

51. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

253. Mitteilung¹⁾

Hormaomycin, ein neues Peptid-lacton mit morphogener Aktivität auf Streptomyceten

von Nikolaus Andres, Heinz Wolf²⁾* und Hans Zähler

Institut für Biologie II, Lehrstuhl für Mikrobiologie I der Universität, Auf der Morgenstelle 28,
D-7400 Tübingen

und Ellen Rössner und Axel Zeeck*

Institut für Organische Chemie der Universität, Tammannstrasse 2, D-3400 Göttingen

und Wilfried A. König und Volker Sinnwell

Institut für Organische Chemie der Universität, Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13

(13. XII. 88)

Hormaomycin, a Novel Peptide Lactone with Morphogenetic Activity on Streptomyces

A culture identified as *Streptomyces griseoflavus* (strain W-384) has been found to produce a novel peptide-lactone antibiotic designated hormaomycin (6). The empirical molecular formula of the compound is established to be C₅₅H₆₉ClN₁₀O₁₄. The constituent amino acids of the antibiotic are suggested to be allothreonine (1; 1), isoleucine (2; 1), 3-methyl-phenylalanine (3; 2), and, for the first time identified from a natural source, 4-[(Z)-prop-1-enyl]-proline (4; 1) and 3-(2-nitrocyclopropyl)-alanine (5; 2). The amino acids were delivered by acidic hydrolysis and assigned by high-resolution GC/MS analysis (after transformation to derivatives) in combination with extended 2D-NMR experiments of the antibiotic itself. From the latter, it became plausible that the N-terminus of the peptide chain is acylated by a Cl-containing derivative of 1*H*-pyrrol-2-carboxylic acid. Hormaomycin is active against some *Gram*-positive bacteria. In addition, the antibiotic exhibits potent aerial mycelium-inducing activity and effects the production of antibiotics.

Einleitung. – Bakterien der Gattung *Streptomyces* sind durch einen komplexen Entwicklungszyklus gekennzeichnet, bei dem sich auf festem Nährboden aus einem Substratmycel ein Luftmycel bildet. In einem Sporulationsprozess können dann endständige Luftmycel-Hyphen in Sporenketten fragmentieren. Experimentelle Befunde lassen vermuten, dass die Zelldifferenzierung in Luftmycel und Sporen während des sekundären Stoffwechsels stattfindet, also gleichzeitig mit der Synthese von Antibiotika, Pigmenten, Speicherstoffen und Geosminen.

Über die Regulation des Sekundärstoffwechsels und der Differenzierung bei Streptomyceten ist bisher wenig bekannt. Beide Prozesse scheinen aber, eng verbunden, durch zwei Gruppen von Signal-Substanzen kontrolliert zu werden, die entweder in der Zelle oder zwischen den Zellen vermitteln.

¹⁾ 252. Mitteilung: [1].

²⁾ Neue Adresse: Institut für Systemdynamik und Regelungstechnik der Universität, Pfaffenwaldring 9, D-7000 Stuttgart 80.

Ochi [2] konnte kürzlich bei Streptomycceten zeigen, dass sowohl die Luftmycel-Entwicklung als auch die Antibiotika-Synthese stringent kontrolliert werden. Die stringente Kontrolle wird durch zwei intrazelluläre Effektoren ausgelöst, Guanosin-tetra- und Guanosin-pentaphosphat.

Neben diesen bei Bakterien allgemein verbreiteten Effektoren sind interzelluläre, stammspezifische Signal-Moleküle gefunden worden. Sie induzieren bei Actinomyceten Luftmycel- und/oder Antibiotika-Bildung wie z. B. der A-Faktor ((3*R*)-2-Isocooctanoyl-3-(hydroxymethyl)- γ -butyrolacton) [3][4] und verwandte γ -Lactone [5][6], der B-Faktor (3'-(1-Butylphosphoryl)adenosin) [7], der C-Faktor, ein Protein mit der Molmasse 34 500 Dalton [8], oder das jüngst beschriebene Pamamycin-607, ein makrocyclisches Bis-lacton [9].

Auf der Suche nach neuen interzellulären Signal-Substanzen haben wir mit Hilfe des Agar-Diffusionstests unter 800 Streptomycceten einen Stamm gefunden, der eine Substanz mit der gewünschten Aktivität produziert. Die Verbindung regt in geringer Konzentration die Luftmycel- und Antibiotika-Bildung beim Produzentenstamm und bei mehreren anderen Streptomyccetenstämmen an. Sie wurde deshalb Hormaomycin genannt (gr. *hormáo* = ich rege an).

Produktion und Isolierung. – Der Produzent (Stamm W-384) des Hormaomycins wurde aus einer bei Anuradhapura (Sri Lanka) gesammelten Erdprobe isoliert. Er gehört zur Gattung *Streptomyces*, stimmt in allen artbestimmenden Merkmalen mit dem Typusstamm von *Streptomyces griseoflavus* überein und ist daher dieser Art zuzuordnen.

Der Stamm W-384 wurde in einem 10-l-Fermenter submers in einer komplexen Nährlösung angezogen. Entscheidend für eine gute Produktausbeute war eine Temperaturänderung von 27 auf 20° nach 8 h Inkubation. Die Antibiotika-Bildung wurde mit dem Agar-Diffusionstest und durch HPLC verfolgt und erreichte nach 45 h ein Maximum von 40 mg/l. Hormaomycin befand sich zu 98% in den Zellen und konnte daraus mit MeOH extrahiert werden. Die Reinigung zu einem einheitlichen Präparat gelang in mehreren Stufen: Extrahieren des Rohproduktes mit AcOEt und aufeinanderfolgende Chromatographie an Kieselgel und *Sephadex LH-20* in verschiedenen Lösungsmitteln.

Charakterisierung. – Hormaomycin wurde als farbloses, amorphes Pulver erhalten. Es ist neutral, löst sich gut in MeOH, CHCl₃, Aceton oder AcOEt und ist in H₂O oder Hexan unlöslich. Auf DC-Platten (*Sil G/UV₂₅₄*) löscht es UV-Licht (254 nm), färbt sich beim Stehen an der Luft langsam gelb und lässt sich nach *Barrollier* (blaugrün) und mit *Ehrlich's* Reagenz (blass violett), nicht jedoch mit Ninhydrin anfärben. Das optisch aktive Hormaomycin zeigt typische UV-Maxima bei 278 und 206 nm (MeOH), die sich bei pH-Änderungen nur wenig verschieben. Im IR-Spektrum (*Fig. 1*) sind Banden für CO-Lacton (1741 cm⁻¹) und CO-Amid (*ca.* 1640 und 1545 cm⁻¹) zu erkennen. Die Molmasse von 1128,4 ergibt sich aus dem FAB-MS. Der Elementaranalyse nach enthält Hormaomycin neben C, H, N und O auch 1 Cl-Atom. Die Aufstellung der Bruttoformel bereitete anfangs erhebliche Schwierigkeiten, weil insbesondere die gefundenen N-Werte zu niedrig waren. Sorgfältige Probenvorbereitung führte zu Werten, die mit den Ergebnissen der inzwischen erfolgten Aminosäure-Zuordnung besser übereinstimmten, entsprechend der Bruttoformel C₅₅H₆₉ClN₁₀O₁₄.

Das ¹H-NMR-Spektrum in CDCl₃ (*Fig. 2*) zeigt sechs deutlich unterscheidbare, mit CD₃OD z. T. langsam austauschende NH-Gruppen und eine OH-Gruppe bei 11,1 ppm.

