

- tion mit den bekannten Bis(η^6 -[3.3]paracyclophan)chromkomplexen aufgezeigt wurde: R. Benn, N. E. Blank, M. W. Haenel, J. Klein, A. R. Koray, K. Weidenhammer, M. L. Ziegler, *Angew. Chem.* **1980**, 92, 45–46; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, 19, 44–45. Silber(I), das eine hohe Affinität gegenüber π -Systemen hat, bildet auch einen stabilen Komplex mit dem Kohlenwasserstoff „Deltaphan“ [$(\eta^1)_3$ -Silber-1,2,4,5-[2.2.2.2.2.2]cyclophane]: H. C. Kang, A. W. Hanson, B. Eaton, V. Boekelheide, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 1979–1985.
- [4] Die analogen [n,n]Paracyclophane und sym-[n,n]Cyclophane ($n =$ ungerade) nehmen hingegen stabile Konformationen mit ausgeprägten Energieminima ein, wobei die Benzolringe parallel ausgerichtet sind: Lit. [2]; M. Mascal, J.-L. Kerdelhué, A. S. Batsanov, M. J. Begley, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1996**, 1141–1151.
- [5] M. Mascal, J. Hansen, A. J. Blake, W.-S. Li, *Chem. Commun.* **1998**, 355–356
- [6] J. Hansen, A. J. Blake, W.-S. Li, M. Mascal, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1998**, 3371–3376.
- [7] R. G. Lichtenhalter, F. Vogtle, *Chem. Ber.* **1973**, 106, 1319–1327.
- [8] A. Ricci, R. Danieli, S. Rossini, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1976**, 1691–1693.
- [9] W. P. Cochran, P. L. Paulson, T. S. Stevens, *J. Chem. Soc. C* **1968**, 630–632.
- [10] a) Kristallstrukturanalyse von $[\text{Cu}(\mathbf{2d})]\text{BF}_4 \cdot 0.5\text{CH}_3\text{OH}$: $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{CuS}_3^+\text{BF}_4^- \cdot 0.5\text{CH}_3\text{OH}$, $M_r = 581.03$, farblose rechteckige Tafeln, Kristallabmessungen $0.60 \times 0.54 \times 0.13$ mm, monoklin, Raumgruppe $P2_1/m$, $a = 8.391(4)$, $b = 17.971(7)$, $c = 16.329(8)$ Å, $\beta = 97.09(3)$ °, $V = 2443(2)$ Å³, $Z = 4$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.579$ g cm⁻³, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 1.196$ mm⁻¹. Stoe-Stadi-4-Vierkreisdiffraktometer, MoK α -Strahlung, $\lambda = 0.71073$ Å, $T = 150(2)$ K, ω/θ -Scans. Von 3890 gemessenen Reflexen ($2\theta_{\text{max}} = 45$ °) waren 3322 unabhängig ($R = 0.060$), 2641 mit $F \geq 4\sigma(F)$; alle 3322 wurden in den Berechnungen beibehalten. Korrektur der Kristallzersetzung (10.8%); numerische Absorptionskorrekturen ($T_{\text{min}} = 0.529$, $T_{\text{max}} = 0.860$) während der Datenverarbeitung. Strukturlösung mit Direkten Methoden^[22] und Differenz-Fourier-Synthesen. Eines der unabhängigen Halb-Kationen zeigte eine Störung im Bereich des Kupferatoms und des unmittelbar benachbarten Ligandengerüsts, dessen Aufbau drei alternative Metallpositionen zugrunde lagen. Verfeinerung nach dem Volle-Matrix-kleinste-Fehlerquadrate-Verfahren^[23] gegen F^2 . Die Wasserstoffatome (ohne die des Lösungsmittels) wurden geometrisch ideal positioniert und nach einem Reitermodell verfeinert ($U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1.2 U_{\text{eq}}(\text{C})$). $R_1 = 0.0576$ ($F \geq 4\sigma(F)$), $wR_2 = 0.154$ (alle Daten), $S(F^2) = 1.17$ für 341 verfeinerte Parameter. Die abschließende ΔF -Synthese zeigte keine Auffälligkeiten oberhalb 1.35 e Å⁻³^[10c]. b) Kristallstrukturanalyse von $[\text{Ag}(\mathbf{2d})]\text{BF}_4$: $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{AgS}_3^+\text{BF}_4^-$, $M_r = 609.34$, farblose Stäbchen, Kristallabmessungen $0.51 \times 0.16 \times 0.09$ mm, monoklin, Raumgruppe $P2_1/m$, $a = 8.440(2)$, $b = 17.966(4)$, $c = 16.247(4)$ Å, $\beta = 96.06(3)$ °, $V = 2449.8(10)$ Å³, $Z = 4$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.652$ g cm⁻³, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 1.121$ mm⁻¹. Meßbedingungen wie bei $[\text{Cu}(\mathbf{2d})]\text{BF}_4$. 