

- [54] J. B. Collins, P. v. R. Schleyer, J. S. Binkley, J. A. Pople, L. Radom, „Molecular Orbital Theory of the Electronic Structure of Molecules. The Interaction of H₂ with Simple Lewis Acids“, *J. Am. Chem. Soc.* 98, 3436 (1976).
- [55] P. C. Hariharan, W. A. Latham, J. A. Pople, „Molecular Orbital Theory of Simple Carbonium Ions“, *Chem. Phys. Lett.* 14, 385 (1972).
- [56] D. A. Dixon, I. M. Pepperberg, W. N. Lipscomb, „Localized Molecular Orbitals and Chemical Reactions. II. A Study of Three-Center Bond Formation in the Borane-Diborane Reaction“, *J. Am. Chem. Soc.* 96, 1325 (1974).
- [57] J. A. Dupont, R. Schaeffer, „Interconversion of Boranes. I. A Kinetic Study of the Conversion of Tetraborane-10 to Pentaborane-11“, *J. Inorg. Nucl. Chem.* 15, 310 (1960).

Einige Aspekte der Antibiotica-Forschung^{**}

Von Hans Zähner^{*}

Die Zeit der spektakulären Entwicklungen auf dem Antibiotica-Gebiet scheint vergangen zu sein. Mit immer größerer Mühe werden immer weniger neue Antibiotica entdeckt. Ausgehend von der Überlegung, daß gewagte Hypothesen die weitere Forschung ebenso anregen können wie gesicherte Befunde, werden in diesem Aufsatz fünf Thesen aufgestellt. „Nichtklassische“ Screening-Methoden und die Suche nach sekundären Metaboliten mit ungewöhnlichen Eigenschaften könnten reiche Ernte bringen.

Einleitung

Seit über 30 Jahren werden Antibiotica intensiv bearbeitet. Die in den ersten Jahren sich in rascher Folge einstellenden Fortschritte sind spärlicher geworden. Der Aufwand, um voran zu kommen, ist größer, der Optimismus kleiner geworden, und die Meinung ist zu hören, daß man sich asymptotisch dem näherte, was mit Antibiotica zu erreichen sei und daß sich die weitere Suche nach neuen Antibiotica nicht mehr lohne. Dieser Skepsis möchte ich fünf absichtlich provokativ formulierte Thesen gegenüberstellen.

These I: Von den für einen Antibiotica-Einsatz denkbaren Feldern ist erst ein kleiner Teil abgedeckt

Tabelle 1 zeigt, stark vereinfacht, das Verhältnis von abgedeckten sowie partiell abgedeckten zu offenen Feldern.

Selbstverständlich werden heute auch in den als offen bezeichneten Feldern Antibiotica verwendet. Die Felder sind dennoch als offen aufgeführt, weil die dort eingesetzten Antibiotica nicht in jeder Hinsicht befriedigen. Zum Beispiel werden große Mengen von Antibiotica in der Tierernährung verwendet. Soweit man diese auch in der Humanmedizin gebraucht, müssen sie ersetzt werden. Praktisch voll abgedeckt ist nur das Indikationsgebiet „Infekte mit Gram-positiven Bakterien in der Humanmedizin“. In der Humanmedizin vollständig offen sind die Bereiche Protozoen, Würmer und Viren; mit nur partiell befriedigenden Antibiotica versehen sind die Felder Tumoren und systemische Mykosen.

Einer der Gründe für die ungleiche Abdeckung der Felder besteht darin, daß die Korrelation zwischen den ersten Screen-

ingtests und den gesuchten Wirkungen am Einsatzort sehr unterschiedlich ist. Je geringer diese Korrelation ist, um so zeitraubender und kostspieliger wird die Arbeit und um so kleiner die Erfolgsaussicht. Den hohen Kosten für die Auffin-

Tabelle 1. Mögliche Felder für den Antibiotica-Einsatz.

Abgedeckte Felder	Partiell abgedeckte Felder	Offene Felder
Medizinische Anwendungen	Medizinische Anwendungen	Medizinische Anwendungen
Gram-positive Bakterien	Gram-negative inkl. multiresistente Bakterien	Protozoen Systemische Mykosen Würmer Viren Tumoren
Nicht-medizinische Anwendungen	Nicht-medizinische Anwendungen	Nicht-medizinische Anwendungen
	Phytopathogene Pilze	Phytopathogene Bakterien Phytopathogene Viren Insekten und Milben Nematoden Schnecken Nutritive Verwendung

dung und Bereitstellung von Antibiotica für die noch offenen Felder steht jedoch das hohe gesellschaftliche Interesse gegenüber.