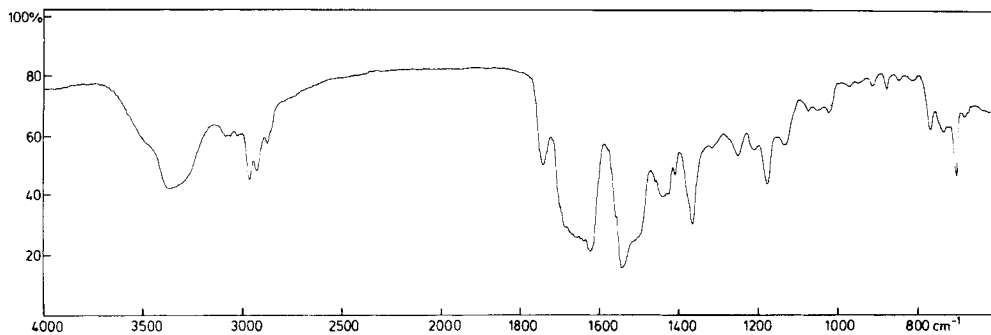


Fig. 1. IR-Spektrum (KBr) von Hormaomycin (6)

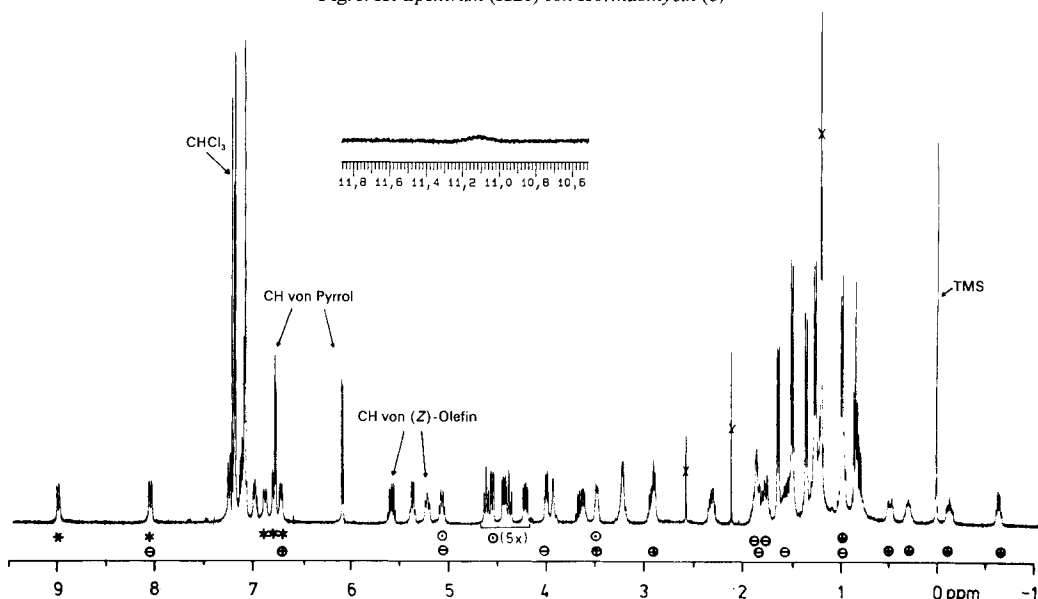
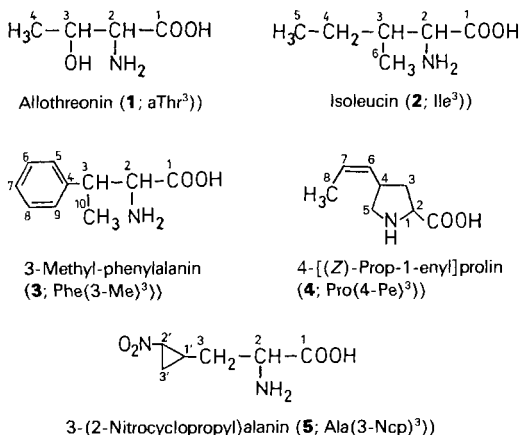


Fig. 2. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (400 MHz, CDCl_3) von Hormaomycin (6)
 (* Amid-NH, \oplus Ala(3-Ncp) (I), \ominus Ala(3-Ncp) (II), \odot CH(α) der Aminosäure-Bausteine)

Zehn eng beieinander liegende aromatische Protonen sowie ein *AB*-System (6,73, 6,08 ppm, $J = 4,5$) sind zu erkennen. Im Bereich 2–5,5 ppm liegen zahlreiche, gut voneinander getrennte Signale für jeweils 1 Proton. Eine Signalhäufung tritt zwischen 1–2 ppm auf, erkennbar sind 5 *d* und 1 *t* für CH_3 -Gruppen. Bemerkenswert und für das Hormaomycin typisch sind 2 *m* (je 1H) bei 0,48 und 0,29 ppm sowie 2 weitere *m* jenseits von TMS bei $-0,15$ und $-0,63$ ppm.

Im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum geben sich insgesamt 55 C-Atome zu erkennen, die folgende Qualität haben: 6 CH_3 , 7 CH_2 , 16 $\text{sp}^3\text{-CH}$, 14 $\text{sp}^2\text{-CH}$, 4 $\text{sp}^2\text{-C}$ und 8 CO. Im Bereich der $\text{sp}^3\text{-C}$ -Atome fallen die Signale von 2 CH_3 -Gruppen (13,4 ppm) übereinander, bei den $\text{sp}^2\text{-CH}$ sind 4 Signale (127,4, 127,7, 128,5, 128,6 ppm) doppelt zu zählen sowie das einer CO-Gruppe (168,7 ppm). Das Spektrum lässt vermuten, dass Hormaomycin ein Peptid ist, das zwei aromatische und weitere ungesättigte Aminosäuren enthält.

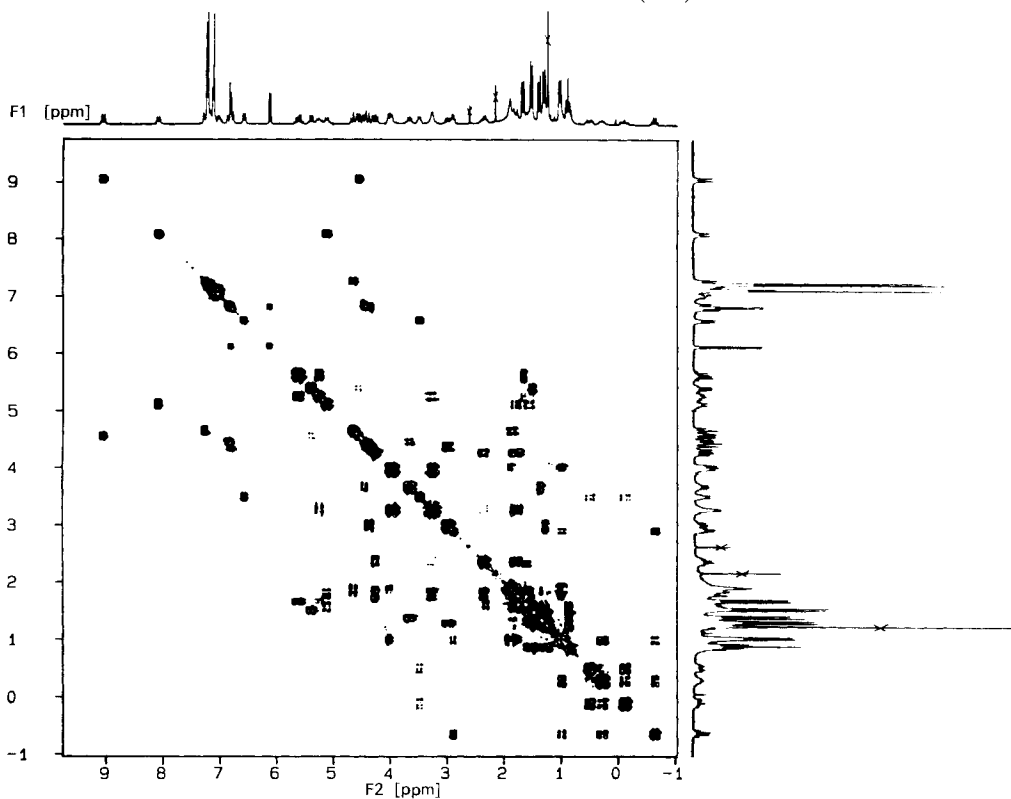
Aminosäure-Bausteine. – Die Aufklärung der im Hormaomycin enthaltenen Aminosäuren (s. **1–5**) wurde von zwei Seiten in Angriff genommen, durch Identifizierung der bei der Hydrolyse erhaltenen Komponenten und durch Zuordnung im intakten Antibiotikum mit Hilfe von ^1H , ^1H - und ^1H , ^{13}C -COSY-NMR-Spektren.



