

Zur Biogenese der *Pseudomonas*-Siderophore: Der Nachweis analoger Strukturen eines Pyoverdin-Desferriferribactin-Paars [1]

The Biogenesis of *Pseudomonas* Siderophores:

The Proof of Analogous Structures of a
Pyoverdin/Desferriferribactin Pair [1]

H. Budzikiewicz, H. Schröder, und K. Taraz

Institut für Organische Chemie der Universität zu Köln, Greinstraße 4, D-5000 Köln 41

Z. Naturforsch. **47c**, 26–32 (1992); received August 5/September 30, 1991

Pseudomonas aptata, Siderophores, Pyoverdin, Ferribactin, Biogenesis

When grown in an iron-deficient medium *Pseudomonas aptata* produces both a desferri-ferribactin and a pyoverdin. The identical sequence of the peptide chain confirms the hypothesis that desferri-ferribactins are the biogenetic precursors of pyoverdins.

Einleitung

In vorausgehenden Arbeiten haben wir über die Strukturmöglichkeit mehrerer Pyoverdine berichtet [2–6]. Es handelt sich dabei um eisenkomplexe Verbindungen, die von einer Reihe von *Pseudomonas*-Arten unter Eisenmangelbedingungen in das Kulturmedium abgegeben werden. Sie alle haben gemeinsam den Dihydroxychinolin-Chromophor (**1**), dessen Aminogruppe amidisch an eine Dicarbonsäure aus dem Zitronensäurezyklus [7] und dessen Carboxylgruppe an eine Peptidkette gebunden sind. Über die Biogenese der Pyoverdine ist noch relativ wenig bekannt. Aus dem gemeinsamen Vorkommen von Pyoverdin Pf 13525 und von Desferri-ferribactin im Kulturmedium von *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525, deren Peptidteile die gleichen Aminosäuren enthalten, ist vermutet worden, daß das Desferri-ferribactin der Vorläufer des begleitenden Pyoverdins ist. Hierfür spricht, daß **1** aus dem Kondensationsprodukt des Dipeptids Dab-Tyr (**2**), das aus Desferri-ferribactin isoliert worden ist, entstanden sein könnte [8]. Wir möchten hier über das Auffinden eines weiteren Pyoverdin/Desferri-ferribactin-Paars berichten, das die Biogenese-Hypothese stützt.

Ergebnisse und Diskussion

Das in dieser Arbeit beschriebene Paar Pyoverdin Pap (**3**) und Desferri-ferribactin Pap (**4**) konnte aus dem Stamm *Pseudomonas aptata* 4a, der Läsionen an Zuckerrübenblättern hervorruft, isoliert werden. Zucht der Bakterien (das Auffinden nennenswerter Mengen an Ferribactin hängt von den Zuchtbefindungen – s. Exp. Teil – ab), Aufarbeitung des Kulturmediums und Isolierung von **3** und **4** in Form der Eisenkomplexe sowie die chromatographische Reinigung und Dekomplexierung erfolgte im wesentlichen wie bereits für andere Pyoverdine beschrieben [2–6].

Der Fe³⁺-Komplex von **3** (Fe-**3**) zeigt das für Pyoverdine typische UV/VIS-Spektrum mit Schultern bei 265 und 320 nm sowie Maxima bei 399, 470 und 560 nm, die im Bereich von 2,7 bis 8,0 pH-unabhängig sind. Bei **3** selbst verschiebt sich das bei pH 7,4 beobachtete Maximum (400 nm, log ε = 4,09) bei fallendem pH hypsochrom und spaltet auf. Fe-**4** zeigt (wie auch **4** selbst) die Tyr-Bande bei 273 (275 nm) und daneben eine stark pH-abhängige charge transfer-Bande, mit deren Lage sich auch die Farbe von rot nach gelb verändert und bei pH 12,0 schließlich verschwindet (pH, nm, log ε: 3,0, 455, 3,14; 5,0, 430, 3,22; 6,5, 420, 3,11; 10,0, 380, 2,85; 12,0, –, –). Die nur geringe pH-Abhängigkeit der elektrophoretischen Mobilität im Bereich zwischen 1,9 und 6,5 für **3** zeigt, daß die bei der Hydrolyse (s.u.) erhaltene Bernsteinsäure im Pyoverdin als Amid vorliegen muß. Für Fe-**3** ergibt sich nach Offord [9] bei pH 6,5 eine Gesamtladung von +1 (Chromophor, Lys,

Reprint requests to Prof. Budzikiewicz.

Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, D-7400 Tübingen
0939-5075/92/0100-0026 \$ 01.30/0

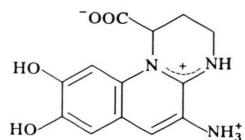


Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

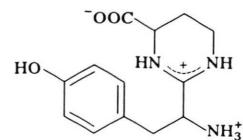
Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

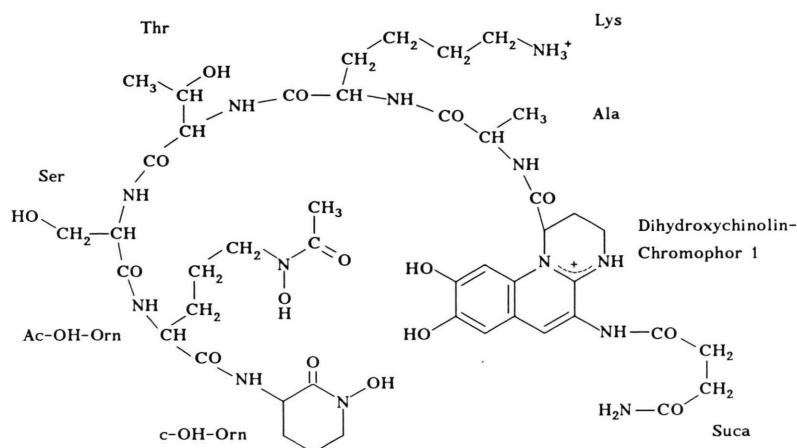
On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.



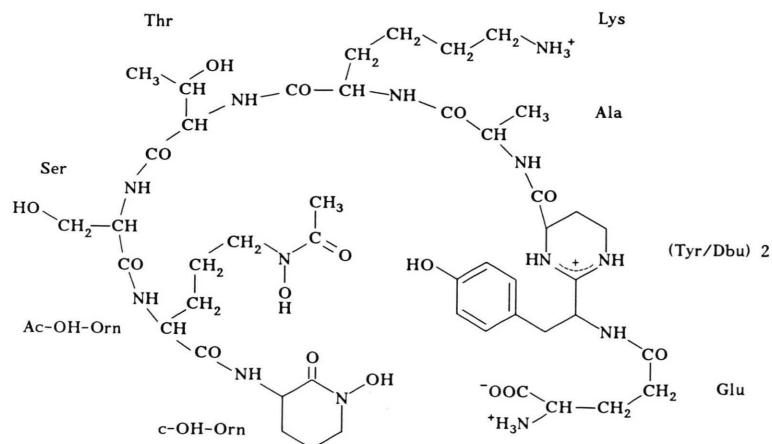
Pyoverdin-Chromophor 1



Ferribactin-Chromophor 2



Pyoverdin Pap 3



Desferri-ferribactin Pap 4

$\text{Fe}^{3+} \triangleq +5$, komplexierende Gruppen $\triangleq -4$), für **Fe-4**, von +2 (eine negative komplexierende Gruppe weniger). Die im folgenden beschriebenen Experimente wurden immer an **3** und **4** parallel durchgeführt.

Die Aminosäureanalyse erfolgte gaschromatographisch nach Hydrolyse und TAB-Derivatisierung [10] (N/O-Trifluoracetyl-*n*-butylester). Aus **3** konnten (6 n HCl, 110 °C, 21 Std.) Ala, Lys, N⁵-Hydroxy-Orn, Ser, Thr und Bernsteinsäure erhalten werden, aus **4** Glu anstelle von Bernsteinsäure, Spuren von 1,4-Diaminobuttersäure (Dab) und Tyr sowie **2**, das sich durch nachfolgende Hydrolyse mit 1 n NaOH (110 °C, 18 Std.) in Dab und Tyr spalten ließ. Über die Strukturaufklärung von **2** haben wir in [8] berichtet, wo sich auch die ¹H- und

