

## 147. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

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

### Ferrithiocin

von Hans-Ulrich Naegeli<sup>2)</sup> und Hans Zähler

Institut für Biologie II, Lehrstuhl für Mikrobiologie I der Universität, D-74 Tübingen

(6. II. 80)

---

#### Metabolites of Microorganisms. Ferrithiocin

##### Summary

The strain Tü 1998 from *Streptomyces antibioticus* produces besides the indicator antibiotics  $\beta$ - and  $\gamma$ -rubromycins a new sulfur containing metabolite. This metabolite, called ferrithiocin, has been isolated in the form of a iron complex. The structure **1** of the iron-free compound was elucidated by spectroscopic studies and chemical degradation.

---

Die klassischen Screeningmodelle für Antibiotica basieren auf einer möglichst engen Korrelation zwischen erstem Test und späterer Anwendung. Solange vorwiegend Antibiotica mit einem Wirkungsschwerpunkt auf gram-positive oder gram-negative Bakterien gesucht wurden, war dieses Vorgehen sehr erfolgreich. Heute werden aber mikrobielle Metabolite für die verschiedensten Anwendungen gesucht, wobei zum Teil keine gesicherte Korrelation zwischen erstem Test und Anwendungsgebiet herstellbar ist. Deshalb bietet es sich unter anderem an, neue Metabolite nach nicht klassischen Gesichtspunkten zu suchen und sie nach der Reinherstellung und dem Nachweis der Neuheit einer breiten biologischen Prüfung zu unterziehen [2].

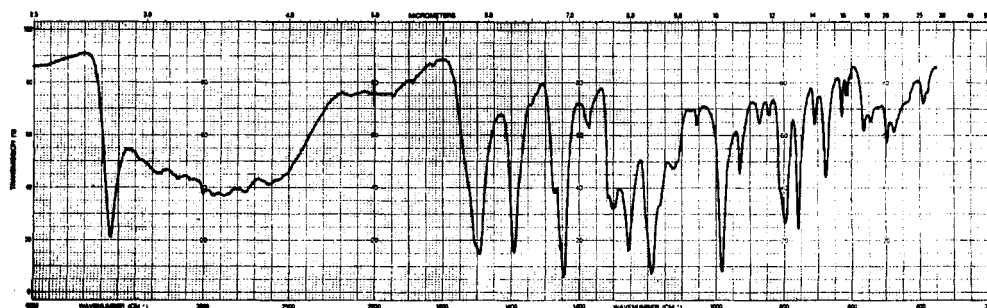
Ausgehend von derartigen Überlegungen untersuchten wir eine Reihe von Streptomycetenstämmen auf die Produktion von neuen Metaboliten mittels chemischer Nachweisreagentien auf DC.-Platten. Extrakte des Streptomycetenstammes Tü 1998, der der Art *Streptomyces antibioticus* (WAKSMAN et WOODRUFF) WAKSMAN et HENRICI angehört [3], fielen bei der Untersuchung auf der DC.-Platte durch die Produktion zahlreicher Verbindungen auf, die von orangebraun bis tiefrot gefärbt waren. Zwei der roten Hauptkomponenten identifizierten wir als  $\beta$ - und  $\gamma$ -Rubromycine, die ursprünglich als Metabolite von *Streptomyces collinus*

<sup>1)</sup> 192. Mitt. s. [1].

<sup>2)</sup> Neue Adresse: Sandoz AG, Pharmadepartement, Mikrobiologie, CH-4002 Basel.

LINDENBEIN beschrieben worden waren [4]. Die Untersuchung einer weiteren, orange-braunen Hauptkomponente zeigte, dass es sich um eine neuartige, eisen- und schwefelhaltige Verbindung handelt, die wir *Ferrithiocin* nennen. Der Produzentenstamm scheidet die eisenfreie Form der Verbindung, das Desferri-ferrithiocin, in die Kulturlösung aus. Erst bei Zugabe von Eisen(III)-salzen bildet sich der charakteristisch gefärbte Eisenkomplex, der sich bei neutralem pH und NaCl-Sättigung mit Essigester extrahieren lässt. Die Extraktion gelingt auch mit Methylchlorid/2-Propanol 85:15 bei pH 8,5 nach dem EXTRELUT®-Verfahren [5], wobei Eisenionen aus dem Füllmaterial der Extraktionssäule zur Komplexbildung ausreichen. Die Reinigung der Extrakte erfolgt durch Extraktion der lipophilen Bestandteile mit Methylchlorid aus Wasser und Chromatographieren an *Sephadex* LH-20. Das so gewonnene Ferrithiocin kann ohne weitere Reinigung aus Methanol/Acetonitril/Toluol kristallisiert werden.

