(\pm 0,1)$ ermittelte „Job-Plot“ ist in Abbildung 4-28 dargestellt. Niederschläge von Eisen(III)hydroxid konnten nur bei den Molenbrüchen 0,1 bis 0,3 beobachtet werden. Dies verfälscht die erhaltenen Spektren etwas, da die Konzentrationen von Fe^{3+} durch die Niederschläge geringer sind als berechnet. Auch kann kolloidales Eisen das UV/Vis-Spektrum verfälschen. Das Extinktionsmaximum der UV/Vis-Spektren lag bei $595(\pm 5)\text{nm}$. Dies ist im Einklang mit den UV/Vis-Spektren der diskontinuierlichen Titration bei ähnlichen pH-Werten (siehe Kapitel 4.3.1, Abbildung 4-9). Es wurden die Intensitäten der drei Wellenlängen 500nm, 590nm und 680nm zur Auftragung gewählt. Zusätzlich wurde in der Auftragung durch die gestrichelte Linie der ideale Verlauf eines 1:1-Komplexes für 500nm dargestellt, wenn sich keine Metallkomplexe mit einer anderen Zusammensetzung bilden.

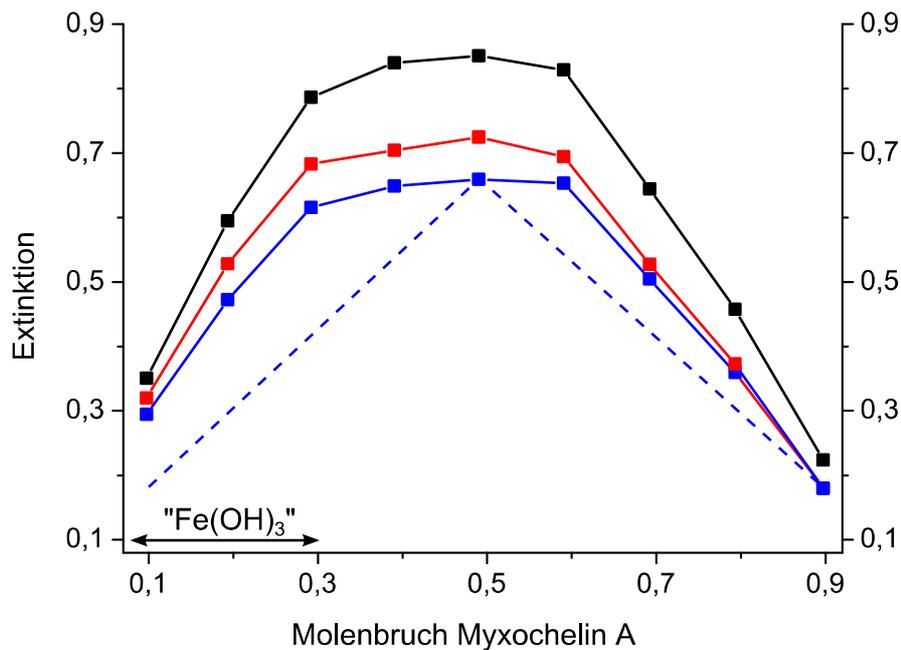


Abbildung 4-28: „Job-Plot“ von Myxochelin A : Eisen (III) bei $\text{pH}=2,7$ und den Wellenlängen 590nm (schwarz), 680nm (rot) und 500nm (blau). Die gestrichelte Linie stellt den idealen Verlauf eines (1:1)-Komplexes bei 500nm dar

Im Vergleich zu diesem Verlauf fällt auf, dass das Maximum zwar auch bei 0,5 liegt, aber sehr breit ist. Dies kann ein Hinweis darauf sein, dass sich mehrere Maxima überlagern. In Kapitel 4.2 wurde bereits für Myxochelin A ein M_2LH_x -Komplex ($x=2-4$) und ein $\text{M}_2\text{L}_3\text{H}_x$ -Komplex ($x=6-12$) diskutiert. Dies entspräche jeweils einem Maximum bei einem Molenbruch von Myxochelin A von $x_{\text{MyxA}}=0,33$ respektive $x_{\text{MyxA}}=0,60$ und stellt keinen Widerspruch zum erhaltenen Maximum dar. Es ist also durchaus denkbar, dass Myxochelin A bei $\text{pH } 2,7$ Komplexe der Zusammensetzung

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

1:2, 1:1 und 2:3 entsprechend dem Metall-Ligand-Verhältnis formt. Betrachtet man das Teilchenmodell der 1:1-Titrations (siehe Kapitel 4.3.1 Abbildung 4-8) des Liganden Myxochelin A, so wird deutlich, dass bei $\text{pH}=2,7$ der MLH_2 -Komplex mit 50% (in Bezug auf das eingesetzte Metall) dominiert, aber auch MLH_1 und MLH_3 -Komplexe mit jeweils etwa 23% vorliegen. Dies bedeutet, der Ligand liegt bei diesem pH -Wert im Schnitt nur zweifach deprotoniert vor und kann so zweizählig in Catecholposition koordinieren, beziehungsweise vierzählig in zwei Salicylpositionen. Diese Möglichkeiten können eine Erklärung für das Auftreten und die Struktur von Komplexen mit einem Metall-Ligand-Verhältnis von 1:2, 1:1 und 2:3 sein.

In Abbildung 4-29 ist das „Job-Plot“ für Myxochelin A : Eisen(III) bei $\text{pH}=7,55 (\pm 0,04)$ dargestellt. Hier wurde der Puffer MES (2-(*N*-Morpholino)ethansulfonsäure) eingesetzt um den pH -Wert konstant zu halten. Das Extinktionsmaximum der UV/Vis-Spektren lag bei $570(\pm 5)\text{nm}$ für Molenbrüche von Myxochelin A von 0,1 bis einschließlich 0,5. Die Extinktionsmaxima höherer Molenbrüche wurden sukzessive zu niedrigeren Wellenlängen verschoben bis zu 514nm bei $x_{\text{MyxA}}=0,9$. Es wurden die Intensitäten der drei Wellenlängen 530nm , 600nm und 610nm zur Auftragung verwendet. Feine Niederschläge von Eisen(III)hydroxid konnten nur bei Molenbrüchen $x_{\text{MyxA}} < 0,5$ festgestellt werden, wobei desto mehr Niederschlag ausfiel, je niedriger der Molenbruch war.

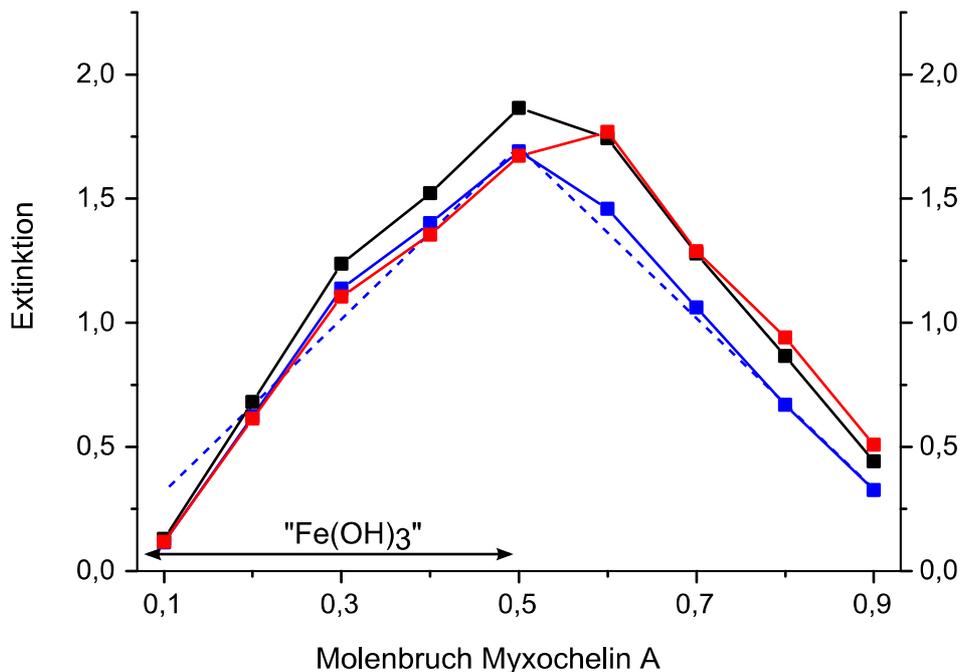


Abbildung 4-29: „Job-Plot“ von Myxochelin A : Eisen (III) bei $\text{pH}=7,55$ und den Wellenlängen 570nm (schwarz), 530nm (rot) und 610nm (blau); die gestrichelte Linie stellt den idealen Verlauf eines (1:1)-Komplexes bei 610nm dar

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Hier wurde auch der ideale Verlauf eines 1:1-Komplexes bei 610nm mit gestrichelten Linien dargestellt. Die erhaltene Auftragung weicht für die Wellenlängen 570nm und 610nm nur wenig von diesem idealen Verlauf ab. Bei $x_{MyxA} < 0,5$ können diese auf die Anwesenheit von kolloidalem Eisen, respektive auf den geringeren Eisengehalt in der Lösung aufgrund von Niederschlägen zurückgeführt werden. Ein Extinktionsmaximum bei 570nm steht auch in Übereinstimmung mit dem Individualspektrum eines MLH_3 -Komplex (siehe Kapitel 4.3.1). Oben wurde bereits beschrieben, dass die UV/Vis-Spektren für Molenbrüche $x_{MyxA} > 0,5$ mit zunehmendem Molenbruch, ein deutlich zu geringeren Wellenlängen verschobenes Extinktionsmaximum besitzen. Daher weicht die Auftragung für 530nm vom idealen Verlauf eines 1:1 Komplexes ab und besitzt ein Maximum bei $x_{MyxA} = 0,6$. Zur Verdeutlichung sind die UV/Vis-Spektren der verschiedenen Molenbrüche bei diesem pH-Wert noch einmal in Abbildung 4-30 dargestellt.

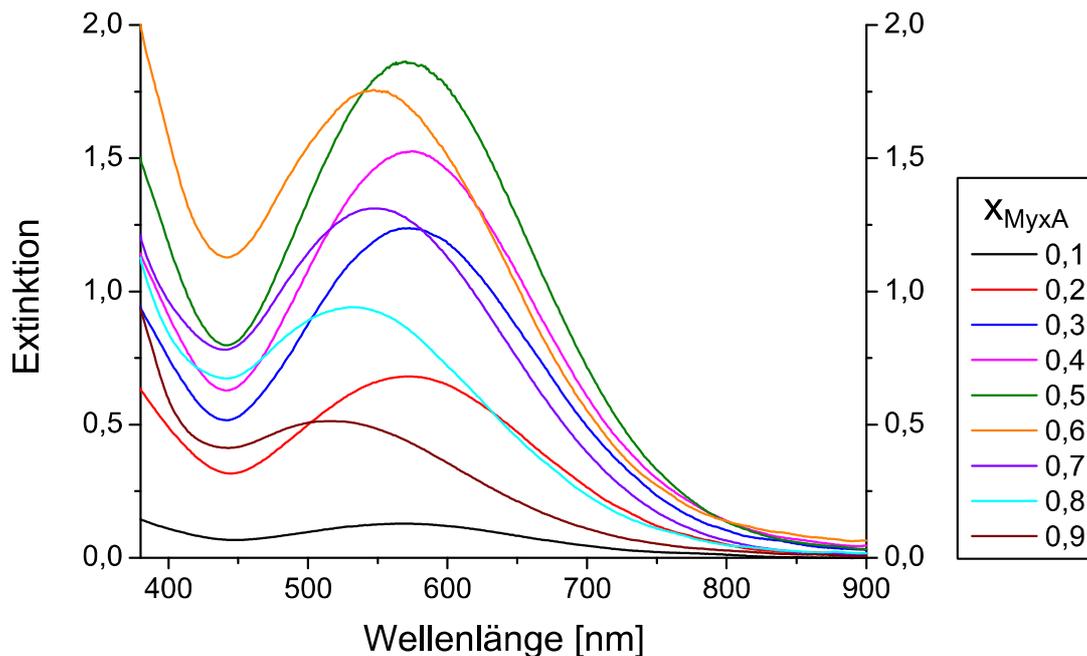


Abbildung 4-30: UV/Vis-Spektren der Molenbrüche $x_{MyxA}=0,1-0,9$ bei pH 7,55(4)

Aufgrund dieser Beobachtung muss die Annahme gemacht werden, dass bei pH=7,55 nicht nur Komplexe im Verhältnis 1:1 gebildet werden. Der Molenbruch $x_{MyxA}=0,6$ entspräche einem Metall-Ligand-Verhältnis von 2:3. Es ist also wahrscheinlich, dass bei höheren Molenbrüchen Spezies dieser Zusammensetzung gebildet werden, jedoch erkennt man ebenfalls, dass der 1:1-Komplexes auch bei Molenbrüchen $x_{MyxA} > 0,6$ immer noch einer der Hauptbestandteile ist. Im Vergleich dazu scheinen Komplexe mit mehr Metall- als Ligand-Anteil bei pH=7,55 keine große Rolle zu spielen, da die Abweichungen vom Job-Plot eines Systems, welches nur

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

1:1-Komplexe bildet, kaum abweicht. Eine Erklärung hierfür wäre, dass die MLH₃-Komplexe, für deren Struktur angenommen wird, dass der Ligand vierzählig an ein Metallzentrum koordiniert (siehe Kapitel 4.2 und 4.3.1), deutlich stabiler sind als Komplexe, in denen ein Ligand jeweils zweizählig an zwei Metallzentren bindet. In Abbildung 4-31 ist ein Job-Plot für pH=11,24 dargestellt. Für diesen pH-Wert wurden keine Komplexbildungskonstanten bestimmt, da sich bei diesem pH-Wert Niederschlag von Eisen(III)hydroxid bildete und sich die bei der Herstellung noch dunkelroten Lösungen orange bis gelb verfärbten. Als Ursache dafür wurde die Zerstörung des Liganden durch Oxidation angenommen (siehe Kapitel 4.3.1). Die Lösungen dieses Job-Plots wurden daher unter Argon-Atmosphäre angesetzt, im Dunkeln gelagert und nach einer zweiwöchigen Wartezeit vermessen. Sie behielten so ihre rote Farbe, und es konnte nur im Bereich $x_{\text{MyxA}} < 0,5$ die Bildung von Niederschlag beobachtet werden.

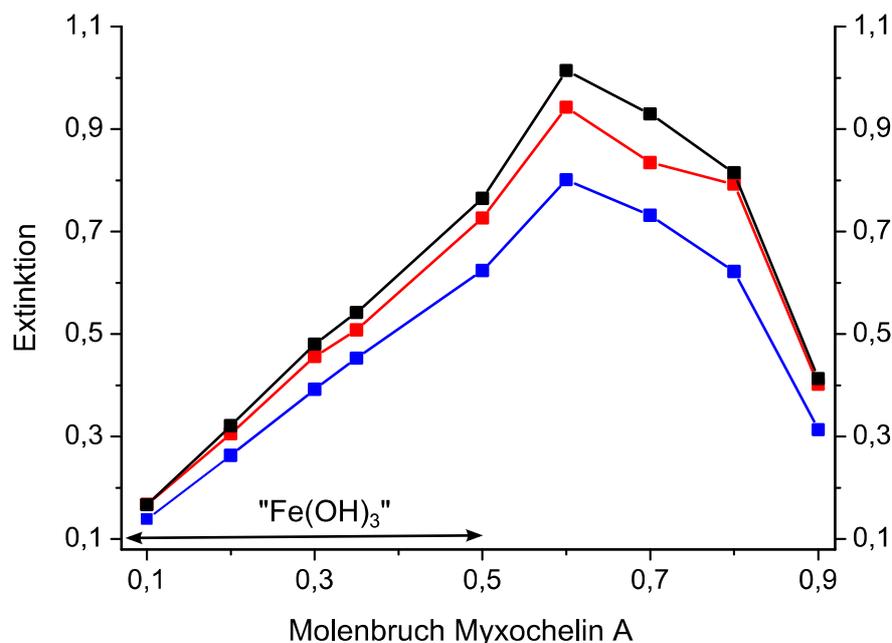


Abbildung 4-31: „Job-Plot“ von Myxochelin A : Eisen (III) bei pH=11,24 und den Wellenlängen 500nm (schwarz), 460nm (rot) und 540nm (blau)

Da es zu diesem pH-Bereich kein Teilchenmodell gibt, kann dieses Job-Plot nur unter Vorbehalt interpretiert werden. Das Extinktionsmaximum aller Spektren lag bei $488(\pm 5)\text{nm}$ und zeigte so einheitlich, dass die Extinktion am stärksten bei einem Molenbruch von 0,6 war. Dies würde einem $\text{M}_2\text{L}_3\text{H}_{-12}$ -Komplex (bei diesem pH-Wert ist am wahrscheinlichsten, dass der Ligand vierfach deprotoniert vorliegt) entsprechen. Die Lage der Extinktionsmaxima unterscheidet sich deutlich von den Maxima, die bei den 1:1-Titrations des Systems Fe^{3+} / Myxochelin A erhalten

wurden. Vergleicht man die Extinktionsmaxima mit Spektren von Eisen(III)komplexen aus der Literatur wie z.B. der Verbindungen Catechol, 2,3-Dihydroxy-5-sulfo-N,N-dimethylbenzamid (DMBS) oder sulfonierten Tricatechol-Liganden in reinem Wasser, so erkennt man eine große Ähnlichkeit in der Lage des Extinktionsmaximums. Das Extinktionsmaximum des dreifach mit DMBS komplexierten Fe^{3+} liegt genauso wie das Extinktionsmaximum des dreifach mit Catechol komplexierten Fe^{3+} bei 480nm; die komplett deprotonierten (1:1)-Komplexe sulfonierter-Tricatechol-Liganden mit Fe^{3+} liegen bei 470-480nm.^{77,78} Zu bedenken ist hier, dass jedes Lösemittel auch zur Extinktion beiträgt, und damit Messungen in verschiedenen Lösemitteln nur mit Vorsicht miteinander zu vergleichen sind.

In einem $\text{M}_2\text{L}_3\text{H}_{-12}$ -Komplex wäre Fe^{3+} von drei Catechol-Einheiten umgeben. Zusammengefasst ist dies ein deutliches Indiz dafür, dass Myxochelin A mehrkernige Komplexe wie $\text{M}_2\text{L}_3\text{H}_{-12}$ bildet, die jedoch unter aeroben Bedingungen und im basischen PH-Bereich nicht stabil sind.

4.6 Lösungen ausgewählter Liganden über Ferrihydrit

Da Myxochelin A als Siderophor der Myxobakterien die Aufgabe hat, Fe^{3+} aus der Umgebung aufzunehmen, und dieses dort in der Regel in Form von schwerlöslichen Oxyhydroxiden vorkommt, wurde eine Versuchsreihe durchgeführt, in der Ferrihydrit ($\text{Fe}_5\text{O}_8\text{H}$) mit gepufferten Ligandlösungen überschichtet wurde. Ferrihydrit wurde gewählt, da es eines der löslichsten Eisenoxyhydrate ist, sowie aufgrund seiner feinkörnigen amorphen Struktur und der einfachen Herstellungsbedingungen. Das verwendete Ferrihydrit hatte eine Teilchengröße von 2-7nm.

Die in Tabelle 4-8 angegebenen Liganden wurden in einer Konzentration von 1mM in gemischt-wässrigen Lösungen ($x_{\text{DMSO}}=0,2$) eingesetzt. Als Puffer wurde Acetat (pH=5,3-5,5) respektive MES (pH=6,1-6,2) in der Konzentration 0,5M eingesetzt. Nach der Gleichgewichtseinstellung wurde durch AAS-Messungen der filtrierte Lösungen der Eisengehalt bestimmt. Die erhaltenen Werte der Acetat-Proben wurden um den entsprechenden Wert der Blindprobe korrigiert. Eine genaue Beschreibung der Versuche befindet sich in Kapitel 7.3.

Tabelle 4-8: gelöstes Fe^{3+} bezüglich eingesetzter Menge Ligand bei zwei pH-Werten

	Fe^{3+} / L [mg/mmol]	Fe^{3+} / L [mmol/mmol]	im Vergleich zu Myx. A [%]	pH
Myxochelin A	27,1(1) ⁺	0,49	100	5,3
	5,4(2) ⁺	0,10	100	6,1
Methyl-Myxochelin A	24,7(1) ⁺	0,44	91	5,3
	4,5(1) ⁺	0,08	83	6,1
Didesoxy-Myxochelin A	0,1(1) ⁺	0,002	0,4	5,4
	0**	0**	0	6,1
2,3-Dihydroxybenzoesäureamid	11,1(2) ⁺	0,20	41	5,5
	1,0(2) ⁺	0,01	19	6,2
2-Hydroxybenzoesäureamid	0*	0*	0	5,4
	0**	0**	0	6,2

* 2-Hydroxybenzoesäureamid löst weniger Fe^{3+} als der verwendete Acetat-Puffer bei pH≈5,3 (2mg/L)

** hier wurden weniger als 0,5mg Fe^{3+} pro mmol Ligand gelöst

⁺ dreifacher Wert der Standardabweichung der AAS-Messungen

Die Ergebnisse der Messungen zeigen, dass alle Liganden, bis auf 2-Hydroxybenzoesäureamid, in der Lage sind, Fe^{3+} aus dem schwerlöslichen

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Ferrihydrit zu lösen. Myxochelin A löst bei beiden untersuchten pH-Werten deutlich mehr Fe^{3+} als die anderen Liganden. Bei $\text{pH}=5,3$ komplexiert knapp die Hälfte der in der Lösung vorhandenen Myxochelin A-Moleküle ein Fe^{3+} Atom. Bei $\text{pH}=6,1$ sind es nur noch 10%. Dieser große Unterschied zwischen den pH-Werten zeigt sich bei allen untersuchten Liganden. Zum Beispiel bindet Methyl-Myxochelin A bei $\text{pH}=5,3$ 91% des Fe^{3+} was Myxochelin A herauslösen kann, bei $\text{pH}=6,1$ sind es dann nur noch 83%.

Das 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid löst bei $\text{pH}=5,5$ 11,1mg Fe^{3+} pro mmol Ligand. Das ist weniger als die Hälfte dessen was Myxochelin A, welches zwei Einheiten dieses Moleküls verbrückt, bei $\text{pH}=5,3$ löst. Dies zeigt, dass durch die Verbrückung der beiden aromatischen Einheiten eine bessere Komplexbildung gewährleistet ist als durch die einzelnen Einheiten. Bei $\text{pH}=6,2$ macht sich dieser Effekt noch deutlicher bemerkbar; mit 1mg Fe^{3+} pro mmol eingesetztem Ligand werden nur noch 19% dessen komplexiert, was Myxochelin A bei einem ähnlichen pH-Wert komplexiert.

Desweiteren ist bemerkenswert, dass die Liganden die nur Salicylpositionen zum Binden von Fe^{3+} besitzen, im Vergleich zu den Liganden mit Salicyl- und Catecholpositionen nur sehr wenig Fe^{3+} bei den untersuchten pH-Werten lösen. Dies lässt vermuten, dass Fe^{3+} in den Komplexen, die zur Auflösung des Ferrihydrits führen, in mindestens einer Catecholposition gebunden ist. Abschließend kann man sagen, dass Liganden mit 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid-Einheiten gut geeignet sind, dagegen Liganden mit 2-Hydroxybenzoesäureamid-Einheiten kaum geeignet sind, Eisen(III)oxyhydride aufzulösen.