¹³C-NMR-Daten für **4** finden. Quantitative Aminosäureanalyse erfolgte nach Hydrolyse mit HCl (110 °C, 21 Std.), wobei N⁵-Hydroxy-Orn quantitativ zu Orn reduziert wird. Orn ist zweimal, alle anderen Aminosäuren sind einmal vertreten. Die für die verschiedenen Aminosäuren charakteristischen Signale in den ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren von **3** und **4** sind in den Tab. II und III zusammengestellt. Interessant ist, daß die ¹H-Signale von Thr und insbesondere von Lys bei **3** pH-abhängig sind, was auf Konformationsänderungen relativ zum Chromophor hinweist. Daß Lys im Abschirmbereich des Chromophors liegt, zeigt die Hochfeldverschiebung der ¹H-Signale gegenüber den bei random coil-Peptiden beobachteten Werten [15] (γ -Lys: 1,4, δ : 1,7, ϵ : 3,0 ppm).

Die Konfiguration der Aminosäuren wurde durch gaschromatographische Analyse der N/O-Trifluoracetyl-i-propylester an einer chiralen Säule (Chirasil-L-Val) bestimmt [4] (für **4** war eine Hydrolysezeit von 65 Std. mit HCl notwendig, um wenigstens einen Teil von **2** sauer zu spalten, da alkalische Hydrolyse – s.o. – zu Racemisierung führt). Das Ergebnis ist

D-Ala, L-Dab, L-Glu, L-Lys, L-Orn, D-Ser, L-Thr und D-Tyr.

Das bereits aus dem UV/VIS-Spektrum abgeleitete Vorliegen des Pyoverdin-Chromophors **1** bei **3**

Tab. I. ¹H- und ¹³C-NMR-Daten für freies und veresterte Ser und Thr in Pyoverdinen.

	Veresterte OH-Gruppe		Freie OH-Gruppe		
	[2]	[14]	[10]	3 ¹	4 ¹
β-H-Thr	5,32 ⁴		4,38	3,9 ³	4,21
β-C-Thr	75,2 ⁴		67,4	68,1	68,2
β-H-Ser		4,41/4,58 ²	3,78	~3,9 ³	3,87
β-C-Ser			62,0	62,1	62,4

¹ In D₂O (¹H rel. zu DSS, ¹³C rel. zu TMS), pH 3,0.

² Keine Angaben.

³ Bei pH 6,8 liegen die Werte bei 4,05 und 3,86 ppm.

⁴ Bei pH 6,8.

Tab. II. ¹H-NMR-Daten^{1,2}.

Proton	3	4
γ-Thr	0,97	1,17
γ-Lys	1,20	1,47
β-Ala	1,50	1,42
β- + δ-Lys	1,65	1,69
γ-Ac-OH-Orn	1,65	1,69
β-Ac-OH-Orn	1,81	1,89
β- + γ-c-OH-Orn	1,98	1,98
CH ₃ CO (<i>cis</i> + <i>trans</i>)	2,10/2,13	2,11/2,14
ε-Lys	2,72	2,99
δ-Ac-OH-Orn + δ-c-OH-Orn	3,63	3,63
β-Ser	3,88	3,87
β-Thr	3,88	4,21
α-Thr	4,23	4,32
α-Ala	4,30	4,36
α-Ac-OH-Orn + α-c-OH-Orn + α-Lys + α-Ser	4,3/4,4	4,3/4,4

¹ ppm rel. zu DSS; pH 3,0.

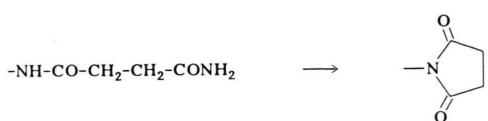
² Die Signale von Ala, Lys, Ser und Thr konnten durch homonukleare Doppelresonanzexperimente bestimmt werden, die von Ac-OH-Orn und c-OH-Orn wurden über die Literaturwerte für Azotobactin D [16] und Pyoverdin GM-I [4], die entsprechende Strukturelemente enthalten, zugeordnet.

Tab. III. ^{13}C -NMR-Daten^{1,2}.