6933 gemessene Reflexe ($2\theta_{\text{max}} = 50$ °), davon 4448 unabhängig ($R = 0.064$), 3655 beobachtet mit $F \geq 4\sigma(F)$; alle 4448 wurden in den Berechnungen beibehalten. Korrektur der Kristallzersetzung (7.2%); numerische Absorptionskorrekturen ($T_{\text{min}} = 0.821$, $T_{\text{max}} = 0.898$) während der Datenverarbeitung. Strukturlösung mit Schweratommethoden^[22] und Differenz-Fourier-Synthesen. Verfeinerung wie bei $[\text{Cu}(\mathbf{2d})]\text{BF}_4$. $R_1 = 0.0416$ ($F \geq 4\sigma(F)$), $wR_2 = 0.100$ (alle Daten), $S(F^2) = 1.06$ für 310 verfeinerte Parameter. Die abschließende ΔF -Synthese zeigte keine Auffälligkeiten oberhalb 1.47 e Å⁻³^[10c]. c) Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Strukturen wurden als „supplementary publication no.“ CCDC-111910 ($[\text{Cu}(\mathbf{2d})]\text{BF}_4$) und -111911 ($[\text{Ag}(\mathbf{2d})]\text{BF}_4$) beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB21EZ, (Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).
- [11] Die Daten beziehen sich auf das geordnete Halb-Molekül in der asymmetrischen Einheit.
- [12] Die Daten beziehen sich auf eines von zwei sehr ähnlichen Halb-Molekülen in der asymmetrischen Einheit.
- [13] Cambridge Structural Database, Version 5.16 (190307 Strukturen, Ausgabe: Oktober 1998): F. H. Allen, O. Kennard, *Chem. Des. Automat. News* **1993**, 8, 31–37.
- [14] The United Kingdom Chemical Database Service: D. A. Fletcher, R. F. McMeeking, D. Parkin, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1996**, 36, 746–749.
- [15] Die Abfrage wurde erstellt, indem drei Punkte an einem aromatischen Ring festgelegt wurden: x , ein C-Atom des Rings, o , der Mittelpunkt des Rings, und y , der Mittelpunkt einer der zu $x o$ parallelen C-C-Bindungen. Ein Metallatom am Punkt m hatte die x, y -Koordinaten $x_m = om \cos(x\hat{o})$ und $y_m = om \cos(y\hat{o})$. Der Zylinderradius r wurde durch die Beziehung $x_m^2 + y_m^2 \leq r^2$ definiert, und die Zylinderhöhe von 5 Å wurde durch om begrenzt.
- [16] CSD-Referenzcodes: DOCPAM, TEXZUR, YUHDEK, ZODZAT.
- [17] H. Schmidbaur, *Angew. Chem.* **1985**, 97, 893–904; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1985**, 24, 893–904.
- [18] In allen Fällen sind die Benzolringe unabhängig voneinander mit dem Metallatom verbunden. CSD-Referenzcodes: BEDBER, DEKMAH, FICXEU, HALVEV, JIVTEN, JIVTIR, SEJKAT, SIRROA.
- [19] J. L. Atwood, W. E. Hunter, R. D. Rogers, J. A. Weeks, *J. Inclusion Phenom.* **1985**, 3, 113–123.
- [20] Insgesamt enthalten 9141 Kristallstrukturen der Cambridge-Strukturdatenbank Cu und 1605 Ag. In 104 (1.1%) bzw. 32 (2.0%) dieser Verbindungen ist das Metallatom trigonal-planar koordiniert (dreibindig mit Bindungswinkel zwischen 115° und 125°). Es ist nicht möglich, im QUEST-3D-Programm der CSD Oxidationsstufen zu unterscheiden. Deshalb beziehen sich die genannten Zahlen für Cu auf Cu^I- und Cu^{II}-Verbindungen.
- [21] Zwei Verbindungen wurden gefunden, bei denen ein Kronenether über den einzigen vorhandenen Benzolring Tl^I (Metall-Mittelpunkt-(Ar)-Abstand 2.96 Å) und Ag^I (Metall-Mittelpunkt(Ar)-Abstand 2.89 Å) koordiniert: F. Fages, J.-P. Desvergne, H. Bouas-Laurent, J. Hirschberger, P. Marsau, M. Petraud, *Nouv. J. Chim.* **1988**, 12, 95–106; bzw.: H. Andrianatoadndro, Y. Barrans, P. Marsau, J. P. Desvergne, F. Fages, H. Bouas-Laurent, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1995**, 51, 293–300.
- [22] SHELSX-97: G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1990**, 46, 467–473.
- [23] G. M. Sheldrick, *SHELXL-97*, Universität Göttingen, **1997**.