4.7 CV-Messungen von Myxochelin A

Das Fe^{3+} / Myxochelin A-System wurde auf sein Redox-Verhalten hin mittels Cyclovoltammetrie untersucht. Es wurde eine Lösung aus Eisen(III)chlorid ($c(\text{Fe}^{3+})=5\text{mM}$), Myxochelin A ($c(\text{MyxA})=5\text{mM}$) und Kaliumchlorid als Leitelektrolyt ($c(\text{KCl})=0,5\text{M}$) hergestellt. Der pH-Wert wurde mit Kalilauge eingestellt. Als Lösemittel wurde, aufgrund der schlechten Löslichkeit des Liganden in reinem Wasser, wässriges DMSO mit dem Molenbruch $x_{\text{DMSO}}=0,2$ verwendet. Untersuchung von Eisenkomplexen anderer Liganden in wässrigem DMSO als Lösemittel ($x_{\text{DMSO}}=0,2$) wurden bereits von S.Steinhauser⁷⁹ durchgeführt und auch die Verwendung von nicht wässrigem DMSO wird in der Literatur beschrieben.⁸⁰

Bei pH=2,2 wurde das in Abbildung 4-32 dargestellte Cyclovoltammogramm mit Gold als Arbeitselektrode erhalten:

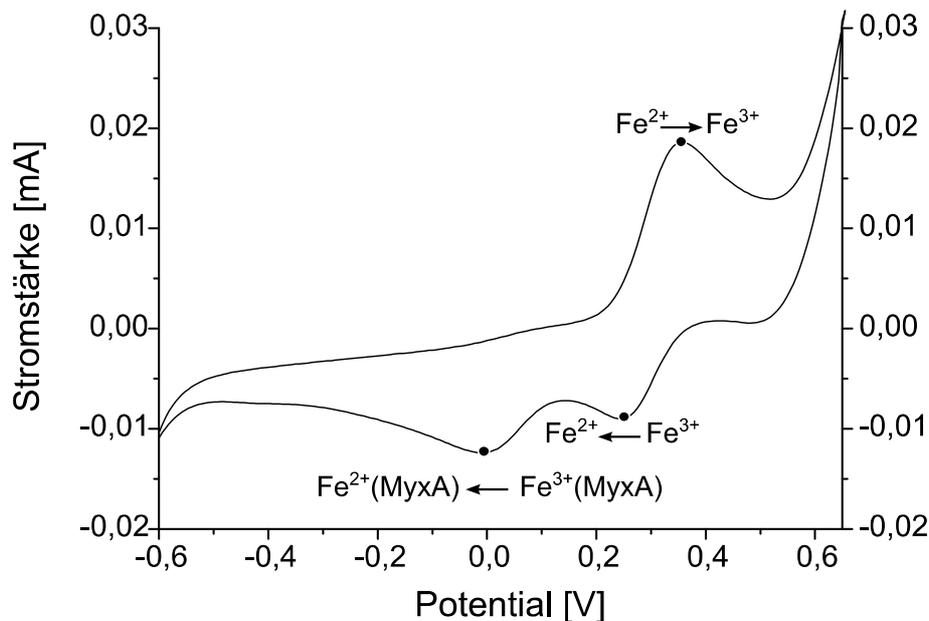


Abbildung 4-32: CV-Messung von Myxochelin A mit FeCl_3 mit postulierten Redoxprozessen (Bedingungen: $c(\text{MyxA})=5\text{mM}$; $c(\text{Fe}^{3+})=5\text{mM}$; $c(\text{KCl})=0,5\text{M}$ Scangeschwindigkeit= $0,3\text{V/s}$; rotierende Goldelektrode als Arbeitselektrode)

Man erkennt ein reversibles Redoxpaar und einen nahezu irreversiblen Redoxprozess, von dem ein Reduktionssignal zu erfassen war. Durch eine Vergleichsmessung des Metalls ohne den Liganden konnten die Redoxprozesse zugeordnet werden. Eine Messung des Liganden ohne Metall zeigte kein Redoxpotential. Es fällt auf, dass das Oxidationssignal des reinen Metalls größer ist als das des Reduktionssignals. Außerdem ist das Signal der Reduktion des Metallkomplexes deutlich zu erkennen, dass der Oxidation jedoch nur kaum. Daraus lässt sich folgende Schlussfolgerung ableiten: Nach der Oxidation von Fe^{2+} zu Fe^{3+}

bildet sich aus einem Teil des freien Fe^{3+} ein Komplex mit Myxochelin A, daher wird das Reduktionssignal des freien Metalls kleiner. Das darauf folgende Signal wird als Reduktionssignal eines Fe^{3+} -Myxochelin A-Komplexes interpretiert. Aus der Tatsache, dass das Oxidationssignal des Fe^{2+} -Signals kaum erkennbar ist, kann geschlossen werden, dass dieser Komplex so instabil ist, dass er sofort wieder zu freiem Fe^{2+} und freiem Ligand zerfällt. Ein Vergleich mit dem Teilchenmodell zeigt, dass bei diesem pH-Wert die Komplexe $\text{MLH}_{.1}$ und $\text{MLH}_{.2}$ (siehe Kapitel 4.3.1 Abbildung 4-8) zu nahezu gleichen Teilen vorliegen. Es ist davon auszugehen, dass das erhaltene Reduktionssignal dem Mittelwert der beiden Metallkomplexe entspricht.

Bei pH-Werten im neutralen bis basischem Bereich konnten keine Cyclovoltammogramme mit aussagekräftigen Signalen bei den hier verwendeten Bedingungen erhalten werden.

4.8 Diskussion der Komplexbildung mit Eisen(III)

Zur Untersuchung der Eisenkomplexe von Myxochelin A, seiner Derivate und der beiden Benzoesäure-Derivate wurden verschiedene Methoden angewandt. Die Stabilitätskonstanten aller Liganden konnten bestimmt werden und zusätzlich wurden Informationen aus den UV/Vis-Spektren über mögliche Koordinationen der fünf Liganden erhalten. Die fünf Liganden wurden außerdem auf ihre Fähigkeit hin untersucht, ob sie bei moderat saurem pH-Wert in der Lage sind, Eisen aus einem Festkörper in Lösung zu bringen (siehe Tabelle 4-8). Die aus diesen Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse decken sich mit den erhaltenen Stabilitätskonstanten. Myxochelin A und sein Methyl-Derivat und 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid lösen im Vergleich zu den Liganden Didesoxy-Myxochelin A und 2-Hydroxybenzoesäureamid deutliche Mengen Fe^{3+} aus dem eingesetzten Ferrihydrit. Diese zwei Ligandgruppen unterscheiden sich dadurch, dass sie Catechol- und Salicyl-Bindungsstellen besitzen (wie die ersten drei Liganden) oder nur Salicyl-Bindungsstellen. Es ist bekannt, dass der Wechsel von einer Chelat-Fünf-Ring-Koordination zu einer Chelat-Sechs-Ring-Koordination zu einer Stabilisierung führen kann.⁶² Dies trifft auf die Eisenkomplexe dieser Liganden zu, da die stabilere Komplexbildung, und das damit verbundene effizientere Auflösen von Ferrihydrit nur durch das Binden von Fe^{3+} in den Catecholpositionen erklärt werden kann. Die Unterschiede der drei Liganden mit Catecholposition(en) lassen sich durch ihre Struktur erklären. 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid ist kein verbrückter Ligand, was einen Nachteil gegenüber Myxochelin A darstellt. Das Methyl-Derivat besitzt nur eine Catecholposition und ist damit etwas schlechter als Myxochelin A.

Mit Myxochelin A wurden außerdem Untersuchungen bezüglich des Redoxverhaltens des Eisenkomplexes durchgeführt und Variationen des Metall-Ligand-Verhältnisses. Dabei wurde festgestellt, dass Myxochelin A im sauren pH-Bereich (pH=2,7) dazu neigt, neben dem (1:1)-Komplex je nach Verhältnis auch Komplexe mit der Zusammensetzung 2:1 und 2:3 zu bilden. Im leicht basischen Bereich (pH=7,55) scheint das Verhältnis 1:1 das bevorzugte zu sein. Im stark basischen Bereich (pH=11,24) gibt es deutliche Hinweise darauf, dass sich mehrkernige $\text{M}_2\text{L}_3\text{H}_{12}$ -Komplexe bilden. Die cyclovoltammetrische Messung bei pH=2,2 zeigte, dass der Fe^{2+} -Komplex von Myxochelin A bei diesem pH-Wert nicht stabil ist. Dies bedeutet, dass eine Zerstörung des Fe^{3+} -Komplexes von Myxochelin A bei diesem pH durch Reduktion möglich ist.

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT EISEN(III)

Es ist ebenfalls wichtig und interessant, die erhaltenen Ergebnisse mit anderem Eisenchelatoren/Siderophoren zu vergleichen. Um die Stärke der Komplexbildung zu vergleichen, ist es sinnvoll die pM-Werte (negativer dekadischer Logarithmus der Konzentration an unkomplexiertem Metall) heranzuziehen, die in der Literatur oft für physiologische Bedingungen ($\text{pH}=7,4$, $[\text{M}]_{\text{total}}=10^{-6}\text{mol/L}$, $[\text{L}]_{\text{total}}=10^{-5}\text{mol/L}$) angegeben werden. Ein Vergleich von Komplexbildungskonstanten ist oft schwierig und weniger aussagekräftig, da Liganden meist unterschiedlich definiert werden und die Anzahl der Ligandprotonen oft unterschiedlich ist. Hier ist zu beachten, dass es sich bei diesen Werten nur um Berechnungen handelt, da bis auf Myxochelin A keiner der Liganden bei diesen pH-Werten titriert wurde und kein Ligand bei den angegebenen Konzentrationen untersucht wurde. Bei der Berechnung der pM-Werte wird außerdem das Löslichkeitsprodukt von Eisen(III)hydroxid nicht berücksichtigt, daher stellen diese Berechnung einen reinen Vergleich der Komplexe dar und nicht die tatsächliche Situation bei diesem pH-Wert.

Tabelle 4-9: Vergleich mit pM-Werten anderer Eisen(III)-Chelatoren

	pM*
Myxochelin A	19,6 ⁺
Methyl-Myxochelin A	19,2 ⁺
Didesoxy-Myxochelin A	12,9 ⁺
2,3-Dihydroxybenzoesäureamid	15,3 ⁺
2-Hydroxybenzoesäureamid	9,0 ⁺
Enterobactin	35,6 ⁵⁴
Transferrin	23,6 ⁵⁴
2,3-Dihydroxy-5-Sulfonsäure- <i>N,N</i> -dimethylbenzoesäureamid	19,2 ⁷⁸
2,3-Dihydroxy- <i>N,N</i> -dimethylbenzoesäureamid	~15 ⁵⁴
2,3-Dicatecholspermidin	23 ⁸¹

*pM := $-\log(\text{Fe}^{3+})$ bei $\text{pH}=7,4$, $[\text{M}]_{\text{total}}=10^{-6}\text{mol/L}$ und $[\text{L}]_{\text{total}}=10^{-5}\text{mol/L}$

⁺berechnet mit *HYSS*

Die pM-Werte der im Verlauf dieser Arbeit untersuchten Liganden spiegeln den Vergleich der Bruttostabilitätskonstanten wider. Alle Liganden komplexieren Eisen bei den der Berechnung zugrunde gelegten Bedingungen. Myxochelin A ist bei diesem Vergleich der beste Eisenchelator, aber nur etwas besser als das Methyl-Derivat. Der pM-Wert des 2,3-Dihydroxybenzoesäureamids ist etwa um vier Größenordnungen

kleiner und damit deutlich geringer. Didesoxy-Myxochelin A und 2-Hydroxybenzoesäureamid besitzen mit 12,9 und 9,0 deutlich geringere pM-Werte und unterscheiden sich auch deutlich voneinander. Dies verdeutlicht gleichzeitig wieder den Vorteil von Catecholpositionen gegenüber Salicylpositionen wie auch den Vorteil von verbrückten gegenüber unverbrückten Liganden auf.

Die pM-Werte aus der Literatur sind ebenfalls rein berechnete Werte aus den experimentell bestimmten Stabilitätskonstanten. Diese experimentell bestimmten Stabilitätskonstanten wurden nicht in DMSO-Wasser ermittelt, sondern im wässrigen Medium bei häufig sehr geringen Konzentrationen (0,1mM bis 50µM) und gegebenenfalls durch Konkurrenztitrationen mit einem Hilfsligand (EDTA; NTA). Im Vergleich zu dem natürlich vorkommenden Bakterien-Siderophor Enterobactin sind die untersuchten Liganden deutlich schwächer. Hier macht sich bemerkbar, dass Enterobactin drei Catechol-Einheiten besitzt und dadurch alle sechs Koordinationsstellen von Fe³⁺ besetzen kann, was zur Bildung deutlich stabilerer Komplexe führt. Das Eisen-Speicherprotein Transferrin bindet Eisen im Vergleich zu Enterobactin schwächer, aber dennoch sehr stark und um vier Größenordnungen stärker als Myxochelin A. Interessant ist die Gegenüberstellung der pM-Werte der strukturell sehr ähnlichen 2,3-Dihydroxybenzoesäure-Verbindungen. Die pM-Werte des 2,3-Dihydroxy-*N,N*-dimethylbenzoesäureamid und des 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid liegen in der gleichen Größenordnung, was nicht verwunderlich ist, da das Vorhandensein der Methylgruppen am Amidstickstoff kaum Auswirkungen auf die Komplexbildung haben sollte. Interessant ist, dass das 2,3-Dihydroxy-5-Sulfonsäure-*N,N*-dimethylbenzoesäureamid einen deutlich höheren pM-Wert besitzt, der vergleichbar mit den Myxochelinen ist. Die Sulfonsäuregruppe führt zu einer deutlich besseren Wasserlöslichkeit des Liganden, sowie zu einer Erhöhung der negativen Ladung des Liganden. An der direkten Koordination des Metallzentrums beteiligt sich diese aber nicht. Dennoch wirkt sich die Sulfonsäuregruppe positiv auf die Stabilität seiner Fe³⁺-Komplexe aus. Dies lässt vermuten, dass eine Optimierung der Wasserlöslichkeit und der negativen Ladung des Liganden zu größeren pM-Werten führt.

Bis-Catecholamide sind im Vergleich zu den Tris-Catecholamiden weniger untersucht; neben Myxochelin A existieren noch das sehr ähnliche Azotochelin⁸², das Petrobactin⁸³ sowie Dicatecholspermidine und Derivate⁸¹. Von letzteren gibt es pM-Werte bei den bereits oben erwähnten Bedingungen. Das dem Myxochelin A

bezüglich der Catecholgruppen entsprechende 2,3-Dichatecholsperimidin besitzt einen um etwas mehr als drei Größenordnungen größeren pM-Wert für Fe^{3+} . Dieser Ligand hat zwar auch zwei Catechol-Einheiten, aber die Brücke ist hier eine andere. Die Art der Verbindung zweier Catechol-Einheiten scheint durchaus Auswirkungen auf die Komplexbildung zu haben. Hier könnte die Aminfunktion der „Brücke“ durch eine Koordinierung an das chelatisierte Metallzentrum zur Stabilität des Metallkomplexes beitragen.

Catechol-Einheiten, die so verbrückt sind, dass eine gleichzeitige Bindung an ein Metallzentrum möglich ist, bilden in der Regel stabile Komplexe, die Stabilität kann aber durch die Art der Verbrückung weiter gesteigert werden. Zur Verdeutlichung ist das angesprochene Dicatecholsperimidin noch einmal im Vergleich zu Myxochelin A in Abbildung 4-33 dargestellt.

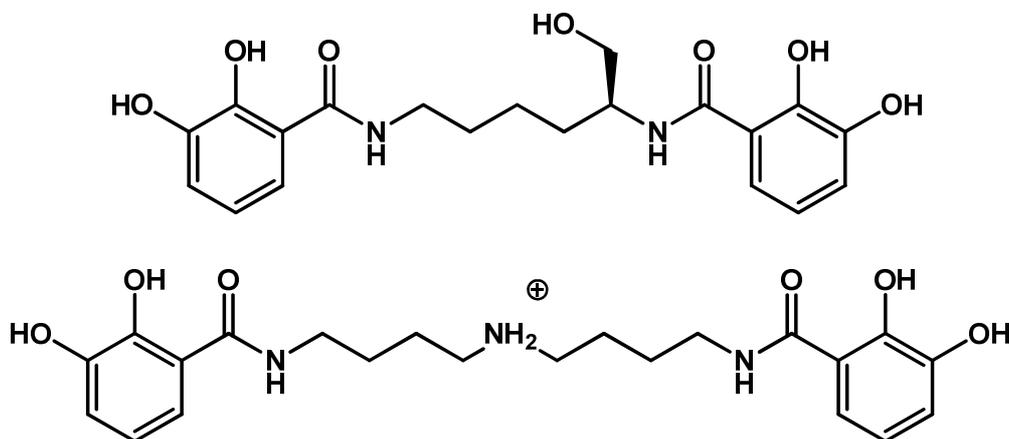


Abbildung 4-33: Myxochelin A im Vergleich zu 2,3-Dicatecholsperimidin

5 Vergleich von Myxochelin A und Methyl-Myxochelin A

Ausgangspunkt dieser Arbeit war der Vergleich von Myxochelin A und Methyl-Myxochelin A. Die Bestimmung der Säurekonstanten mittels Potentiometrie und $^1\text{H-NMR}$ -Titrationsen zeigte Unterschiede und Gemeinsamkeiten der beiden Liganden auf. Die pK_S -Werte, die mittels Potentiometrie bestimmt wurden, sind für beide Liganden sehr ähnlich, die deutlichste Abweichung zeigt der zweite pK_S -Wert mit $\Delta\text{pK}_\text{S}=0,48$.

Tabelle 5-1: pK_S -Werte von Myxochelin A und Methyl-Myxochelin A

	Myxochelin A	Methyl-Myxochelin A
Potentiometrische Titration		
$\text{pK}_{\text{S}1}$	7,48 (4)**	7,68 (1)**
$\text{pK}_{\text{S}2}$	8,46 (2)**	8,94 (3)**
$\text{pK}_{\text{S}3}$	13,0 (2)**	13,0 (1)**
$\text{pK}_{\text{S}4}$	>13	
$^1\text{H-NMR}$-Titration		
$\text{pK}_{\text{S}1}$	8,46*	~8,5 ⁺
$\text{pK}_{\text{S}2}$	9,30*	~10 ⁺

** Standardabweichung bestimmt über mindestens 8 Messungen: $s_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$

* $\sigma=0,0093$ mit $\sigma = \sum (\delta_{\text{ber}} - \delta_{\text{exp}})^2$

+ geschätzte Werte anhand des Titrationsverlauf

Mittels der $^1\text{H-NMR}$ -Titration wurde untersucht, welche Positionen deprotoniert werden. Die Abweichungen der hier erhaltenen pK_S -Werte von den Werten der Potentiometrie kommen durch deuterierte Lösemittel und fehlenden Inertelektrolyt zustande. Bei Betrachtung der Signalverschiebungen der $^1\text{H-NMR}$ -Titrationsen fiel auf, dass die ersten beiden Protonen von Myxochelin A und Methyl-Myxochelin A die Protonen in *ortho*-Position sind. Bei Myxochelin A werden diese Protonen nahezu gleichmäßig abstrahiert. Beim Methyl-Derivat werden diese Protonen schrittweise entfernt, zuerst das Proton des Aromaten mit zwei Hydroxyfunktionen. Die Methoxygruppe wirkt sich demnach Acidität-verringend auf die benachbarte Hydroxyfunktion aus. Dadurch sind die beiden Aromaten des Methyl-Derivates im Vergleich zum Myxochelin A nicht nur durch die Anzahl der Hydroxyfunktionen unterscheidbar, sondern auch durch die Acidität der Hydroxyfunktionen.

VERGLEICH VON MYXOCHELIN A UND METHYL-MYXOCHELIN A

Die Untersuchung der Eisen-Komplexe der beiden Liganden zeigte ebenfalls Unterschiede und Gemeinsamkeiten auf. Die durchgeführten Experimente zum Auflösen von Ferrihydrit zeigten, dass Myxochelin A mehr Fe^{3+} in Lösung bringen kann, und dass der Unterschied bei $\text{pH}=5,3$ deutlicher ist als bei $\text{pH}=6,1$. Methyl-Myxochelin A löste bei $\text{pH}=5,3$ 91% und bei $\text{pH}=6,1$ 83% der Menge, die Myxochelin A zu lösen vermochte. Dies zeigt aber auch, dass die Liganden sich zwar voneinander unterscheiden, sich aber dennoch ähnlicher sind als die anderen untersuchten Liganden.

Bei der Bestimmung der Stabilitätskonstanten fiel folgendes auf: Die Komplexbildung beider Liganden fängt schon bei $\text{pH}<1$ an, und sie bilden im untersuchten Bereich zwischen $\text{pH}=1$ bis $\text{pH}=4,1$ Komplexe mit gleicher oder ähnlicher Struktur. Bei $\text{pH}>4,1$ wurde Methyl-Myxochelin A, wegen der Eisen(III)hydroxid-Niederschläge, nicht auf seine Komplexbildung mit Fe^{3+} untersucht.

Tabelle 5-2: Bruttostabilitäts-Konstanten der Fe^{3+} -Komplexe von Myxochelin A und Methyl-Myxochelin A

	$\log\beta(\text{MLH}_{.1})^+$	$\log\beta(\text{MLH}_{.2})^+$	$\log\beta(\text{MLH}_{.3})^+$	$\log\beta(\text{MLH}_{.4})^+$
Myxochelin A	1,95(4)	-0,4(2)	-3,4(3)	-11,2(4)
Methyl-Myxochelin A	2,1(4)	-0,3(4)	-3,9(1)	

⁺ bezüglich des vollständig protonierten Liganden L ist $\beta(\text{MLH}_{.n})=[\text{MLH}_{.n}]\cdot[\text{H}]^n\cdot[\text{L}]^{-1}\cdot[\text{M}]^{-1}$

Die beiden Liganden zeigten ähnliche Komplexbildungskonstanten, wobei die Bruttostabilitäts-Konstanten von Methyl-Myxochelin A für den $\text{MLH}_{.1}$ - und $\text{MLH}_{.2}$ -Komplex sogar etwas größer waren als die von Myxochelin A. Dagegen ist die Bruttostabilitäts-Konstante des $\text{MLH}_{.3}$ -Komplexes von Myxochelin A größer als die des Methylderivates; ein $\text{MLH}_{.4}$ -Komplex kann von Methyl-Myxochelin nicht gebildet werden. Die leicht größere Stabilität des $\text{MLH}_{.3}$ -Komplexes und die Bildung des $\text{MLH}_{.4}$ scheinen bei Myxochelin A dafür verantwortlich zu sein, dass bei neutralem pH-Wert kein Eisen(III)hydroxid ausfällt

Um beide Liganden noch einmal gegenüberzustellen, wurde mit *HYSS* ein Teilchenmodell mit gleicher Konzentration von jedem Liganden und Metall ($c(\text{Myx A})=c(\text{Methyl-Myx A})=c(\text{Fe}^{3+})=0,5\text{mM}$) im pH-Bereich zwischen 1,0 und 4,1 berechnet (siehe Abbildung 5-1). Dies entspricht einem Bereich in dem bei keinem der Liganden die Bildung von Eisen(III)hydroxid beobachtet werden konnte.

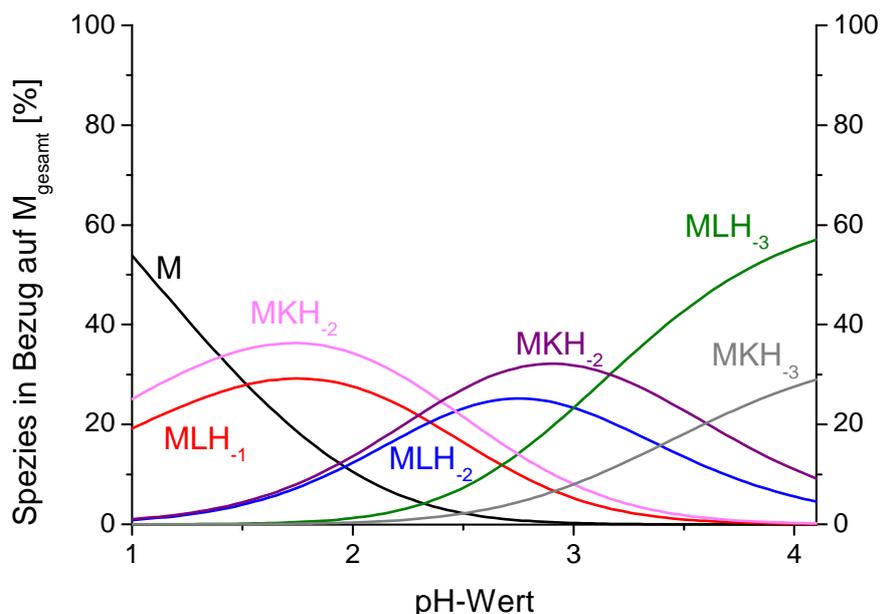


Abbildung 5-1: Teilchenmodell der Liganden Myxochelin A (L) und Methyl-Myxochelin A (K) bei den Bedingungen: $c(L)=0,5\text{mM}$, $c(K)=0,5\text{mM}$, $c(M)=0,5\text{mM}$ und den bestimmten Stabilitätskonstanten

Hier zeigt sich, dass die Komplexe der beiden Liganden in den gleichen pH-Bereichen vorliegen. Unterschiede liegen nur in Bezug auf den Anteil des gebildeten Komplexes vor. Zur besseren Übersicht wurden die prozentualen Anteile der Komplexe je Ligand zusammengefasst und in Tabelle 5-1 dargestellt. Zu Beginn des Teilchenmodells komplexiert Methyl-Myxochelin A mehr Fe^{3+} als Myxochelin A, dies ändert sich erst ab $\text{pH} \geq 2,8$. Ab hier wird der Unterschied zwischen der Fe^{3+} -Komplexbildung der beiden Liganden mit zunehmenden pH-Wert deutlicher.

Tabelle 5-3: prozentualer Anteil der Summe der Komplexe je Ligand in Bezug auf M_{gesamt} gemäß dem Teilchenmodell in Abbildung 5-1

pH	1,0	2,0	2,8	4,1
	Anteil aller Komplexe in Bezug auf M_{gesamt} [%]			
Myxochelin A	20,0	41,5	49,8	61,6
Methyl-Myxochelin A	26,1	48,6	49,5	38,4

Der größte Unterschied der beiden Liganden beruht auf der Struktur der Komplexe mit höchsten Deprotonierungsstufe: dem MLH_{-3} -Komplex des Methyl-Myxochelin A und dem MLH_{-4} -Komplex von Myxochelin A (siehe Abbildung 5-2). Myxochelin A hat hier den Vorteil, dass es mit zwei Catecholpositionen die besseren Voraussetzung zur Bindung von Fe^{3+} hat. Die Koordination in zwei Catechol-Positionen (MLH_{-4}) findet bei den hier verwendeten Bedingungen ab einem $\text{pH} \geq 5,4$ statt und dominiert gegenüber der Koordination in Salicyl- und Catechol-Position erst ab $\text{pH} \geq 7,8$.