Ferrithiocin besitzt keine antibiotische Eigenschaften gegen eine Reihe gram-positiver und gram-negativer Bakterien. Lediglich Desferri-ferrithiocin zeigt gegen *Escherichia coli* K 12 Hemmwirkung, die vermutlich durch Eisentzug zustande kommt. Dagegen zeigt Ferrithiocin bei einigen Bakterien eine Verstärkung der Cephalosporinwirkung [6]. Über eine mögliche Funktion von Ferrithiocin als Eisentransportverbindung für den Produzentenstamm Tü 1998 sind Untersuchungen durchgeführt worden, worüber an anderer Stelle berichtet werden wird [7].



Figur. a) IR.-Spektrum von Desferri-ferrithiocin in KBr



b) IR.-Spektrum von Ferrithiocin in  $\text{CHCl}_3$

Ferrithiocin bildet dunkelbraun-rote Nadeln, die sich bei *ca.* 160° zersetzen. Die Verbindung ist optisch aktiv,  $[\alpha]_D^{25} = -578^\circ$  ( $c = 6,4 \cdot 10^{-3}$ , Wasser).

Für NMR.-spektroskopische und chemische Untersuchungen war es unumgänglich, das eisenfreie Desferri-ferrithiocin herzustellen. Behandlung von Ferrithiocin mit 1 N NaOH, Abfiltrieren von Eisenhydroxyd und Ansäuern auf pH 3 liefert Desferri-ferrithiocin (**1**) in schwefelgelben, filzigen Nadeln. Das Massenspektrum von **1** gibt einen Molekular-Ion-Pik mit  $m/z$  238, dem durch Hochauflösung die Summenformel  $C_{10}H_{10}N_2O_3S$  zugeordnet wird. Die Mikroanalyse passt am besten auf eine Verbindung mit einer Molekel Wasser, die aber beim scharfen Trocknen weggeht. Im IR.-Spektrum (*Fig. a*) weist die breite Absorptionsbande zwischen 3600 und 2200  $cm^{-1}$  sowie eine Carbonylbande bei 1695  $cm^{-1}$  auf das Vorhandensein einer Carboxylgruppe hin. Im  $^{13}C$ -NMR.-Spektrum (*Tab.*) gehört das Signal bei 180 ppm dem Carboxyl-C-Atom an. Das dritte O-Atom ordnen wir einer phenolischen, wasserstoffbrückengebundenen OH-Gruppe zu. Im IR.-Spektrum findet man die dazugehörige Bande bei 3550  $cm^{-1}$  und im  $^1H$ -NMR.-Spektrum des Methylesters **2** und des Oxydationsproduktes **4** ein durch Zugabe von  $D_2O$  verschwindendes Singulett bei 12 ppm. Eine tertiär gebundene Methylgruppe gibt im  $^1H$ -NMR.-Spektrum (*Tab.*) ein Singulett bei 1,61 ppm und eine Methylen-Gruppe ein *AB*-System bei 3,30 und 3,75 ppm mit  $J = 12$  Hz. Im  $^{13}C$ -NMR.-Spektrum findet man die entsprechenden Signale als Quadruplett bei 25,5 ppm und als Triplett bei 40,7 ppm. Die gemäss Bruttoformel noch verbleibenden drei H-Atome sind an einem Aromaten gebunden ( $^1H$ -NMR.: Signale bei 7,45 ppm, 2 H, und 8,18 ppm, 1 H;  $^{13}C$ -NMR.: Dublette bei 126,0, 128,1 und 141,1 ppm).