Im Totalhydrolysat von Hormaomycin (6M HCl/AcOH 1:1, 110°, 48 h) liessen sich mit der automatischen Aminosäure-Analyse und durch Mikrodansylierung [10] Threonin (Thr)³ und Isoleucin (Ile)³ nachweisen. Ungewöhnliche, neutrale Aminosäuren waren im Bereich des Prolins, des Valins (zwei Banden) und des Phenylalanins (Bande mit doppelter Intensität) zu erkennen. Für die Untersuchung in der GC/MS-Kopplung überführte man die Aminosäuren in die trifluoroacetylierten Methylester bzw. Isopropylester oder stellte Trimethylsilyl-Derivate her. Aus den MS der Substanzen mit kleinster Retentionszeit konnten Allothreonin (**1**; aThr³) und Isoleucin (**2**; Ile³) zugeordnet werden. Ferner liess sich vergleichsweise einfach die doppelt vorkommende Aminosäure als 3-Methyl-phenylalanin (**3**; Phe(3-Me)³) durch die charakteristischen Fragmente bei m/z 230 ($M^+ - \text{COOCH}_3$) und 105 ($[\text{C}_6\text{H}_5\text{CHCH}_3]^+$) im EI-MS des trifluoroacetylierten Methylesters und das Moleküllion bei m/z 318 ($[M + \text{H}]^+$) im CI-MS des trifluoroacetylierten Isopropylesters zuordnen. Die Daten stimmten mit denen für synthetisches Phe(3-Me) überein [11]. Für die bisher genannten Aminosäuren konnten, ausgehend von den CH_3 -Gruppen bzw. von den NH- und $\text{CH}(\alpha)$ -Gruppen, die zusammengehörenden Koppelpartner im ^1H , ^1H -COSY-Spektrum (Fig. 3, Tab. 1) aufgefunden und über das ^1H , ^{13}C -COSY-Spektrum mit den zugehörigen C-Atomen verknüpft werden. Die Signale der beiden Phe(3-Me)Bausteine unterscheiden sich z. T. deutlich. Auffällig ist ferner, dass die H_α - H_β -Kopplungskonstante einmal 4,5 Hz wie in der freien Aminosäure und einmal 10,5 Hz beträgt, was auf unterschiedliche Konformationen der Seitenketten hindeutet (Tab. 1).

Als erste neue Aminosäure wurde das 4-[(Z)-Prop-1-enyl]prolin (Pro(4-Pe)³); **4**) identifiziert. Den Hinweis auf die Molmasse bzw. das Prolin-Gerüst lieferte das Ion bei

³) Zur Erleichterung der Diskussion werden für Aminosäure-Bausteine unbekannter Konfiguration sowie für die Aminosäuren im Hydrolysat von Hormaomycin die Aminosäure-Symbole von IUPAC/IUB verwendet.

Fig. 3. ^1H , ^1H -COSY-NMR-Spektrum (CDCl_3 , 200 MHz) von Hormaomycin (6)Tab. 1. ^{13}C - und ^1H -NMR-Daten (CDCl_3 , 100,6 bzw. 400 MHz) von Hormaomycin (6)

Aminosäure ^{a)}	$\delta(\text{C})$	Qualität ^{b)}	Zuordnung ^{c)}	$\delta(\text{H})$	Aufspaltung	Zuordnung ^{c)}
aThr	17,0	CH_3	C(4)	1,48	$d (J = 7)$	3H-C(4)
	55,0	CH	C(2)	4,54	$dd (J = 9,5, 2,5)$	H-C(2)
	69,2	CH	C(3)	5,35	$dq (J = 2,5, 7)$	H-C(3)
	^{d)}	C	C(1)	8,98	$d (J = 9,5)$	NH-C(1)
Ile	10,5	CH_3	C(5)	0,82	$t (J = 7)$	3H-C(5)
	15,0	CH_3	C(6)	0,97	$d (J = 7)$	3H-C(6)
	24,9	CH_2	C(4)	1,22	verdeckt	H_a -C(4)
				1,49	verdeckt	H_b -C(4)
	37,9	CH	C(3)	1,80	verdeckt	H-C(3)
Phe(3-Me) (I)	54,6	CH	C(2)	4,60	$dd (J = 9, 9)$	H-C(2)
	^{d)}	C	C(1)	7,21	verdeckt	NH-C(1)
	13,4	CH_3	C(10)	1,35	$d (J = 7)$	3H-C(10)
	39,3	CH	C(3)	3,60	$dq (J = 7, 4,5)$	H-C(3)
	60,0	CH	C(2)	4,41	$dd (J = 9,5, 4,5)$	H-C(2)
	127,1	CH	C(7)	7,08	m	H-C(7)
	128,5	CH ($2 \times$)	C(6), C(8)	7,15	$m (4\text{H})$	H-C(5), H-C(6), H-C(8), H-C(9)
	128,6	CH ($2 \times$)	C(5), C(9)			
	142,1	C	C(4)	–		
	^{d)}	C	C(1)	6,85	$d (J = 9,5)$	NH-C(1)

Tab. 1 (Forts.)

Aminosäure ^{a)}	$\delta(\text{C})$	Qualität ^{b)}	Zuordnung ^{c)}	$\delta(\text{H})$	Aufspaltung	Zuordnung ^{c)}	
Phe(3-Me) (II)	17,9	CH ₃	C(10)	1,23	$d (J = 7)$	3H-C(10)	
	41,9	CH	C(3)	2,93	$dq (J = 10, 7)$	H-C(3)	
	59,7	CH	C(2)	4,37	$dd (J = 10,5, 10,5)$	H-C(2)	
	126,9	CH	C(7)	6,95	m	H-C(7)	
	127,4	CH (2 ×)	C(6), C(8)	7,06	$m (4\text{H})$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{H-C(5),} \\ \text{H-C(6),} \\ \text{H-C(8),} \\ \text{H-C(9)} \end{array} \right.$	
	127,7	CH (2 ×)	C(5), C(9)				
	141,6	C	C(4)	–			
	^{d)}	C	C(1)	6,77	verdeckt		NH-C(1)
	Pro(4-Pe)	13,4	CH ₃	C(8)	1,61	$dd (J = 7, 1,5)$	3H-C(8)
		35,5	CH ₂	C(3)	1,72	verdeckt	H _a -C(3)
2,30					m	H _b -C(3)	
36,7		CH	C(4)	3,21	verdeckt	H-C(4)	
52,8		CH ₂	C(5)	3,21	verdeckt	H _a -C(5)	
				3,91	m	H _b -C(5)	
61,3		CH	C(2)	4,20	$dd (J = 11,5, 6)$	H-C(2)	
127,5		CH	C(6)	5,20	m	H-C(6)	
128,2		CH	C(7)	5,58	$dq (J = 10,5, 7)$	H-C(7)	
^{d)}		C	CO-C(2)	–			
Ala(3-Ncp) (I)	17,1	CH ₂	C(3')	–0,63	$ddd (J = 7, 7, 7)$	H _a -C(3')	
				0,98	verdeckt	H _b -C(3')	
	20,1	CH	C(1')	0,29	m	H-C(1')	
	33,2	CH ₂	C(3)	–0,15	m	H _a -C(3)	
				0,48	m	H _b -C(3)	
	51,8	CH	C(2)	3,48	m	H-C(2)	
	58,2	CH	C(2')	2,90	$ddd (J = 6,6, 3,3, 3,3)$	H-C(2')	
	^{d)}	C	C(1)	6,69	$d (J = 9)$	NH-C(1)	
	Ala (3-Ncp) (II)	17,4	CH ₂	C(3')	0,98	verdeckt	H _a -C(3')
					1,80	verdeckt	H _b -C(3')
21,6		CH	C(1')	1,85	verdeckt	H-C(1')	
35,0		CH ₂	C(3)	1,55	verdeckt	H _a -C(3)	
				1,75	verdeckt	H _b -C(3)	
51,0		CH	C(2)	5,05	m	H-C(2)	
59,1		CH	C(2')	3,99	$ddd (J = 6,6, 3,3, 3,3)$	H-C(2')	
^{d)}		C	C(1)	8,03	$d (J = 9)$	NH-C(1)	
(5-Chloro-1-hydroxy- 1H-pyrrol-2-carbonyl)- Teil (Chpca)		103,5	CH	C(4)	6,08	$d (J = 4,5)$	H-C(4)
		109,7	CH	C(3)	6,75	$d (J = 4,5)$	H-C(3)
	119,7	C	C(2)	–			
	121,4	C	C(5)	–			
	159,3	C	C(6)	11,10	br.	OH-N(1)	