	3	4
β -Ala	17,4	17,8
γ -Thr	19,5	20,1
Acetyl-CH ₃	20,4	20,5
γ -c-OH-Orn	21,1	21,2
γ -Lys	23,0	23,3
γ -Ac-OH-Orn	23,4	23,5
β -Lys	27,1	26,9
β -c-OH-Orn	27,6	27,6
β -Ac-OH-Orn	29,0	29,2
δ -Lys	31,1	31,4
ϵ -Lys	40,2	40,3
δ -Ac-OH-Orn	48,2	45,3
α -c-OH-Orn	51,5	51,5
α -Ala	52,2	52,4
δ -c-OH-Orn	52,7	52,8
α -Lys	54,1	54,7
α -Ac-OH-Orn	54,6	54,8
α -Ser	56,8	56,8
α -Thr	60,4	60,8
β -Ser	62,1	62,4
β -Thr	68,1	68,2
CO-c-OH-Orn	167,5	167,6
CO-Ser	172,8	172,8
Acetyl-CO	172,8	173,2
CO-Thr	174,3	174,4
CO-Ac-OH-Orn	174,8	174,5
CO-Lys	175,0	175,3
CO-Ala	176,0	176,3

¹ ppm rel. zu TMS, pH 3,0.² Die Zuordnung erfolgte durch Vergleich mit Literaturwerten [2–19]. Wegen zu ähnlicher Signallagen ist für folgende Signalgruppen die Zuordnung nicht eindeutig und gegebenenfalls zu vertauschen (vgl. auch Tab. IV): γ -OH-Orn/ γ -Lys; β -Glu/ β -Lys; α -Glu/ α -Lys/Ac-OH-Orn; die CO-Signale von Acetyl/Ser, Thr/Ac-OH-Orn/ α -Glu/Lys, Ala/ γ -Glu.

wird durch die ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren bestätigt. Die Signallagen und ihre Zuordnung sind bereits ausführlich diskutiert worden [2–5, 11]. Die Bernsteinsäureamidseitenkette von **3** erkennt man an den pH-unabhängigen Doppelpletts bei 2,72 und 2,79 ppm. Insbesondere in saurer Lösung kommt es – wie bereits bei anderen Pyoverdininen beobachtet [12, 13] – zu partieller Cyclisierung vom Succinimid-Derivat (CH_2 : 3,09 ppm bei gleichzeitiger Tieffeldverschiebung einiger Chromophorsignale) (Schema 1). Bezüglich der Glu-Seitenkette von **4** s. u.



Die Molmassen von **3** und **4** wurden FAB-massenspektroskopisch bestimmt. Für die $[\text{M} + \text{H}]^+$ -Ionen ergab sich bei **3** m/z 1046 und bei **4** m/z 1064 (die Massen der Eisenkomplexe liegen jeweils um 53 u höher entsprechend $+^{56}\text{Fe}^{3+} - 3^1\text{H}^+$). Die nach den durch Kondensation des Chromophors **1** (für **3**) bzw. **2** (für **4**) mit den durch Hydrolyse erhaltenen Säuren (Bernsteinsäureamid bei **3**, s. o.) berechneten Massen im Vergleich mit den massenspektroskopisch bestimmten zeigen, daß in beiden Verbindungen eine funktionelle Gruppe acetyliert (s. auch NMR-Daten) und daß zusätzlich ein Molekül H_2O abgespalten sein muß.

In **3** und **4** sind mehrere funktionelle Aminosäuren enthalten. Da diese bei Pyoverdininen häufig in derivatisierter Form vorkommen, müssen diese näher untersucht werden:

1. Freie Aminogruppen lassen sich durch Dansylierung und nachfolgende Hydrolyse nachweisen [3, 4]. Die so erhaltenen Dansylaminosäuren werden durch RP-HPLC abgetrennt und durch Vergleich mit authentischem Material identifiziert. Auf diese Weise konnten bei **3** und **4** ϵ -Dns-Lys, bei **4** zusätzlich Dns-Glu erhalten werden; die entsprechenden Aminogruppen müssen daher in **3** bzw. **4** frei vorliegen.

2. Freie OH-Gruppen von Ser und Thr. IR-spektroskopisch lassen sich keine Esterbanden feststellen. Dies wird durch die ^1H - und ^{13}C -Daten bestätigt: Acylierung der OH-Gruppen würde zu deutlicher Tieffeldverschiebung der Signale der benachbarten C- und H-Atome führen (s. Tab. I). Die OH-Gruppen von Ser und Thr liegen demnach frei vor.