Neues zur Biosynthese von Glycopeptid-Antibiotika des Vancomycin-Typs aus *Amycolatopsis mediterranei***

Roderich D. Süßmuth, Stefan Pelzer, Graeme Nicholson, Tilmann Walk, Wolfgang Wohlleben und Günther Jung*

Das Glycopeptid-Antibiotikum Vancomycin wurde Mitte der fünfziger Jahre isoliert,^[1] die endgültige Strukturbestimmung erfolgte mit spektroskopischen Methoden und durch Kristallstrukturanalyse.^[2] Vancomycin ist als Notfallantibio-

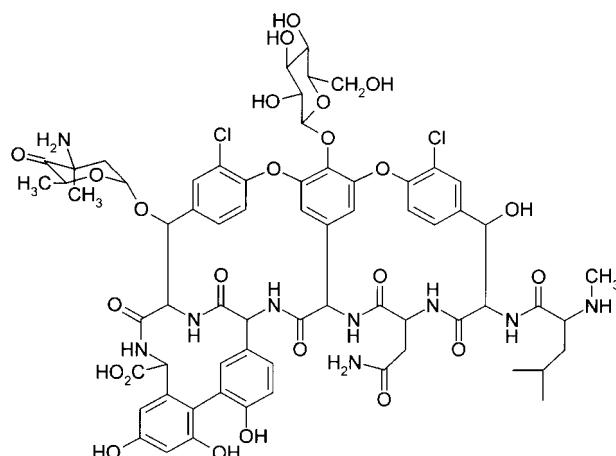
[*] Prof. Dr. G. Jung, Dipl.-Chem. R. D. Süßmuth, G. Nicholson, Dipl.-Chem. T. Walk
Institut für Organische Chemie der Universität
Auf der Morgenstelle 18, D-72076 Tübingen
Fax: (+49) 7071-29-5560
E-mail: guenther.jung@uni-tuebingen.de
Dr. S. Pelzer, Prof. Dr. W. Wohlleben
Lehrstuhl Mikrobiologie/Biotechnologie der Universität
Auf der Morgenstelle 28, D-72076 Tübingen

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 323) gefördert. Teile dieser Arbeit wurden auf dem 25. Europäischen Peptidsymposium (1998) in Budapest vorgestellt. Wir danken Herrn G. Grewe und Prof. Dr. Hans-Peter Fiedler für die Fermentation.

tikum nach Penicillin der wichtigste Wirkstoff gegen Gram-positive Bakterien, wie Methicillin-resistente Staphylococci (MRS).^[3] Es wird in der Enantiomeranalytik als chiraler Selektor eingesetzt.^[4] Die Totalsynthese von Vancomycin stellt besondere Herausforderungen aufgrund der synthetisch anspruchsvollen Biphenylether- und Biphenylbrücken.^[5] Obwohl Vancomycin seit über 40 Jahren bekannt ist, ist wenig über die Biosynthese und die Zwischenstufen des Aglycons bekannt.

Vor kurzem wurde die DNA-Sequenz eines Genclusters aus dem Chloroeremomycin-Produzenten beschrieben,^[6] von dem vermutet wird, daß es Glycopeptidbiosynthese-Enzyme kodiert. Ein funktioneller Nachweis durch Expressionsstudien oder Mutantenanalyse wurde bisher nicht erbracht. Ein Verständnis der Biosynthese auf genetischer und struktureller Ebene ist jedoch von Bedeutung für die Entwicklung neuer Glycopeptid-Analoga durch kombinatorische Biosynthese.