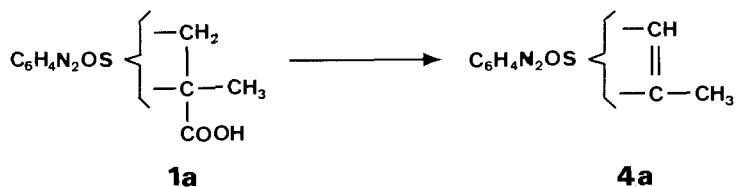
Durch Behandlung von Desferri-ferrithiocin (**1**) bei 0° mit Diazomethan, entsteht der Methylester **2**, der im IR.-Spektrum bei 1735  $cm^{-1}$  die Bande eines aliphatischen Esters und im  $^1H$ -NMR.-Spektrum ein zusätzliches Singulett entsprechend 3 H bei 3,77 ppm zeigt. Führt man die gleiche Reaktion erschöpfend bei Raumtemperatur aus, wird auch die phenolische Gruppe methyliert, was aus dem Verschwinden des Signals bei 12 ppm und dem Entstehen eines Singulett bei 3,88 ppm im  $^1H$ -NMR. hervorgeht.

Bei der milden Oxydation mit Kaliumpermanganat in wässriger NaOH-Lösung entsteht aus Ferrithiocin ein Oxydationsprodukt **4** mit einem Molekular-Ion-Pik  $m/z$  192. Durch hochauflösendes Massenspektrum wird **4** die Summenformel  $C_9H_8N_2OS$  zugeordnet. In seinem  $^1H$ -NMR.-Spektrum erscheint anstelle des *AB*-

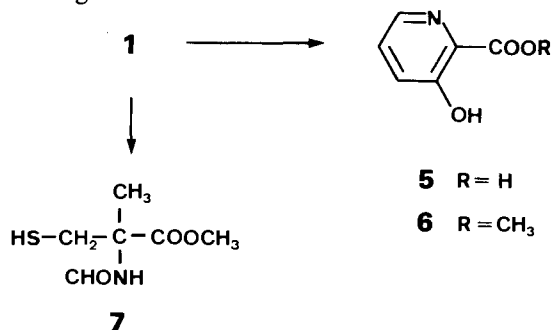
Tabelle. NMR.-spektroskopische Daten von Desferri-ferrithiocin (**1**)

$^{13}C$ -NMR. ( $CD_3OD$ )	$^1H$ -NMR. ( $DMSO-d_6$ )	Zuordnung
25,5 $qa$	1,61 $s$	CH <sub>3</sub>
40,7 $t$	3,30 $d$ , 3,75 $d$	CH <sub>2</sub>
87,3 $s$		C(5')
126,0 $d$	7,45 $d$	C(4), H-C(4)
128,1 $d$	7,45 $d$	C(5), H-C(5)
135,3 $s$		C(2)
141,1 $d$	8,18 $t$	C(6), H-C(6)
156,7 $s$		C(3)
172,8 $s$		C(2')
180,0 $s$	12-14 $br.$	COOH, OH

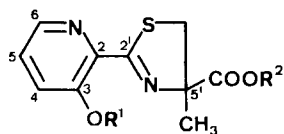
Systems der ursprünglichen Methylengruppe ein olefinisches Singulett bei 6,94 ppm. Gleichzeitig wird das Singulett der tertiären Methylgruppe nach tieferem Feld auf 2,48 ppm verschoben. Dieser Sachverhalt ist mit der in den Partialformeln **1a** und **4a** beschriebenen Deutung vereinbar:



Über die Art und das Substitutionsmuster des aromatischen Rings gibt eine saure Hydrolyse von **1** (*Schema*) Auskunft. Nach Behandlung mit 6N HCl bei 90° während 1 Std. isoliert man mittels präparativer DC. eine aromatische Carbonsäure **5** ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_3$ ,  $M^+ = 139$ ). Veresterung mit Diazomethan ergibt den Methyl-ester **6**, den wir als 3-Hydroxypicolinsäure-methylester identifizierten. Die Struktur ergibt sich aus dem Massenspektrum:  $M^+ = 253$ ,  $m/z$  223 ( $M^+ - \text{CH}_2 = \text{O}$ , *MacLafferty*-Umlagerung), 221 ( $M^+ - \text{CH}_3\text{OH}$ ), 95 ( $M^+ - \text{CH}_2 = \text{O} - \text{CO}$ ) usw. sowie aus dem IR.- und  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, die mit den Spektren einer authentischen Probe dieser Verbindung übereinstimmen.