a) Abkürzungen und Bezifferung, s. Formeln 1–6.

b) Aus APT und DEPT-Spektren.

c) Aus ¹H, ¹H- und ¹H¹³C-COSY-NMR-Spektren.

d) CO-Signale: 168,7 (2 ×), 169,8, 170,8, 171,3, 171,6 und 171,9.

m/z 265 (M^+) des trifluoroacetylierten Methylesters in Verbindung mit den Ionen bei m/z 206 ($M^+ - \text{COOCH}_3$) und 164. Die Struktur der Seitenkette und ihre Position am Prolin-Gerüst ergab sich aus den Korrelationspektren (Tab. 1).

H-C(4) und 2 H-C(5) überlappten in CDCl₃ und waren im ¹H,¹H-COSY-Spektrum nicht zweifelsfrei zuzuordnen (3,21 bzw. 3,21 und 3,91 ppm). In CDCl₃/(CD₃)₂CO/C₆D₆ 1:1:1 hingegen liess sich eine genaue

Zuordnung treffen (2,98 bzw. 3,07 und 3,85 ppm). Das olefinische *AB*-System ($\delta(\text{H})$ 5,20, 5,58; $\delta(\text{C})$ 127,5, 128,2) besitzt eine *AB*-Kopplung von $J = 10,5$ (*Z*)-Konfiguration) und wird auf der einen Seite durch eine olefinische CH_3 -Gruppe ($\delta(\text{H})$ 1,61), auf der anderen durch eine CH -Gruppe weiter aufgespalten. Ausgehend von $\text{CH}(\alpha)$ (4,20 ppm) kommt man über eine CH_2 - (1,72, 2,30 ppm) und eine CH - (3,21 ppm) zu einer weiteren CH_2 -Gruppe (3,21, 3,91 ppm). Letztere entspricht mit ihrem $\delta(\text{C})$ -Wert (52,8 ppm) dem C(5) des Prolin-Ringes, was die 4-Position des Propenyl-Restes am Prolin-Gerüst beweist.

In der automatischen Aminosäure-Analyse lag der Anteil von **4** immer deutlich unter 1. Man konnte jedoch bei der GC/MS-Analyse neben dem *N*-(Trifluoroacetyl)-4-(prop-1-enyl)prolin-methylester noch entsprechende 4-[1- oder 2-(Trifluoroacetoxy)propyl]- bzw. 4-(1- oder 2-Chlorpropyl)-Derivate an Hand der MS nachweisen. Deren Anwesenheit erklärt sich, wenn sich bei der Hydrolyse des Hormaomycins an die Doppelbindung von Pro(4-Pe) H_2O bzw. HCl addiert.

Die beiden noch nicht zugeordneten Aminosäuren des Totalhydrolysates gaben als trifluoroacetylierte Methylester in der GC/MS-Kopplung identische EI-MS (Fig. 4), die sich keiner bekannten Verbindung zuordnen liessen. Um diese Aminosäuren genauer untersuchen zu können, wurde das Totalhydrolysat von 10 mg Hormaomycin einer HPLC-Trennung (μ -Bondapak- NH_2 , $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 7:3) unterworfen. Die Trennung gelang nicht vollständig, in einer Fraktion jedoch waren der automatischen Aminosäure-Analyse zufolge die unbekannt Aminosäuren **5** und Isoleucin (**2**) jeweils in etwa gleichen Mengen enthalten. Erstere gaben nach Umwandlung zu den trifluoroacetylierten Methylestern wiederum identische EI-MS und lieferten im CI-MS das Molekülion bei m/z 285 ($[M + \text{H}]^+$).

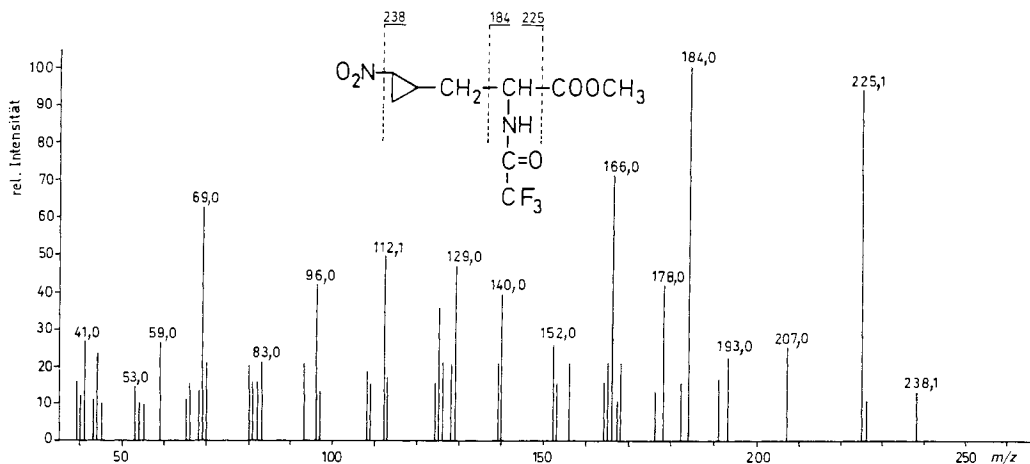
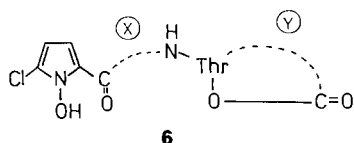


Fig. 4. EI-MS (70 eV) von 3-(2-Nitrocyclopropyl)-*N*-(trifluoroacetyl)alanin-methylester

Die geradzählige Molmasse spricht für zwei N-Atome im Molekül, was durch Hochauflösung der Fragment-Ionen mit EI-MS dieses Derivates und des Molekülions der Trimethylsilyl-Derivate bewiesen wurde und zur Summenformel $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_4$ für die freien Aminosäuren führte. Der *N*-trifluoroacetylierte Methylester verliert als erstes NO_2 (m/z 238) oder COOCH_3 (m/z 225) und zeigt weitere typische Fragment-Ionen einer Nitro-aminosäure. Bei der Suche nach den zugehörigen ^1H -NMR-Signalen in den Korrelationsspektren des Hormaomycins stiess man, ausgehend von den $\text{NH}/\text{CH}(\alpha)$ -Gruppen auf zwei identische Korrelationsreihen, von denen eine leicht auszumachen war (Fig. 3), die andere sich aufgrund von Signal-Überlappungen erst durch Kombination der ^1H , ^1H - und ^1H , ^{13}C -COSY-Spektren bei 400 MHz ergab (Tab. 1).