Als Modellorganismus wurde *Amycolatopsis mediterranei*, Produzent von Balhimycin (Schema 1),^[7] einem mit Vancomycin hinsichtlich des Aglycons identischen Glycopep-



Schema 1. Struktur des Antibiotikums vom Vancomycin-Typ Balhimycin.

tidantibiotikum, herangezogen. Durch einen Ansatz der Reversen Genetik wurde das Balhimycin-Biosynthesegencluster isoliert. Zum Nachweis der Beteiligung der isolierten Gene an der Balhimycin-Biosynthese wurden Genaktivierungsexperimente in *Amycolatopsis mediterranei* durchgeführt.^[8] Dabei konnte durch eine Integrationsmutagenese im Bereich der Oxygenasegene des Balhimycin-Biosynthesegen-

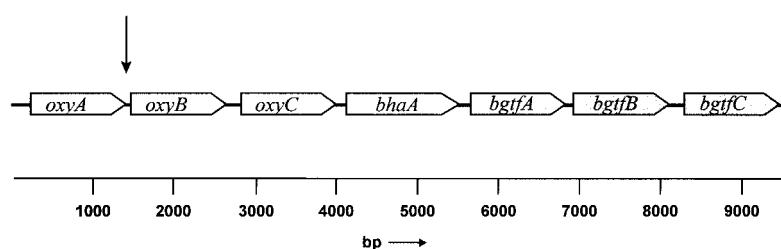


Abbildung 1. Schematische Darstellung eines Teils des Balhimycin-Biosynthesegenclusters aus *A. mediterranei* DSM5908. Die abgeleiteten Genprodukte weisen signifikante Ähnlichkeiten zu folgenden Enzymen auf: Oxy A–C (Cytochrom-P450-abhängige Monooxygenasen), BhaA (Halogenasen), BgtfA–C (Glycosyl-Transferasen). Der Pfeil symbolisiert die gezielte Integrationsmutagenese zwischen den Oxygenasegenen *oxyA* und *oxyB*.

clusters die Nullmutante SP1-1 erzeugt werden (Abbildung 1). Aus dem Kulturfiltrat dieser Nullmutante wurden durch HPLC-ES-MS-Kopplung unter Vergleich mit dem Wildtyp zwei neue biosynthetisch akkumulierte Verbindungen (relative monoisotope Massen 969 und 1134) nachgewiesen, während der Molekülpeak von Balhimycin nicht mehr detektierbar war.

ES-FT-ICR-Messungen ergaben neben einer exakten Massenbestimmung für beide Verbindungen charakteristische Chlor-Isotopenverteilungsmuster (Abbildung 2). Da Balhimycin zweifach chloriert ist, mußte es sich bei diesen