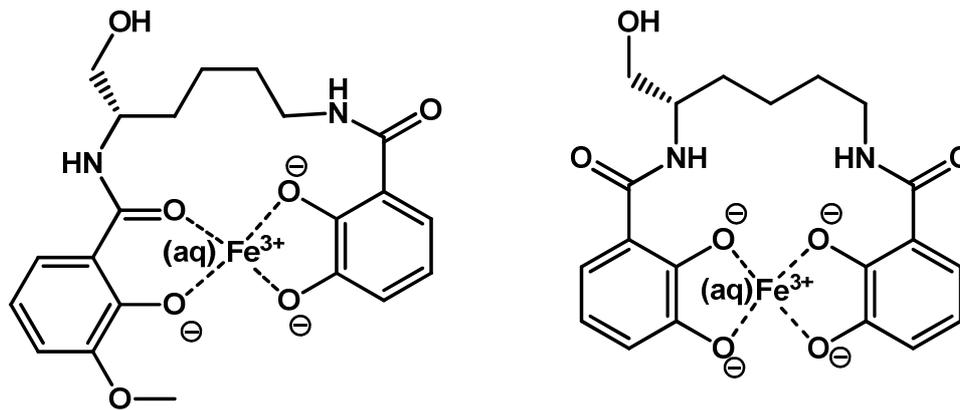


Abbildung 5-2: MLH₃-Komplex von Methyl-Myxochelin A und MLH₄ von Myxochelin A mit Fe³⁺

Für Myxobakterien, die in der Regel in einem Lebensraum mit neutralem bis leicht alkalischem pH-Wert leben, bedeutet dies, dass Fe³⁺ über den MLH₃- oder den MLH₄-Komplex aufgenommen werden könnte. Die Methylierung dieser Komplexe zum MLH₃-Komplex des Methyl-Myxochelin A, würde so zu einem etwas weniger stabilen Komplex führen und zu einer anderen beziehungsweise einer genau definierten Struktur. Für den MLH₃-Komplex von Myxochelin A können zwei mögliche Tautomere formuliert werden, da ein Aromat über die Catechol-Position Fe³⁺ bindet, und der andere über die Salicylposition. Ob dies tatsächlich so stattfindet kann nur postuliert werden, da die Bedingungen in und außerhalb der Myxobakterien andere sind als die bei denen die Stabilitätskonstanten bestimmt wurden. Da von T. Klefisch das Enzym, welches gezielt Myxochelin A zum Methyl-Derivat umsetzt, identifiziert und charakterisiert werden konnte (noch unveröffentlichte Ergebnisse),¹ ist davon auszugehen, dass eine Methylierung des Eisenkomplexes auch in den Myxobakterien die Stabilität dieses Komplexes verringert und zu einer genauer definierten Struktur führt. Dies kann ein Hinweis darauf sein, dass durch die Methylierung der Eisenkomplex vororientiert wird, um so von einem Enzym erkannt zu werden, welches den nächsten Schritt des Transportes respektive der Freisetzung von Fe³⁺ im Bakterium durchführt. Was beispielsweise eine Reduktion zu Fe²⁺ sein könnte. Dies würde die Stabilität des Komplexes verringern, da die Stabilität von Fe²⁺-Komplexen im Vergleich zu den entsprechenden Fe³⁺-Komplexen deutlich geringer sein sollte.⁸⁴ Es ist anzunehmen, dass sich dies bei Myxochelin A respektive Myxochelin A ebenfalls so verhält, da cyclovoltammetrische Untersuchungen von Myxochelin A zeigten, dass die Fe²⁺-Komplexe im sauren pH-Bereich im Gegensatz zu denen mit Fe³⁺ instabil sind.

6 Untersuchung der Komplexbildung mit Magnesium und Calcium

6.1 Komplexbildung von Myxochelin A mit Magnesium

Die Bestimmung der Komplexbildung-Konstanten mit Magnesium erfolgte mittels potentiometrischer Titration. Hier stellte sich nach kurzer Mischzeit (120s) das thermodynamische Gleichgewicht ein. Die Bestimmung der Gleichgewichtskonstanten wurde jedoch durch die schwache Komplexbildung und die Bildung von Niederschlägen (Magnesiumhydroxid $pK_L(\text{Mg}(\text{OH})_2)=10,6^{85}$) erschwert. Durch Variation der Verhältnisse und Konzentrationen von Ligand bezüglich Mg^{2+} wurden Bedingungen ermittelt, bei denen keine Niederschläge auftraten und eine Auswertung möglich war. Die Messungen wurden gemeinsam mit *HYPERQUAD* ausgewertet und es konnten die Konstanten für einen MLH_3 - und einen MLH_4 -Komplex erhalten werden (siehe Tabelle 6-1).

Tabelle 6-1: Titrationsbedingungen und Konstanten des Systems Mg^{2+} / Myxochelin A

Bedingungen der Beispieltitration	
c(Myxochelin A) [mM]	0,83
c(Magnesium(II)chlorid) [mM]	0,27
pH-Bereich	3,24 - 12,40
Anzahl der Schritte	60
Mischzeit / Wartezeit [s]	120 / 120
Titrantkonzentration (KOH) (mol/L)	0,1
Ionenstärke (KCl) (mol/L)	0,1
Molenbruch (DMSO)	0,2
Gemeinsame Auswertung mit <i>HYPERQUAD</i> **	
$\log\beta(\text{MLH}_3)^+$	-21,64(6)*
$\log\beta(\text{MLH}_4)^+$	-30,73(5)*
$\sigma^\#$	1,547

* dreifacher Wert der mit *HYPERQUAD* berechneten Standardabweichung

**gemeinsame Auswertung über 4 Messungen

+ bezüglich des vollständig protonierten Liganden L ist $\beta(\text{MLH}_n)=[\text{MLH}_n]\cdot[\text{H}]^n\cdot[\text{L}]^{-1}\cdot[\text{M}]^{-1}$

sigma aus *HYPERQUAD*; Güte der Iteration^{49,50}

Es war nicht möglich, die Konstanten der Teilchen MLH_{-1} und/oder MLH_{-2} zu bestimmen, da diese bei den verwendeten Bedingungen entweder nicht oder nur in sehr geringem Maße gebildet werden. Da auch die erhaltenen Konstanten für die Komplexe MLH_{-3} und MLH_{-4} vergleichsweise klein sind, wird deutlich, dass der Ligand Myxochelin A keine große Affinität zu Mg^{2+} hat.

In Abbildung 6-1 ist eine Titrationskurve bei den in Tabelle 6-1 angegebenen Bedingungen dargestellt. Um diese Komplex-Titration mit der Titration des reinen Liganden vergleichen zu können, wurde mit dem Programm *HYSS* eine Titrationskurve bei der gleichen Konzentration an Ligand berechnet. Die beiden Titrationskurven weichen erst mit Beginn der Komplexbildung, ab einem Äquivalent Basenzugabe, voneinander ab, was einem ungefähren pH-Wert von 8 entspricht. Der zweite Sprung im Verlauf der Komplex-Titration liegt bei 2,65 Äquivalenten Base pro Stoffmenge Ligand. Dies entspricht der zweifachen Deprotonierung der Gesamtmenge an Ligand, sowie zusätzlich der vollständigen zweifachen Deprotonierung des Magnesiumkomplexes.

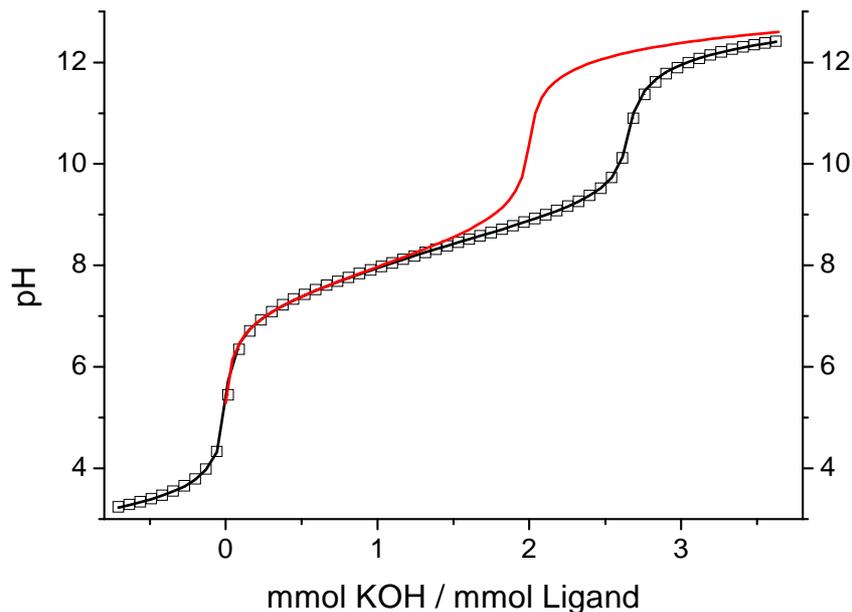


Abbildung 6-1: Titrationsverlauf des System Mg^{2+} / Myxochelin A (Punkte : gemessene Werten, schwarze Linie: „Fit“ aus *HYPERQUAD*, rote Linie: mit *HYSS* berechneter Verlauf der Titration des Liganden ohne Mg^{2+}); $c(L)=0,83mM$ und $c(M)=0,27mM$

Wie man dem in Abbildung 6-2 dargestellten Teilchenmodell entnehmen kann, beginnt die Komplexbildung mit der Bildung der MLH_{-3} -Spezies erst bei $pH \geq 7,5$, welche bis zu einem Maximalwert von 35% ($pH=9$) bezüglich freien Metalls gebildet wird. Die Spezies MLH_{-4} bildet sich schon ab $pH \geq 8$ und dominiert ab pH -Werten >9 .

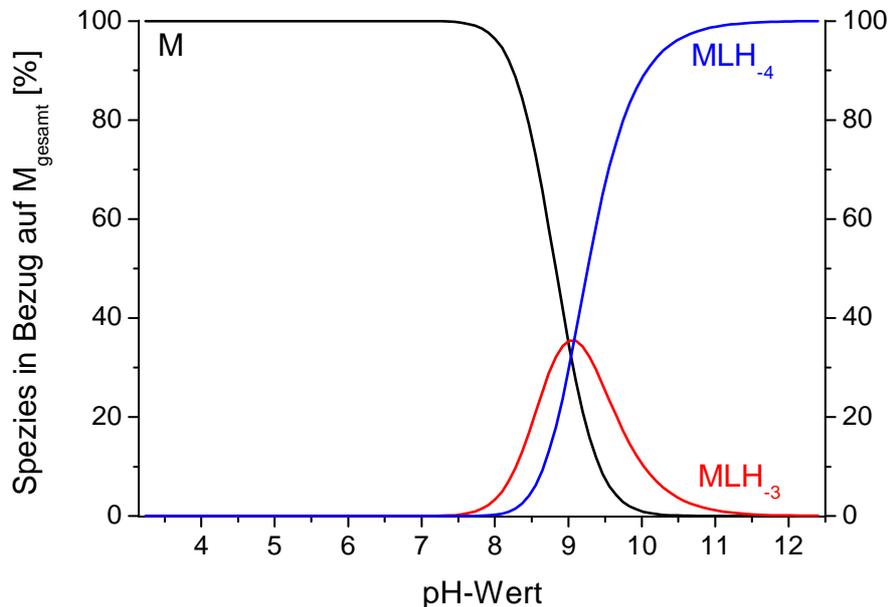


Abbildung 6-2: Teilchenmodell des Systems Mg^{2+} / Myxochelin A berechnet mit *HYSS* bei den Bedingungen $c(L)=0,83mM$ und $c(M)=0,27mM$ und den in Tabelle 6-1 angegebenen Konstanten

Für diese Spezies können verschiedene Koordinationen diskutiert werden (mögliche Koordinationen des Liganden wurden bereits in Kapitel 4.2 diskutiert, welche auch hier verwendet werden können): Myxochelin A könnte in den Komplexen MLH_{-3} und MLH_{-4} sowohl zweizählig als auch vierzählig koordinieren, dabei befinden sich in beiden Fällen Wassermoleküle am Mg^{2+} , die ebenfalls deprotoniert werden können. Die Komplexbildung beginnt erst in einem pH -Bereich, in welchem die Hydroxyfunktionen jedes Aromaten einfach deprotoniert sind. Daher ist es wahrscheinlich, dass dieser vierzählig koordiniert. Sofern der Komplex MLH_{-3} den dreifach deprotonierten Ligand enthält, würde das für eine Koordination sprechen, in der der Ligand in Catechol- und in Salicylposition gebunden ist. Bei einer Deprotonierung des an das Metall gebundenen Wassers wäre der Ligand im MLH_{-3} -Komplex zweimal in Salicylposition gebunden. Es konnte keine Spezies MLH_{-2} bestimmt werden, daher ist anzunehmen, dass die MLH_{-3} -Spezies aus einem dreifach deprotoniertem Liganden besteht. Die Spezies MLH_{-4} wird aus der Spezies MLH_{-3} mit einem pK_S -Wert von 9,09 gebildet. Dies könnte der Deprotonierung eines Ligandprotons entsprechen, dessen Säurestärke durch die Komplexbildung erhöht wurde, sowie einer Deprotonierung eines Metall-gebundenen Wassermoleküls.

6.2 Komplexbildung von Didesoxy-Myxochelin A mit Magnesium

Das System Mg^{2+} / Didesoxy-Myxochelin A ließ sich bei kurzen Mischzeiten mittels potentiometrischer Titration untersuchen. Hier wurde bei höheren pH-Werten die Bildung eines farblosen Niederschlags beobachtet, daher wurden nur Titrations bis zu einem $pH \leq 11$ zur Auswertung verwendet. Durch spätere Untersuchungen wurde bestätigt, dass es sich bei diesem Niederschlag um Magnesiumhydroxid handelt. Durch die gemeinsame Auswertung von acht Messungen mittels des Programms *HYPERQUAD* konnten Stabilitätskonstanten der Spezies MLH_2 und MLH_3 bestimmt werden. Die Titrationsbedingungen und die erhaltenen Stabilitätskonstanten sind in Tabelle 6-2 angegeben.

Tabelle 6-2: Titrationsbedingungen und Stabilitätskonstanten des Systems Mg^{2+} / Didesoxy-Myxochelin A

Titrationsbedingungen	
c(Myxochelin A) [mM]	0,6
c(Magnesium(II)chlorid) [mM]	0,5
pH-Bereich	3,0 – 11,0
Anzahl der Schritte	60
Mischzeit / Wartezeit [s]	120 / 120
Titrantkonzentration (KOH) [mol/L]	0,1
Ionenstärke (KCl) [mol/L]	0,1
Molenbruch (DMSO)	0,2
Gemeinsame Auswertung mit <i>HYPERQUAD</i> **	
logβ(MLH_2)	-14,64(6)*
logβ(MLH_3)	-25,09(3)*
$\sigma^{\#}$	1,086

* dreifacher Wert der mit *HYPERQUAD* berechneten Standardabweichung

** gemeinsame Auswertung über 8 Messungen

+ bezüglich des vollständig protonierten Liganden L ist $\beta(MLH_n) = [MLH_n] \cdot [H]^n \cdot [L]^{-1} \cdot [M]^{-1}$

sigma aus *HYPERQUAD*; Güte der Iteration^{49,50}

In Abbildung 6-3 ist das Teilchenmodell des untersuchten pH-Bereichs dargestellt. Wie erwartet, beginnt die Komplexbildung erst im basischen pH-Bereich. Bei diesem pH-Wert liegt auch ohne Metallvorkommen (pK_S -Titration) bereits zweifach deprotonierter Ligand vor. Dies bedeutet, dass eine Komplexbildung mit Mg^{2+} nur nach vorheriger Deprotonierung möglich ist. Es werden maximal 12% der Spezies MLH_{-2} bezüglich der Gesamtmenge von Mg^{2+} bei $pH=10,3$ gebildet. Die Bildung der Spezies MLH_{-3} beginnt erst bei $pH>9$ und erreicht bei $pH=11$ ihren größten Anteil von etwa 35%. Ab diesem pH-Wert bildet sich schwerlösliches Magnesiumhydroxid, da die Komplexbildung zu schwach ist um Mg^{2+} in Lösung zu halten.

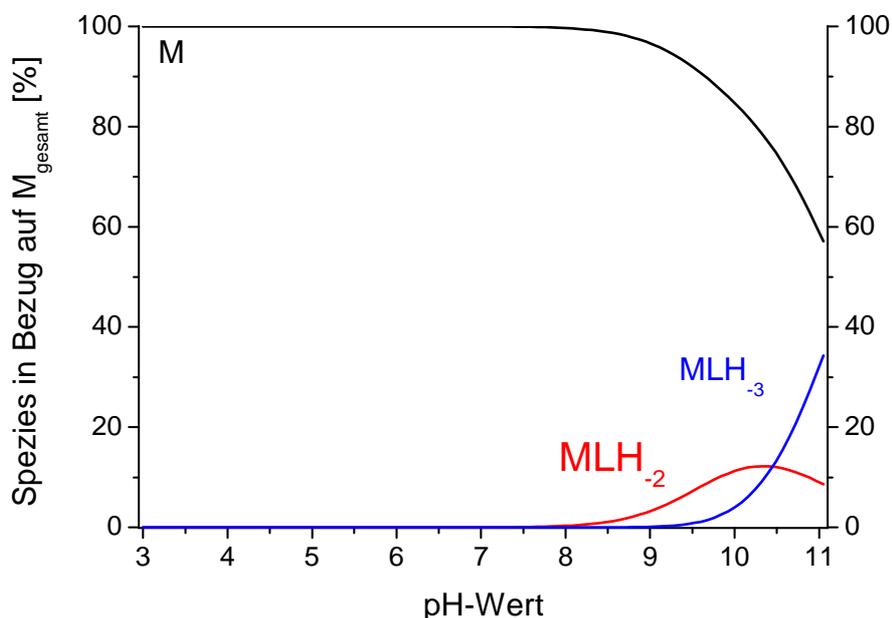


Abbildung 6-3: Teilchenmodell des Systems Mg^{2+} / Didesoxy-Mxochelin A berechnet mit *HYSS* bei den Bedingungen $c(L)=0,6mM$ und $c(M)=0,5mM$ und den in Tabelle 6-2 angegebenen Konstanten

Die Struktur der bestimmten Spezies lässt sich wie folgt diskutieren: Der Komplex MLH_{-2} ist zweifach deprotoniert. Als Deprotonierungsstellen kommen theoretisch die an das Metallion koordinierenden Wassermoleküle und die Hydroxyfunktionen des Liganden in Frage. Eine Komplexbildung von Mg^{2+} findet jedoch nur statt, wenn bereits zweifach deprotonierter Ligand vorliegt; daher wird der Ligand im Komplex zweifach deprotoniert sein. Da hier kein einfach deprotonierter Mg^{2+} -Didesoxy-Myxochelin A-Komplex erhalten werden konnte, ist es wahrscheinlich, dass die Bildung einigermaßen stabiler Komplexe nur gelingt, wenn der Ligand vierzählig koordiniert. Daher wird für den Komplex MLH_{-2} eine vierfache Koordination am Mg^{2+} angenommen. Eine weitere Deprotonierung ist am Liganden unter diesen

Bedingungen nicht möglich; daher wird der Komplex MLH_3 durch die Deprotonierung eines koordinierenden Wassermoleküls mit einem pK_S -Wert von 10,45 gebildet.

6.3 Komplexbildung von Calcium mit Myxochelin A

Das Systems Ca^{2+} / Myxochelin A wurde mittels potentiometrischer Titration zwischen $pH=3,11$ und $pH=12,48$ untersucht. Die Auswertung mit dem Programm *HYPERQUAD* wurde erst möglich bei einem mindestens vierfachen Überschuss an Ligand bezüglich der Stoffmenge Calcium. Die verwendeten Messungen wurden daher alle bei einem Metall-Ligand-Verhältnis von 1:4 durchgeführt. Niederschläge konnten während der Titrations nicht beobachtet werden ($pK_L(Ca(OH)_2)=5,2^{86}$). Die genauen Titrationsbedingungen sowie die erhaltenen Konstanten der Spezies MLH_2 , MLH_3 und MLH_4 sind in Tabelle 6-3 dargestellt.

Tabelle 6-3: Titrationsbedingungen und Konstanten des Systems Ca^{2+} / Myxochelin A

Bedingungen der Beispieltitration	
c(Myxochelin A) [mM]	0,80
c(Calcium(II)chlorid) [mM]	0,20
pH-Bereich	3,11 - 12,48
Anzahl der Schritte	60
Mischzeit / Wartezeit [s]	120 / 120
$\sigma^\#$	1,553
Titrantkonzentration (KOH) [mol/L]	0,1
Ionenstärke (KCl) [mol/L]	0,1
Molenbruch (DMSO)	0,2
Gemeinsame Auswertung mit <i>HYPERQUAD</i> **	
$\log\beta(MLH_2)$	-13,36(9)*
$\log\beta(MLH_3)$	-23,74(5)*
$\log\beta(MLH_4)$	-35,01(2)*
$\sigma^\#$	1,435

* dreifacher Wert der mit *HYPERQUAD* berechneten Standardabweichung

**gemeinsame Auswertung über 6 Messungen

+ bezüglich des vollständig protonierten Liganden L ist $\beta(MLH_n)=[MLH_n]\cdot[H]^n\cdot[L]^{-1}\cdot[M]^{-1}$

sigma aus *HYPERQUAD*; Güte der Iteration^{49,50}

In Abbildung 6-4 ist der Verlauf einer Titration des System Ca^{2+} / Myxochelin A mit der berechneten Kurve einer pK_S -Titration des reinen Liganden bei gleicher Konzentration dargestellt. Die Kurve der Ca^{2+} -Myxochelin A Titration weicht erst bei zwei Äquivalenten Basenzugabe pro Stoffmenge Ligand sichtbar von der pK_S -Titration ab. Dies entspricht einem pH-Wert von 9,5. Anhand der Teilchenverteilung (siehe Abbildung 6-5) erkennt man, dass die Komplexbildung bereits bei $\text{pH}=7,0$ mit dem MLH_2 -Komplex beginnt und bis zu maximal 22% bei $\text{pH}=9,5$ gebildet wird. Ab $\text{pH}\geq 8,5$ bildet sich dann durch Deprotonierung der MLH_3 -Komplex, der maximal zu 40% bei $\text{pH}=11,2$ vorliegt. Zuletzt bildet sich ab $\text{pH}\geq 9,8$ der vierfach deprotonierte Calcium(II)komplex, der ab pH-Werten $>11,5$ dominiert und am Ende der Titration ($\text{pH}=12,48$) zu mehr als 90% vorliegt.

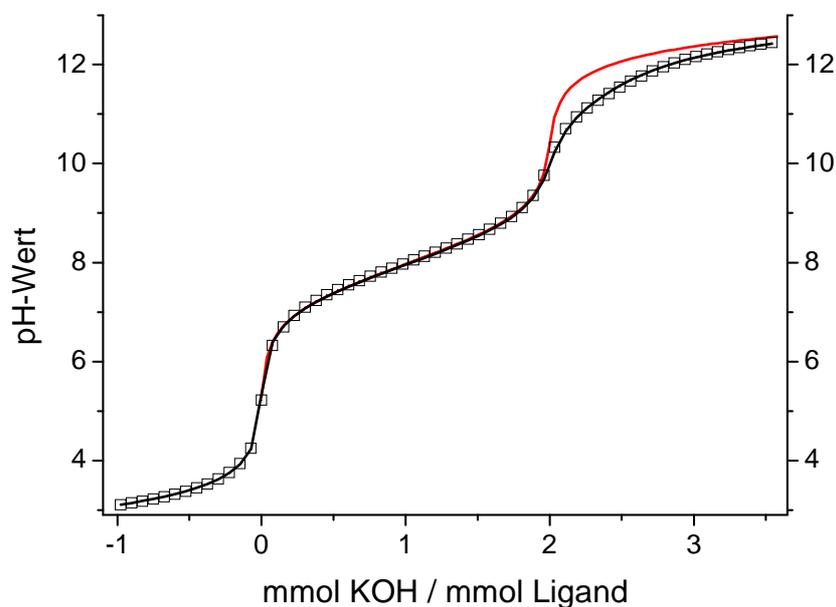


Abbildung 6-4: Titrationsverlauf des System Ca^{2+} / Myxochelin A (Punkte : gemessene Werte, schwarze Linie: „Fit“ aus *HYPERQUAD*, rote Linie: mit *HYSS* berechneter Verlauf der Titration des Liganden ohne Ca^{2+}); $c(\text{L})=0,8\text{mM}$ und $c(\text{M})=0,2\text{mM}$

Die Bildung der MLH_2 Spezies beginnt in einem pH-Bereich, in dem bereits ohne Metallionen zweifach deprotonierter Ligand gebildet wird. Dies bedeutet, hier ist eine vorherige Deprotonierung nötig um die Möglichkeit der Komplexbildung zu schaffen. Die Deprotonierung des MLH_2 Komplexes wird durch die Komplexbildung begünstigt, da eine dritte Deprotonierung des reinen Liganden erst bei einem pH-Wert von etwa 10,5 beginnt und der pK_S -Wert des Calcium-Aquaions in wässrigem Medium bei 12,82 ($I=0,1\text{M}$ $T=298\text{K}$)⁸⁶ liegt. Gleiches gilt für die Bildung der MLH_4^- Spezies, die ab $\text{pH}\geq 10$ gebildet wird.

UNTERSUCHUNG DER KOMPLEXBILDUNG MIT MAGNESIUM UND CALCIUM

Anhand der erhaltenen Komplexe lassen sich mögliche Strukturen wie folgt diskutieren: Da die Ca^{2+} -Ionen erst mit der LH_2 -Form von Myxochelin A Komplexe bilden, wird der Ligand eher vierzählig koordinieren. Aufgrund der bevorzugten Deprotonierung der Hydroxyfunktionen in *ortho*-Position wird Ca^{2+} zunächst in Salicylposition gebunden. Durch weitere Deprotonierungen am Liganden kann es dann in Catecholposition binden. Theoretisch wäre es auch möglich, dass Wassermoleküle des Calciums deprotoniert werden. Wahrscheinlicher erscheint hier aber die Deprotonierung der Hydroxyfunktionen des Liganden, da die Catecholposition aufgrund der geringeren Ringgröße bevorzugt wird.