MS- und NMR-Daten beweisen, dass im Totalhydrolysat 3-(2-Nitrocyclopropyl)-alanin (**5**; Ala(3-Ncp)³) vorliegt und dass **5** zweimal im Hormaomycin enthalten ist. Während sich die entsprechenden ¹H-NMR-Signale der beiden Bausteine Ala(3-Ncp) im intakten Peptid deutlich ($\Delta\delta = 0,82\text{--}1,67$ ppm) unterscheiden, sind die vergleichbaren ¹³C-NMR-Signale sehr ähnlich ($\Delta\delta < 2$ ppm, *Tab. 1*). Die für das Hormaomycin typischen Hochfeld-verschobenen ¹H-NMR-Signale (*Fig. 2, Tab. 1*) gehören zu einem Ala(3-Ncp). Für die Abschirmung könnten die Phenyl-Reste der Phe(3-Me)-Bausteine verantwortlich sein. Bei gleicher Konstitution kann die Trennbarkeit der freien Aminosäure in der automatischen Aminosäure-Analyse (s. *Exper. Teil*) und nach Umwandlung in den trifluoroacetylierten Methylester bei der GC/MS-Analyse nur in einer unterschiedlichen Konfiguration begründet sein. H–C(2') (2,90 und 3,99 ppm) ist in beiden Bausteinen nicht verdeckt und zeigt ein identisches Kopplungsmuster (*ddd*, 5 Linien), aus dem sich die Kopplungskonstanten ($J = 6,6, 3,3$ und $3,3$) ableiten lassen. Aus der Grösse der Kopplungskonstanten von H-Atomen am Cyclopropan-Ring [12] folgt, dass H–C(2') nur mit einem der beiden Protonen an C(3') in *cis*-Kopplung steht und die NO₂-Gruppe und der Alanyl-Rest somit *trans* zueinander am Cyclopropan-Ring stehen. Das Kopplungsmuster von H–C(2') kehrt in gleicher Weise im ¹H-NMR-Spektrum der freien, HPLC-angereicherten Aminosäure Ala(3-Ncp) (**5**) im Signal bei 4,40 ppm wieder, das trotz des Vorliegens von Diastereoisomeren nicht doppelt auftritt. Wir vermuten deshalb, dass sich die beiden Aminosäuren in der Konfiguration am C(α)-Atom unterscheiden.

Partialstruktur und Diskussion. – Fügt man die im Totalhydrolysat des Hormaomycins nachgewiesenen Aminosäuren **1–5** unter Kondensation zusammen, dann sind an der Peptid-Kette der N-Terminus, der C-Terminus, sowie die OH-Gruppe von aThr frei. Ausserdem fehlt noch ein C₅N-Rest, der neben H- und O-Atomen auch das nachgewiesene Cl-Atom enthalten muss. Der N-Terminus der Peptid-Kette ist acyliert, nur so wird die Zahl von insgesamt 6 Amid-NH-Gruppen im ¹H-NMR-Spektrum erreicht. Dementsprechend verliefen Endgruppenbestimmungen mit 1-Fluoro-2,4-dinitrobenzol und Dansyl-chlorid negativ. Die OH-Gruppe von aThr ist verestert, erkennbar an der Tieffeldlage von H–C(3) (5,35 ppm). Dass der C₅N-Rest nicht als Ester, sondern amidisch an die Peptid-Kette gebunden ist, folgt aus der Lacton-Spaltung von Hormaomycin mit MeOH/K₂CO₃ [13]. Unter Aufnahme von MeOH entsteht ein Hormaomycin-methylester mit der Molmasse 1160 (FAB-MS: 1161 ($[M + H]^+$), 1183 ($[M + Na]^+$)), in dessen ¹H-NMR-Spektrum H–C(3) des Threonins nach < 5 ppm verschoben ist und ein Ester-OCH₃-Signal bei 3,74 ppm auftaucht. Der noch nicht zugeordnete Molekül-Teil besteht somit aus einer CO-Gruppe ($\delta(C)$ 159,3 ppm) und einem Rest C₄H₃ClNO. Die C-Atome sind sp²-hybridisiert mit $\delta(C)$ -Werten zwischen 103,5 und 121,4 ppm. Zwei der H-Atome bilden das *AB*-System bei $\delta(H)$ 6,08 und 6,73 ppm, das dritte liegt bei 11,10 (*Tab. 1*). Diese Daten lassen sich plausibel zum amidisch gebundenen 5-Chloro-1-hydroxy-1H-pyrrol-2-carbonsäure(Chpca)-Baustein zusammenfügen (s. **6**). Die entsprechende freie Carbonsäure ist in der Literatur unbekannt und liess sich in den Hydrolysaten des



X und Y sind Peptid-Ketten aus insgesamt
6 Aminosäuren (Ile, Phe(3-Me) (2 ×),
Pro(4-Pe), Ala(3-Ncp) (2 ×))

Hormaomycins bisher nicht nachweisen. Die NMR-Daten von Chpca (Tab. 1) stimmen mit denen für 5-substituierte 1*H*-Pyrrol-2-carbonsäuren [14] sowie denen für vergleichbare Reste in den Antibiotika Chromoxymycin [15] und 55 185 RP [16] befriedigend überein.

Im Hormaomycin bilden die nachgewiesenen Aminosäuren und die postulierte 1*H*-Pyrrol-2-carbonsäure über Amid-Bindungen eine lineare Peptid-Kette, deren C-Terminus mit der OH-Gruppe von αThr einen Lacton-Ring schliesst (s. 6). Der Lacton-Ring trägt am αThr eine amidisch gebundene Seitenkette. Wie viele Aminosäuren dem Lacton-Ring angehören (Y) bzw. zwischen der Pyrrolcarbonsäure und αThr stehen (X) ist ebenso offen wie die Sequenz der Peptid-Kette, die Konfiguration der Aminosäuren und die Konformation des Lacton-Ringes.

Hormaomycin ist ein Peptid-lacton, das die Gruppe der bei Actinomyceten wirksamen, interzellulären Signal-Moleküle um einen auch strukturell neuartigen Vertreter erweitert. Die grösste Ähnlichkeit aufgrund der physikalischen Daten besitzt das Hormaomycin mit dem 1984 von Ōmura *et al.* beschriebenen Takaokamycin [17], von dem bisher keine Strukturdetails mitgeteilt wurden. Beim Vergleich der Literaturdaten fällt insbesondere auf, dass die typischen Hochfeld-¹H-NMR-Signale des Hormaomycins (Fig. 2, Tab. 1) beim Takaokamycin fehlen.

Biologische Aktivität. – Hormaomycin induziert die Luftmycel- und Antibiotika-Bildung von *Streptomyces griseoflavus* (Stamm W-384) und von weiteren *Streptomyces*-Stämmen: *S. flaveolus* (Stamm Tü 51, Hydroxystreptomycin), *S. fradiae* (Stamm Tü 11, Streptolin), *S. griseoflavus* (Stamm Tü 1306, Tirandamycin) und *S. griseus* (Stamm Tü 2599, Bafilomycin). Verwendet man diese Stämme als Indikator-Bakterien für Testplatten und zusätzlich einen Nähragar, auf dem sich kein Luftmycel (erkennbar an der weissen Färbung) entwickelt, so vermag 1 µg Hormaomycin, in einer Papierrondelle auf die Agar-Oberfläche aufgebracht, reichliche Luftmycel-Bildung um die Rondelle herum auszulösen. Zusätzlich induziert die Substanz die Antibiotika-Produktion in diesen Stämmen.