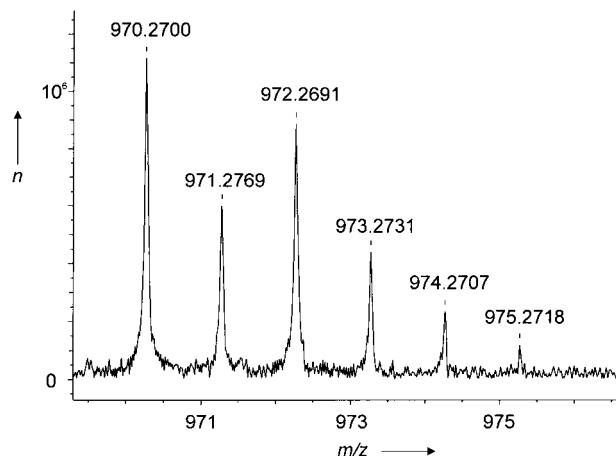


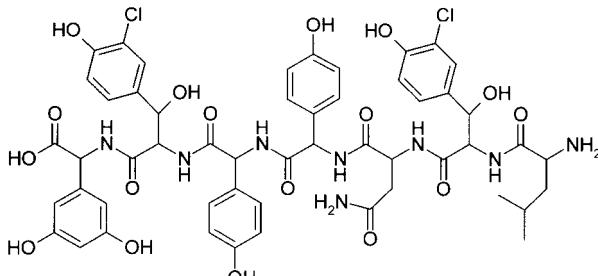
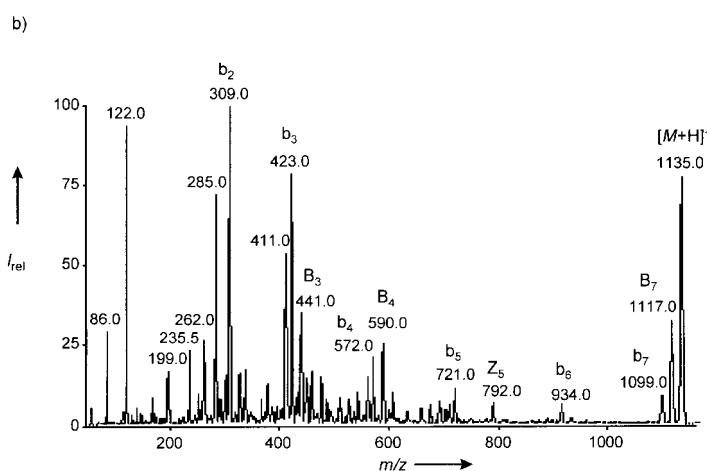
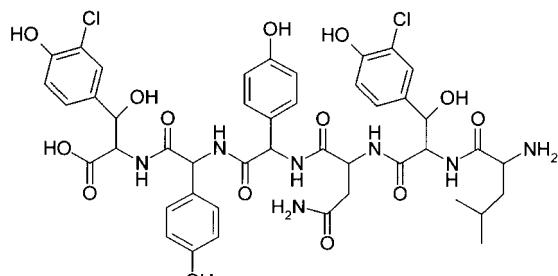
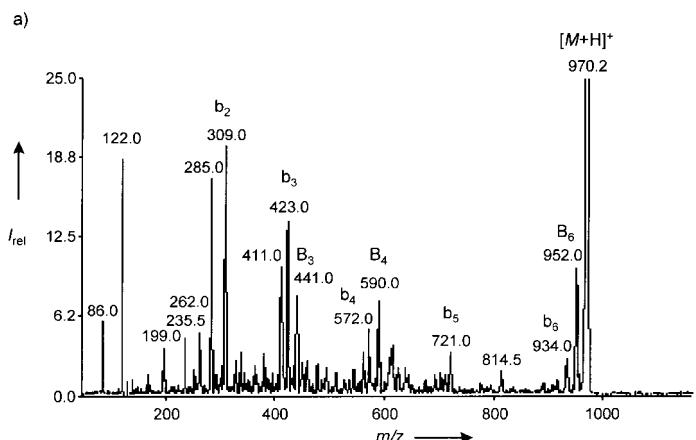
Abbildung 2. Hochauflötes ES-FT-ICR-Massenspektrum des Metaboliten SP-969. Die Isotopenverteilung ist charakteristisch für Verbindungen des Vancomycin-Typs mit zwei Chloratomen.

Verbindungen um Biosynthesezwischenstufen handeln. Die ES-MS-Tochterionenspektren der Massensignale *m/z* 970 und 1135 zeigten eine Vielzahl von Fragmentionspeaks (Abbildung 3), die das Vorhandensein linearer Biosynthesezwischenprodukte vermuten ließ.

Durch präparative HPLC konnten die nach den Molekülmassen benannten Verbindungen SP-969 (5.0 mg) und SP-1134 (3.5 mg) in hoher Reinheit aus dem Kulturfiltrat isoliert werden. Die Aminosäurenanalyse mit Kapillar-GC-MS an Chirasil-Val ergab, daß in beiden Verbindungen L-Asparaginsäure, D-Leucin und D-4-Hydroxyphenylglycin (Hpg) vorliegen. Im Hydrolysat von SP-1134 wurde zudem L-3,5-Dihydroxyphenylglycin (Dpg) identifiziert, die erwarteten chlorhaltigen Aminosäuren konnten nicht detektiert werden.