Nach einer Aufstellung von *Berdy*^[1] waren Ende 1972 4076 Antibiotica bekannt. Jede Gruppe, die sich mit der Suche nach neuen Antibiotica befaßt, macht unweigerlich die Erfahrung, daß der Anteil der neuen unter den bearbeiteten Substanzen abnimmt. In den Jahren 1954/55 fanden wir zum Beispiel ein bis drei neue Antibiotica auf 1000 geprüfte Actinomycetenstämme, und jedes zwanzigste in Arbeit genommene Antibioticum war neu^[2]. Bereits 1958 war der Anteil an neuen auf

[*] Prof. Dr. H. Zähner
Institut für Biologie II der Universität
Auf der Morgenstelle 28, D-7400 Tübingen

[**] Nach einem Vortrag beim Fifth International Fermentation Symposium, Berlin, Juli 1976.

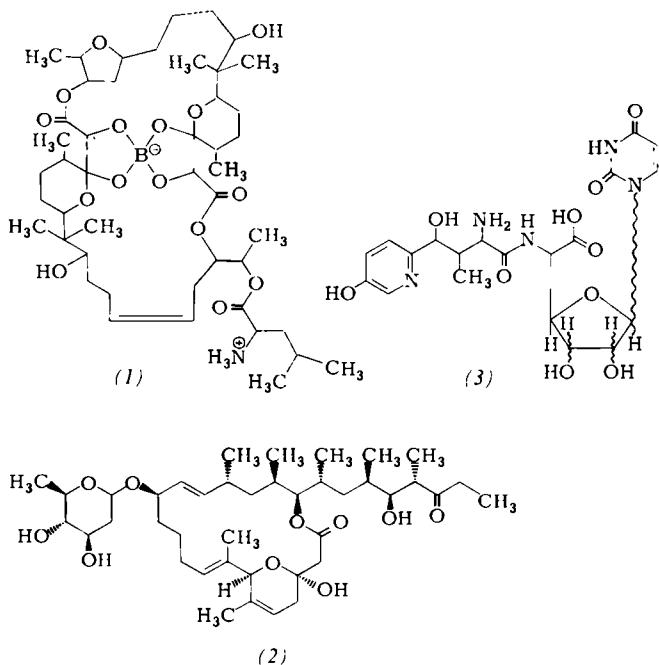
unter eins je tausend geprüfte Stämme gesunken, und nicht einmal mehr jedes fünfzigste in Arbeit genommene Antibioticum war neu. Diese Beobachtungen – verbunden mit der bereits sehr großen Zahl beschriebener Antibiotica haben zur Auffassung geführt, daß wir bereits einen großen Teil aller vorhandenen Antibiotica kennen. Dieser Auffassung möchte ich These II gegenüberstellen.

These II: Trotz über dreißigjähriger Sucharbeit kennen wir erst einen kleinen Teil der natürlichen Antibiotica

Wenn man vor einigen Jahren Antibiotica-Laboratorien besuchte, so stellte man fest, daß weltweit die gleichen Testmethoden, teilweise sogar die gleichen Testkeime, verwendet wurden. Erst in den letzten Jahren ist das Spektrum der Testmethoden wesentlich breiter geworden. Die klassischen Methoden gehen weitgehend auf Waksman zurück und lassen sich durch die folgenden Punkte charakterisieren:

Es wird eine möglichst enge Korrelation zwischen erstem Test und späterer Anwendung angestrebt; alle Tests beruhen auf Wachstumshemmung oder Abtötung; alle Tests werden unter optimalen Bedingungen, d. h. mit komplexen Nährböden durchgeführt; alle Tests sind Diffusionstests.