Hormaomycin hemmt das Wachstum weniger Gram-positiver Bakterien (Tab. 2). Die zum biologischen Nachweis verwendeten Stämme *Arthrobacter oxydans* und *Arthrobacter crystallopoietes* sind extrem empfindlich gegen das Antibiotikum. Für diese beiden

Tab. 2. Minimale Hemmkonzentration von Hormaomycin (6) für Bakterien im Verdünnungsreihentest

Stamm ^{a)}	Minimale Hemmkonzentration [µg/ml]
<i>Arthrobacter crystallopoietes</i> ATCC 15481	0,0001
<i>Arthrobacter oxydans</i> ATCC 14358	0,0005
<i>Bacillus brevis</i> ATCC 9999	> 100
<i>Bacillus megaterium</i> ATCC 14581	100
<i>Brevibacterium linens</i> ATCC 9172	10
<i>Clostridium pasteurianum</i> ATCC 6013	> 100
<i>Corynebacterium</i> sp. ATCC 23830	0,1
<i>Escherichia coli</i> ATCC 13525	> 100
<i>Pseudomonas saccharophila</i> ATCC 15946	> 100
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	50
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 11 632	> 100

^{a)} ATCC: American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA.

Bakterien liegt im Verdünnungsreihentest die minimale Hemmkonzentration im ng-Bereich. Alle getesteten Pilze waren völlig unempfindlich gegen Hormaomycin.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Dünnschichtchromatographie (DC): Fertigplatten *Macherey-Nagel Sil G/UV₂₅₄₊₃₆₆*. Niederdruck-Säulenchromatographie: Kieselgel 60 ($< 0,08$ mm, *Macherey-Nagel*). Schmp.: *Reichert*-Heiztisch-Mikroskop, nicht korrigiert. Opt. Drehungen ($[\alpha]_D^{20}$): *Perkin-Elmer*-Polarimeter, Modell 241, thermostatiert bei 20°. UV-Spektren: *Kontron Uvikon 860*; λ_{max} in nm (ϵ). IR-Spektren: *Perkin-Elmer*-Spektrometer, Modell 298; in KBr, $\tilde{\nu}_{max}$ in cm^{-1} . 1H -NMR: *Varian*-Gerät *VXR 200* (200 MHz) oder *Bruker WM 400* (400 MHz), δ in ppm gegenüber TMS als internem Standard, Kopplungskonstanten (J) in Hz. ^{13}C -NMR: *Bruker-Gerät WM 400* (100,6 MHz), Angaben wie 1H -NMR. FAB-MS: *VG 70-250S* (Matrix: Glycerin) und *Finnigan MAT 8200* (Matrix: α -Nitrobenzylalkohol). GC/MS: *Hewlett-Packard HP 5985 A* (EI-MS: 70 eV; CI-MS mit Isobutan als Reaktantgas), 25 m-Quarzkapillare, belegt mit *SE-30*, Trägergas He, Hochauflösungsmessungen unter GC/MS-Bedingungen (*VG 70-250 S*) bei Auflösung 6000, Perfluorokerosin als interner Standard, angegebene Summenformeln durch Hochauflösung bestimmt. CD-Spektren: *Jasco-J-500-A*-Spektrometer in Kombination mit einem *BMC-if-800*-Personal-Computer; λ_{extr} in nm ($[\theta]^{22}$). Aminosäure-Analyse: Aminosäure-Analysator, *Dionex Comp.*, Palo Alto, USA, Modell *Durrum D 500*.

Screening. Aus Erdproben isolierte Streptomycceten wurden aerob bei 27° 3 Tage in der folgenden Nährlg. gezüchtet: 2% Sojamehl vollfett, 2% Mannit; pH 7,5. Von der Gesamtkultur wurden 10 ml lyophilisiert und mit 1–2 ml MeOH extrahiert. Der filtrierte Extrakt wurde im Test auf morphogene Stoffe eingesetzt. Testplatten enthielten Sporen geeigneter Streptomycceten im Nähragar (2% lösliche Stärke, 2% Aminosäure-Hydrolysat, 0,4% Hefe-Extrakt, pH 7,5) und wurden mit Extrakt-getränkten (10 μ l) Filterrondellen beschickt und bei 27° inkubiert. Luftmycel-Induktion liess sich an einem weissen Hof um die Rondelle herum erkennen.

Stammbeschreibung. *Streptomyces griseoflavus* (Stamm W-384) ist durch folgende Merkmale gekennzeichnet (Nomenklatur und Systematik nach *Hütter* [18]): 1) Die Sporen sind stachelig. 2) Das Luftmycel ist anfangs kreideweiss und wird in ausgereiftem Zustand aschgrau (cinereus). 3) Das Luftmycel ist monopodial verzweigt und besitzt Seitenäste mit mehr oder weniger regelmässigen Schrauben von meist 4–6 Windungen (Spira-Typ b). 4) Auf Pepton-Eisen-Agar bildet der Stamm kein Melanin. 5) Verwertbarkeit von Zuckern als einziger C-Quelle: L-Arabinose –, D-Fructose +, D-Glucose +, *myo*-Inositol +, D-Mannose +, Raffinose –, L-Rhamnose +, Saccharose –, D-Xylose \pm .

Fermentation. Ein 10-l-Fermenter (Typ *Biostat S* der Fa. *Braun*, Melsungen) wurde mit 9 l Nährlg. (20 g Sojamehl vollfett, 20 g Fleischmehl, 10 g Mannit, 0,2 g NaCl, 0,5 g $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 l Leitungswasser, pH 7,0) beschickt, sterilisiert, mit 1 l Vorkultur (gleiche Nährlg., 32 h alt, 27°) angeimpft und 45 h unter folgenden Bedingungen betrieben: Temp. 27° (nach 8 h absenken auf 20°), Drehzahl des Rührers 300 Upm. Luftzufuhr 0,5 vvm.

Isolierung von Hormaomycin. Das durch Zentrifugation der Kulturbrühe gewonnene Mycel wurde 2mal mit MeOH extrahiert. Der bis zur wässr. Phase eingeeengte Extrakt wurde 2mal mit AcOEt ausgeschüttelt. Die org. Phase lieferte nach Abdampfen des Lsgm. ein bräunliches Produkt. Dieses wurde an einer Kieselgel-60-Säule mit $CHCl_3$ aufgetrennt. Die aktiven Fraktionen wurden an einer *Sephadex-LH-20*-Säule mit MeOH nachgereinigt. Die Anreicherung von Hormaomycin verfolgte man durch HPLC (*RP hypersil* 5 μ m, H_2O/CH_3CN (0,1% H_3PO_4)-Gradient, 30–100% CH_3CN , Detektion 254 nm; t_r 6,7 min, mit 77% CH_3CN). Von dieser Substanzcharge wurden 140 mg zur Endreinigung an Kieselgel 60 (Säule: 2,5 \times 50 cm) mit Hexan/Aceton 2:1 chromatographiert. Dabei wurden 18 mg einer farblosen, mit Molybdätophosphorsäure anfärbbaren (DC) Verunreinigung abgetrennt. Hormaomycin liess sich mit $CHCl_3/MeOH$ 95:5 eluieren. Durch Eintropfen einer konzentrierten $CHCl_3$ -Lsg. in 500 ml Hexan wurde die Substanz umgefällt (108 mg).