Die ermittelten Konfigurationen der Aminosäuren stimmen mit denen des Aglycons von Vancomycin überein. Aus den Tochterionenspektren konnte zusammen mit den Ergebnissen der Aminosäurenanalytik und in Kenntnis des Biosynthese-Zielprodukts auf die Partialsequenzen Leu-Xxx-Asn-Hpg-Hpg-Yyy (SP-969) und Leu-Xxx-Asn-Hpg-Hpg-Yyy-Dpg (SP-1134) geschlossen werden (Schema 2).

Eine weitere Absicherung der nichtcyclisierten Strukturen der Peptide SP-969 und SP-1134 wurde durch Edman-Abbau erzielt. Um die erwarteten ungewöhnlichen Phenylthiohydantoin(PTH)-Aminosäurederivate bestimmen zu



Schema 2. Strukturen von SP-969 (oben) und SP-1134 (unten).

Abbildung 3. Tochterionenspektren von SP-969 (a) und SP-1134 (b), die hauptsächlich Fragmente der B-Serie zeigen. Die b-Serie kennzeichnet Fragmentionen der B-Serie, die durch den Verlust von Wasser entstehen.

können, wurde der Gasphasen-Sequenator mit dem ES-Massenspektrometer direkt gekoppelt.^[9] Die Zahl der Abbaucyclen von SP-969 entsprach sechs, die von SP-1134 sieben Aminosäuren. Für die Abbaucyclen 1 und 3 der Verbindungen SP-969 und SP-1134 wurde Leu und Asn nachgewiesen. Die PTH-Derivate der Abbaucyclen 2 und 6 stimmen beide hinsichtlich ihrer Molekülmasse mit der Aminosäure 3-Chlor-β-hydroxytyrosin (Cht) der Aglykonstruktur überein. Das Auftreten der ebenfalls detektierten PTH-Derivate von Gly und 3-Chlordehydrotyrosin deuten auf eine Retroaldolkreaktion der β-Hydroxyaminosäure zu Glycin und dem entspre-

chenden Aldehyd bzw. auf eine Eliminierung von Wasser zur Didehydroaminosäure. Die Abbaucyclen 4 und 5 entsprechen Hpg, was durch einen Hpg-Standard bestätigt wurde. Bei SP-1134 wurde zusätzlich im Abbaucyclus 7 noch Dpg identifiziert.

Die endgültigen Strukturen der Peptide SP-969 und SP-1134 wurden NMR-spektroskopisch^[10] bewiesen (Tabelle 1 und 2). In den TOCSY-Spektren (TOCSY = Total Correlation Spectroscopy) wurden im Bereich der Amidprotonen fünf bzw. sechs Spinsysteme identifiziert. Die Zuordnungen im TOCSY-Experiment im Bereich der Arenprotonen erfolgten mit zwei AB-Spinsystemen von Hpg (SP-969), drei AB-Spinsystemen von Hpg und Dpg (SP-1134) sowie je zwei ABC-Spinsystemen von Cht. Im TOCSY-Spektrum der Aliphatenregion wurden Leu und Asn detektiert. Das Vorliegen von Asn wurde durch ein Spinsystem im TOCSY-Spektrum bewiesen, für das keine ¹³C-Kontakte im HSQC-Experiment (HSQC = Heteronuclear Single Quantum Coherence), aber ROE-Kontakte (ROESY = Rotating Frame Overhauser Effect Spectroscopy) zum Spinsystem von Asn nachgewiesen werden konnten. Entsprechend den Signalen im TOCSY-Spektrum wurden alle weiteren ¹H-¹³C-Kontakte

Tabelle 1. ¹H- und ¹³C-NMR-Verschiebungen des Peptids SP-969 ([D₆]DMSO, c_{SP-969} = 8.3 mg mL⁻¹, 305 K).

	NH	C _α	H _α	C _β	H _β	$\delta(^{13}\text{C})_n/\delta(^1\text{H})_n$
¹ Leu	–	50.8	3.63	39.7	1.43	23.2/1.45, 21.0/0.80, 21.0/0.80
² Cht	8.51	58.3	4.58	71.7	4.64	5.64 (β -OH), 133.6 (a), 127.9/7.34 (b), 118.8 (c), 152.0 (d), 115.3/6.86 (e), 126.4/7.10 (f), 10.09 (OH)
³ Asn	8.39	49.0	4.66	37.0	2.38/2.48	6.98 (NH), 7.40 (NH)
⁴ Hpg	8.00	54.7	5.54	–	–	128.9, 127.5/7.17, 114.7/6.68, 156.3, 9.35 (OH)
⁵ Hpg	8.77	54.7	5.54	–	–	128.0, 127.7/6.99, 114.4/6.62, 156.4, 9.33 (OH)
⁶ Cht	8.09	57.7	4.32	70.8	4.91	– (β -OH), 133.7 (a), 127.2/7.21 (b), 118.8 (c), 151.6 (d), 114.6/6.70 (e), 125.3/6.78 (f), 9.98 (OH)