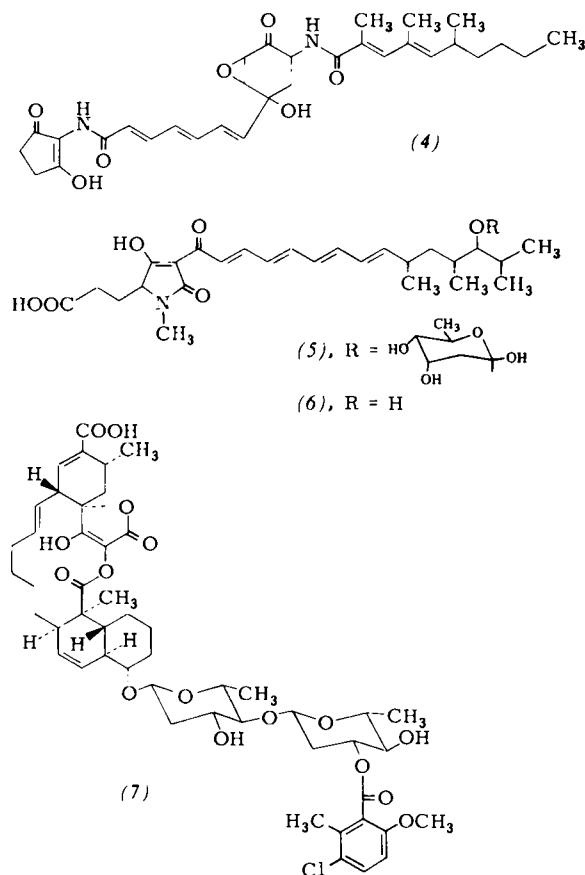
Zwei Größen entscheiden darüber, was in einem Antibiotica-Screening gefunden wird: die Mikroorganismen und die Testmethoden. Obwohl diese Feststellung trivial ist, hat man sie, mindestens was die Testmethoden anbetrifft, nicht genügend berücksichtigt. Geht man von den klassischen Tests (s.o.) ab, so findet man eine ganz andere Auswahl von Substanzen.



Für viele Antibiotica-Indikationen ist keine gute Korrelation zwischen dem ersten Test und der gesuchten Wirkung am Einsatzort gegeben. Wenn man aus diesem Mangel eine Tugend macht und auf eine Korrelation zwischen erstem Test und späterer Verwendung verzichtet, d. h. den ersten Test nur noch als Leitschiene für die Isolierung eines neuen Metaboliten verwendet, kann man auch auf die anderen Kriterien der klassischen Tests verzichten.

In welchem Ausmaß der Test darüber entscheidet, was gefunden wird, sei hier an einigen Beispielen aus unserem Erfahrungskreis geschildert. Antifungische Substanzen werden meist noch in der klassischen Anordnung durch einen Plattendiffusionstest mit Hefen oder Pilzsporen gesucht. Bei Actinomyceten findet man in dieser Anordnung eine große Zahl von Polycenen sowie Cycloheximid und Antimycine. Ersetzt man das Kriterium Wachstumshemmung durch das Kriterium abnormes Hyphenwachstum^[3] oder Hemmung der Zygosporenbildung^[4], so findet man bei Actinomyceten ein ganz anderes Spektrum antifungischer Antibiotica, nämlich die Verbindungen (1) bis (3).

Boromycin (1)^[5], der erste borhaltige Naturstoff, gehört von der Wirkung her zu den ionophoren Antibiotica^[7]. Seine Struktur wurde von Prelog et al.^[6] aufgeklärt. Venturicidin



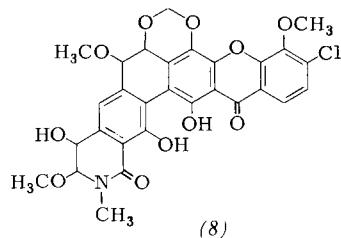
B (2) ist ein antifungisches Makrolid^[8], dessen Struktur Keller-Schierlein et al.^[9] aufgeklärt haben. Nikkomycin (3), ein den Polyoxinen^[10] nahestehendes Nucleosid-Antibioticum, hemmt die Chitinsynthese^[11].

Der Ersatz der optimalen, komplexen Nährböden im Test durch einfache, chemisch definierte Medien – verbunden mit der Suche nach Substanzen, die nur auf diesen einfachen Medien eine Wirkung zeigen –, führt einerseits zu zahlreichen Antimetaboliten^[12] und andererseits zu einigen ungewöhnlichen neuen Antibiotica, z. B. (4) bis (7).

Manumycin (4)^[13] ist ein Antibioticum, das in die Proteinsynthese prokaryotischer Zellen eingreift^[14]. α - (5) und β -Lipomycin (6)^[15] bilden zusammen mit Olefincin^[16] eine neue Gruppe von Antibiotica, die mit Lipiden interferieren^[17]. Chlorothricin (7)^[18] ist ein ungewöhnliches, chlorhaltiges Makrolid, das nicht wie die üblichen Makrolide die Protein-

synthese hemmt, sondern als Antagonist von Acetyl-CoA wirkt^[19].