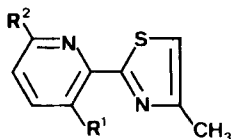
Eine weitere Komponente der sauren Hydrolyse, die auf DC.-Platten mit Nitroprussid-Natrium [8] anfärbbar ist, lässt sich mittels Chromatographie an CM *Sephadex* C-25 in Pyridin/Acetat-Puffer (pH 5) isolieren. Diese Verbindung ist nur bei tiefen Temperaturen ( $-20^\circ$ ) und unter Stickstoff stabil. Ein stabileres, gemäss DC. und  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nicht ganz einheitliches Derivat **7** erhielt man durch Behandlung des Rohproduktes mit Diazomethan in abs. DMF unter Zugabe von  $\text{BF}_3$ -Ätherat und anschliessender Reinigung auf präparativer DC.-Platte. Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum findet man ein Methylstersignal bei 3,78 ppm sowie bei 1,67 ppm das Singulett einer tertiären Methylgruppe. Bei 1,35 ppm erscheint ein Doppeldublett entsprechend 1 H mit  $J$  von 8 und 10 Hz, das bei Zugabe von  $\text{D}_2\text{O}$  verschwindet. Dieses Signal ordnen wir einer primären SH-Gruppe zu. Der Kopp- lungspartner, eine vicinale  $\text{CH}_2$ -Gruppe, ergibt sich durch 2 Doppeldublette bei 2,96 ppm mit  $J$  von 10 und 14 Hz sowie bei 3,55 mit  $J$  von 8 und 14 Hz zu erkennen. Diese Signalgruppe wird bei  $\text{D}_2\text{O}$ -Zugabe zu 2 Dubletten mit  $J$  von 14 Hz reduziert. Eine N-Formylgruppe erkennt man aufgrund eines Dublettes mit  $J$  von



**1** R¹=H, R²=H

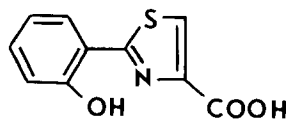
**2** R¹=H, R²=CH₃

**3** R¹=CH₃, R²=CH₃



**4** R¹=OH, R²=H

**8** R¹=H, R²=OH



**9**

2 Hz bei 8,17 ppm sowie des breiten Signals eines Amidprotons bei 6,6 ppm. Offensichtlich ist unter den gewählten Reaktionsbedingungen die Formylgruppe vom Lösungsmittel (DMF) auf das N-Atom des Abbauproduktes übertragen worden. Anhand dieser Signale ordnen wir diesem Abbauprodukt die Struktur von *N*-Formyl-*α*-methylcystein-methylester (7) zu. Das Massenspektrum zeigt zwar keinen Molekularpik (C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>S, Mol.-Gew. 177), die beobachteten Fragmente passen aber gut auf die Struktur: *m/z* 132 (*M*<sup>+</sup>-HN=CH-OH, *Mac-Lafferty*-Umlagerung, 100), 118 (*M*<sup>+</sup>-COOCH<sub>3</sub>), 100 (*M*<sup>+</sup>-HN=CH-OH-CH<sub>3</sub>OH) usw. Die Struktur ist auch mit der vom Oxydationsprodukt 4 abgeleiteten Partialformel 1a vereinbar. Dieses Abbauergebnis kann interpretiert werden, indem man in Desferri-ferrithiocin das Vorhandensein eines Thiazolinderivates annimmt. Zusammen mit den Analysen und spektroskopischen Daten ergibt sich für Desferri-ferrithiocin zwangsläufig die Struktur 1.

Über die absolute Konfiguration wissen wir noch nicht Bescheid.