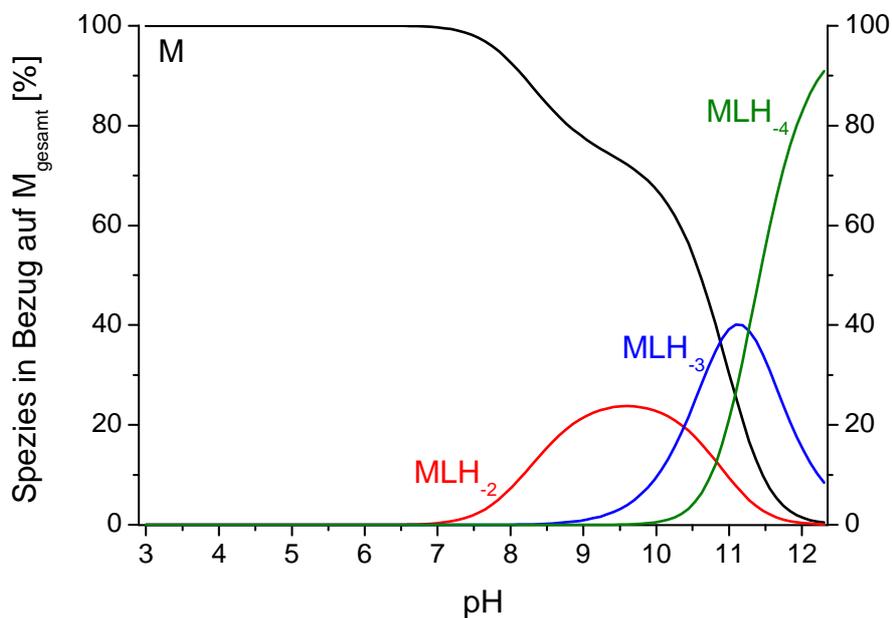


Abbildung 6-5: Teilchenmodell des System Ca^{2+} / Myxochelin A berechnet mit HYSS bei den Bedingungen $c(\text{L})=1,0\text{mM}$ und $c(\text{M})=0,25\text{mM}$ und den in Tabelle 6-3 angegebenen Konstanten

6.4 Komplexbildung von Calcium mit Didesoxy-Myxochelin A

Zur Untersuchung der Komplexbildung des Systems Didesoxy-Myxochelin A / Ca^{2+} wurden potentiometrische Titrations im Metall-Ligand-Verhältnis von eins zu vier durchgeführt. Bei einem geringeren Überschuss des Liganden konnten keine Konstanten mit dem Programm *HYPERQUAD* bestimmt werden. Im Bereich zwischen $\text{pH}=3,01$ und $\text{pH}=12,32$ konnten die Stabilitätskonstanten der Komplexe MLH_{-1} , MLH_{-2} und MLH_{-3} bestimmt werden.

Tabelle 6-4: Titrationsbedingungen und Konstanten des Systems Ca^{2+} / Didesoxy-Myxochelin A

Titrationsbedingungen	
c(Myxochelin A) [mM]	1,00
c(Calcium(II)chlorid) [mM]	0,25
pH-Bereich	3,01 – 12,32
Anzahl der Schritte	60
Mischzeit / Wartezeit [s]	120 / 120
Titrantkonzentration (KOH) [mol/L]	0,1
Ionenstärke (KCl) [mol/L]	0,1
Molenbruch (DMSO)	0,2
Gemeinsame Auswertung mit <i>HYPERQUAD</i> **	
$\log\beta(\text{MLH}_{-1})$	-6,6(1)*
$\log\beta(\text{MLH}_{-2})$	-15,17(6)*
$\log\beta(\text{MLH}_{-3})$	-26,49(6)*
$\sigma^{\#}$	1,187

* dreifacher Wert der mit *HYPERQUAD* berechneten Standardabweichung

** gemeinsame Auswertung über 6 Messungen

+ bezüglich des vollständig protonierten Liganden L ist $\beta(\text{MLH}_{-n}) = [\text{MLH}_{-n}] \cdot [\text{H}]^n \cdot [\text{L}]^{-1} \cdot [\text{M}]^{-1}$

sigma aus *HYPERQUAD*; Güte der Iteration^{49,50}

Anhand des Teilchenmodells in Abbildung 6-6 erkennt man, dass die Ca^{2+} -Komplexierung bei $\text{pH} \geq 7$ mit der Bildung der MLH_{-1} Spezies beginnt, die sich zu maximal einigen Prozent bildet. Ab $\text{pH} \geq 8$ bildet sich die MLH_{-2} -Spezies, die bei $\text{pH}=10,8$ zu maximal 10% vorkommt. Die Bildung der MLH_{-3} Spezies beginnt bei etwa $\text{pH} \geq 10$ und liegt bei $\text{pH}=12$ zu 45% vor.

Interessant an diesem Teilchenmodell ist, dass sich in geringem Maße ein MLH_{-1} -Komplex bildet, in dem nur die zweizählige Koordination des Liganden an Ca^{2+} möglich ist. Die Stabilitätskonstante erscheint realistisch, der pK_S -Wert des

MLH₋₁-Komplexes ist nur wenig niedriger als der des nicht koordinierenden Liganden. Dies entspräche der Deprotonierung der Hydroxyfunktion des Aromaten, der nicht an der Komplexierung beteiligt ist. Dies bedeutet für den Komplex MLH₋₂, dass der Ligand hier mit hoher Wahrscheinlichkeit vierzählig koordiniert. Die Abstrahierung des dritten Protons kann nur an einem an das Metallion koordinierenden Wassermolekül stattfinden.

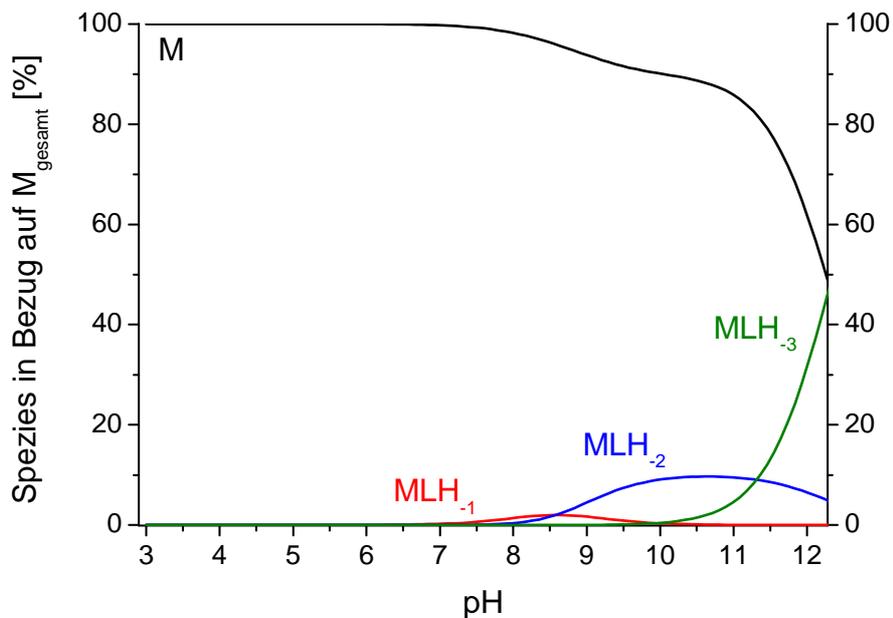


Abbildung 6-6: Teilchenmodell des System Ca²⁺ / Didesoxy-Myxochelin A berechnet mit *HYSS* bei den Bedingungen c(L)=1,0mM und c(M)=0,25mM und den in Tabelle 6-4 angegebenen Konstanten

6.5 Vergleich der Calcium- und Magnesiumkomplexe

Für die Liganden Myxochelin A und Didesoxy-Myxochelin A konnten jeweils Stabilitätskonstanten der Metallkomplexe von Magnesium(II) respektive Calcium(II) bestimmt werden (siehe Tabelle 6-5).

Tabelle 6-5: Stabilitätskonstanten der untersuchten Liganden mit Mg^{2+} und Ca^{2+}

	Myxochelin A		Didesoxy-Myxochelin A	
	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Ca^{2+}
$\log\beta(MLH_{-1})$	-	-	-	-6,6(1)*
$\log\beta(MLH_{-2})$	-	-13,36(9)*	-14,64(6)*	-15,17(6)*
$\log\beta(MLH_{-3})$	-21,64(6)*	-23,74(5)*	-25,09(3)*	-26,49(6)*
$\log\beta(MLH_{-4})$	-30,73(5)*	-35,01(2)*	-	-

* dreifacher Wert der mit *HYPERQUAD* berechneten Standardabweichung

+ bezüglich des vollständig protonierten Liganden L ist $\beta(MLH_{-n})=[MLH_{-n}]\cdot[H]^n\cdot[L]^{-1}\cdot[M]^{-1}$

Wie erwartet sind die Konstanten in Bezug auf die Stabilitätskonstanten der Fe^{3+} -Komplexe deutlich kleiner. Dies bedeutet, die Affinität der Liganden zu Mg^{2+} und Ca^{2+} ist sehr gering bezüglich der zu Fe^{3+} . Was auffällt, ist ein allgemeiner Trend: Die Stabilitätskonstanten eines Liganden sind für Magnesium(II)komplexe immer größer als die entsprechenden Calcium(II)komplexe. Außerdem konnte in den Teilchenmodellen der Calcium(II)komplexbildung immer ein Komplex mehr in das Teilchenmodell einbezogen werden im Vergleich zu denen der entsprechenden Magnesium(II)komplexbildung. Dieser Calcium(II)komplex trug jeweils ein Proton mehr als der am höchsten protonierte Magnesium(II)komplex. Die Gegenüberstellung der Liganden zeigt, dass Myxochelin A die stabileren Metallkomplexe in gleicher Anzahl bildet, die Komplexbildung jedoch erst bei einer Deprotonierungsstufe mehr beginnt.

Die größere Stabilität der Magnesiumkomplexe entspricht dem regulären Verlauf der Irving-Williams-Reihe. Ursache dafür ist unter anderem das z^2/r -Verhältnis.⁸⁷ Die höhere Stabilität der Myxochelin A-Komplexe lässt sich aus der Struktur der Liganden ableiten: Die Ausbildung von Fünf-Ringen führt oft zu stabileren Komplexen als die Ausbildung von Sechs-Ringen.⁶² Myxochelin A kann sowohl Sechs- als auch Fünf-Ringe ausbilden; Didesoxy-Myxochelin A kann nur Sechs-Ringe ausbilden und scheint damit weniger stabile Komplexe mit Magnesium und Calcium zu formen.

Durch die potentiometrische Titration kann nur bestimmt werden, aus welchen Grundkomponenten die Metallkomplexe bestehen. Die Bestimmung der Struktur dieser Metallkomplexe und die Ermittlung, ob es mehrere Metallkomplexe der gleichen Zusammensetzung gibt, ist mit dieser Methode nicht eindeutig möglich. Die Diskussion möglicher Strukturen beruht daher nicht nur auf den Erkenntnissen aus den potentiometrischen Titrations der Metallkomplexe von Calcium und Magnesium, sondern auch auf den potentiometrischen und den $^1\text{H-NMR}$ -Titrations der reinen Liganden.

Die mögliche Struktur der verschiedenen Komplexe wurde bereits in den jeweils zugehörigen Kapiteln diskutiert. Stellt man alle Komplexe einander gegenüber, so ergibt sich für die Komplexe des Didesoxy-Myxochelin A ein klareres Bild: Der MLH_{-1} -Komplex kann nur durch zweizählige Koordination in Salicylposition gebildet werden, der MLH_{-2} -Komplex sollte durch die vierzählige Koordination des Liganden entstehen, und die Bildung des MLH_{-3} -Komplexes kann nur die Deprotonierung eines an das Metallatom koordinierende Wasser entstehen. Für Myxochelin A-Komplexe lassen sich mehr mögliche Strukturen diskutieren. Da hier nur Bruttokonstanten bestimmt wurden, ist es durchaus möglich, dass mehrere der diskutierten Strukturen parallel vorliegen. Da Myxochelin A in der Lage ist, durch Koordination an Metallzentren Fünf-Ringe auszubilden, ist zu vermuten, dass MLH_{-3} -Komplexe vierzählig mit jeweils einem Fünf- und einem Sechs-Ring koordinieren, und die MLH_{-4} -Komplexe vierzählig mit zwei Fünf-Ringen. Die unterschiedlichen pK_S -Werte der MLH_{-3} -Spezies lassen jedoch darauf schließen, dass zumindest im Fall des Calciums eher eine Deprotonierung eines Metallgebundenen Wassermoleküls stattfindet als eine am Liganden. Der MLH_{-2} -Komplex von Ca^{2+} mit Myxochelin A kann theoretisch sowohl als vierzählig koordinierter Komplex mit zwei Sechs-Ringen vorliegen, als auch als zweizählig koordinierender mit einem Fünf-Ring. Da der Komplex jedoch erst gebildet wird, wenn bereits zweifach deprotonierter Ligand vorliegt, ist anzunehmen, dass Ca^{2+} hier vierzählig gebunden ist.

7 Experimenteller Teil

7.1 Allgemeines

CHEMIKALIEN

Die zur Synthese verwendeten Chemikalien wurden mit Ausnahme der Lysine von den Firmen Fluka, Sigma Aldrich Chemie GmbH und Acros Organics in größtmöglicher Reinheit käuflich erworben und ohne vorherige Reinigung eingesetzt. *N- α -N- ϵ -(Di-*tert*-Butoxycarbonyl)-(L)-lysin* (DCHA) und *N- ϵ -(Benzyloxy-carbonyl)-N- α -(*tert*-butoxycarbonyl)-(L)-lysin* wurden bei der Firma Novabiochem (Merck Biosciences GmbH) käuflich erworben und ohne vorherige Reinigung eingesetzt. Chemisch reine Lösemittel und Kieselgel 60 wurden vom zentralen Chemikalienlager der Universität des Saarlandes bezogen. Die zu Titrations verwendeten Säuren und Laugen sowie Metallsalzlösungen stammen von Merck KGaA, das verwendete DMSO (99,98%) von Fisher Chemicals. Die zur säulenchromatischen Reinigung verwendeten HPLC-Lösemittel wurden, wie die Anionen- und Kationentauscher, von der Sigma-Aldrich Chemie GmbH bezogen.

HPLC

Die Substanzen Myxochelin A und Methyl-Myxochelin A wurden über eine SepTech ST60-10 C18 Dynamax (250-41,4mm) Säule der Firma Varian (Agilent Technologies) gereinigt. Die dabei verwendete präparative HPLC der Firma Gilson bestand aus den Pumpen 333 und 334, der Injektionspumpe 306, dem Fraktionskollektor Prep FC, dem Ventilsteuergerät Valvemate II und dem Detektor UV/VIS 155.

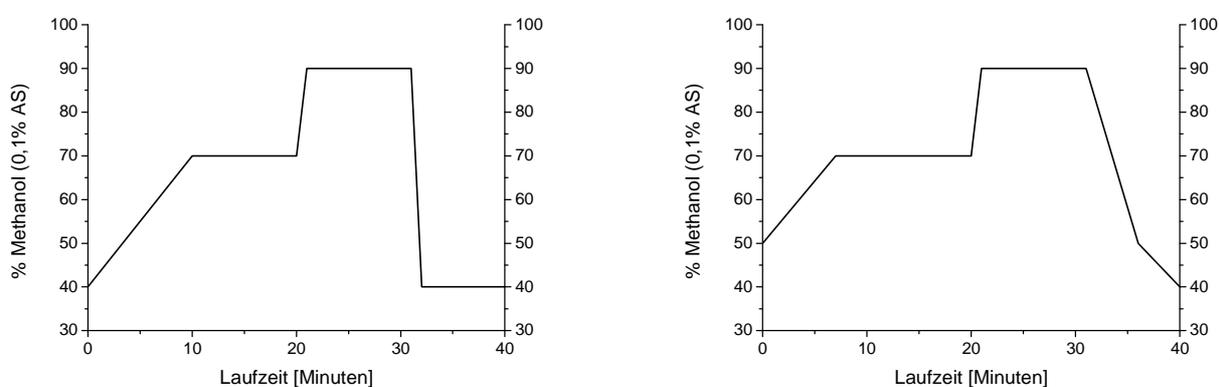


Abbildung 7-1: Gradient der Myxochelin A Trennung (links); Gradient der Methyl-Myxochelin A Trennung (rechts)

Myxochelin A wurde mit einem Fluss von 20mL/min auf der oben genannten Säule mit dem oben dargestellten Gradienten getrennt und bei einer Retentionszeit von 20min erhalten. Methyl-Myxochelin A wurde ebenfalls mit einem Fluss von 20mL/min mittels dem oben dargestellte Gradienten getrennt und bei einer Retentionszeit von 19min erhalten. Wasser und Methanol enthielten jeweils 0,1% Ameisensäure.

NMR-SPEKTROSKOPIE

Alle verwendeten NMR-Spektren wurden an einem Avance Ultrashield 400 der Firma Bruker bei einer Temperatur von 294K aufgenommen. Die Resonanzfrequenz betrug 400,13MHz für ^1H - bzw. 100,6MHz für ^{13}C -Kerne. Die zu untersuchenden Substanzen wurden gelöst in folgenden deuterierten Lösemitteln vermessen: DMSO- d_6 , D_2O - d_2 , MeOD- d_4 , und CDCl_3 - d_1 . Die chemischen Verschiebungen wurden in ppm bezüglich Natriumtrimethylsilylpropionat- d_4 für D_2O und bezüglich Tetramethylsilan für alle anderen deuterierten Lösemittel angegeben. Die Angabe der Kopplungskonstanten erfolgte in Hz. Die Multiziplicität der Signale wird wie folgt abgekürzt: s = Singulett, bs = breites Singulett, d = Duplett, dd = Duplett von Duplett, t = Triplet, dt = Duplett von Triplet, m = Multiplet und sh = Signalhaufen (sich überlappende Signale verschiedener Atome).

^1H -NMR-TITRATIONEN

Bei Spektren in Abhängigkeit vom pH^* -Wert wurde in partiell wässrigem DMSO- d_6 , deren Molenbruch 0,2 an DMSO- d_6 betrug, gemessen. Dazu wurde aus allen Liganden, mit Ausnahme von Methyl-Myxochelin A, jeweils eine Stammlösung hergestellt. Anschließend wurde der pH^* -Wert der Lösung mit partiell wässriger KOD bzw. DCI, deren Molenbruch an DMSO- d_6 0,2 betrug, eingestellt. Aus dieser Lösung wurde eine Probe von 500 μL gezogen, um im Anschluss wieder den pH^* -Wert der Lösung zu verändern und wieder eine Probe zu ziehen. Die verwendeten Mengen an Ligand und Lösung sowie die Anzahl der Proben sind in Tabelle 7-1 angegeben.

Tabelle 7-1: Bedingungen der ^1H -NMR-Titrationen

	Ligand [mg]	Lösung [mL]	Proben
2-Hydroxybenzoesäureamid	100	9	11
2,3-Dihydroxbenzoesäureamid	50	8	15
2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid	110	10	17
3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid	94	9	18
Myxochelin A	125	15	15

Die Untersuchungen von Methyl-Myxochelin A wurden mit drei Proben aus 35mg Ligand, gelöst in 1,5mL einer Mischung aus TMPS, DMSO-d₆ und D₂O-d₂ ($x_{\text{DMSO}}=0,2$), durchgeführt. Die pH*-Werte dieser Proben wurden mehrfach durch die Zugabe von KOD variiert.

Die Messung des pH*-Werts erfolgte mit einer *Spintrode* pH-Einstabmesskette mit internem Ag/AgCl-Referenzsystem der Firma Hamilton Bonaduz AG, welche in wässrigen Pufferlösungen der Firma Fluka bei pH 4, 7 und 10 kalibriert wurde. Der pH*-Wert beschreibt den negativen dekadischen Logarithmus der in deuterierten Lösemitteln gemessenen Protonenkonzentration.⁸⁸⁸⁹ Die ¹H-NMR-Titrationsen wurden mit dem Programm *NMR-TIT*⁶⁰ ausgewertet.

IR-SPEKTROSKOPIE

Die IR-Spektren wurden mit einem Vector 22 MIR Spektrometer mit einer ATR-Einheit der Firma Bruker aufgenommen. Zur Auswertung wurde die Software *OPUS NT 3,1* verwendet. Die Lage der Banden ist als Wellenzahl in cm⁻¹ angegeben, wobei breite Banden mit der Abkürzung „br“ gekennzeichnet wurden.

UV/VIS-SPEKTROSKOPIE

Zur Aufnahme von Absorptionsspektren wurde ein Lichtleiter-Spektrometer Tidas 100 der Firma J&M-Analytik AG und ein UVICON 940/941 Zweistrahlenspektrophotometer der Firma Kontron Instruments verwendet. Dazu wurden Küvetten aus QS Quarzglas mit einem Strahlengang von 1cm der Firma Hellma benutzt.

ELEMENTARANALYSEN

Die Elementaranalysen (Bestimmung von Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff) wurden von Herrn Anton Zschka (Arbeitskreis Koordinationschemie (Prof. Dr. K. Hegetschweiler, Universität des Saarlandes)) und von Frau Susanne Harling (Arbeitskreis Anorganische Festkörperchemie (Prof. Dr. G. Kickelbick, Universität des Saarlandes)) an einem Vario EL Elementaranalysator der Elementar Analysensysteme GmbH am Institut für Bioanalytische Chemie von Prof. Dr. D. A. Volmer (Universität des Saarlandes) (vormals Arbeitskreis für Instrumentelle Analytik und Bioanalytik (Prof. Dr. C. Huber)) sowie an einem CHN-900 der Leco Instrumente GmbH durchgeführt.

KRISTALLSTRUKTURANALYSEN

Die Kristallstrukturanalysen wurden von Herrn Dr. V. Huch (Institut für Anorganische Chemie, Universität des Saarlandes) auf einem Stoe IPDS bei 200K durchgeführt. Zur Strukturlösung wurde von Herrn Dr. Ch. Neis das Programm SHELXS-97⁹⁰, zur Strukturverfeinerung das Programm SHELXL-97⁹¹ verwendet.

XRD-MESSUNG

Das für die Versuche in Kapitel 4.6 hergestellte Ferrihydrit wurde als solches durch Röntgenbeugung mit einem *X'PertPro* der Firma Panalytical B.V. identifiziert. Die Auswertung erfolgte mit der Software *FULLPROF* durch Herrn M. Basters (Arbeitskreis Koordinationschemie (Prof. Dr. K. Hegetschweiler, Universität des Saarlandes)).

TEM-MESSUNGEN

Die Teilchengröße des hergestellten Ferrihydrits wurde mittels eines Transmissions-elektronenmikroskops JEM2011 der Firma Jeol GmbH am Lehrstuhl für Technische Physik (Ak Birringer, Universität des Saarlandes) von M. Basters (s.o.) ermittelt.

ATOMABSORPTIONSSPEKTROSKOPIE

Die Bestimmung der Eisen(III)-Konzentrationen der Lösungen der Auflösungs-experimente wurde durch Atomabsorptionsspektroskopie mit dem AAS-Gerät *Unicam 969* von Frau T. Allgayer (Arbeitskreis Anorganische Festkörperchemie (Prof. Dr. G. Kickelbick, Universität des Saarlandes)) durchgeführt.

POTENTIOMETRISCHE TITRATIONEN

Die Durchführung der potentiometrischen Titrationsen erfolgte mit einer *IoLine* pH-Einstabmesskette (*IL-pH-A120MF-R*) mit Jod/Jodid-Referenzsystem und einer *BlueLine* pH-Einstabmesskette (*17-pH-R*) mit Ag/AgCl-Referenzsystem der Firma Schott Instruments. Unterstützt wurden die mit dem Programm *Messlabor*⁹² gesteuerten Titrationsen mit dem *780 pH-Meter* und dem *Dosimat 765* der Firma Methrom AG.

In einem auf 298K thermostatisiertem Gefäß wurden jeweils 50mL Lösung titriert, deren Ionenstärke, eingestellt durch Kaliumchlorid, 0,1M betrug. Alle Titrationsen fanden unter einem stetigen Strom von Stickstoff, der mit 0,1M Kaliumchlorid Lösung gesättigt wurde, statt. Als Titrant wurde in der Regel 0,1M Kalilauge respektive

Salzsäure verwendet. Zur Bestimmung des Standardpotentials der pH-Elektrode wurde vor und nach jeder Messung eine Kalibrierung mit 2mM Salzsäure (0,1M an Kaliumchlorid) gegen 0,1M Kalilauge durchgeführt. Die Auswertung der Kalibrierungen erfolgte mit dem Programm *TITKURVE*⁹³. Zur Überprüfung der Gleichgewichtseinstellung wurden die alkalimetrischen Titrations acidimetrisch rücktitriert.

Die Gleichgewichtskonstanten wurden mit dem Programm *HYPERQUAD 2008*^{49,50} iterativ bestimmt, dazu wurde das Standardpotential aus der Kalibrierung herangezogen und das Ionenprodukt des Wassers für partiell wässrige DMSO-Lösungen ($pK_w = 15,59$; $x_{DMSO} = 0,2$; $T = 298K$) aus der Literatur^{94,95}. Es wurden nur Iterationen aus *HYPERQUAD* verwendet, deren erhaltene Güte der Iteration (σ) für Ligand-Titrations <1 und für Metall-Ligand-Titrations <2 betrug. Zur Darstellung des Teilchenmodells wurde *HYSS 2006*⁵¹ verwendet.

Aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit von Myxochelin A und seinen Derivaten wurden alle Titrations in partiell wässrigem DMSO durchgeführt. Der Molenbruch aller verwendeten Lösungen betrug 0,2 an DMSO. Die Vorgehensweise zur Herstellung solcher Lösungen wird in der AAV2 (siehe Kapitel 7.2.2) beschrieben.