Tabelle 2. ^1H - und ^{13}C -NMR-Verschiebungen des Peptids SP-1134 ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$, $c_{\text{SP-1134}} = 5.8 \text{ mg mL}^{-1}$, 305 K).

	NH	C_α	H_α	C_β	H_β	$\delta(^{13}\text{C})_n/\delta(^1\text{H})_n$
^1Leu	–	50.6	3.64	39.6	1.43	23.2/1.49, 21.9/0.80, 21.9/0.80
^2Cht	8.56	58.2	4.52	71.6	4.64	5.64 (β -OH), 133.4 (a), 127.9/7.34 (b), 118.5 (c), 151.7 (d), 115.4/6.84 (e), 126.5/7.08 (f), 10.08 (OH)
^3Asn	8.34	49.0	4.62	37.1	2.41/2.41	6.96 (NH), 7.37 (NH)
^4Hpg	8.01	54.8	5.49	–	–	(–), 127.4/7.17, 114.5/6.65, 156.3, 9.36 (OH)
^5Hpg	8.73	55.1	5.46	–	–	(–), 128.1/6.98, 114.5/6.65, 156.4, 9.40 (OH)
^6Cht	7.82	57.7	4.56	71.1	4.84	5.61 (β -OH), – (a), 127.4/7.16 (b), 118.5 (c), 151.1 (d), 114.5/6.65 (e), 125.2/6.70 (f), 9.93 (OH)
^7Dpg	8.57	56.0	5.10	–	–	138.3, 105.3/6.27, 158.0, 101.5/6.16, 9.36 (OH)

des HSQC-Spektrums zugeordnet. Mit dem HMBC-Spektrum (HMBC=Heteronuclear Multiple Bond Correlation) wurden die Verknüpfungen der aromatischen Ringe an das Peptidrückgrat aufgeklärt. Mit den zur Sequenzierung herangezogenen ROESY-Spektren konnte die Aminosäuresequenzen für SP-969 und SP-1134 vollständig ermittelt werden.

SP-969 und SP-1134 sind die ersten bekannten, linearen Biosyntheseintermediate, die von Antibiotika des Vancomycin-Typs isoliert wurden. Die Halogenierung von ^2Cht und ^6Cht findet demnach früh statt, ihr folgen die oxidativen Ringschlüsse zu den Biarylethern (Positionen 2, 4 und 6) und zum Biphenyl (Positionen 5 und 7). Die N-Methylierung von Leu sowie die O-Glycosylierung sind vermutlich spätere Biosyntheseschritte. In Kenntnis der linearen Vorstufen-Peptide wird nun in einem kombinatorischen Ansatz die Synthese von variierten linearen Peptiden verfolgt, die möglicherweise als Substrate für die Cyclisierung dienen können. Somit stünde der Weg zu neuen, semisynthetisch hergestellten Glycopeptid-Antibiotika offen.

Experimentelles

Die SP1-1-Oxygenase-Mutante von *Amycolatopsis mediterranei* DSM5908 wurde in Flüssigkultur^[11] mit $50 \text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ Erythromycin fermentiert (Produktionsmenge: 3.1 mg (SP-969) und 2.2 mg (SP-1134) pro L Kulturmöglichkeit). Die Peptide wurden nach Abtrennung an XAD-16-Adsorberharz durch präparative HPLC gereinigt (Nucleosil C18, 5 μm , $250 \times 20 \text{ mm}$, Grom, Herrenberg), Laufmittel: Wasser (0.1% Trifluoressigsäure) und Acetonitril (0.1% Trifluoressigsäure).

Die ES-MS- und ES-MS/MS-Experimente wurden mit einem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer (Perkin-Elmer Sciex, Thornhill, Kanada) unter Verwendung einer druckluftunterstützten Elektrospray-Quelle und von Argon-Kollisionsgas durchgeführt.