Hormaomycin. Farbloses, amorphes Pulver. Schmp. 166–168°. DC (Kieselgel *Sil G/UV₂₅₄*): R_f 0,39 ($CHCl_3/MeOH$ 100:4), 0,28 (Hexan/Aceton 1:1). $[\alpha]_D^{20} = +20,8$ ($c = 0,5$, MeOH). UV (MeOH): 278 (9150), 206 (42950). CD (MeOH): 275 (+ 268 000), 225 (– 578 050). IR (KBr; *Fig. 1*): 3390, 3100–2800, 1741, 1645–1620 (br.), 1612, 1545, 1450 1365. 1H -NMR: *Fig. 2, Tab. 1*. ^{13}C -NMR: *Tab. 1*. FAB-MS (Glycerin als Matrix, Stossgas Xenon): 1129,4 ($[M + H]^+$), 938, 830, 700, 516, 401, 373, 300, 264, 218. Anal. ber. für $C_{55}H_{69}ClN_{10}O_{14}$ (1129,68): C 58,48, H 6,16, Cl 3,14, N 12,40, O 19,82; gef.: C 58,35, H 6,31, Cl 2,94, N 11,66, O 19,30.

Hydrolyse von Hormaomycin. a) *Aminosäure-Analyse.* Die automatische Aminosäure-Analyse nach vorheriger Totalhydrolyse (0,5 mg, 5,7M HCl, 1% Phenol, 150°, 1 h, Gasphase) zeigte 6 Banden, von denen eine doppelte Intensität hatte (Tab. 3).

Tab. 3. Aminosäuren im Totalhydrolysat des Hormaomycins (6)

Aminosäure ³⁾	Anzahl ^{a)}	R_f -Werte		Ninhydrin-Färbung	GC ^{b)} t_R [min]	EI-MS ^{b)} $M^+ - \text{COOCH}_3$	CI-MS ^{b)} $[M + H]^+$
		System A	System B				
1 (aThr)	1	0,36	0,26	rot	5,7	266	354
2 (Ile)	1	0,53	0,48	violett	6,4	182	270
3 (Phe(3-Me))	2	0,60	0,53	violett	13,7	230	324
4 (Pro(4-Pe))	< 1	nicht aufgefunden			12,4	206	n. b. ^{c)}
5 (Ala(3-Ncp))	1 + 1	0,47	0,34	rotbraun	14,8 und 15,1	225	285

a) Aus der automatischen Aminosäure-Analyse.

b) Als trifluoroacetylierte Methylester.

c) n. b. = nicht bestimmt.

b) R_f -Werte. Eine Lsg. von 1 mg Hormaomycin in 0,5 ml 6M HCl/AcOH 1:1 wurde bei 110° 48 h in einem geschlossenen Gefäß gerührt. Nach Eindampfen erhielt man ein Gemisch verschiedener, im DC mit Ninhydrin anfärbarer Aminosäuren (Tab. 3, System A: BuOH/AcOH/H₂O 2:1:1, System B: PrOH/1M AcOH 6:1).

c) *Mikrodansylierung.* Zu einer Lsg. von 0,1 mg Totalhydrolysat-Rückstand nach b) in 40 µl 0,05M wässr. NaHCO₃-Lsg. und 40 µl Aceton wurden 60 µl Dansyl-chlorid-Lsg. (2,7 mg/ml Aceton) gegeben und 30 min auf 37° erwärmt. Dann wurde vom Gemisch mit einer Kapillare auf eine 3 × 3-cm-Mikropolyamid-Folie (Schleicher & Schüll) aufgetragen und mit 4% HCOOH/H₂O (1. Dimension) sowie mit 20% AcOH/Benzol (2. Dimension) entwickelt. Die Aminosäure-Derivate wurden im UV-Licht (366 nm) sichtbar gemacht. Thr und Ile konnten durch Vergleich eindeutig identifiziert werden, Phe(3-Me) lag z. T. unter Ile. Es waren noch zwei weitere Zonen sichtbar (nahe Pro bzw. Ala), die keiner bekannten Aminosäure zugeordnet werden konnten.

GC/MS-Analyse des Totalhydrolysates. Der Rückstand des Totalhydrolysates nach b) (s. o.) wurde umgesetzt. *Trifluoroacetylierte Ester:* Man versetzte 2 mg Rückstand mit 1 ml 1,5M HCl/MeOH (oder HCl/i-PrOH) und erhitzte im geschlossenen Gefäß 1 h bei 80°. Nach dem Abdampfen unter N₂ löste man in 200 µl CH₂Cl₂ und 50 µl Trifluoroacetanhydrid und hielt 1 h bei RT. Es wurde unter N₂ eingedampft und in CH₂Cl₂ aufgenommen (GC-Temperaturprogramm: 50°, 5°/min, ab 200°, 9°/min; Retentionszeiten s. Tab. 3).

Trimethylsilyl-Derivate. Man versetzte 1 mg Rückstand mit 20 µl *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoroacetamid (CF₃CONMe(Me₃Si)) und erhitzte im geschlossenen Gefäß 30 min bei 80°. Nach Eindampfen unter N₂ wurde der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen.

N,O-Bis(trifluoroacetyl)allothreonin-methylester. EI-MS: 325 (1, M^+), 266 (10, $M^+ - \text{COOCH}_3$), 212 (10, $M^+ - \text{CF}_3\text{COO}$), 185 (90), 152 (80), 69 (100). *N,O-Bis(trifluoroacetyl)allothreonin-isopropylester.* CI-MS: 354 (90, $[M + H]^+$).

N-(Trifluoroacetyl)isoleucin-methylester. EI-MS: 182 (60, $M^+ - \text{COOCH}_3$), 153 (100), 86 (70). *N-(Trifluoroacetyl)isoleucin-isopropylester.* CI-MS: 270 (100, $[M + H]^+$), 182 (54, $M^+ - \text{COOCH}_3$).

3-Methyl-N-(trifluoroacetyl)phenylalanin-methylester. EI-MS: 230 (2, $M^+ - \text{COOCH}_3$), 176 (5, $M^+ - \text{CF}_3\text{CONH}_2$), 105 (100, C₆H₅CHCH₃). *3-Methyl-N-(trifluoroacetyl)phenylalanin-isopropylester:* CI-MS: 318 (100, $[M + H]^+$), 230 (5, $M^+ - \text{COOCH}_3$). *3-Methyl-N-(trimethylsilyl)phenylalanin-(trimethylsilyl)ester:* EI-MS: 206 (27, $M^+ - \text{COOSiMe}_3$), 105 (100). CI-MS: 324 (20, $[M + H]^+$).

4-[(Z)-Prop-1-enyl]-N-(trifluoroacetyl)prolin-methylester. EI-MS: 265 (18, M^+), 206 (100, $M^+ - \text{COOCH}_3$), 164 (10, $M^+ - (\text{COOCH}_3 + \text{H} + \text{C}_3\text{H}_5)$), 152 (16), 93 (78). *4-[1- oder 2-(Trifluoroacetoxy)propyl]-N-(trifluoroacetyl)prolin-methylester.* t_r 15,9 min. EI-MS: 379 (5, M^+ , C₁₃H₁₅F₆NO₅), 320 (40, C₁₁H₁₂F₆NO₃, $M^+ - \text{COOCH}_3$), 282 (2, C₁₁H₁₅F₃NO₄, $M^+ - \text{COCF}_3$), 206 (20, C₉H₁₁F₃NO, $M^+ - (\text{COOCH}_3 + \text{CF}_3\text{COOH})$), 164 (100, C₆H₅F₃NO). CI-MS: 380 (90, $[M + H]^+$).

4-(1- oder 2-Chlorpropyl)-N-(trifluoroacetyl)prolin-methylester. t_r 17,0 min. EI-MS: 301, 303 (7, M^+), 242, 244 (100, $M^+ - \text{COOCH}_3$), 206 (22, $M^+ - (\text{COOCH}_3 + \text{HCl})$), 164 (32, $M^+ - (\text{COOCH}_3 + \text{H} + \text{C}_3\text{H}_6\text{Cl})$), 103, 105 (36).