Geht man dazu über, auch schlecht diffundierende Antibiotica zu bearbeiten – wozu leider noch keine generell einsetzbaren Tests zur Verfügung stehen –, so findet man wiederum andere Antibiotica als in den klassischen Testanordnungen. Als Beispiel soll auf Lysolipin I (8)^[20] hingewiesen werden, das zusammen mit Albofungin^[21] eine in bezug auf Wirkungsweise und mögliche Anwendung noch wenig untersuchte Gruppe von Antibiotica bildet.



Mit den hier angedeuteten Änderungen in den klassischen Testanordnungen ist nur ein kleiner Teil der möglichen Variationen umrissen. Neue Testmethoden werden mit Vorteil so ausgewählt, daß die Identifizierung oder der Ausschluß bekannter Antibiotica erleichtert wird. In Tabelle 2 sind Beispiele für ein „nichtklassisches“ Screening zusammengestellt.

Tabelle 2. Einige Möglichkeiten für ein „nichtklassisches“ Screening auf mikrobielle Metabolite.

1. Suche nach Antibiotica, die nur bei nichtoptimalen Bedingungen für die Testkeime wirken, z. B. nur auf einfachen chemisch definierten Medien oder nur bei nichtoptimalen Temperaturen
2. Verwendung permeationsgeschädigter Testkeime, z. B. extremer R-Formen von *Enterobacteriaceae* oder stabiler L-Formen [a]
3. Verwendung extrem empfindlicher Wildstämme unter Berücksichtigung der Antibiotica, die nur auf diese „überempfindlichen“ Stämme wirken (Engspektrum-Antibiotica)
4. Suche nach Antibiotica, die nur zusammen mit Detergentien oder Ethylen-diamintetraessigsäure wirken, d. h. „Nachhilfe“ beim Eindringen brauchen
5. Zellfreie Systeme bestimmter Enzyme, z. B. Proteasen, Dopa-Decarboxylasen, Neuraminidasen oder Chitin-Synthetasen sowie Systeme, in denen eine zellfreie Proteinsynthese abläuft, dienen als Indikatoren für Hemmstoffe
6. Anwendung anderer Kriterien als Wachstumshemmung oder Abtötung, z. B. Eingriffe in die Differenzierung und Morphogenese
7. Anwendung von Reaktionen auf bestimmte chemische Gruppen als Kriterium, z. B. auf reduzierende Gruppen, Amine, Alkaloide, chlorhaltige oder schwefelhaltige Metabolite
8. Anwendung von Methoden, die dem Bereich „Microbial Transformation“ angehören [b]

[a] Unter R-Formen versteht man Stämme von *Enterobacteriaceae* mit massiven Defekten im Lipopolysaccharid, als L-Formen werden Bakterien mit defekter oder fehlender Zellwand beschrieben.

[b] Unter „Microbial Transformation“ verstehen wir die mikrobielle Umwandlung organischer Verbindungen ohne deren vollständigen Abbau.

Durch die in Tabelle 2 skizzierten neuen Testmethoden nimmt die Zahl der neu aufzufindenden Metabolite stark zu, wobei sich allerdings die Grenze zwischen Antibiotica und andern mikrobiellen Metaboliten aufzulösen beginnt. Kombiniert man die große Zahl möglicher neuer Testmethoden mit der kaum begrenzten Zahl der Mikroorganismen und berücksichtigt, daß Mutationen die Variation noch vergrößern, so kommt man zur eingangs aufgestellten These, daß wir erst einen kleinen Teil der natürlichen Antibiotica kennen.

These III: Die Probleme des Antibiotica-Transports wurden viel zu lange vernachlässigt

Antibiotica lassen sich schematisch in zwei Gruppen einteilen: Gruppe I: membranophile Antibiotica, Gruppe II: nicht-membranophile Antibiotica.

Die Antibiotica der Gruppe I lagern sich an oder in die Membran der Bakterien oder Pilze ein und entfalten dort ihre Wirkung; diese Antibiotica müssen nicht in das Innere der Zelle gelangen. In diese Gruppe gehören u. a. alle ionophoren Antibiotica, Polymyxine, Colistine, Lipomycine und Lysolipin I.