3. Cyclo-N-hydroxyornithin (3-Amino-1-hydroxypiperidon-2) als N-terminale Aminosäure wurde nach dem von Mohn [4] entwickelten Verfahren nachgewiesen: Der N-Hydroxy-piperidonring muß mit TiCl_3 zum säurestabilen Piperidon (Valerolactam) reduziert werden, da der N-Hydroxy-Lactamring in saurem Medium leicht geöffnet wird. NMR-spektroskopisch läßt sich zeigen, daß bei pH 1 N^5 -Acetyl- N^5 -hydroxy-Orn stabil ist, nicht jedoch das N-Hydroxy-c-Orn-System. Die den beiden Orn-Bausteinen zugeordneten Signalgruppen (s. Tab. II) nehmen an Intensität um die Hälfte ab, während in den für N-Hydroxy-Orn charakteristischen Bereichen [12, 13] neue Signale erscheinen (α : 4,15, β + γ : ~1,7, δ : 3,19 ppm). Aus dem Partialhydrolysat (6 N HCl, 110 °C, 12 min)

lässt sich nach Dansylierung Dns-c-Orn (3-Dansylaminopiperidon-2) durch HPLC abtrennen und durch Vergleich mit authentischem Material identifizieren. Weiter stimmen die ^{13}C -NMR-Werte (s. Tab. III) mit einer maximalen Abweichung von 0,1 ppm mit den für den cyclo-N-Hydroxy-Orn-Ring von Pyoverdin GM-1 [4] angegebenen überein. Da bei der Hydrolyse c-Orn frei wird, liegt c-Orn über die α -Aminogruppe mit der Peptidkette verbunden und somit C-terminal vor.

4. N⁵-Acetyl-N⁵-hydroxy-Orn. Die Acetylgruppe kann aufgrund der oben geschilderten Ergebnisse (die Aminogruppen von Lys und Glu sowie die OH-Gruppen von Ser und Thr sind frei, das zweite Orn liegt als N-Hydroxy-cyclo-Orn vor) nur an die δ -Aminogruppe von Orn gebunden sein. Die ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten (s. Tab. II und III) stimmen mit den Literaturdaten für die bei Pyoverdinen häufig angetroffenen Orn- δ -Hydroxamsäuren überein. Das Acetyl-CH₃-Signal ist entsprechend dem *cis/trans*-Gleichgewicht im Verhältnis 3:1 aufgespalten (2,13 und 2,10 ppm).

5. Freie 1-Carboxylgruppe von Glu bei **4**. α - und γ -amidisch gebundene Glu unterscheidet sich insbesondere in der Lage der α -CH- und der γ -Carboxylresonanzen. Wie aus Tab. IV ersichtlich, ist Glu γ -amidisch gebunden. Damit in Einklang steht auch, daß die ^{13}C -Resonanz der γ -CO-Gruppe pH-unabhängig ist (bei pH 3,0 und 6,8 gleich).

Eine klassische Sequenzanalyse durch sukzessiven Abbau war wegen der Blockierung von C- und N-Terminus und enzymatische Spaltung wegen des Vorliegens von D-Aminosäuren nicht möglich. Daher erfolgte die Sequenzierung durch Partialhydrolyse und Identifizierung der einzelnen Bruchstücke durch FAB-Massenspektrometrie. Dieses

Tab. IV. NMR-Daten für **4** sowie für α - und γ -amidisch gebundenes Glu (s. Text)¹.

	α -CONH [15]	γ -CONH [5] ²	4 (pH 6,8)
α -CH	4,30	3,84	3,67
β -CH			2,05
γ -CH	2,30	2,77	2,46
α -C			54,8
β -C			27,4
γ -C			32,0
α -CO	174,8	175,1	174,9
γ -CO	182,8	176,7	176,6

¹ ^1H ppm rel. zu DSS, ^{13}C rel. zu TMS.

² Bei pH 6,8.

Verfahren kann angewandt werden, da außer dem C-terminalen c-Orn keine cyclopeptidischen Unterstrukturen vorliegen. c-Orn wird dabei geöffnet und die Acetylgruppe vom N⁵-Acetyl-N⁵-hydroxy-Orn abgespalten. Die Ergebnisse sind in Tab. V zusammengefaßt.