3-(2-Nitrocyclopropyl)alanin (5). Bei 110° wurden 10 mg Hormaomycin in 2 ml 6M HCl/AcOH 1:1 48 h hydrolysiert. Den Verdampfungsrückstand, in 1,5 ml CH₃CN/H₂O 7:3 gelöst, trennte man in 100- μ l-Portionen an einer μ -Bondapak-NH₂-Säule (7,8 mm \times 30 cm) mit CH₃CN/H₂O 7:3 (Durchfluss: 1,5 ml/min; Druck: 1500 psi; Detektion bei 210 nm) in drei Fraktionen. *Fraktion I* (*t_r* 4,8–6,5 min) enthielt **1** (α Thr) und weitere im DC mit Ninhydrin anfärbbare Zonen. *Fraktion II* (*t_r* 13,6 min) enthielt **3** (Phe(3-Me)); *R_f* s. *Tab. 3*). ¹H-NMR (CD₃OD, 200 MHz): 1,46 (*d*, *J* = 7, CH₃–C(3)); 3,45 (*m*, H–C(3)); 4,16 (*d*, *J* = 4, H–C(2)); 7,32 (*m*, 5 arom. H). *Fraktion III* (*t_r* 16,4 min) enthielt **2** (Ile) und **5** im Verhältnis 1:2 (*R_f* s. *Tab. 3*). In der automatischen Aminosäure-Analyse trennte sich **5** in zwei Peaks gleicher Intensität auf. ¹H-NMR (CD₃OD/D₂O 1:1, 200 MHz) des Gemischs: **2**: 0,98 (*t*, *J* = 7, CH₃–C(4)); 1,04 (*d*, *J* = 7, CH₃–C(3)); 1,30 (*m*, 1 H); 1,55 (*m*, 1 H); 2,05 (*m*, 1 H); 3,59 (*d*, *J* = 4, H–C(2)); **5**: 1,33 (*m*, 2 H); 1,90 (*m*, 2 H); 2,05 (*m*, 1 H); 3,72 (*dd*, *J* = 7, 7, H–C(2)); 4,39 (*ddd*, *J* = 6,6, 3,3, 3,3, H–C(2')).

3-(2-Nitrocyclopropyl)-N-(trifluoroacetyl)alanin-methylester. EI-MS (*Fig. 4*): 238 (13, C₉H₁₁F₃NO₃, M⁺ – NO₂), 225 (95, C₇H₈F₃N₂O₃, M⁺ – COOCH₃), 207 (27, C₇H₈F₃N₂O₂, M⁺ – (COOCH₃ + H₂O)), 184 (100, C₅H₅F₃NO₃, CF₃CONHCHCOOCH₃), 178 (43, C₇H₇F₃NO, M⁺ – (HNO₂ + COOCH₃)), 166 (73, C₅H₅F₃NO₂, 184 – H₂O), 152 (27, 184 – CH₃OH), 140 (38, C₄H₅F₃NO, 184 – CO₂), 125 (35, C₇H₉O₂, M⁺ – (NO₂ + CF₃CONH₂)). CI-MS: 285 (30, [M + H]⁺). *3-(2-Nitrocyclopropyl)-N-(trimethylsilyl)alanin-(trimethylsilyl)ester*. EI-MS: 303 (0,2, C₁₁H₂₇N₂O₄Si₂, M⁺ – CH₃), 218 (18), 201 (95, C₈H₁₇N₂O₂Si, M⁺ – COOSiMe₃), 100 (18), 73 (100). CI-MS: 319 (15, [M + H]⁺).

Lacton-Spaltung von Hormaomycin. Zu einer Lsg. von 7 mg Hormaomycin in 2 ml MeOH wurde eine kat. Menge an festem K₂CO₃ gegeben und die Lsg. 14 h bei RT. gerührt, dann auf 20 ml Eiswasser gegossen und mit CH₂Cl₂ (4 \times 6 ml) extrahiert. Den Verdampfungsrückstand der vereinigten org. Phasen chromatographierte man an Kieselgel (Säule 1,0 \times 30,0 cm, CHCl₃/MeOH 9:1). Die Hauptzone ergab 5 mg Hormaomycin-methylester. Schmp. 172°. DC (Kieselgel *Sil G/UV₂₅₄*): *R_f* 0,05 (CHCl₃/MeOH 100:4), 0,46 (CHCl₃/MeOH 9:1), gleiches Anfärbeverhalten wie Hormaomycin. UV (MeOH): 278 (11 200), 214 (31 300). IR (KBr): 3400, 3300, 3100–2850, 1740, 1635 (br.), 1545, 1450, 1370, 1030. ¹H-NMR (CDCl₃, 200 MHz): 3,74 (*s*, 3H, CH₃O); übriges Signal-Muster dem Hormaomycin ähnlich, z. T. jedoch breite und stärker überlappende Signale, keine Signale jenseits von TMS. FAB-MS (2-Nitrobenzylalkohol als Matrix): 1183, 1185 ([M + Na]⁺), 1161, 1163 ([M + H]⁺), 992, 718, 419, 1159, 1161 ([M – H][–]).

Diese Arbeit wurde durch die *Deutsche Forschungsgemeinschaft* (Wo 297/1–3, Ze 120/14-1, SFB 323) und durch das *zentrale Schwerpunktprojekt Bioverfahrenstechnik*, Stuttgart, unterstützt.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. Becker, C. Bormann, H. P. Fiedler, H. Zähler, H. Heitsch, W. A. König, *J. Antibiot.*, im Druck.
- [2] K. Ochi, *J. Gen. Microbiol.* **1986**, *132*, 2621.
- [3] E. M. Kleiner, S. A. Pliner, V. S. Soifer, V. V. Onoprienko, T. A. Balashova, B. V. Rosynov, A. S. Khokhlov, *Bioorg. Chem.* **1976**, *2*, 1142.
- [4] K. Mori, *Tetrahedron* **1983**, *39*, 3107.
- [5] U. Gräfe, J. Eritt, F. Hänel, W. Friedrich, M. Roth, B. Röder, E. J. Bormann, in 'Regulation of Secondary Metabolite Formation', Eds. H. Kleinkauf, H. v. Döhren, H. Dornauer und G. Neesemann, VCH Verlag, Weinheim, 1986, S. 225–247.
- [6] Y. Yamada, K. Sugamura, K. Kondo, M. Yanagimoto, H. Okada, *J. Antibiot.* **1987**, *40*, 496.
- [7] T. Kawaguchi, T. Asahi, T. Satoh, T. Uozumi, T. Beppu, *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 1587; T. Kawaguchi, M. Azuma, S. Horinouchi, T. Beppu, *ibid.* **1988**, *41*, 360.
- [8] S. Biro, I. Bekesi, S. Vitalis, G. Szabo, *Eur. J. Biochem.* **1980**, *103*, 359.
- [9] S. Kondo, K. Yasui, M. Natsume, M. Katayama, S. Marumo, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1196.
- [10] H. Laatsch, *J. Chromatogr.* **1979**, *173*, 398.
- [11] Y. Kataoka, Y. Seto, M. Yamamoto, T. Yamada, Sh. Kuwata, H. Watanabe, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1976**, *49*, 1081.
- [12] H. Fritschi, U. Leutenegger, A. Pfaltz, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 1553.
- [13] W. A. Ayer, L. M. Pena-Rodriguez, *J. Nat. Prod.* **1987**, *50*, 400.
- [14] M. Shamma, D. M. Hindenlang, 'Carbon-13-NMR Shift Assignments of Amines and Alkaloids', Plenum Press, New York, 1979, S. 1–3.
- [15] Y. Kawai, K. Furihata, H. Seto, N. Otake, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 3273.
- [16] M. Dechamps, F. Floc'h, G. Jung, R. Margraff, to *Rhone-Poulenc Sante*, EP 0,246,975 A1, 1987.
- [17] S. Omura, H. Mamada, N. Wang, N. Imamura, R. Oiwa, Y. Iwai, N. Muto, *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 700.
- [18] R. Hütter, 'Systematik der Streptomyceten', Karger AG, Basel, 1967.