DISKONTINUIERLICHE SPEKTROPHOTOMETRISCHE TITRATIONEN

Zur Bestimmung der Stabilitätskonstanten von Myxochelin A und seinen Derivaten mit Fe^{3+} wurden diskontinuierliche spektrophotometrische Titrations durchgeführt. Dazu wurden für jeden pH-Wert 10mL einer Lösung mit konstanter Metall- und Ligandkonzentration sowie einer Ionenstärke (Kaliumchlorid) von 0,1M und $x_{DMSO} = 0,2$ angesetzt. Die Stabilitätskonstanten von 2,3-Dihydroxy-benzoessäureamid und 2-Hydroxybenzoessäure mit Fe^{3+} wurden ebenfalls durch diskontinuierliche spektrophotometrische Titrations bestimmt. Hier wurden jedoch nur die Titrations unterhalb von $pH = 2$ wie oben beschrieben angesetzt. Die Proben oberhalb von $pH = 2$ wurden mit je 10mL einer Stammlösung von Ligand, Fe^{3+} ; Kaliumchlorid (0,1M) und DMSO-Lösung ($x_{DMSO} = 0,2$) angesetzt, deren pH-Werte mit zusätzlichen Millilitern Kalilauge (0,1M $x_{DMSO} = 0,2$) in äquidistanten Abständen eingestellt wurden. Die Kontrolle der Gleichgewichtseinstellung erfolgte hier über den Vergleich von Absorptionsspektren mehrerer Proben bis zur Konstanz der Intensität bei mehreren Wellenlängen ($\Delta I \leq 0,0009$).

Die UV/Vis-Spektren wurden mit einem Lichtleiter-Spektrometer *Tidas 100* der Firma J&M-Analytik AG, einem *Cary 50 UV/Vis-Spektralphotometer* der Firma Varian und

einem Lambda25 Zweistrahl-Spektrometer der Firma Perkin Elmer aufgenommen. Dazu wurden Küvetten aus QS Quarzglas mit einem Strahlengang von 1cm der Firma Hellma verwendet. Die pH-Werte wurden bei Proben $\text{pH} \geq 2$ mit einer *BlueLine* pH-Einstabmesskette (*17-pH-R*) mit Ag/AgCl-Referenzsystem der Firma Schott Instruments gemessen. Bei $\text{pH} < 2$ wurden die pH-Werte aus der Gesamtprotonenkonzentration berechnet. Zur Auswertung der diskontinuierlichen spektrophotometrischen Titrationsen wurde das Programm *SPECFIT*^{72,73} verwendet.

CV-MESSUNGEN

Alle CV-Messungen wurden an einem VA Computrace 797 (voltammetrischer Messstand mit eingebautem Potentiostat und Galvanostat) der Firma Methrom AG durchgeführt. Bei der verwendeten Arbeitselektrode handelte es sich um eine rotierende Scheibenelektrode (RDE) aus Gold. Als Bezugssystem diente eine Ag/AgCl/KCl(3M)-Elektrode (Nr.6.0728.020 Methrom) mit einem Potential gegen Normalwasserstoff von 208,7mV (bei 298K, bestimmt von Methrom); als Gegenelektrode wurde eine Platinelektrode verwendet. Alle Messungen wurden in partiell wässrigen DMSO-Lösungen ($x_{\text{DMSO}}=0,2$) bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Konzentration der vermessenen Lösungen betrug 5mM an Ligand und Metall sowie 0,5M an Kaliumchlorid.

7.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

7.2.1 Konditionierung des Anionenaustauscherharzes (AAV1)

100g Anionenaustauscher DOWEX 1X2 wurden, nach vorherigem Quellen über Nacht in 500mL Wasser und zweimaligem Wechsel der Flüssigkeit, in eine Chromatographiesäule gefüllt. Anschließend wurde die Säule mit 0,5L Wasser gewaschen und 1Liter 0,5M Natronlauge in die OH⁻-Form überführt. Danach wurde die Säule erneut mit Wasser bis zur neutralen Reaktion des Eluats gespült. Nach Verwendung der Säule wurde diese zur Aufbewahrung mit 1L 0,5M Salzsäure in die Cl⁻-Form überführt, neutral gewaschen und vor jeder Verwendung mit 1L 0,5M Natronlauge in die OH⁻-Form umgewandelt und bis zur neutralen Reaktion des Eluats gespült.

7.2.2 Herstellung von wässrigen DMSO-Lösungen mit definiertem Molenbruch (AAV2)

Zur Herstellung aller Lösungen wurde Reinstwasser verwendet, welches mit destilliertem Wasser unter Verwendung einer Synergy-Anlage der Firma Millipore hergestellt wurde. Da sich DMSO-Wasser-Mischungen erwärmen und eine Volumenkontraktion erfahren, müssen diese sukzessive nach dem Abkühlen aufgefüllt werden.

Zur Herstellung des Titriermittels wurde die benötigte Menge an DMSO (557,82g je Liter Lösung) eingewogen, dann Titrisol von der Firma Merck KGaA hinzugefügt und mit Argon entgastem Wasser aufgefüllt. Nach 20 Stunden wurde der Messkolben auf 298K temperiert und bis zum Eichstrich aufgefüllt.

Für die Messlösungen wurde zuerst die entsprechende Menge DMSO eingewogen, anschließend Ligand, gegebenenfalls Metallstammlösung, Ligand und Kaliumchlorid. Dann wurde mit Wasser aufgefüllt und nach 20h bei 298K exakt bis zum Eichstrich aufgefüllt. Die zur Kalibrierung verwendete Salzsäure wurde ebenfalls mit der entsprechenden Menge an DMSO (557,8g je Liter Lösung) angesetzt. Anschließend wurden 20mL 0,1M Salzsäure und 7,46g Kaliumchlorid hinzugefügt. Es wurde direkt im Anschluss einmal mit Wasser aufgefüllt, nach 20h wurde dann bei 298K exakt aufgefüllt.

7.3 Durchführung der Untersuchungen zum Auflösen von Ferrihydrit durch ausgewählte Liganden

Das verwendete Ferrihydrit ($\text{Fe}_5\text{O}_8\text{H}$) wurde aus 200g Eisen(III)chlorid-Hexahydrat und 40g Kaliumhydroxid hergestellt. Die Salze wurden gemeinsam unter starkem Rühren in 400mL destilliertem Wasser gelöst; nach Erkalten der Lösung wurde der braune Niederschlag abfiltriert, mit Wasser neutral gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Charakterisierung erfolgte über Röntgendiffraktometrie. Vor der Verwendung wurde der Niederschlag gemörsert, um eine gleichmäßige Größenverteilung der Proben zu gewährleisten.

Zur Herstellung des Acetatpuffers wurden für 250mL Lösung 139,5g DMSO, 17g (125mmol) Natriumacetat-Trihydrat und 7,5g (124mmol) Essigsäure (99%) eingewogen und mit destilliertem Wasser bis zum Eichstrich aufgefüllt. Die Herstellung des MES-Puffers erfolgte analog mit 139,5g DMSO, 26,7g (125mmol) MES und 5g (84mmol) Kaliumhydroxid (enthielt 20% Wasser) für 250mL Lösung.

Die Proben zur Auflösung des Ferrihydrits wurden mit 200mg Ferrihydrit und 15mL Lösung, die 1mM an Ligand waren, angesetzt. Die Lösung bestand aus einer der Pufferlösungen und 100 bis 200 μL der Stammlösung des Liganden (in reinem DMSO). Es wurden zusätzlich Vergleichsproben der Pufferlösungen mit Ferrihydrit hergestellt.

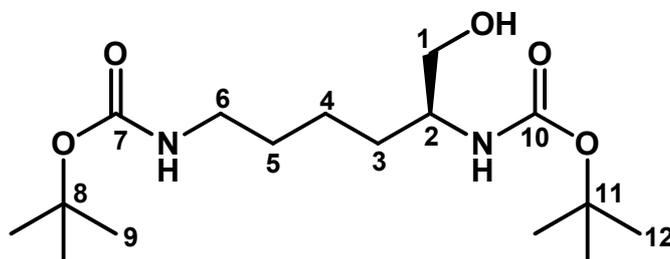
Die Gleichgewichtseinstellung wurde durch UV/Vis-Spektren der Lösungen kontrolliert. Nach drei Wochen wurden die Eisenkonzentrationen der filtrierten Lösungen mittels AAS bestimmt. Es wurden Proben mit Fe^{3+} -Konzentrationen zwischen 0,5 und 10mg/L vermessen. Proben, die über oder unter diesem Bereich lagen (was durch die UV/Vis-Spektren abgeschätzt wurde), wurden verdünnt bzw. mit einer Eisenstammlösung (ICP Eisenstandard: Fe_2O_3 in 5% HNO_3 , 1g Fe/L von Alfa Aesar GmbH & Co KG) aufgestockt. Die Proben mit Acetat-Puffern wurden um den Betrag, der auf Fe^{3+} -Komplexierung durch Acetat zurückzuführen war, korrigiert.

7.4 Ligandsynthesen

7.4.1 Synthese von Myxochelin A

(S)-2,6-Bis(tert-butyloxycarbonyl)amino-1-hexanol

Eine Mischung aus 9,5g (18mmol) *N*- α -*N*- ϵ -(Di-*tert*-Butoxycarbonyl)-(L)-lysin (DCHA); 2,7mL (19mmol) Triethylamin und 55ml Tetrahydrofuran (absolut) wurde unter Stickstoffatmosphäre auf 263K gekühlt. Nach langsamer Zugabe von 1,8mL (19mmol) Ethylchloroformiat wurde die Mischung auf Raumtemperatur erwärmt und 20h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde über Celite filtriert und zuerst mit 5g (132mmol) Natriumborhydrid versetzt; dann erfolgte die langsame Zugabe von 30mL Methanol. Anschließend wurde die Lösung für 20h unter Rückfluss erhitzt. Die erkaltete Reaktionslösung wurde mit 0,5M Salzsäure versetzt und das Produkt mittels Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösemittels und Trocknen unter Hochvakuum erhielt man 5,2g (16mmol) (S)-2,6-Bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino-1-hexanol (85%) als farbloses Harz.



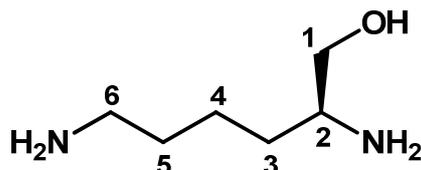
$^1\text{H-NMR(DMSO-}d_6\text{)[ppm]}$: 1,37 (sh, 24H, 3-H 4-H 5-H 9-H 12-H); 2,87 (m, 2H, 6-H); 3,31 (sh, 3H, 1-H 2-H); 4,53 (bs, 1H, 1-OH); 6,39 (d, $^3J_{2\text{-NH},2}=8,0$, 1H, 2-NH); 6,71 (t, $^3J_{6\text{-NH},6}=5,6$, 1H, 6-NH)

$^{13}\text{C-NMR(DMSO-}d_6\text{)[ppm]}$: 22,9 (C-4); 28,3 (C-9 C-12); 29,8 (C-5); 30,9 (C-3); 40,1 (C-6); 52,4 (C-2); 63,9 (C-1); 77,5 (C-8 C-11); 155,7 (C-7 C-10)

$\text{IR[cm}^{-1}\text{]}$: 3318(br); 2934, 1683, 1519, 1455, 1391, 1365, 1247, 1165, 1061, 864, 781, 645, 574, 544, 518

(S)-2,6-Diaminohexan-1-ol

Unter leichtem Erwärmen wurden 8,1g (25mmol) (S)-2,6-Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)-amino-1-hexanol in 80mL 3M Salzsäure umgesetzt. Nach 20h Rühren bei Raumtemperatur war die Reaktion vollständig; nach Entfernung des Wassers wurde das Dihydrochlorid des (S)-2,6-Diaminohexan-1-ols als leicht gelbes Harz erhalten. Dieses wurde über einen Dowex 1x2 Cl⁻ Anionenaustauscher gereinigt und man erhielt 3,3g (25mmol) (S)-2,6-Diaminohexan-1-ol (99%) als leicht gelbes Öl.



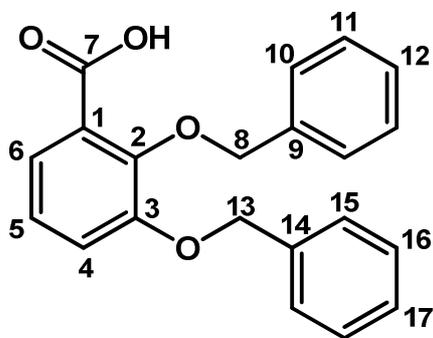
¹H-NMR(D₂O-d₂)[ppm]: 1,31 (m, 1H, 4-H); 1,46 (sh, 4H, 3-H 5-H); 2,65 (t, ³J_{6,6-NH}=7, 2H, 6-H); 2,81 (m, 1H, 2-H); 3,37 (dd, ³J_{1a,2}=7,0 ³J_{1a,1b}=11,2, 1H, 1a-H); 3,56 (dd, ³J_{1b,2}=4,8 ³J_{1b,1a}=11,2, 1H, 1b-H)

¹³C-NMR(D₂O-d₂)[ppm]: 24,6 (C-4); 29,4 (C-5); 31,0 (C-3); 42,0 (C-6); 55,7(C-2); 63,5 (C-1)

IR[cm⁻¹]: 3277(br); 2926, 2858, 1738, 1551, 1398, 1166, 1048, 920, 733, 650, 567, 541, 530

2,3-Dibenzoxybenzoesäure

In 1,2L Aceton wurden 20g (130mmol) 2,3-Dihydroxybenzoesäure gelöst und mit 100g Kaliumcarbonat vermischt. Anschließend wurden 90mL (758mmol) Benzylbromid hinzugefügt und die Mischung für 20h unter Rückfluss erhitzt. Die Mischung wurde bei Raumtemperatur filtriert und das Filtrat vom Lösemittel befreit. Das klare Öl wurde mit 400mL Methanol und 100mL 5M Natronlauge versetzt und 3h refluxiert. Anschließend wurde diese Lösung stark eingeeengt und der Rückstand in destilliertem Wasser aufgenommen. Nach zweifachem Extrahieren mit Hexan wurde die wässrige Phase mit Salzsäure auf pH=2 eingestellt und das Produkt in Form von creme-weißen Nadeln auskristallisiert. Nach Trocknung unter Hochvakuum erhielt man 40,8g (122mmol) 2,3-Dibenzoxybenzoesäure (94%).



$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3\text{-d}_1)[\text{ppm}]$: 5,19 (s, 2H, 13-H); 5,26 (s, 2H, 8-H); 7,19 (m, 1H, 5-H); 7,26 (m, 1H, 4-H); 7,42 (sh, 10H, 10-12-H 15-17H); 7,73 (m, 1H, 6-H)

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3\text{-d}_1)[\text{ppm}]$: 71,5 (C-13); 77,1 (C-8); 118,9 (C-4); 123,0 (C-1); 124,4 (C-6); 125,0 (C-5); 127,7, 128,5, 128,8, 129,3 (C-11 C-12 C16 C17); 129,3 (C-10); 134,7 (C-9); 135,8 (C-14); 147,1 (C-2); 151,3 (C-3); 165,6 (C-7)

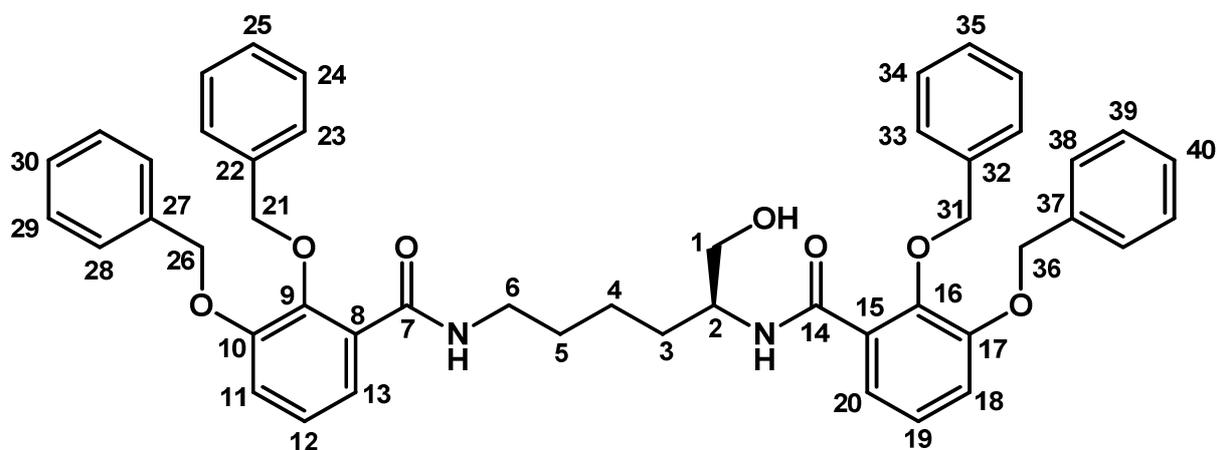
$\text{IR}[\text{cm}^{-1}]$: 3032(br); 1683, 1576, 1472, 1415, 1376, 1302, 1258, 1213, 1088, 1035, 961, 915, 863, 845, 814, 766, 750, 696, 617, 569, 536

CHN-Analyse: $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_4 \cdot (\text{HCl})_{31/100}$ (M=345,67g/mol)
 % berechnet: C:72,97 H:5,34
 % gefunden: C:72,97 H:5,07

(S)-2,6-Bis(2,3-dibenzoxybenzamido)-hexan-1-ol

Zur Herstellung des Säurechlorids wurden 3,0g (9,0mmol) 2,3-Dibenzoxybenzoesäure mit 2,6mL (36mmol) Thionylchlorid und 50 μ L Dimethylformamid in 60mL Dichlormethan bei Raumtemperatur innerhalb von 3h umgesetzt. Überschüssiges Thionylchlorid und Dichlormethan wurden per Destillation entfernt.

Das Säurechlorid wurde in 16mL Dichlormethan gelöst, langsam bei 273K zu einer stark gerührten Mischung aus 0,63g (4,8mmol) (S)-2,6-Diaminohexan-1-ol, 20mL Natronlauge (10%wt) und 20mL Dichlormethan getropft und weitere 20h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde Dichlormethan entfernt und der Rückstand mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernung erhielt man ein braunes Öl, welches säulenchromatographisch über Kieselgel (EE:Hexan (1:10) \rightarrow (1:5)) gereinigt wurde. Man erhielt 2,2g (2,9mmol) (S)-2,6-Bis(2,3-dibenzoxybenzamido)-hexan-1-ol (60%) als schwach gelbes Öl.



$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$ [ppm]: 1,22 (m, 2H, 4-H); 1,35 (sh, 4H, 3-H 5-H); 3,10 (dt, $^3J_{6,5}=6,8$ $^3J_{6,6-\text{NH}}=5,6$, 2H, 6-H); 3,33 (m, 2H, 1-H); 3,86 (m, 1H, 2-H); 4,72 (bs, 1H, 1-OH); 5,00 (sh, 4H, 21-H 31-H); 5,21 (s, 4H, 26-H 36-H); 7,10 (d, $^3J_{13;12}=5,6$, 1H, 13-H); 7,11 (dd+dd, $^3J_{12,11}=8,0$ $^3J_{12,13}=5,6$ $^3J_{19,18}=8,8$ $^3J_{19,20}=8,0$, 2H, 12-H 19-H); 7,23 (dd, $^3J_{20,19}=8,0$ $^3J_{20,18}=2,0$, 1H, 20-H); 7,29 (sh, 22H, 11-H 18-H 23-25-H 28-30-H 33-35-H 38-40-H); 8,01 (d, $^3J_{2-\text{NH},2}=8,4$, 1H, 2-NH); 8,14 (t, $^3J_{6-\text{NH},6}=5,6$, 1H, 6-NH)

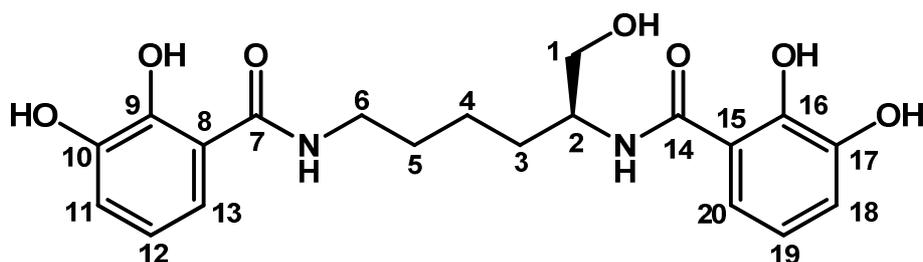
$^{13}\text{C-NMR}(\text{DMSO-}d_6)$ [ppm]: 23,0 (C-4); 28,9 (C-5); 30,4 (C-3); 38,8 (C-6); 50,8 (C-2); 62,8 (C-1); 70,0 (C-26 C-36); 75,0 (C-21 C-31); 115,6, 115,9 (C-11 C-18); 120,7, 121,1 (C-13 C-20); 124,0 (C-12 C-19); 127,7, 127,8, 127,9, 128,0, 128,1, 128,2,

128,3 (C-23-25 C-28-30 C-33-35 C-38-40); 130,0, 130,9 (C-8 C-15); 136,6, 136,7, 136,8, 136,9 (C-22 C-27 C-32 C-37); 145,0, 145,2 (C-9 C-16); 151,4 (C-10 C-17); 164,8 (C-14); 165,3 (C-7)

IR[cm⁻¹]: 3354 (br); 2978, 2361, 1630, 1574, 1545, 1450, 1306, 1265, 1215, 1084, 1049, 857, 822, 733, 696, 592, 542, 532

(S)-2,6-Bis[(2,3-dihydroxybenzamido)-hexan-1-ol [Myxochelin A]

9,2g (12mmol) (S)-2,6-Bis[(2,3-dibenzoxybenzamido)-hexan-1-ol wurden in 120mL Methanol gelöst und mit 13g (206mmol) Ammoniumformiat und 0,60g Pd/C (10%) versetzt. Die Mischung wurde 3h refluxiert, anschließend filtriert und das Lösemittel entfernt. Das so durch quantitative Umsetzung erhaltene Rohprodukt wurde per HPLC (RP-C18/MeOH-Wasser(0,1%AS)) aufgereinigt. Man erhielt, nach der Entfernung des Lösemittels und Trocknung unter Hochvakuum, 2,7g (6,7mmol) Myxochelin A (56%) als hellgelben Feststoff.



¹H-NMR (DMSO-*d*₆)[ppm]: 1,34 (m, 2H, 4-H); 1,59 (m, 4H, 3-H 5-H); 3,27 (dt, ³J_{6,5}=6,6Hz ³J_{6,6-NH}=5,6Hz, 2H, 6-H); 3,44 (dd+dd, ³J_{1a,1b}=10,8Hz ³J_{1a,2}=5,6Hz ³J_{1b,2}=6,0Hz, 2H, 1-H); 4,01 (m, 1H, 2-H); 4,80 (bs, 1H, 1-OH); 6,66 (dd, ³J_{12,11}=7,6Hz ³J_{12,13}=8,4Hz, 1H, 12-H); 6,68 (dd, ³J_{19,18}=7,6Hz ³J_{19,20}=8,4Hz, 1H, 19-H); 6,90 (d, ³J_{11,12}=7,6Hz, 1H, 11-H); 6,92 (d, ³J_{18,19}=7,6Hz, 1H, 18-H); 7,26 (d, ³J_{13,12}=8,4Hz, 1H, 13-H); 7,36 (d, ³J_{20,19}=8,4Hz, 1H, 20-H); 8,36 (d, ³J_{2-NH,2}=8,8Hz, 1H, 2-NH); 8,79 (t, ³J_{6-NH,6}=5,6Hz, 1H, 6-NH)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆)[ppm]: 23,1 (C-4); 28,8 (C-5); 30,1 (C-3); 38,8 (C-6); 51,2 (C-2); 63,1 (C-1); 114,9 (C-8); 115,2 (C-15); 117,0 (C-13); 117,5 (C-20); 117,7 (C-12); 117,8 (C-19); 118,7 (C-11 C-18); 146,1 (C-10 C-17); 149,4 (C-16); 149,6 (C-9); 169,5 (C-7); 169,7 (C-14)

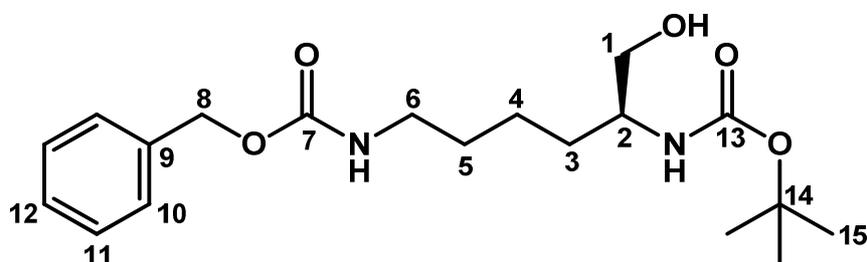
IR[cm⁻¹]: 3453(br); 2944, 2362, 1635, 1592, 1531, 1487, 1456, 1321, 1225, 1169, 1082, 958, 843, 785, 739, 684, 670, 636, 594, 573, 554

CHN-Analyse: C₂₀H₂₄N₂O₇·(H₂O)_{69/100} (M=416,84g/mol)
 % berechnet: C:57,63 H:6,13 N:6,72
 % gefunden: C:57,62 H:6,03 N:6,67

7.4.2 Synthese von Methyl-Myxochelin A

(S)-2,6-Bis[N- ϵ -(Benzyloxycarbonyl)-N- α -(tert-butoxycarbonyl)]amino-1-hexanol

Analog zur Synthese von (S)-2,6-Bis(*tert*-butyloxycarbonyl)amino-1-hexanol (siehe Seite 130) wurden 10g (26mmol) *N*- ϵ -(Benzyloxycarbonyl)-*N*- α -(*tert*-butoxycarbonyl)-(L)-lysin mit 6,0mL (43mmol) Triethylamin, 70mL Tetrahydrofuran und 3,0mL (31mmol) Ethylchloroformiat umgesetzt. Nach Filtration über Celite wurde die erhaltene Lösung mit 6g (160mmol) Natriumborhydrid und 70mL Methanol versetzt. Nach organisch-wässriger Aufarbeitung und vollständiger Entfernung des Lösemittels erhielt man 9,2g (25mmol) (S)-2,6-Bis[N- ϵ -(Benzyloxycarbonyl)-N- α -(*tert*-butoxycarbonyl)]-amino-1-hexanol (96%) als farbloses Harz.