Welche Gruppen in Desferri-ferrithiocin für die Eisenkomplexbildung herangezogen werden, lässt sich z.Z. noch nicht sagen. Immerhin steht fest, dass die freie Carboxylgruppe dazu essentiell ist. Veresterung oder Entfernung führt zu den Derivaten 2, 3 und 4, die mit FeCl<sub>3</sub>-Lösung wohl noch eine Farbreaktion zeigen, aber keine isolierbaren Komplexe mehr bilden. Diese Beobachtung deckt sich mit den Erfahrungen von *Steffan & Prijs* [9], die Thiazolderivate der allgemeinen Formel 8 synthetisierten. Die Autoren finden bei diesen Verbindungen wohl Farbreaktionen mit Eisen, aber über die Isolierung von Eisenderivaten ist nichts mitgeteilt worden.

Aus *Pseudomonas aeruginosa* hat eine japanische Arbeitsgruppe [10] eine verwandte Verbindung, die Aeruginsäure 9, isoliert, die sich sowohl im 6-Ring (Phenyl- statt Hydroxypyridin) als auch im schwefelhaltigen Teil (Fehlen eines chiralen Zentrums) unterscheidet.

#### Experimenteller Teil

*Allgemeines.* Smp. in offener Kapillare bestimmt, nicht korrigiert. DC.: Kieselgel-60-Fertigplatten F<sub>254</sub> Merck; die Lokalisierung der Flecken erfolgte im allgemeinen durch Betrachten im UV.-Licht oder Entwicklung im Joddampf. UV.: *Perkin-Elmer*-Spektrometer 402; Angaben von λ<sub>max</sub> in nm (log ε). IR.: *Perkin-Elmer*-Spektrometer 157 G; Angaben in cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-NMR.: *Varian*-Spektrometer HA-100 (100 MHz); chemische Verschiebungen in δ gegenüber TMS. <sup>13</sup>C-NMR.: *Varian*-Spektrometer XL-100 (25,2 MHz); chemische Verschiebungen in δ gegenüber TMS (in Klammer Aufspaltung in *off-resonance*-Spektrum). MS.: *Varian* 711 A (Intensität in % des Basispiks).

*Fermentation des Stammes Tü 1998 und Isolierung von Ferrithiocin.* Der Stamm wurde im 10-l-Fermenter (New Brunswick, Modell F 14) 90 Std. bei 27°, 4 l Luft/Min. und 220 U./Min. auf der folgenden Nährlösung angezogen: 2% vollfettes Sojamehl und 2% Mannit in deionisiertem Wasser, pH der Nährlösung vor dem Sterilisieren mit NaOH-Lösung auf pH 7,5 gebracht. Als Impfmateriale dienten 5% einer 48 Std. alten Vorkultur, die auf der gleichen Nährlösung angezogen wurde. Zur Aufarbeitung wurden die Kulturen bei unverändertem pH mit 12 g Eisen(III)chlorid-hexahydrat versetzt und unter Zusatz von 1,5% *Celite* filtriert. Das Filtrat wurde mit NaOH-Lösung auf pH 7 eingestellt, mit NaCl gesättigt und 4mal mit 2,5 l Essigester extrahiert. Die Extrakte wurden i.V. eingedampft, der viskose braune Rückstand wurde in 50 ml Wasser gelöst und zur Entfernung lipophiler Bestandteile 4mal mit Methylenchlorid extrahiert. Die wässrige Phase wurde i.V. zum trockenen Pulver eingedampft, dieses in 10 ml CHCl<sub>3</sub>/MeOH 1:1 gelöst und an *Sephadex* LH 20 chromatographiert. Die gemäss DC. einheitlichen Fraktionen ergaben 258 mg dunkelbraun-rotes Pulver.