Bei Pyoverdin Pap (**3**) handelt es sich somit um (1*S*)-5-Succinamoylamino-2,3-dihydro-8,9-dihydroxy-1*H*-pyrimido[1,2-*a*]chinolin-1-carbonsäure, die amidisch mit dem N-Terminus von D-Ala-L-Lys-L-Thr-D-Ser-L-(N⁵-acetoxy-N⁵-hydroxy)-Orn-L-(N⁵-hydroxy)cyclo-Orn verknüpft ist, bei dem Desferriferribactin **4** um 2-[1-R-(γ -L-glutamoyl)amino-2-p-hydroxyphenylethyl]-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-4-S-carbonsäure, an die derselbe Peptidrest wie bei **3** amidisch gebunden ist. Um die wachsende Zahl von Pyoverdinen und verwandten Verbindungen (Desferriferribactinen, Azotobactinen) in Tabellen so sortieren zu können, daß ohne großen Platzaufwand Gemeinsamkeiten und Unterschiede überblickt werden können, wurde eine Kurzschreibweise entwickelt [3, 4], bei der die Art des Chromophors (Q für **1**), dann die Aminosäuresequenz (basierend auf dem Einbuchstabencode, wobei O für Orn, Kleinbuchsta-

Tab. V. [M + H]⁺-Ionen des Partialhydrolysats von **4**.

m/z	Bruchstück
910	Glu-Chr-Ala-Lys-Thr-Ser-OH-Orn ¹
780	Glu-Chr-Ala-Lys-Thr-Ser ¹
666	Ala-Lys-Thr-Ser-OH-Orn-OH-Orn ¹
595	Lys-Thr-Ser-OH-Orn-OH-Orn ¹
592	Gly-Chr-Ala-Lys
564	Chr-Ala-Lys-Thr ¹
465	Lys-Thr-Ser-OH-Orn ¹
467	Thr-Ser-OH-Orn-OH-Orn
464	Glu-Chr-Ala
463	Chr-Ala-Lys
335	Lys-Thr-Ser
337	Thr-Ser-OH-Orn
366	Ser-OH-Orn-OH-Orn
393	Glu-Chr
335	Chr-Ala
218	Ala-Lys
248	Lys-Thr ¹
207	Thr-Ser
279	OH-Orn-OH-Orn
148	Glu
264	Chr

¹ Die Ionen treten nur mit geringer Intensität auf. Daher wurden diese Bruchstücke nicht zur Herleitung der Sequenz, sondern nur zu ihrer Bestätigung verwendet. Chr bedeutet **2**.

ben für D-Aminosäuren, ' ' für abgewandelte Aminosäuren und * für Anfang bzw. Ende einer cyclischen Untereinheit steht) und schließlich die an den Chromophor gebundene Dicarbonsäure (SUC für Bernsteinsäure, SUCA für Bernsteinsäureamid, GLU für Glutaminsäure) angegeben wird. Für **3** ergibt sich damit

Pyoverdin-Q-aLTsO''O'*-SUCA.

Führt man für das Strukturelement **2** das Symbol TD (aus Tyr/DAB) ein, so kann man **4** als

Desferriferribactin-TD-aLTsO''O'*-GLU

notieren. Die für **3** abgeleitete Aminosäuresequenz stimmt mit der für Pyoverdin Pf₈₃ aus dem FAB-Spektrum abgeleiteten überein (die Konfigurationen der Aminosäuren wurde allerdings nicht bestimmt). Da sich Pyoverdine nach den bisherigen Ergebnissen in den Aminosäuren des Peptidteiles und nicht in der Konfiguration einzelner Aminosäuren unterscheiden, kann man annehmen, daß Pyoverdin Pf₈₃ mit dem hier beschriebenen Pyoverdin **3** identisch ist.

Schlußfolgerungen

Durch die Strukturaufklärung von **3** und **4** konnte zum erstenmal gezeigt werden, daß ein Pyoverdin-Desferriferribactin-Paar im Aufbau des Peptidteiles übereinstimmt. Die beiden Verbindungen unterscheiden sich nur im Chromophor und der daran gebundenen Dicarbonsäure. Die Annahme, daß Desferri-ferribactine die biogenetischen Vorläufer der Pyoverdine sind, wird dadurch bestätigt.