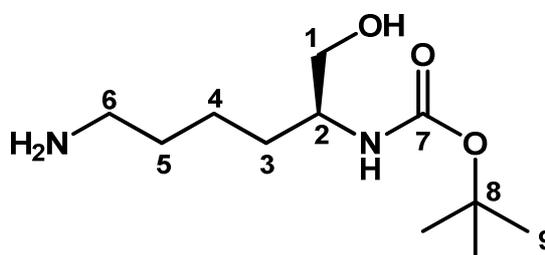
$^1\text{H-NMR(DMSO-}d_6\text{)[ppm]}$: 1,22 (m, 2H, 4-H); 1,35 (sh, 13H, 3-H 5-H 15-H); 2,98 (dt, $^3J_{6,5}=6,4$ $^3J_{6,6\text{-NH}}=5,4$, 2H, 6-H); 3,20 (m, 1H, 2-H); 3,32 (m, 2H, 1-H); 4,57 (bs, 1H, 1-OH); 5,00 (m, 2H, 8-H); 6,44 (d, $^3J_{2\text{-NH},2}=8,0$, 1H, 8-H); 7,23 (t, $^3J_{6\text{-NH},6}=5,4$, 1H, 6-NH); 7,35 (sh, 5H, 10-12-H)

$^{13}\text{C-NMR(DMSO-}d_6\text{)[ppm]}$: 22,7 (C-4); 28,1 (C-15); 29,3 (C-5); 30,5 (C-3); 39,9 (C-6); 52,0 (C-2); 63,5 (C-8); 65,0 (C-1); 77,2 (C-14); 127,6, 128,2 (C-10 C-11); 137,2 (C-9); 155,3 (C-13); 159,9 (C-7)

$\text{IR[cm}^{-1}\text{]}$: 3315(br), 2933(br), 1682, 1520, 1454, 1390, 1365, 1246, 1165, 1047, 1022, 910, 850, 777, 737, 696, 606

(S)-2,6-Bis(N- α -(tert-butoxycarbonyl))amino-1-hexanol

Eine Lösung von 13,2g (36mmol) (S)-2,6-Bis[N- ϵ -(Benzyloxycarbonyl)-N- α -(tert-butoxycarbonyl)]amino-1-hexanol in 150mL Methanol wurde mit 11g (174mmol) Ammoniumformiat und 0,30g Pd/C (10%) versetzt. Die Mischung wurde 3h unter Rückfluss erhitzt, die abgekühlte Reaktionsmischung wurde filtriert, anschließend wurde das Methanol entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in 0,5M Natronlauge gelöst und mit Essigsäureethylester extrahiert. Nach vollständiger Entfernung des Lösemittels erhielt man 7,4g (32mmol) (S)-2,6-Bis(N- α -(tert-butoxycarbonyl))amino-1-hexanol (89%) als hellgelbes Öl.

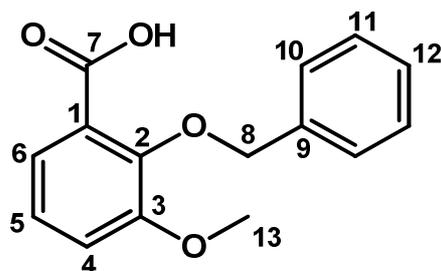


$^1\text{H-NMR}(\text{MeOD-}d_4)[\text{ppm}]$: 1,44 (sh, 13H, 4-H 5-H 9-H); 1,61 (m, 2H, 3-H); 2,82 (t, $^3J_{6,5}=7,6$, 2H, 6-H); 3,48 (sh, 3H, 1-H 2-H)

$^{13}\text{C-NMR}(\text{MeOD-}d_4)[\text{ppm}]$: 24,3 (C-4); 28,8 (C-9) ,30,0 (C-5); 31,9 (C-3); 41,1(C-6); 53,5(C-2); 65,3 (C-1); 79,9 (C-8); 158,4(C-7)

2-Benzoy-3-methoxy-benzoessäure

Analog zur Synthese von 2,3-Dibenzoybenzoessäure (siehe Seite 132) wurden 10g (59mmol) 2-Hydroxy-3-methoxy-benzoessäure mit 15mL (126mmol) Benzylbromid und 100g Kaliumcarbonat in 1L Aceton umgesetzt und aufgearbeitet. Man erhielt 13,2g (51mmol) 2-Benzoy-3-methoxy-benzoessäure (86%) in Form von creme-weißen Nadeln.



¹H-NMR(CDCl₃-d₁)[ppm]: 3,93 (s, 3H, 13-H); 5,23 (s, 2H, 8-H); 7,15 (sh, 2H, 4-H 5-H); 7,36 (sh, 3H, 10-H 12-H); 7,44 (m, 2H, 11-H); 7,65 (m, 1H, 6-H)

¹³C-NMR(CDCl₃-d₁)[ppm]: 56,0 (C-13); 76,6 (C-8); 117,2 (C-4); 122,9 (C-1); 123,5 (C-6); 124,7 (C-5); 128,6, 128,9 (C11 C-12 C-13); 135,0 (C-9); 146,7 (C-2); 152,2 (C-3); 166,2 (C-7)

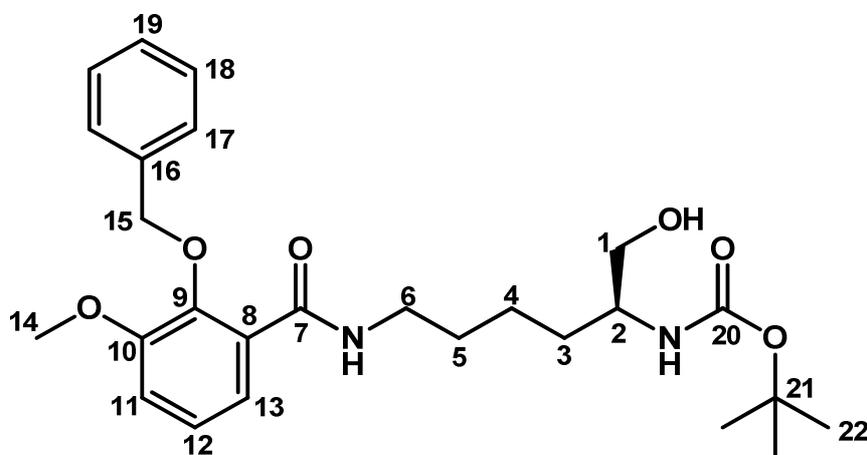
IR[cm⁻¹]: 3020(br); 1696, 1579, 1459, 1378, 1312, 1260, 1220, 1172, 1089, 1052, 974, 917, 865, 811, 749, 729, 697, 653, 619, 557, 532

CHN-Analyse: C₁₅H₁₄O₄·(H₂O)_{32/100} (M=264,03g/mol)
 % berechnet: C:68,23 H:5,59
 % gefunden: C:68,24 H:5,42

(S)-2-[N-ε-(2-Benzoxo-3-methoxy-benzamido)-N-α-(tert-butoxycarbonyl)]amino-1-hexanol

Eine Lösung aus 4,4g (17mmol) 2-Benzoxo-3-methoxy-benzoesäure, 4mL (55mmol) Thionylchlorid, Dimethylformamid (kat.) und 100mL Dichlormethan wurde 3h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend entfernte man das Lösemittel und überschüssiges Thionylchlorid per Destillation.

Das so erhaltene 2-Benzoxo-3-methoxy-benzoesäurechlorid wurde in 20mL Dichlormethan gelöst und langsam unter heftigem Rühren bei 273K zu einer Mischung aus 3,3g (14mmol) (S)-2,6-Bis(N-α-(tert-butoxycarbonyl))amino-1-hexanol, 100mL Dichlormethan und 50mL Natronlauge (10%wt) getropft. Nach 20h Rühren bei Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch mit Dichlormethan extrahiert und mit 0,5M Salzsäure und destilliertem Wasser gewaschen. Nachdem die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet wurde, wurde das Lösemittel entfernt. Das so erhaltene braune Öl wurde säulenchromatisch (EE:Hexan(1:4)→(3:1)) über Kieselgel gereinigt. Man erhielt 5,4g (11mmol) (S)-2-[N-ε-(2-Benzoxo-3-methoxy-benzamido)-N-α-(tert-butoxycarbonyl)]amino-1-hexanol (80%) als farbloses Öl.



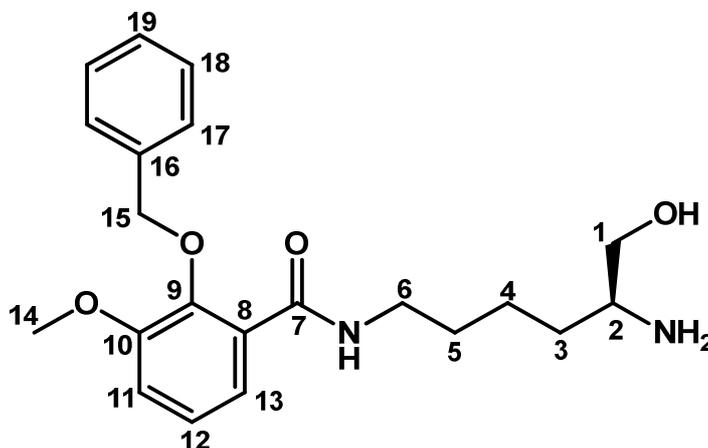
¹H-NMR(CDCl₃-d₁)[ppm]: 1,31 (sh, 6H, 3-H 4-H 5-H); 1,44 (s, 9H, 22-H); 3,23 (m, 2H, 6-H); 3,56 (sh, 3H, 1-H 2-H); 3,94 (s, 3H, 14-H); 4,87 (bs, 1H, 1-OH); 5,08 (s, 2H, 15-H); 7,08 (dd, ³J_{11,12}=8,0 ³J_{11,13}= 1,6, 1H, 11-H); 7,17 (dd, ³J_{12,11}=8,0 ³J_{12,13}=8,0, 1H, 12-H); 7,43 (sh, 3H, 17-H 18-H 19-H) 7,71 (dd, ³J_{13,12}=8,0 ³J_{13,11}= 1,6, 1H, 13-H)

¹³C-NMR(CDCl₃-d₁)[ppm]: 22,7 (C-4); 28,4 (C-22); 29,2 (C-5); 30,3 (C-3); 38,6 (C-6); 56,2 (C-14); 65,5 (C-1); 76,4 (C-15); 77,2 (C-21); 115,4 (C-11); 122,9 (C-13); 124,5 (C-12); 126,8 (C-8); 128,6, 128,8 (C-17 C-18 C-19); 136,5 (C-16); 146,4 (C-9); 152,5 (C-10); 165,6 (C-7 C-20)

IR[cm⁻¹]: 3350(br); 2933(br); 1644, 1575, 1630, 1454, 1365, 1262, 1167, 1074, 960, 916, 854, 753, 699, 572, 529, 508

(S)-2-[N-ε-(2-Benzoxo-3-methoxy-benzamido)]amino-1-hexanol

Eine Mischung aus 10,8g (23mmol) (S)-2-[N-ε-(2-Benzoxo-3-methoxy-benzamido)-N-α-(*tert*-butoxycarbonyl)]amino-1-hexanol und 3mL Dichlormethan wurde tropfenweise bei Raumtemperatur mit 3mL Phosphorsäure (85%) versetzt. Nach drei Tagen Rühren bei Raumtemperatur war die Reaktion vollständig und die Reaktionsmischung wurde mit 15mL destilliertem Wasser versetzt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung bei 273K mit Natronlauge (50%wt) auf pH=7-8 eingestellt. Die Lösung wurde mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösemittels erhielt man 8,0g (22mmol) (S)-2-[N-ε-(2-Benzoxo-3-methoxy-benzamido)]amino-1-hexanol (94%) als schwach gelbes Öl.



¹H-NMR(CDCl₃-d₁)[ppm]: 1,21 (sh, 4H, 4-H 5-H); 1,26 (m, 2H, 3-H); 3,10 (m, 2H, 6-H); 3,18 (m, 1H, 2-H); 3,57, 3,73 (m, 2H, 1-H); 3,77 (s, 3H, 14-H); 4,91 (s, 2H, 15-H); 6,91 (m, 1H, 11-H); 6,99 (m, 1H, 12-H); 7,29 (sh, 5H, 17-H 18-H 19-H); 7,47 (d, ³J_{13,12}=6,8, 1H, 13-H); 7,91 (m, 1H, 6-NH)

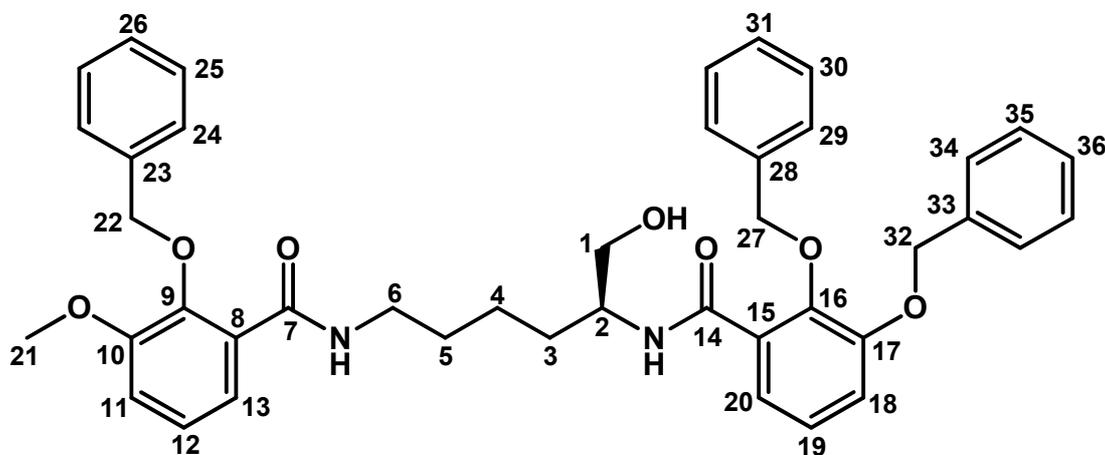
¹³C-NMR(CDCl₃-d₁)[ppm]: 22,7 (C-4); 28,8 (C-3 C-5); 39,4 (C-6); 53,1 (C-2); 56,0 (C-14); 61,3 (C-1); 76,1 (C-15); 115,2 (C-11); 122,4 (C-13); 124,3 (C-12); 127,2 (C-8); 128,6, 128,7 (C-17 C-18 C-19); 136,4 (C-16); 146,2 (C-9); 152,5 (C-10)

IR[cm⁻¹]: 3384(br); 2940(br); 1736, 1645, 1575, 1531, 1470, 1372, 1241, 1175, 1044, 968, 810, 755, 734, 698, 630, 606, 562, 512

**(S)-2-(2,3-Dibenzoxybenzamido)-
6-(2-Benzoxo-3-methoxy-benzamido)-hexan-1-ol**

Aus 1,7g (5,1mmol) 2,3-Dibenzoxybenzoesäure wurde, wie in der Synthese des (S)-2,6-Bis(2,3-dibenzoxybenzamido)-hexan-1-ols (siehe Seite 133) beschrieben, das entsprechende Säurechlorid hergestellt.

Eine Mischung aus 1,0g (2,7mmol) (S)-2-[N-ε-(2-Benzoxo-3-methoxy-benzamido)]-amino-1-hexanol, 30mL Dichlormethan und 30mL Natronlauge (10%wt) wurde auf 237K gekühlt und langsam, unter heftigem Rühren, mit dem zuvor hergestelltem und in 30mL Dichlormethan gelöstem 2,3-Dibenzoxybenzoesäurechlorid versetzt. Nach 20h Rühren bei Raumtemperatur entfernte man das Dichlormethan und extrahierte den Rückstand mit Essigsäureethylester. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das nach Entfernung des Lösemittels erhaltene braune Öl wurde säulenchromatographisch über Kieselgel (EE:Hexan(1:3)→(5:1)) gereinigt. Man erhielt 0,55g (0,80mmol) (S)-2-(2,3-Dibenzoxybenzamido)-6-(2-Benzoxo-3-methoxybenz-amido)-hexan-1-ol (29%) in Form eines weißen Harzes.



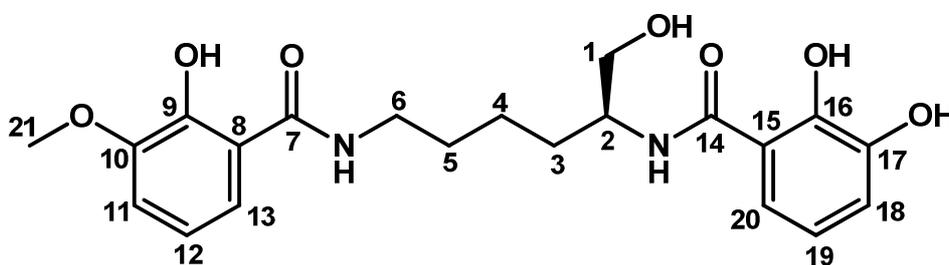
¹H-NMR(DMSO-d₆)[ppm]: 1,32 (sh, 6H, 3-H 4-H 5-H); 3,09 (dt, ³J_{6,5}=6,8 ³J_{6,6-NH}=6,0, 2H, 6-NH); 3,30, 3,39 (m, 2H, 1-H); 3,85 (sh, 3H, 2-H 21-H); 4,99 (sh, 4H, 22-H 27-H); 5,19 (s, 2H, 32-H); 7,13 (sh, 4H, 12-H 13-H 19-H 20-H); 7,32 (sh, 17H, 11-H 18-H 24-26-H 29-31-H 34-36-H); 8,03 (d, ³J_{2-NH,2}=8,4, 1H, 2-NH); 8,13 (t, ³J_{6-NH,6}=5,6, 1H, 6-NH)

¹³C-NMR(DMSO-d₆)[ppm]: 23,1 (C-4); 28,9 (C-5); 30,4 (C-3); 38,8 (C-6); 50,9 (C-2); 56,2 (C-21); 62,9 (C-1); 70,3 (C-32); 75,0 (C-27); 114,2 (C-18); 116,1 (C-11); 121,2 (C-13 C-20); 124,2, 124,4 (C-12 C-19); 127,8, 127,9, 128,1, 128,2, 128,3, 128,5, (C-

24-26 C29-31 C34-36); 130,0, 130,1 (C-8 C-15); 136,7 (C-33); 137,1, 137,2 (C-23 C-28); 144,9, 145,3 (C-9 C-16); 151,6 (C-17); 152,5 (C-10); 165,0 (C-7); 165,6 (C-14)

(S)-2-(2,3-Dihydroxybenzamido)**-6-(2-Hydroxy-3-methoxy-benzamido)-hexan-1-ol [Methyl-Myxochelin A]**

Die Synthese von Methyl-Myxochelin A erfolgte ebenfalls analog zu der von Myxochelin A (siehe Seite 135). Hierzu wurden 0,55g (0,80mmol) (S)-2-(2,3-Dibenzoxybenzamido)-6-(2-Benzoxo-3-methoxybenzamido)-hexan-1-ol mit 100mg Pd/C (10%) und 650mg (10mmol) Ammoniumformiat in 6mL Methanol umgesetzt. Das erhaltene Rohprodukt wurde ebenfalls säulenchromatographisch per HPLC (RP-C18/MeOH-Wasser (0,1%AS)) gereinigt und unter Hochvakuum getrocknet. Es wurden 0,31mg (0,73mmol) (S)-2-(2,3-Dihydroxybenzamido)-6-(2-Hydroxy-3-methoxy-benzamido)-hexan-1-ol (91%) als hellbrauner Feststoff erhalten.



¹H-NMR (DMSO-d₆)[ppm]: 1,35 (m, 2H, 4-H); 1,59 (m, 4H, 3-H 5-H); 3,28 (dt, ³J_{6,5}=6,4 ³J_{6,-NH}=5,2, 2H, 6-H); 3,44 (dd+dd, ³J_{1a,1b}=10,8 ³J_{1a,2}=5,6 ³J_{1b,2}=4,4, 2H, 1-H); 3,78 (s, 3H, 21-H); 4,01 (m, 1H, 2-H); 6,68 (dd, ³J_{19,18}=7,6 ³J_{19,20}=8,4, 1H, 19-H); 6,79 (dd, ³J_{12,11}=8,0 ³J_{12,13}=8,4, 1H, 12-H); 6,92 (d, ³J_{18,19}=8,0, 1H, 18-H); 7,09 (d, ³J_{11,12}=8,0, 1H, 11-H); 7,36 (d, ³J_{20,19}=8,4, 1H, 20-H); 7,40 (d, ³J_{13,12}=8,4, 1H, 13-H); 8,37 (d, ³J_{2,-NH,2}=8,8, 1H, 2-NH); 8,82 (t, ³J_{6,-NH,6}=5,2, 1H, 6-NH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆)[ppm]: 23,1 (C-4); 28,7 (C-5); 30,3 (C-3); 38,8 (C-6); 51,1 (C-2); 55,6 (C-21); 63,0 (C-1); 114,7 (C-8); 115,1 (C-15); 115,2 (C-11); 117,4 (C-20); 117,6 (C-12 C-19); 118,3 (C-13); 118,6 (C-18); 146,1 (C-17); 148,4 (C-10); 149,4 (C-16); 150,8 (C-9); 169,4 (C-7 C-14)

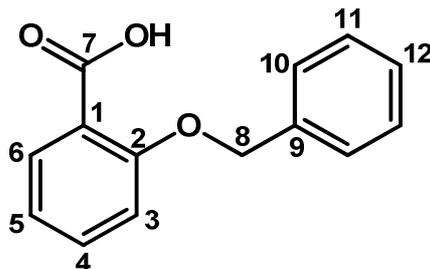
IR[cm⁻¹]: 3346(br), 2937(br), 1633, 1583, 1454, 1334, 1242, 1173, 1074, 833, 777, 735, 588, 565, 546, 532

CHN-Analyse: C₂₁H₂₆N₂O₇·(H₂O)_{33/100} (M=424,39g/mol)
 % berechnet: C:59,43 H:6,33 N:6,60
 % gefunden: C:59,44 H:6,21 N:6,61

7.4.3 Synthese von Didesoxy-Myxochelin A

2-Benzoxybenzoesäure

Analog zur Synthese von 2,3-Dibenzoxybenzoesäure (siehe Seite 132) wurden 8,3g (60mmol) 2-Hydroxybenzoesäure mit 15mL (128mmol) Benzylbromid und 100g Kaliumcarbonat in 1000mL Aceton umgesetzt und aufgearbeitet. Man erhielt 13g (57mmol) 2-Benzoxybenzoesäure (95%) in Form von weißen Nadeln.



$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3\text{-d}_1)[\text{ppm}]$: 5,29 (s, 2H, H-8); 7,14 (sh, 2H, 3-H 5H); 7,44 (sh, 5H, 10-H 11-H 12-H); 7,55 (m, 1H, 4-H); 8,19 (dd, $^3J_{6,5}=8,0$, $^3J_{6,4}=2,0$, 1H, 6-H)

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3\text{-d}_1)[\text{ppm}]$: 72,1 (C-8); 113,0 (C-3); 118,0 (C-1); 122,4 (C-5); 127,9 (C-10); 129,1 (C-11 C-12); 133,8 (C-6); 134,9 (C-9); 135,0 (C-4); 157,4 (C-2); 165,5 (C-7)

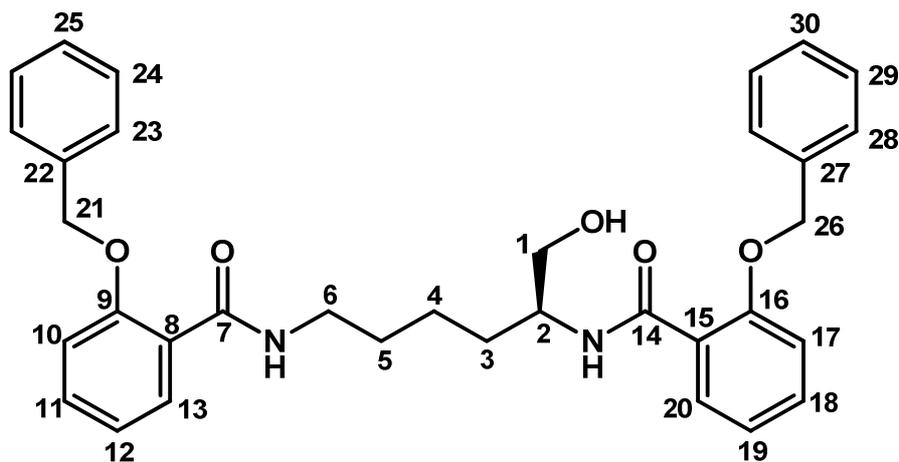
$\text{IR}[\text{cm}^{-1}]$: 2864(br), 1676, 1599, 1496, 1462, 1450, 1417, 1387, 1304, 1240, 1163, 1144, 1103, 1090, 1026, 916, 852, 829, 781, 744, 696, 661, 625, 577, 569, 551, 522

CHN-Analyse: $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_3$ (M=228,24g/mol)
% berechnet: C:73,67 H:5,31
% gefunden: C:73,69 H:5,44

(S)-2,6-Bis(2-benzoybenzamido)-hexan-1-ol

Die Synthese erfolgte analog zu der des (S)-2,6-Bis[(2,3-dibenzoxybenzamido]-1-hexanols (siehe Seite 133). Dazu wurden 6,5 (29mmol) 2-Benzoybenzoesäure mit 8mL (110mmol) Thionylchlorid und 50 μ L Dimethylformamid in 100mL Dichlormethan zum 2-Benzoybenzoesäurechlorid umgesetzt.