Zur Analyse wurde das amorphe Pulver aus MeOH/CH<sub>3</sub>CN/Toluol zu kleinen, verfilzten Nadeln kristallisiert. Smp. 160° (Zers.). Rf 0,27 in CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 65:25:4. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = -578° (c = 6,4 · 10<sup>-3</sup>, H<sub>2</sub>O). - UV. (c = 1%, H<sub>2</sub>O): 207 (2,82), 227 Sch. (2,71), 268 Sch. (2,4), 325 (2,48), 405 (2,04), 460 Sch. (1,9). - IR. (CHCl<sub>3</sub>): *Figur b.*

*Desferri-ferrithiocin (1).* Zu 97 mg Ferrithiocin wurden 3 ml 1N NaOH gegeben, mit Hilfe von *Celite* vom ausgeschiedenen Eisenhydroxid abfiltriert und das Filtrat bei 0° mit konz. Salzsäure auf pH 3 eingestellt. Dabei kristallisierten 55 mg **1** in schwefelgelben Nadeln aus, die mit eiskaltem Wasser gewaschen wurden. Eine Analysenprobe wurde aus heissem Wasser/MeOH umkristallisiert. Rf 0,17 in CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 65:25:4. Smp. 90-92°. [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = +30,1° (c = 1,01, MeOH). - UV. (H<sub>2</sub>O): 200 (4,18), 235 Sch. (3,73), 308 (3,79), 382 (3,33). - IR. (KBr): *Figur b.* - <sup>1</sup>H-NMR. (100 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO): 1,61 (s, 3 H); 3,30 (d, J = 12, 1 H); 3,75 (d, J = 12, 1 H); 7,45 (d, J = 3, 2 H); 8,18 (t, J = 3, 1 H); 12-14 (br., 2 H). - <sup>13</sup>C-NMR. (25 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 25,5 (qa), 40,7 (i), 87,3 (s), 126,0 (d), 128,1 (d), 135,3 (s), 141,1 (d), 156,7 (s), 172,8 (s), 180 (s). - MS.: u.a. 240 (3, M<sup>+</sup> + 2), 238,0404 (M<sup>+</sup>, Ber. für C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: 238,0412, 26), 193 (82), 121 (19), 92 (86), 91 (100), 65 (27), 39 (26).

C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S · H <sub>2</sub> O	Ber. C 46,86	H 4,72	N 10,93	S 12,53%
(256,05)	Gef. „ 46,58	„ 4,77	„ 10,74	„ 12,51%

*Desferri-ferrithiocinmethylester (2).* Innert 20 Min. wurden 70 mg (0,294 mmol) **1** bei 0° in MeOH/H<sub>2</sub>O mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Eindampfen i.V., Ausschütteln mit CHCl<sub>3</sub> aus H<sub>2</sub>O und präp. DC. (Kieselgel, CHCl<sub>3</sub>/MeOH 40:1) ergaben 40 mg (0,158 mmol, 54%) Methylester **2** als blassgelbes Öl. DC.: Rf 0,79 in CHCl<sub>3</sub>/MeOH 40:1. - UV. (EtOH): 210 (4,22), 238 (3,82), 313 (4,01). - IR. (CHCl<sub>3</sub>): 1735, 1590, 1450, 980. - <sup>1</sup>H-NMR. (CHCl<sub>3</sub>): 1,68 (s, 3 H); 3,18 (d, J = 12, 1 H); 3,77 (s, 3 H); 3,80 (d, J = 12, 1 H); 7,18-7,4 (m, 2 arom. H); 8,1-8,25 (m, 1 arom. H); 12,0 (br. s, OH\*). - MS.: u.a. 252 (24, M<sup>+</sup>, C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S), 193 (100), 165 (4), 121 (14), 73 (23).

*Desferri-O-methyl-ferrithiocinmethylester (3).* Behandlung bei RT. von 45 mg (0,189 mmol) **1** in MeOH/H<sub>2</sub>O mit ätherischer Diazomethanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung, Eindampfen i.V., Ausschütteln mit CHCl<sub>3</sub> aus H<sub>2</sub>O und Chromatographieren an *Sephadex* LH 20 mit CHCl<sub>3</sub>/MeOH 1:1 lieferten 29,4 mg (0,11 mmol, 58%) **3** als farbloses Öl. DC.: Rf 0,83 in CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O 65:25:4. - IR. (CHCl<sub>3</sub>): 1730, 1600, 1580, 1465, 1430, 960. - <sup>1</sup>H-NMR. (CDCl<sub>3</sub>): 1,66 (s, 3 H); 3,17 (d, J = 12, 1 H); 3,74 (d, J = 12, 1 H); 3,77 (s, 3 H); 3,88 (s, 3 H); 7,32 (d, J = 3, 2 H); 8,23 (t, J = 3, 1 H). - MS.: u.a. 266 (10, M<sup>+</sup>, C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S), 219 (12), 207 (100), 192 (25), 166 (10), 135 (28), 73 (22).