Die hochauflösten Massenspektren wurden mit dem APEX-II-FT-ICR-Massenspektrometer 4.7T (Bruker-Franzen, Bremen) mit Elektrospray-Ionisierung im Positiv-Ionen-Modus aufgenommen. Die Kalibrierung erfolgte extern mit PPG-1020. Die erzielte Auflösung beträgt 17000 (SP-969) bzw. 30000 (SP-1134) mit Massengenaugkeiten von 9 bzw. 16 ppm. Die NMR-Experimente wurden auf einem WM-400-Spektrometer (Bruker, Karlsruhe) durchgeführt.

Für die GC-MS-Untersuchungen (Carlo Erba 2900/Varian MAT112S; MAT, Bremen) wurden die Peptide im Vakuum hydrolysiert (6 N HCl, 110°C , 24 h) und mit Methanol/HCl (110°C , 15 min) bzw. Trifluoressigsäureanhydrid (110°C , 10 min) derivatisiert. Als Säulen wurden Fused-silica-Kapillaren ($25 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm}$ belegt mit L-Chirasil-Val bzw. Lipodex E (30%) in PS255, Filmdicke 0.13 μm) verwendet.

Stichwörter: Balhimycin • Biosynthese • Glycopeptide • Strukturaufklärung • Vancomycin

- [1] M. K. McCormick, W. M. Stark, G. E. Pittenger, R. C. Pittenger, G. M. McGuire, *Antibiot. Annu.* **1955–1956**, 606–611.
- [2] a) G. M. Sheldrick, P. G. Jones, O. Kennard, D. H. Williams, G. A. Smith, *Nature* **1978**, 271, 223–225; b) P. J. Loll, A. E. Bevivino, B. D. Korty, P. H. Axelson, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 1516–1522; c) C. M. Harris, H. Kopecka, T. M. Harris, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 6915–6922; d) S. G. Grdadolnik, P. Pristovsek, D. F. Mierke, *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 2090–2099.
- [3] R. C. Yao, L. W. Crandall in *Glycopeptide Antibiotics*, 1. Aufl. (Hrsg.: R. Nagarajan), Marcel Dekker, New York, **1994**, S. 1–21.
- [4] D. W. Armstrong, Y. Tang, S. Chen, Y. Zhou, C. Bagwill, J.-R. Chen, *Anal. Chem.* **1994**, 66, 1473–1484.
- [5] a) D. A. Evans, M. R. Wood, B. W. Trotter, T. I. Richardson, L. C. Barrow, J. L. Katz, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2864–2868; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2700–2704; b) K. C. Nicolaou, S. Natarajan, H. Li, N. F. Jain, R. Hughes, M. Solomon, J. Ramanjulu, C. N. C. Boddy, M. Takayanagi, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2872–2878; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2708–2714.
- [6] A. M. A. van Wageningen, P. N. Kirkpatrick, D. H. Williams, B. R. Harris, J. K. Kershaw, N. J. Lennard, M. Jones, S. J. M. Jones, P. J. Solenberg, *Chem. Biol.* **1998**, 5, 155–162.
- [7] S. Chatterjee, E. K. S. Vijayakumar, S. R. Nadkarni, M. V. Patel, J. Blumbach, B. N. Ganguli, H.-W. Fehlhaber, H. Kogler, L. Vertes, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 3480–3484.
- [8] S. Pelzer, R. Süßmuth, D. Heckmann, J. Recktenwald, P. Huber, G. Jung, W. Wohlleben, *Antimicrob. Agents Chemother.*, im Druck.
- [9] C. Kempfer, D. Kaiser, S. Haag, G. Nicholson, V. Gnau, T. Walk, K. H. Gierling, H. Decker, H. Zähner, G. Jung, J. W. Metzger, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 510–513; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 498–501.
- [10] S. Braun, H.-O. Kalinowski, S. Berger, *150 and More Basic NMR Experiments*, 2. Aufl., WILEY-VCH, Weinheim, **1998**.
- [11] S. Pelzer, W. Reichert, M. Huppert, D. Heckmann, W. Wohlleben, *J. Biotechnol.* **1997**, 56, 115–128.

Eingegangen am 29. Dezember 1998 [Z12848]
International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1976–1979