Eine Mischung aus 1,9g (14mmol) (S)-2,6-Diaminohexan-1-ol, 54mL Dichlormethan und 40mL Natronlauge (10%wt) wurde unter heftigem Rühren auf 273K gekühlt und anschließend langsam mit dem in 60mL Dichlormethan gelöstem Säurechlorid versetzt. Nach 20h Rühren bei Raumtemperatur wurde Dichlormethan entfernt und die wässrige Mischung mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit destilliertem Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das so erhaltene hellbraune Öl wurde säulenchromatisch (EE:Hexan (1:5)→(5:1)) über Kieselgel gereinigt. Man erhielt 3,5g (6,3mmol) (S)-2,6-Bis(2-benzoybenzamido)-1-hexanol (45%) als weißen kristallinen Feststoff.



¹H-NMR(DMSO-*d*₆)[ppm]: 1,10 (m, 2H, 4-H); 1,26 (sh, 4H, 3-H 5-H); 3,12 (dt, ³*J*_{6,5}=7,2, ³*J*_{6,6-NH}=5,6, 2H, 6-H); 3,24 (dd, ³*J*_{1a,1b}=10,4 ³*J*_{1a,2}=5,6, 1H, 1a-H); 3,34 (dd, ³*J*_{1b,1a}=10,4 ³*J*_{1b,2}=4,4, 1H, 1b-H); 3,85 (m, 1H, 2-H); 4,70 (bs, 1H, 1-OH); 5,20 (s, 4H, 21-H 26-H); 7,02 (dd, ³*J*_{12,11}=7,6 ³*J*_{12,13}=7,6, 1H, 12-H); 7,05 (dd, ³*J*_{19,18}=7,6 ³*J*_{19,20}=7,6, 1H, 19-H); 7,20 (d, ³*J*_{10,11}=7,6, 1H, 10-H); 7,25 (d, ³*J*_{17,18}=8,0, 1H, 17-H); 7,38 (sh, 12H, 11-H 18-H 23-25-H 28-30-H); 7,70 (dd, ³*J*_{13,12}=7,6 ³*J*_{13,11}=1,6); 7,81 (dd, ³*J*_{20,19}=7,6 ³*J*_{20,18}=1,6, 1H, 20-H); 7,89 (d, ³*J*_{2-NH,2}=8,4, 1H, 2-NH); 8,06 (t, ³*J*_{6-NH,6}=5,6, 1H, 6-NH)

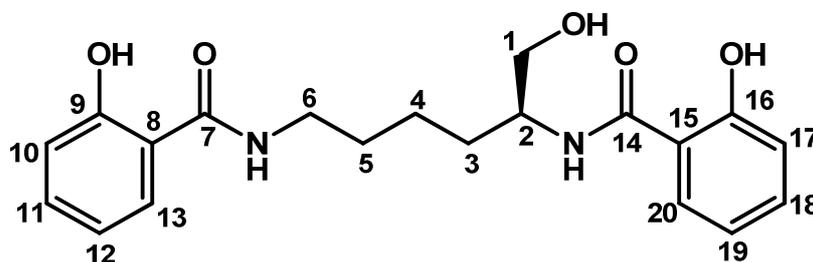
¹³C-NMR(DMSO-*d*₆)[ppm]: 22,8 (C-4); 28,8 (C-5); 30,4 (C-3); 38,8 (C-6); 50,7 (C-2); 62,9 (C-1); 69,9, 70,2 (C-21 C-26); 113,2 (C-10 C-17); 120,6 (C-12); 120,7 (C-19);

123,0 (C-15); 123,9 (C-8); 127,7, 128,0, 128,1, 128,4 (C-23-26 C28-30); 130,1 (C-13); 130,5 (C-20); 131,7 (C-11); 132,0 (C-18); 136,0, 136,3 (C-22 C-27); 155,7 (C-9); 155,9 (C-16); 164,2 (C-14); 164,8 (C-7)

IR[cm⁻¹]: 3352(br), 2935(br), 1620, 1599, 1545, 1483, 1446, 1429, 1302, 1225, 1161, 1105, 991, 918, 860, 822, 750, 698, 625, 592, 579, 559, 532, 521

(S)-2,6-Bis(2-hydroxybenzamido)-1-hexanol [Didesoxy-Myxochelin A]

Die Synthese von (S)-2,6-Bis(2-hydroxybenzamido)-hexan-1-ol erfolgte analog zu der von Myxochelin A (siehe Seite 135). Dazu wurden 2,6g (4,8mmol) (S)-2,6-Bis(2-benzyloxybenzamido)-1-hexanol in 50ml Methanol gelöst und mit 0,30g Pd/C (10%) und 1,5g (24mmol) Ammoniumformiat umgesetzt. Nach drei Stunden Erhitzen unter Rückfluss wurde die Lösung bei Raumtemperatur per Filtration vom Katalysator befreit. Das Rohprodukt wurde durch Umkristallisation in Methanol gereinigt und unter Hochvakuum getrocknet. Man erhielt 1,2g (3,2mmol) (S)-2,6-Bis(2-hydroxybenzamido)-1-hexanol (67%) als creme-weiße Kristalle.



¹H-NMR (DMSO-d₆)[ppm]: 1,38 (m, 2H, 4-H); 1,62 (m, 4H, 3-H 5-H); 3,30 (dt, ³J_{6,5}=7,2 ³J_{6,NH}=5,6, 2H, 6-H); 3,48 (dd+dd, ³J_{1a,2}=5,6 ³J_{1b,2}=5,6 ²J_{1a,1b}=10,8, 2H, 1a-H 1b-H); 4,04 (m, 1H, 2-H); 6,89 (m, 4H, 10-H 12-H 17-H 19-H); 7,40 (m, 2H, 11-H 18-H); 7,84 (dd, ³J_{13,12}=8,0 ⁴J_{13,11}=1,6, 1H, 13-H); 7,94 (dd, ³J_{20,19}=8,0 ⁴J_{20,18}=2,4, 1H, 20-H); 8,47 (d, ³J_{2-NH,2}=8,8, 1H, 2-NH); 8,85 (t, ³J_{6-NH,6}=5,6, 1H, 6-NH)

¹³C-NMR (DMSO-d₆)[ppm]: 23,1 (C-4); 28,7 (C-5); 30,1 (C-3); 38,8 (C-6); 51,0 (C-2); 62,9 (C-1); 115,0 (C-8); 115,4 (C-15); 117,2, 117,3 (C-10 C-17); 118,3 (C-12 C-19); 127,4 (C-13); 127,9 (C-20); 133,4, 133,5 (C-11 C-18); 160,0 (C-16); 160,2 (C-9)

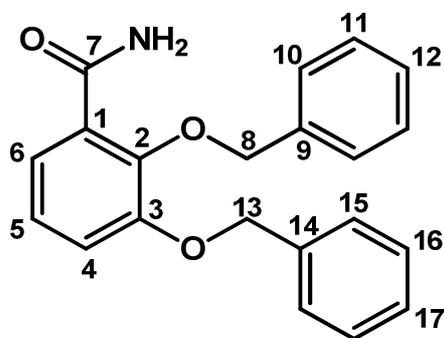
IR[cm⁻¹]: 3406(br); 2359, 1628, 1591, 1541, 1487, 1449, 1333, 1305, 1254, 1229, 1180, 1146, 1072, 1040, 1009, 810, 746, 679, 655, 621, 610, 588, 581

CHN-Analyse: C₂₀H₂₄N₂O₅·(H₂O)_{27/100} (M=377,28g/mol)
 % berechnet: C:63,67 H:6,56 N:7,43
 % gefunden: C:63,68 H:6,66 N:7,42

7.4.4 Synthese von 2,3-Dihydroxybenzoessäureamid

2,3-Dibenzoxybenzoessäureamid

1,1g (3,3mmol) 2,3-Benzoxybenzoessäure wurden in 150mL Dichlormethan gelöst und mit 1mL (12mmol) Thionylchlorid und 50 μ L DMF versetzt. Nach 20h Rühren bei Raumtemperatur wurde die Lösung mit 10mL Ammoniumhydroxid-Lösung (25%) versetzt, um einen pH-Wert von etwa 8 zu erreichen. Nach 15 Minuten wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und nach Entfernung des Lösemittels erhielt man 1,0g (3,0mmol) 2,3-Dibenzoxybenzoessäureamid (91%) als hellgelben Feststoff.



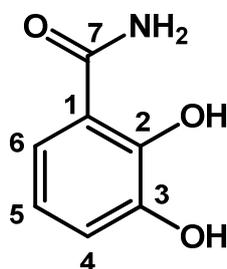
$^1\text{H-NMR(DMSO-d}_6\text{)[ppm]}$: 5,01 (s, 2H, 8-H); 5,18 (s, 2H, 13-H); 7,14 (m, 1H, 5-H); 7,24 (m, 1H, H-4); 7,34 (sh, 7H, 6-H 11-H 12-H 16-H 17-H); 7,48 (d+d, $^3J_{10,11}=6,8$ $^3J_{15,16}=6,8$, 4H, 10-H 15-H)

$^{13}\text{C-NMR(DMSO-d}_6\text{)[ppm]}$: 70,1 (C-13); 74,6 (C-8); 117,0 (C-4); 118,7 (C-1); 121,5 (C-5); 124,1 (C-6); 127,7, 127,8, 127,9 (C-10 C-12 C-17); 128,1, 128,3 (C-11 C-16); 136,6 (C-9); 137,4 (C-14); 146,5 (C-2); 152,2 (C-3); 167,3 (C-7)

$\text{IR[cm}^{-1}\text{]}$: 3408, 3150(br); 3030, 1663, 1572, 1468, 1454, 1377, 1263, 1206, 1082, 1034, 957, 920, 862, 806, 748, 696, 646, 625, 586, 561, 554

2,3-Dihydroxybenzoessäureamid

Eine Lösung aus 1,0g (3,0mmol) 2,3-Dibenzoxybenzoessäure und 50mL Methanol wurde mit 0,15g Pd/C (10%) und 1,9g (30mmol) Ammoniumformiat versetzt und 3h unter Rückfluss erhitzt. Das Gemisch wurde bei Raumtemperatur filtriert und anschließend vom Lösemittel befreit. Der erhaltene Feststoff wurde in Essigsäureethylester gelöst und zweimal mit destilliertem Wasser gewaschen. Nach Entfernung des Lösemittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch (Hexan:EE(1:1)) über Kieselgel gereinigt. Man erhielt, nach Trocknung unter Hochvakuum, 0,45g (2,9mmol) 2,3-Dihydroxybenzoessäureamid (97%) als farblosen Feststoff.



¹H-NMR(DMSO-d₆)[ppm]: 6,85 (dd, ³J_{5,4}=8,0 ³J_{5,6}=8,0, 1H, 5-H); 7,08 (dd, ³J_{4,5}=8,0 ³J_{4,6}=1,2, 1H, 4-H); 7,30 (dd, ³J_{6,5}=8,0 ³J_{6,4}=1,6, 1H, 6-H)

¹³C-NMR(DMSO-d₆)[ppm]: 116,2 (C-1); 120,1; 120,5; 121,0 (C-4, C-5, C-6); 146,5 (C-3); 150,0 (C-2); 173,7 (C-7)

IR[cm⁻¹]: 3373, 3213, 1660, 1634, 1614, 1585, 1491, 1427, 1339, 1265, 1182, 1109, 943, 837, 772, 696, 615, 586, 563, 548, 534, 517

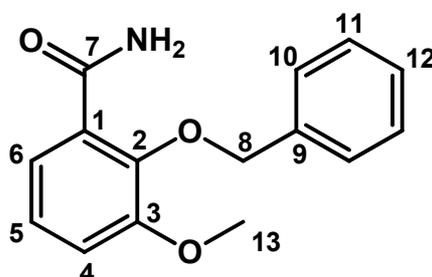
CHN-Analyse: C₇H₇NO₃·(H₂O)_{21/100} (M=377,28g/mol)

% berechnet:	C:63,67	H:6,56	N:7,43
% gefunden:	C:63,68	H:6,66	N:7,42

7.4.5 Synthese von 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid

2-Benzoyloxy-3-methoxybenzoesäureamid

Die Synthese des 2-Benzoyloxy-3-methoxybenzoesäureamids erfolgte analog zu der des 2,3-Dibenzoyloxybenzoesäureamids (siehe Seite 149). Dazu wurden 2g (7,7mmol) 2-Benzoyloxy-3-methoxybenzoesäure mit 2mL Thionylchlorid (24mmol) und 50µL DMF in 70mL Dichlormethan umgesetzt. Nach vollständiger Umsetzung wurde die Lösung mit 25mL Ammoniumhydroxid-Lösung (25%) versetzt. Die erhaltene Mischung wurde mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösemittels wurden 1,80g (7,0mmol) 2-Benzoyloxy-3-methoxybenzoesäureamid (91%) als farbloser Feststoff erhalten.



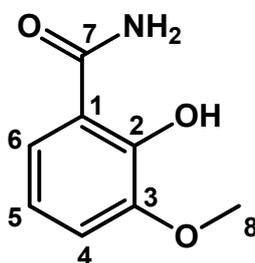
$^1\text{H-NMR(DMSO-d}_6\text{)[ppm]$: 3,86 (s, 3H, 13-H); 5,03 (s, 2H, 8-H); 7,17 (sh, 3H, 4-H 5-H 6-H); 7,38 (sh, 3H, 11-H 12-H 13H); 7,47 (m, 2H, 10-H); 7,53 (bs, 1H, 7-NH), 7,67 (bs, 1H, 7-NH)

$^{13}\text{C-NMR(DMSO-d}_6\text{)[ppm]$: 56,0 (C-13); 74,9 (C-8); 114,7; 120,7; 124,2 (C-4 C-5 C-6); 128,0; 128,2; 128,3 (C-10 C-11 C-12); 130,5 (C-1); 137,2 (C-9); 145,0 (C-2); 152,7 (C-3); 167,3 (C-7)

$\text{IR[cm}^{-1}\text{]}$: 3431, 3141(br), 1680, 1599, 1572, 1475, 1452, 1441, 1385, 1361, 1302, 1263, 1213, 1178, 1082, 1055, 953, 920, 860, 800, 758, 698, 640, 586, 561, 521, 511

2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid

Die Entfernung der Benzylschutzgruppen erfolgte analog zur Synthese des 2,3-Dihydroxybenzoesäureamids (siehe Seite 150). Dazu wurden 1,75g (6,8mmol) 2-Benzoyloxy-3-methoxybenzoesäureamid mit 3,3g (52mmol) Ammoniumformiat und 0,30g Pd/C (10%) in 50mL Methanol umgesetzt. Nach beendeter Reaktion wurde der Katalysator mittels Filtration abgetrennt und das Lösemittel entfernt. Der erhaltene Feststoff wurde in Essigsäureethylester aufgenommen und zweimal mit destilliertem Wasser gewaschen. Das Produkt wurde in Form von farblosen Kristallen aus der organischen Phase erhalten. Nach Trocknung unter Hochvakuum erhielt man 0,9g (5,4mmol) 2-Hydroxy-3-methoxybenzoesäureamid (79%).



$^1\text{H-NMR(DMSO-}d_6\text{)[ppm]:$ 3,76 (s, 3H, 8-H); 6,78 (dd, $^3J_{5,4}=8,0$ $^3J_{5,6}=8,0$, 1H, 5-H); 7,09 (dd, $^3J_{4,5}=8,0$ $^3J_{4,6}=1,2$, 1H, 4-H); 7,41 (dd, $^3J_{6,5}=8,0$ $^3J_{6,4}=1,2$, 1H, 6-H), 7,93 (bs, 1H, 7-NH), 8,39 (bs, 1H, 7-NH)

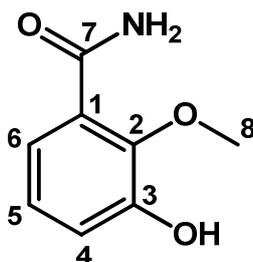
$^{13}\text{C-NMR(DMSO-}d_6\text{)[ppm]:$ 55,7 (C-8); 114,1 (C-1); 115,6 (C-4); 117,5 (C-5); 119,1 (C-6); 148,4 (C-3); 151,8 (C-2); 172,6 (C-7)

IR[cm^{-1}]: 3413, 3203 (br), 1732, 1664, 1572, 1439, 1417, 1394, 1321, 1243, 1213, 1178, 1117, 1055, 955, 920, 895, 860, 833, 800, 756, 712, 623, 577, 536, 521

CHN-Analyse: $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_3$ (M=167,16g/mol)
% berechnet: C:57,48 H:5,43 N:8,38
% gefunden: C:57,49 H:5,30 N:8,26

7.4.6 Synthese von 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid

Es wurden 2g (13mmol) 2,3-Dihydroxybenzoesäureamid in 35mL DMF mit 4,58g (52mmol) Kaliumhydrogencarbonat und 3,3mL (52mmol) Methyljodid für 24h bei Raumtemperatur umgesetzt. Die Reaktionsmischung wurde zuerst mit 10mL destilliertem Wasser versetzt und anschließend mit 10mL 0,1M Salzsäure. Im Anschluss wurde fünfmal mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wurde mit einer gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung und einer gesättigten Natriumchloridlösung gewaschen. Anschließend wurde dreimal mit Natronlauge (1M) extrahiert. Die organische Phase enthielt hier nur noch das dimethylierte Nebenprodukt. Die erhaltene gelbe wässrige Phase wurde mit konzentrierter Salzsäure auf pH=1 eingestellt (Farbänderung nach orange) und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die orangene organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel entfernt. Durch säulenchromatographische Reinigung über Kieselgel konnten mit Diethylether die Nebenprodukte abgetrennt werden. Durch die anschließende Eluierung mit Dichlormethan wurde das Produkt erhalten. [Eine weitere Methode der Aufreinigung ist die säulenchromatographische Reinigung des Rohprodukts über Kieselgel (Hexan:EE(1:1)→(1:2)).] Nach Entfernung des Lösemittels und Trocknung unter Hochvakuum wurden 340mg (2mmol) 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid (15%) in Form von farblosen Kristallen erhalten.



$^1\text{H-NMR}(\text{DMSO-}d_6)[\text{ppm}]$: 3,76 (s, 3H, 8-H); 6,95 (sh, 2H, 4-H 5-H); 7,06 (dd, $^3J_{4,5}=8,0$ $^3J_{4,6}=1,2$, 1H, 6-H); 7,43 (bs, 1H, 7-NH), 7,65 (bs, 1H, 7-NH)

$^{13}\text{C-NMR}(\text{DMSO-}d_6)[\text{ppm}]$: 60,7 (C-8); 118,8 (C-4); 119,7 (C-6); 123,9 (C-5); 129,5 (C-1); 145,6 (C-2); 150,4 (C-3); 167,3 (C-7)

$\text{IR}[\text{cm}^{-1}]$: 3413, 3163(br), 1657, 1554, 1487, 1468, 1400, 1358, 1282, 1227, 1190, 1155, 1117, 1080, 989, 939, 903, 804, 754, 702, 675, 588, 557, 542, 515

CHN-Analyse:	$C_8H_9NO_3 \cdot (H_2O)_{14/100}$ (M=169,68g/mol)		
% berechnet:	C:56,63	H:5,51	N:8,26
% gefunden:	C:56,59	H:5,17	N:8,22

7.5 Kristallsynthesen

7.5.1 Synthese der Didesoxy-Myxochelin A Kristalle

Es wurden 150mg (397mmol) Didesoxy-Myxochelin A unter leichtem Erwärmen ($\approx 313\text{K}$) in 10mL Methanol gelöst. Diese Lösung wurde in einem verschlossenen Glas bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nach einer Woche wurden sandfarbene schiefe Prismen des Liganden erhalten, die der Röntgenstrukturanalyse zugeführt wurden.

CHN-Analyse:	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5 \cdot (\text{H}_2\text{O})_{10/100}$ (M=374,22g/mol)			
	% berechnet:	C:64,19	H:6,52	N:7,49
	% gefunden:	C:64,19	H:6,35	N:7,50

7.5.2 Synthese der 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid Kristalle

Es wurden 100mg (589mmol) 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid in 20mL Diethylether gelöst. Die Lösung wurde im verschlossenen Glas bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nach 24h wurden farblose Prismen des Moleküls erhalten, die der Röntgenstrukturanalyse zugeführt wurden.

CHN-Analyse:	$\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_3 \cdot (\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O})_{8/100}(\text{H}_2\text{O})_{17/100}$ (M=176,15g/mol)			
	% berechnet:	C:56,73	H:5,80	N:7,95
	% gefunden:	C:56,77	H:5,52	N:7,67

7.6 Kristallographischer Anhang

7.6.1 Kristallstruktur von Didesoxy-Myxochelin A

Tabelle 1: Kristallographische Daten

Operator	Dr. Volker Huch	
Diffraktometer	Bruker X8 Apex	
Identifikationscode	sh3087	
Summenformel	C ₂₀ H ₂₄ N ₂ O ₅	
Formelmasse	372,41	
Temperatur	123(2)K	
Wellenlänge	0,71073Å	
Kristallsystem	monoklin	
Raumgruppe	P2 ₁	
Zellkonstanten	a=9,5934(7)Å	α=90°
	b=9,2266(7)Å	β=96,172(4)°
	c=10,3565(7)Å	γ=90°
Zellvolumen	911,39(11)Å ³	
Z	2	
Dichte (berechnet)	1,357 mg/m ³	
Absorptionskoeffizient	0,098 mm ⁻¹	
F(000)	396	
Kristallgröße	0,26 x 0,21 x 0,04 mm ³	
Theta-Bereich	1,98° bis 27,00°	
hkl-Bereich	-12≤h≤11, -11≤k≤9, -13≤l≤13	
Gemessene Reflexe	10366	
Unabhängige Reflexe	2111 [R(int) = 0,0280]	
Vollständigkeit bis theta = 27,00°	100%	
Absorptionskorrektur	semi-empirisch anhand der Äquivalente	
Max. und min. Transmission	0,9961 und 0,9750	
Verfeinerungsmethode	Full-matrix least-squares on F ²	
Daten/Beschränkungen/Parameter	2111/6/259	
Güte des Fits von F ²	1,053	
R-Werte für [I>2σ(I)]	R ₁ =0,0309; wR ₂ =0,0734	
R für alle Reflexe	R ₁ =0,0355; wR ₂ =0,0759	
Absoluter Struktur Parameter	0,5(10)	
Restelektronendichte [e/Å ³]	0,208 und -0,219	

Tabelle 2: Atomkoordinaten ($\times 10^4$) und äquivalente isotropische Auslenkungsparameter ($\text{\AA}^2 \cdot 10^3$) für sh3087. $U(\text{eq})$ ist definiert als ein Drittel der Spur des orthogonalisiertend U_{ij} Tensors.