*Oxydation von Ferrithiocin zu 2-(5'-Methyl-2'-thiazolyl)-3-hydroxy-pyridin (4).* Die Lösung von 47,5 mg Ferrithiocin in 2 ml H<sub>2</sub>O wurde mit 1N NaOH auf pH 10 eingestellt und mit einer gesättigten wässrigen KMnO<sub>4</sub>-Lösung tropfenweise so langsam versetzt, dass stets nur eine schwache Violett-färbung vorhanden war. Sobald mit DC. keine Desferriverbindung mehr nachgewiesen werden konnte, filtrierte man vom Braunstein und Eisenhydroxid ab und extrahierte 2mal mit 10 ml CHCl<sub>3</sub>. Die Extrakte lieferten nach dem Eindampfen i.V. weisses Rohprodukt (12,6 mg), das aus Aceton/H<sub>2</sub>O zu farblosen Nadeln kristallisierte: 7 mg (0,036 mmol). DC.: Rf 0,41 in CHCl<sub>3</sub>. Smp. 115°. - IR. (CHCl<sub>3</sub>): 1580, 1525, 1450, 1025. - <sup>1</sup>H-NMR. (CDCl<sub>3</sub>): 2,48 (s, 3 H); 6,94 (s, 1 H); 7,1-7,46 (m, 2 arom. H); 8,15 (d × d, J<sub>1</sub> = 2, J<sub>2</sub> = 4, 1 arom. H); 12,02 (br. s, OH\*). - MS.: u.a. 194 (6), 193 (14), 192,0357 (100, M<sup>+</sup>, Ber. für C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 192,0357), 164 (22), 72 (33), 57 (26).

*Abbau von Desferri-ferrithiocin (1) zu 3-Hydroxypicolinsäure-methylester (6).* Aus 124 mg Ferrithiocin wurde zuerst, wie oben beschrieben, Desferri-ferrithiocin (**1**) hergestellt und dieses während 1 Std., bei 90° in 2 ml 6N HCl unter N<sub>2</sub> hydrolysiert. Der Eindampfrückstand enthielt gemäss DC.

in  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  65:25:4 2 Hauptprodukte mit Rf 0,17 (Joddampf und Nitroprussid-Natrium positiv, charakteristisch für SH-Verbindungen [8]) und Rf 0,32 (Fluoreszenzlösung). Das letztere konnte durch präp. DC. im gleichen Laufmittelsystem rein hergestellt werden: 63 mg farbloses Pulver (5). Smp. 219–223° (Zers.). - IR. (KBr): 3430br., 1635, 1605, 1455. -  $^1\text{H-NMR}$ . ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 7,9 (br., 2 arom. H); 8,18 (br., 1 arom. H). -  $^{13}\text{C-NMR}$ . ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 129,0 (d), 130,7 (d), 134,0 (s), 139,0 (d), 160,1 (s), 173,0 (s). - MS.: u.a. 139 (9,  $M^+$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_3$ ), 121 (7), 95 (100), 93 (15), 67 (19), 44 (54).

Die Verbindung 5 wurde in 2 ml abs. DMF gelöst und unter Zusatz von 2 Tropfen  $\text{BF}_3$ -Ätherat mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert. Dann wurde mit 10 ml  $\text{H}_2\text{O}$  verdünnt und 2mal mit Essigester extrahiert. Die Extrakte wurden mit  $\text{H}_2\text{O}$  gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und i.V. eingedampft. Der Rückstand kristallisierte aus Essigester/Hexan in farblose Nadeln: 31 mg. Smp. 72–73°. Dieses Produkt erwies sich im direkten Vergleich (Misch-Smp., DC., IR. und  $^1\text{H-NMR}$ .) als identisch mit einer authentischen Probe 3-Hydroxy-picolinsäuremethylester (6).  $^1\text{H-NMR}$ . ( $\text{CDCl}_3$ ): 4,02 (s, 3 H); 7,3–7,45 (m, 2 H); 8,18–8,32 (m, 1 H); 10,58 (s, 1 H). - MS.: u.a. 153 (84,  $M^+$ ,  $\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}_3$ ), 123 (73), 95 (95), 93 (100).