Experimenteller Teil

Geräte

UV/VIS: Perkin-Elmer Hitachi 200

IR: Perkin-Elmer 283

MS: FAB und EI: Finnigan-MAT HSQ 30; GC/ MS: Kratos MS 25 RF mit Carlo-Erba GC

MFC 500 (Säule SE 54)

NMR: Bruker AM 300

GC: Carlo-Erba HRGC 4160 (SE 52)

HPLC: Knauer 64.00 mit UV/VIS Photometer 734

Papierelektrophorese: CAMAG HVE 60600

Chemikalien: s. [4].

Bakterienzucht: Medium s. [4]. (1) Die Bakterien wurden von der Agar-Kultur auf 250 ml Medium in 1 l Erlenmeyerkolben mit Schikanen übertragen und 24 h geschüttelt. Jeweils 10 ml dieser Vorkultur wurden erneut zu 2 × 250 ml Medium wie oben zugegeben und 24 h geschüttelt. Die gereinigten Vorkulturen wurden zu 10 l Medium in einem 20 l Fermenter zugesetzt und unter Belüftung (2 m³/min keimfreie Luft) 72 h geschüttelt. Der pH der Kulturen wurde regelmäßig kontrolliert und durch Zugabe von HCl unter 8,2 gehalten. (2) Acht 500 ml Erlenmeyerkolben (mit Schikanen) beschriftet mit je 250 ml Medium wurden mit Bakterien von der Agar-Kultur beimpft und 96 h geschüttelt. Einstellung des pH wie oben. Ferribactin konnte nur aus (1) isoliert werden.

Aufarbeitung der Kulturen: s. [4].

Aminosäureanalyse: qual., quant.: s. [10]; Chiralität: s. [4]; Bestimmung freier NH₂-Gruppen: s. [3, 4]; Reduktion des Cyclo-N-hydroxy-Orn: s. [4].

Dank

Herrn Prof. G. Wolf, Universität Göttingen, möchten wir für die Überlassung des Bakterienstammes, der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Unterstützung bestens danken.

- [1] Teil L der Reihe „Bakterieninhaltsstoffe“. Für Teil IL s. Ref. 11.
- [2] K. Poppe, K. Taraz und H. Budzikiewicz, *Tetrahedron* **43**, 2261 (1987).
- [3] G. Briskot, K. Taraz und H. Budzikiewicz, *Liebigs Ann. Chem.* **1989**, 375.
- [4] G. Mohn, K. Taraz und H. Budzikiewicz, *Z. Naturforsch.* **45b**, 1437 (1990).
- [5] K. Geisen, K. Taraz und H. Budzikiewicz, *Monatsh. Chem.*, im Druck.
- [6] S. Gipp, J. Hahn, K. Taraz und H. Budzikiewicz, *Z. Naturforsch.* **46c**, 534 (1991).
- [7] H. Schäfer, K. Taraz und H. Budzikiewicz, *Z. Naturforsch.* **46c**, 398 (1991).
- [8] K. Taraz, R. Tappe, H. Schröder, U. Hohlneicher, I. Gwose, H. Budzikiewicz, G. Mohn und J. F. Lefèvre, *Z. Naturforsch.* **46c**, 527 (1991), und dort angegebene Literatur.
- [9] R. E. Offord, *Nature* **211**, 591 (1966).
- [10] G. Briskot, K. Taraz und H. Budzikiewicz, *Z. Naturforsch.* **41c**, 497 (1986).
- [11] J. Michels, H. Benoni, G. Briskot, J. Lex, H. Schmickler, K. Taraz, H. Budzikiewicz, H. Korth und G. Pulverer, *Z. Naturforsch.* **46c**, 993 (1991).
- [12] G. Mohn, Dissertation, Univ. Köln, 1990.
- [13] G. Briskot, Dissertation, Univ. Köln 1988.
- [14] C. Yang und J. Leong, *Biochemistry* **23**, 3534 (1984).
- [15] K. Wüthrich, “NMR in Biological Research: Peptides and Proteins”, North Holland Publ., Amsterdam 1976.
- [16] P. Demange, A. Bateman, A. Dell und M. A. Abdallah, *Biochemistry* **27**, 2745 (1988).
- [17] M. Teintze und J. Leong, *Biochemistry* **20**, 6457 (1981).
- [18] J. S. Buyer, J. M. Wright und J. Leong, *Biochemistry* **25**, 5492 (1986).
- [19] D. L. Rabenstein und T. L. Sayer, *J. Magn. Reson.* **24**, 27 (1976).