Atom	x	y	z	Ueq
C(1)	4529(2)	4184(2)	2041(2)	20(1)
C(2)	3185(2)	4340(2)	1384(2)	26(1)
C(3)	2930(2)	5314(3)	374(2)	31(1)
C(4)	4021(2)	6157(3)	-4(2)	29(1)
C(5)	5358(2)	6018(3)	615(2)	25(1)
C(6)	5621(2)	5026(2)	1630(2)	21(1)
O(6)	6954(2)	4936(2)	2203(2)	30(1)
C(7)	4830(2)	3244(2)	3205(2)	20(1)
O(7)	6041(2)	3203(2)	3808(1)	27(1)
N(8)	3783(2)	2474(2)	3626(2)	23(1)
C(9)	3912(2)	1825(3)	4921(2)	28(1)
C(10)	3766(2)	2972(2)	5968(2)	26(1)
C(11)	2419(2)	3837(2)	5696(2)	23(1)
C(12)	2160(2)	4936(2)	6739(2)	21(1)
C(13)	901(2)	5910(2)	6319(2)	19(1)
C(14)	553(2)	6883(2)	7425(2)	23(1)
O(14)	-630(2)	7795(2)	7090(1)	27(1)
N(15)	1184(2)	6788(2)	5187(2)	19(1)
C(16)	607(2)	6524(2)	3974(2)	19(1)
O(16)	-296(1)	5556(2)	3735(1)	23(1)
C(17)	1056(2)	7449(2)	2913(2)	19(1)
C(18)	2307(2)	8247(2)	3050(2)	25(1)
C(19)	2701(2)	9106(3)	2062(2)	29(1)
C(20)	1832(2)	9204(3)	900(2)	29(1)
C(21)	605(2)	8422(3)	733(2)	26(1)
C(22)	211(2)	7531(2)	1716(2)	21(1)
O(22)	-1013(2)	6809(2)	1460(1)	31(1)

Tabelle 3: Bindungslängen [Å] und Bindungswinkel [°] für sh3087

Atome	Bindungslängen	Atome	Bindungswinkel
C(1)-C(2)	1,399(3)	C(2)-C(1)-C(6)	118,24(18)
C(1)-C(6)	1,406(3)	C(2)-C(1)-C(7)	122,86(18)
C(1)-C(7)	1,488(3)	C(6)-C(1)-C(7)	118,77(17)
C(2)-C(3)	1,381(3)	C(3)-C(2)-C(1)	120,9(2)
C(2)-H(2)	0,9500	C(3)-C(2)-H(2)	119,5
C(3)-C(4)	1,394(3)	C(1)-C(2)-H(2)	119,5
C(3)-H(3)	0,9500	C(2)-C(3)-C(4)	119,94(19)
C(4)-C(5)	1,377(3)	C(2)-C(3)-H(3)	120,0
C(4)-H(4)	0,9500	C(4)-C(3)-H(3)	120,0
C(5)-C(6)	1,396(3)	C(5)-C(4)-C(3)	120,5(2)
C(5)-H(5)	0,9500	C(5)-C(4)-H(4)	119,8
C(6)-O(6)	1,353(2)	C(3)-C(4)-H(4)	119,8
O(6)-H(6O)	0,882(17)	C(4)-C(5)-C(6)	119,7(2)
C(7)-O(7)	1,259(2)	C(4)-C(5)-H(5)	120,2
C(7)-N(8)	1,341(3)	C(6)-C(5)-H(5)	120,2
N(8)-C(9)	1,462(3)	O(6)-C(6)-C(5)	117,14(18)
N(8)-H(8N)	0,874(16)	O(6)-C(6)-C(1)	122,18(18)
C(9)-C(10)	1,532(3)	C(5)-C(6)-C(1)	120,67(18)
C(9)-H(9A)	0,9900	C(6)-O(6)-H(6O)	102,2(17)
C(9)-H(9B)	0,9900	O(7)-C(7)-N(8)	120,36(18)
C(10)-C(11)	1,519(3)	O(7)-C(7)-C(1)	120,57(18)
C(10)-H(10A)	0,9900	N(8)-C(7)-C(1)	119,04(17)
C(10)-H(10B)	0,9900	C(7)-N(8)-C(9)	121,54(18)
C(11)-C(12)	1,521(3)	C(7)-N(8)-H(8N)	119,3(16)
C(11)-H(11A)	0,9900	C(9)-N(8)-H(8N)	116,1(16)
C(11)-H(11B)	0,9900	N(8)-C(9)-C(10)	111,17(18)
C(12)-C(13)	1,531(3)	N(8)-C(9)-H(9A)	109,4
C(12)-H(12A)	0,9900	C(10)-C(9)-H(9A)	109,4
C(12)-H(12B)	0,9900	N(8)-C(9)-H(9B)	109,4
C(13)-N(15)	1,475(2)	C(10)-C(9)-H(9B)	109,4
C(13)-C(14)	1,521(3)	H(9A)-C(9)-H(9B)	108,0
C(13)-H(13)	1,000	C(11)-C(10)-C(9)	111,91(17)
C(14)-O(14)	1,425(2)	C(11)-C(10)-H(10A)	109,2
C(14)-H(14A)	0,9900	C(9)-C(10)-H(10A)	109,2

KRISTALLOGRAPHISCHER ANHANG

Atome	Bindungslängen	Atome	Bindungswinkel
C(14)-H(14B)	0,9900	C(11)-C(10)-H(10B)	109,2
O(14)-H(14O)	0,846(18)	C(9)-C(10)-H(10B)	109,2
N(15)-C(16)	1,339(2)	H(10A)-C(10)-H(10B)	107,9
N(15)-H(15N)	0,858(16)	C(10)-C(11)-C(12)	114,81(16)
C(16)-O(16)	1,251(2)	C(10)-C(11)-H(11A)	108,6
C(16)-C(17)	1,492(3)	C(12)-C(11)-H(11A)	108,6
C(17)-C(18)	1,402(3)	C(10)-C(11)-H(11B)	108,6
C(17)-C(22)	1,408(3)	C(12)-C(11)-H(11B)	108,6
C(18)-C(19)	1,379(3)	H(11A)-C(11)-H(11B)	107,5
C(18)-H(18)	0,9500	C(11)-C(12)-C(13)	111,96(16)
C(19)-C(20)	1,391(3)	C(11)-C(12)-H(12A)	109,2
C(19)-H(19)	0,9500	C(13)-C(12)-H(12A)	109,2
C(20)-C(21)	1,376(3)	C(11)-C(12)-H(12B)	109,2
C(20)-H(20)	0,9500	C(13)-C(12)-H(12B)	109,2
C(21)-C(22)	1,392(3)	H(12A)-C(12)-H(12B)	107,9
C(21)-H(21)	0,9500	N(15)-C(13)-C(14)	110,40(17)
C(22)-O(22)	1,351(2)	N(15)-C(13)-C(12)	109,94(15)
O(22)-H(22O)	0,838(18)	C(14)-C(13)-C(12)	111,31(15)
		N(15)-C(13)-H(13)	108,4
		C(14)-C(13)-H(13)	108,4
		C(12)-C(13)-H(13)	108,4
		O(14)-C(14)-C(13)	113,51(15)
		O(14)-C(14)-H(14A)	108,9
		C(13)-C(14)-H(14A)	108,9
		O(14)-C(14)-H(14B)	108,9
		C(13)-C(14)-H(14B)	108,9
		H(14A)-C(14)-H(14B)	107,7
		C(14)-O(14)-H(14O)	114,1(18)
		C(16)-N(15)-C(13)	123,58(17)
		C(16)-N(15)-H(15N)	116,8(15)
		C(13)-N(15)-H(15N)	118,5(15)
		O(16)-C(16)-N(15)	121,54(18)
		O(16)-C(16)-C(17)	120,79(17)
		N(15)-C(16)-C(17)	117,65(17)
		C(18)-C(17)-C(22)	117,82(18)

KRISTALLOGRAPHISCHER ANHANG

Atome	Bindungslängen	Atome	Bindungswinkel
		C(18)-C(17)-C(16)	122,51(16)
		C(22)-C(17)-C(16)	119,67(17)
		C(19)-C(18)-C(17)	121,74(18)
		C(19)-C(18)-H(18)	119,1
		C(17)-C(18)-H(18)	119,1
		C(18)-C(19)-C(20)	119,5(2)
		C(18)-C(19)-H(19)	120,2
		C(20)-C(19)-H(19)	120,2
		C(21)-C(20)-C(19)	120,0(2)
		C(21)-C(20)-H(20)	120,0
		C(19)-C(20)-H(20)	120,0
		C(20)-C(21)-C(22)	120,90(18)
		C(20)-C(21)-H(21)	119,5
		C(22)-C(21)-H(21)	119,5
		O(22)-C(22)-C(21)	116,52(17)
		O(22)-C(22)-C(17)	123,48(18)
		C(21)-C(22)-C(17)	119,97(19)
		C(22)-O(22)-H(22O)	112,6(19)

7.6.2 Kristallstruktur von 3-Hydroxy-2-methoxybenzoesäureamid

Tabelle 1: Kristallographische Daten

Operator	Dr. Volker Huch	
Diffraktometer	Bruker X8 Apex	
Identifikationscode	sh3198	
Summenformel	C ₈ H ₉ NO ₃	
Formelmasse	167,16g/mol	
Temperatur	110(2)K	
Wellenlänge	0,71073Å	
Kristallsystem	monoklin	
Raumgruppe	P2 ₁ /n	
Zellkonstanten	a=5,6293(2)Å	α=90°
	b=10,1826(4)Å	β=92,7500(10)°
	c=13,2402(5)Å	γ=90°
Zellvolumen	758,07(5)Å ³	
Z	4	
Dichte (berechnet)	1,465g/cm ³	
Absorptionskoeffizient	0,113mm ⁻¹	
F(000)	352	
Kristallgröße	0,49 x 0,18 x 0,14 mm ³	
Theta-Bereich	2,52 bis 25,97°	
hkl-Bereich	-6≤h≤6, -12≤k≤12, -15≤l≤16	
Gemessene Reflexe	7200	
Unabhängige Reflexe	1484 [R(int)=0,0223]	
Vollständigkeit bis theta=25.97°	100%	
Absorptionskorrektur	semi-empirisch anhand der Äquivalente	
Max. und min. Transmission	0,9843 und 0,9466	
Verfeinerungsmethode	Full-matrix least-squares on F ²	
Daten/Beschränkungen/Parameter	1484/3/119	
Güte des Fits von F ²	1,055	
R-Werte für [I>2σ(I)]	R ₁ =0,0301; wR ₂ =0,0784	
R für alle Reflexe	R ₁ =0,0346; wR ₂ =0,0819	
Restelektronendichte [e/Å ³]	0,272 und -0,187	

Tabelle 2: Atomkoordinaten ($\times 10^4$) und äquivalente isotropische Auslenkungsparameter ($\text{\AA}^2 \cdot 10^3$) für sh3198. $U(\text{eq})$ ist definiert als ein Drittel der Spur des orthogonalisierten U_{ij} Tensors.

Atom	x	y	z	Ueq
O(1)	1741(1)	9846(1)	8014(1)	16(1)
O(2)	-1284(2)	8394(1)	9139(1)	19(1)
O(3)	2390(2)	8884(1)	4974(1)	19(1)
N(1)	3560(2)	10276(1)	6211(1)	21(1)
C(1)	386(2)	8700(1)	6512(1)	15(1)
C(2)	320(2)	8897(1)	7559(1)	14(1)
C(3)	-1284(2)	8171(1)	8122(1)	16(1)
C(4)	-2821(2)	7282(1)	7633(1)	18(1)
C(5)	-2824(2)	7131(1)	6591(1)	20(1)
C(6)	-1234(2)	7833(1)	6038(1)	18(1)
C(7)	2192(2)	9306(1)	5852(1)	16(1)
C(8)	3210(2)	9476(1)	8894(1)	21(1)

Tabelle 3: Bindungslängen [Å] und Bindungswinkel [°] für sh3198.

Atome	Bindungslängen	Atome	Bindungswinkel
O(1)-C(2)	1,3753(14)	C(2)-O(1)-C(8)	117,88(9)
O(1)-C(8)	1,4457(14)	C(3)-O(2)-H(2)	109,0(10)
O(2)-C(3)	1,3663(14)	C(7)-N(1)-H(1A)	118,7(10)
O(2)-H(2)	0,854(13)	C(7)-N(1)-H(1B)	118,8(10)
O(3)-C(7)	1,2499(14)	H(1A)-N(1)-H(1B)	121,5(14)
N(1)-C(7)	1,3266(16)	C(6)-C(1)-C(2)	119,11(11)
N(1)-H(1A)	0,890(13)	C(6)-C(1)-C(7)	116,33(10)
N(1)-H(1B)	0,882(13)	C(2)-C(1)-C(7)	124,46(11)
C(1)-C(6)	1,3962(17)	O(1)-C(2)-C(1)	119,38(10)
C(1)-C(2)	1,4039(16)	O(1)-C(2)-C(3)	120,83(10)
C(1)-C(7)	1,5040(16)	C(1)-C(2)-C(3)	119,71(11)
C(2)-C(3)	1,4073(16)	O(2)-C(3)-C(4)	122,55(11)
C(3)-C(4)	1,3903(17)	O(2)-C(3)-C(2)	117,66(10)
C(4)-C(5)	1,3880(17)	C(4)-C(3)-C(2)	119,78(11)
C(4)-H(4)	0,9500	C(5)-C(4)-C(3)	120,36(11)
C(5)-C(6)	1,3819(17)	C(5)-C(4)-H(4)	119,8
C(5)-H(5)	0,9500	C(3)-C(4)-H(4)	119,8
C(6)-H(6)	0,9500	C(6)-C(5)-C(4)	119,98(11)
C(8)-H(8A)	0,9800	C(6)-C(5)-H(5)	120,0
C(8)-H(8B)	0,9800	C(4)-C(5)-H(5)	120,0
C(8)-H(8C)	0,9800	C(5)-C(6)-C(1)	120,96(11)
		C(5)-C(6)-H(6)	119,5
		C(1)-C(6)-H(6)	119,5
		O(3)-C(7)-N(1)	120,85(11)
		O(3)-C(7)-C(1)	119,51(11)
		N(1)-C(7)-C(1)	119,65(10)
		O(1)-C(8)-H(8A)	109,5
		O(1)-C(8)-H(8B)	109,5
		H(8A)-C(8)-H(8B)	109,5
		O(1)-C(8)-H(8C)	109,5
		H(8A)-C(8)-H(8C)	109,5
		H(8B)-C(8)-H(8C)	109,5

8 Literatur

- ¹ Klefisch, T., *Dissertation*, Universität des Saarlandes, **2012** (noch unveröffentlicht).
- ² Huheey, J.; E.; Keiter; E. A.; Keiter R. L., *Anorganische Chemie: Prinzipien von Struktur und Reaktivität*, **2003**, 3.Auflage, 1102ff.
- ³ Deisenhofer, J.; Michel, H.; Huber, R., *Trends in Biochemical Sciences*, **1985**, *10*, 243.
- ⁴ Stoll, A., *Naturwissenschaften*, **1936**, *24*, 53.
- ⁵ Fleming, I. A. N., *Nature*, **1967**, *216*, 151.
- ⁶ Hiraishi, A.; Shimada, K., *The Journal of General and Applied Microbiology*, **2001**, *47*, 161.
- ⁷ Hattori, A.; Fujita, Y., *Journal of Biochemistry*, **1959**, *46* (7), 903.
- ⁸ Boardman, N. K.; Anderson, J. M., *Nature*, **1964**, *203*, 166.
- ⁹ Griffin, B. M.; Schott, J.; Schink, B., *Science*, **2007**, *316*, 1870.
- ¹⁰ Beinert, H., *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **2000**, *5*, 2.
- ¹¹ Sellmann, D., *Angewandte Chemie*, **1993**, *105*, 67.
- ¹² Andrews, S. C.; Robinson, A. K.; Rodríguez-Quinones, F., *FEMS Microbiology Reviews*, **2003**, *27*, 215.
- ¹³ Hedrich, S.; Schlömann, M.; Johnson, D. B., *Microbiology*, **2011**, *157*, 1551.
- ¹⁴ Posey, J. E.; Gherardini, F. C., *Science*, **2000**, *288*, 1651.
- ¹⁵ Nguyen, K. T.; Wu, J.-C.; Boylan, J. A.; Gherardini, F. C.; Pei, D., *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **2007**, *468*, 217.
- ¹⁶ Whittemore, D. O.; Langmuir, D., *Ground Water*, **1975**, *13*, 360.
- ¹⁷ Touati, D., *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **2000**, *373*, 1.
- ¹⁸ Velayudhan, J.; Hughes, N. J.; McColm, A. A.; Bagshaw, J.; Clayton, C. L.; Andrews, S. C.; Kelly, D. J., *Molecular Microbiology*, **2000**, *37*, 274.
- ¹⁹ Langman, L.; Young, I. G.; Frost, G. E.; Rosenberg, H.; Gibson, F., *Journal of Bacteriology*, **1972**, *112*, 1142.
- ²⁰ Greenwald, J.; Hoegy, F.; Nader, M.; Journet, L.; Mislin, G. L. A.; Graumann, P. L.; Schalk, I. J., *Journal of Biological Chemistry*, **2007**, *282*, 2987.
- ²¹ Meyer, J.-M.; Stintzi, A.; De Vos, D.; Cornelis, P.; Tappe, R.; Taraz, K.; Budzikiewicz, H., *Microbiology*, **1997**, *143*, 35.

- ²² Bickel, H.; Bosshardt, R.; Gäumann, E.; Reusser, P.; Vischer, E.; Voser, W.; Wettstein, A.; Zähler, H., *Helvetica Chimica Acta*, **1960**, *43*, 2118.
- ²³ Hou, Z.; Raymond, K. N.; O'Sullivan, B.; Esker, T. W.; Nishio, T., *Inorganic Chemistry*, **1998**, *37*, 6630.
- ²⁴ Takahashi, A.; Nakamura, H.; Kameyama, T.; Kurasawa, S.; Naganawa, H.; Okami, Y.; Takeuchi, T.; Umezawa, H.; Iitaka, Y., *Journal of Antibiotics*, **1987**, *40*, 1671.
- ²⁵ Pollack, J. R.; Neilands, J. B., *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **1970**, *38*, 989.
- ²⁶ Cheung, J.; Beasley, F. C.; Suyu, L.; Lajoie, G. A.; Heinrichs, D. E., *Molecular Microbiology*, **2009**, *74*, 594.
- ²⁷ Schalk, I. J.; Hannauer, M.; Braud, A., *Environmental Microbiology*, **2011**, *13*, 2844.
- ²⁸ Haag, H.; Hantke, K.; Drechsel, H.; Stojilkovic, I.; Jung, G.; Zähler, H., *Journal of General Microbiology*, **1993**, *139*, 2159.
- ²⁹ Kunze, B.; Trowitzsch-Kienast, W.; Höfle, G.; Reichenbach, H., *The Journal of Antibiotics*, **1992**, *45*, 147.
- ³⁰ B. Kunze, N. Bedorf, W. Kohl, G. Höfle, H. Reichenbach; *The Journal of Antibiotics*; **1989**; *42*; 14.
- ³¹ Ambrosi, H.-D.; Hartmann, V.; Pistorius, D.; Reissbrodt, R.; Trowitzsch-Kienast, W., *European Journal of Organic Chemistry*, **1998**, 1998, 541.
- ³² Gaitatzis, N.; Kunze, B.; Müller, R., *ChemBioChem*, **2005**, *6*, 365.
- ³³ Gaitatzis, N.; Kunze, B.; Müller, R., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **2001**, *98*, 11136.
- ³⁴ Miyanaga, S.; Obata, T.; Onaka, H.; Fujita, T.; Saito, N.; Sakurai, H.; Saiki, I.; Furumai, T.; Igarashi, Y., *The Journal of Antibiotics*, **2006**, *59*, 698.
- ³⁵ Shimkets, L. J.; Dworkin, M.; Reichenbach, H., *The Myxobacteria*; Springer New York, 2006, 31.
- ³⁶ Rückert, G., *Zeitschrift für allgemeine Mikrobiologie*, **1981**, *21*, 761.
- ³⁷ MacRae, T. H.; McCurdy, H. D., *Canadian Journal of Microbiology*, **1976**, *22*, 1589.
- ³⁸ Dawid, W., *FEMS Microbiology Reviews*, **2000**, *24*, 403.
- ³⁹ Bode, H. B.; Müller, R., *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, **2006**, *33*, 577.

- ⁴⁰ Gerth, K.; Bedorf, N.; Hofle, G.; Irschik, H.; Reichenbach, H., *The Journal of Antibiotics*, **1996**, *49*, 560.
- ⁴¹ Finter, F.; Rinnab, L.; Gust, K.; Küfer, R., *Der Urologe A*, **2009**, *48*, 1295
- ⁴² Meiser P., *Dissertation*, Universität des Saarlandes, **2008**.
- ⁴³ Wilbrand, S.; *Diplomarbeit*, Universität des Saarlandes, **2008**.
- ⁴⁴ Phanstiel; Gardner, R. A.; Kinkade, R.; Wang, C., *The Journal of Organic Chemistry*, **2004**, *69*, 3530-3537.
- ⁴⁵ Bieg, T.; Szeja, W., *Synthesis*, **1985**, *1*, 76.
- ⁴⁶ Rajagopal, S.; Spatola, A. F., *The Journal of Organic Chemistry*, **1995**, *60*, 1347-1355.
- ⁴⁷ Li, B.; Berliner, M.; Buzon, R.; Chiu, C. K.-F.; Colgan, S. T.; Kaneko, T.; Keene, N.; Kissel, W.; Le, T.; Leeman, K. R.; Marquez, B.; Morris, R.; Newell, L.; Wunderwald, S.; Witt, M.; Weaver, J.; Zhang, Z.; Zhang, Z., *The Journal of Organic Chemistry*, **2006**, *71*, 9045.
- ⁴⁸ Lowell, A. N.; Wall, P. D.; Waters, S. P.; Kozlowski, M. C., *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 5573.
- ⁴⁹ Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A., *Talanta*, **1996**, *43*, 1739.
- ⁵⁰ Marquardt, D. W., *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics*, **1963**, *11*, 431.
- ⁵¹ Alderighi, L.; Gans, P.; Ienco, A.; Peters, D.; Sabatini, A.; Vacca, A., *Coordination Chemistry Reviews*, **1999**, *184*, 311.
- ⁵² Ågren, A.; Hietala, P. K.; Ingri, N.; Lamm, O., *Acta Chemica Scandinavica*, **1955**, *9*, 49.
- ⁵³ Hauch T., *Bachelor Arbeit*, Universität des Saarlandes, **2011**.
- ⁵⁴ Harris, W. R.; Carrano, C. J.; Cooper, S. R.; Sofen, S. R.; Avdeef, A. E.; McArdle, J. V.; Raymond, K. N., *Journal of the American Chemical Society*, **1979**, *101*, 6097.
- ⁵⁵ Robinson, R. A.; Kiang, A. K., *Transactions of the Faraday Society*, **1955**, *51*.
- ⁵⁶ Condikey, G. F.; Martell, A. E., *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, **1969**, *31*, 2455.
- ⁵⁷ Hine, J.; Hine, M., *Journal of the American Chemical Society*, **1952**, *74*, 5266.
- ⁵⁸ Murto, J.; Sandström, J.; Toplin, I.; Melera, A.; Nilsson, L., *Acta Chemica Scandinavica*, **1964**, *18*, 1043.

- ⁵⁹ Sudmeier, J. L.; Reilley, C. N., *Analytical Chemistry*, **1964**, 36, 1698.
- ⁶⁰ Ries, A., *Diplomarbeit*, Universität des Saarlandes, **1997**.
- ⁶¹ Llinas, M.; Wilson, D. M.; Neilands, J. B., *Biochemistry*, **1973**, 12, 3836.
- ⁶² Irving, H.; Williams, R. J. P.; Ferrett, D. J.; Williams, A. E., *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, **1954**, 3494.
- ⁶³ Pannu, B. S.; Chopra, S. L., *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*, **1973**, 398, 83.
- ⁶⁴ Thomas, P.; Benedix, M.; Henning, H., *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*, **1980**, 468, 213.
- ⁶⁵ Grillo, V. A.; Hanson, G. R.; Wang, D.; Hambley, T. W.; Gahan, L. R.; Murray, K. S.; Moubaraki, B.; Hawkins, C. J., *Inorganic Chemistry*, **1996**, 35, 3568.
- ⁶⁶ Huang, S.-P.; Franz, K. J.; Olmstead, M. M.; Fish, R. H., *Inorganic Chemistry*, **1995**, 34, 2820.
- ⁶⁷ Cappillino, P. J.; Tarves, P. C.; Rowe, G. T.; Lewis, A. J.; Harvey, M.; Rogge, C.; Stassinopoulos, A.; Lo, W.; Armstrong, W. H.; Caradonna, J. P., *Inorganica Chimica Acta*, **2009**, 362, 2136.
- ⁶⁸ Stoicescu, L.; Duhayon, C.; Vendier, L.; Tesouro-Vallina, A.; Costes, J.-P.; Tuchagues, J.-P., *European Journal of Inorganic Chemistry*, **2009**, 2009, 5483.
- ⁶⁹ Xu, J.; Jordan, R. B., *Inorganic Chemistry*, **1988**, 27, 4563.
- ⁷⁰ Pugh, C. E. M.; Raper, H. S., *Biochemical Journal*, **1927**, 21, 1370.
- ⁷¹ Bray, W. C.; Hershey, A. V., *Journal of the American Chemical Society*, **1934**, 56, 1889.
- ⁷² Gampp, H.; Maeder, M.; Meyer, C. J.; Zuberbühler, A. D., *Talanta*, **1985**, 32, 251.
- ⁷³ Dyson, R. M.; Kaderli, S.; Lawrance, G. A.; Maeder, M., *Analytica Chimica Acta*, **1997**, 353, 381-393.
- ⁷⁴ Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A., *Talanta*, **1996**, 43, 1739.
- ⁷⁵ Marquardt, D. W., *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics*, **1963**, 11, 431.
- ⁷⁶ Job P., *Annali di chimica (Paris)*, 9, **1928**, 113.
- ⁷⁷ Sever, M. J.; Wilker, J. J., *Dalton Transactions*, **2004**, 1061.
- ⁷⁸ Harris, W. R.; Raymond, K. N.; Weigl, F. L., *Journal of the American Chemical Society*, **1981**, 103, 2667.

- ⁷⁹ Steinhauser (bzw. Stucky) S., *Dissertation*, Universität des Saarlandes, **2005**.
- ⁸⁰ Butler, J. N., *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, **1967**, 14, 89.
- ⁸¹ Sindi, K.; El Hage Chahine, J.-M., *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2008**, 102, 636.
- ⁸² Knosp, O.; von Tigerstrom, M.; Page, W. J., *Journal of Bacteriology*, **1984**, 159, 341.
- ⁸³ Phanstiel, O.; Gardner, R. A.; Kinkade, R.; Wang, C., *The Journal of Organic Chemistry*, **2004**, 69, 3530.
- ⁸⁴ Cornish, A. S.; Page, W. J., *Microbiology*, **1998**, 144, 1747.
- ⁸⁵ Britton, H. T. S., *Journal of the Chemical Society, Transactions*, **1925**, 127, 2110.
- ⁸⁶ Bell, R. P.; Prue, J. E., *Journal of the Chemical Society*, **1949**, 362.
- ⁸⁷ Irving, H.; Williams, R. J. P., *Nature*, **1948**, 162, 746.
- ⁸⁸ Delgado, R.; Da Silva, J. J. R. F.; Amorim, M. T. S.; Cabral, M. F.; Chaves, S.; Costa, J., *Analytica Chimica Acta*, **1991**, 245, 271.
- ⁸⁹ Lumry, R.; Smith, E. L.; Glantz, R. R., *Journal of the American Chemical Society*, **1951**, 73, 4330.
- ⁹⁰ Sheldrick, G. M., *SHELXS-97 (Version 2); Program for Crystal Structure Solution*; Göttingen, **1997**.
- ⁹¹ Sheldrick, G. M., *SHELXL-97 (Version 2); Program for Crystal Structure Refinement*; Göttingen, **1997**.
- ⁹² MESSLABOR, Scien Tec GmbH, Saarbrücken, **2002**.
- ⁹³ Hegetschweiler, K., *TITKURVE Titrationskurven (unveröffentlicht)*; Zürich, **1993**.
- ⁹⁴ Woolley, E. M.; Hepler, L. G. *Analytical Chemistry*, **1972**, 44, 1520.
- ⁹⁵ Fiordiponti, P.; Rallo, F.; Rodante, F., *Zeitschrift für Physikalische Chemie*; **1974**, 88, 149.