*N-Formyl-a-methylcystein-methylester* (7). Wie oben beschrieben wurden 40 mg (0,168 mmol) Desferri-ferrithiocin (1) hydrolysiert und der Eindampfrückstand in Pufferlösung (Pyridin/Eisessig 65:35, v/v, je 0,1 M, pH 5) an CM *Sephadex* C-25 chromatographiert. Die einheitlichen mit Nitroprussid-Natrium anfärbbaren Fraktionen wurden i.V. eingedampft und in abs. DMF unter Zusatz von  $\text{BF}_3$ -Ätherat mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert. Das Rohprodukt wurde mit Essigester ausgeschüttelt, die Extrakte mehrfach mit  $\text{H}_2\text{O}$  gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und i.V. eingedampft. Es resultierten 16 mg 7 als farbloses Öl. DC.: Rf 0,41 in  $\text{CHCl}_3$ /Essigester 1:1 (mit Spuren von Verunreinigungen). - IR. ( $\text{CHCl}_3$ ): 3390, 2850, 1735, 1690. -  $^1\text{H-NMR}$ . ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,35 ( $d \times d$ ,  $J_1=8$ ,  $J_2=10$ , SH); 1,67 (s, 3 H); 2,96 ( $d \times d$ ,  $J_1=10$ ,  $J_2=14$ , 1 H); 3,55 ( $d \times d$ ,  $J_1=8$ ,  $J_2=14$ , 1 H); 3,78 (s, 3 H); 6,6 (br., 1 H); 8,17 (d,  $J=2$ , 1 H).

Bei Zugabe von  $\text{D}_2\text{O}$  verschwinden die Signale bei 1,35 und 6,6 ppm, die Doppeldublette werden zu Dubletten mit  $J=14$  und das Dublett bei 8,17 ppm zum Singulett. - MS.: u.a. 178 (1, [ $M^+ + 1$ ],  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{NO}_3\text{S}$ ), 146 (3), 132 (100), 118 (21), 102 (29), 100 (62), 73 (22), 42 (54).

Wir danken Prof. Dr. W. Keller-Schierlein vom Laboratorium für organische Chemie der ETH Zürich für die grosszügige Hilfe, insbesondere bei der Interpretation der Spektren. Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* danken wir für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. Anke, I. Kolthoum & H. Laatsch, Arch. Microbiol. im Druck.
- [2] H. Zäher, Angew. Chemie 89, 696–703 (1977) und 'Search for New Secondary Metabolites', in R. Hütter, T. Leisinger, J. Nüesch und W. Wehrli Edts. Antibiotics and Other Secondary Metabolites. Academic Press London 1978, 1–18.
- [3] R. Hütter, «Systematik der Streptomyceten». Bibl. Microbiol. 6. Basel, New York: Karger 1967.
- [4] H. Brockmann & K.H. Renneberg, Naturwiss. 40, 59–60 (1953); H. Brockmann, W. Lenk, G. Schwanthe & A. Zeeck, Tetrahedron Letters 1966, 3525; H. Brockmann & A. Zeeck, Chem. Ber. 103, 1709–1726 (1970).
- [5] J. Breiter, Kontakte Merck, 3, 9–14 (1977).
- [6] Wir danken Dr. Gruner, Ciba-Geigy AG, Basel, für diesen Hinweis.
- [7] G. Winkelmann & H. U. Naegeli, in Vorbereitung.
- [8] G. Tonnies & J.J. Kolb, Anal. Chem. 23, 823 (1951).
- [9] I. Steffan & B. Prijs, Helv. 44, 1429–1432 (1966).
- [10] Y. Yamada, N. Seki, T. Kitahara, M. Takahashi & M. Matsui, Agr. Biol. Chemistry 34, 780–783 (1970).