Die Antibiotica der Gruppe II müssen in die Zelle eindringen, da ihr Wirkort im Zellinnern liegt. Gruppe II besteht aus Antibiotica, deren primärer Angriffsort die Nucleinsäure-synthese, die Proteinsynthese und die Synthese intermediärer Stoffwechselprodukte ist. Beispiele sind die Actinomycine, Anthracycline, Tetracycline, Makrolide, Aminoglykoside und Rifamycine sowie Chloramphenicol, Cycloserin und Phosphonomycin. Bei den Gram-negativen Bakterien müssen diese Antibiotica zwei Membranen passieren: die äußere Membran und die Cytoplasmamembran.

Für die Aufnahme von Antibiotica^[22] der Gruppe II in die Zelle bestehen die gleichen Möglichkeiten wie für die Aufnahme von Substraten: a) aktiver Transport, b) erleichterte Diffusion, c) passive Diffusion.

Mit dem aktiven Transport wollen wir uns weiter unten eingehend befassen. Die zweite Aufnahmemöglichkeit, die erleichterte Diffusion, kann vorläufig nicht belegt werden; aus theoretischen Überlegungen heraus müssen aber für die Aufnahme großer, nicht sehr lipophiler Moleküle derartige Systeme angenommen werden. Die dritte Möglichkeit, die passive Diffusion, ist nach dem Flüssigmosaikmodell für den Membranaufbau nicht vorstellbar, jedenfalls nicht für große Antibiotica-Moleküle wie Vancomycine, Avilamycin/Everinomycin, Actinomycine etc.

Die Bakterienzelle ist dank mehrerer Systeme des aktiven Transports in der Lage, Substrate auch aus stark verdünnten Lösungen aufzunehmen und anzureichern. Fällt ein derartiges System des aktiven Transports z. B. durch Mutation aus, so müssen der Zelle viel höhere Konzentrationen des betreffenden Substrates angeboten werden, um die normale Wachstums geschwindigkeit aufrecht zu erhalten. Da Antibiotica zum Teil in außerordentlich geringen Konzentrationen wirksam sind und in Einzelfällen auch eine Anreicherung durch die Zelle nachgewiesen ist, besteht der Verdacht, daß ein Teil der Antibiotica durch aktiven Transport in die Zelle gelangt. Nun ist allerdings der Nachweis einer Anreicherung noch kein Beleg für einen aktiven Transport; zusammen mit einer spezifischen Bindungsstelle in der Zelle erlaubt sogar die passive Diffusion eine Anreicherung.

Die Transportsysteme für Substrate der Bakterienzelle sind erstaunlich spezifisch. Da nicht angenommen werden kann, daß spezielle Transportsysteme für Antibiotica gebildet werden, stellt sich beim aktiven Antibiotica-Transport die Frage, welches Transportsystem der Bakterienzelle dafür herangezogen wird. Trivial ausgedrückt: Welches Substrat-Transportsystem wird durch das Antibioticum mißbraucht? Für Cycloserin wurde ein Transport über das D-Alanin-System^[23] nachgewiesen, und bei Phosphonomycin ließ sich zeigen, daß es sowohl über das Transportsystem für Glycerophosphat als

auch über das induzierbare Transportsystem für Glucose-6-phosphat^[24] aufgenommen wird. Bacylysin kann über ein Di-peptid-Transportsystem in die Zelle gelangen^[25]. Die Benutzung von „normalen“ Transportsystemen für die Aufnahme von Antibiotika sei hier an drei Beispielen illustriert.

1. Das Sideramin-Sideromycin-Transportsystem

Die Sideramine, z. B. Ferrichrom (9) und Ferrioxamin B (11), sind mikrobielle Eisentransportverbindungen, die sich sehr gut in Wasser lösen und der Zelle eine optimale Eisenversorgung erlauben. Praktisch alle Mikroorganismen scheiden entweder Sideramine oder verwandte Eisenchelatbildner in das Medium aus. Zu den Sideromycinen zählen Albomycin (10) und Ferrimycin A₁ (12). Der Antagonismus zwischen Sideraminen und Sideromycinen^[26] beruht auf einem Antagonismus beim Transport^[27, 28]. Hantke und Braun^[29] haben die Verhältnisse beim Eisentransport von *E. coli* eingehend untersucht und gezeigt, daß Ferrichrom (9) und Albomycin (10) um die Bindung an das Produkt des Gens ton A konkurrieren. Die recht komplizierten Verhältnisse beim Eisentransport von *E. coli* gibt Abbildung 1 wieder.

Am Aufnahmesystem für Ferrichrom ist außer dem Produkt des Gens ton A auch das Produkt des Gens ton B beteiligt. Bei diesen Genprodukten handelt es sich um Proteine der

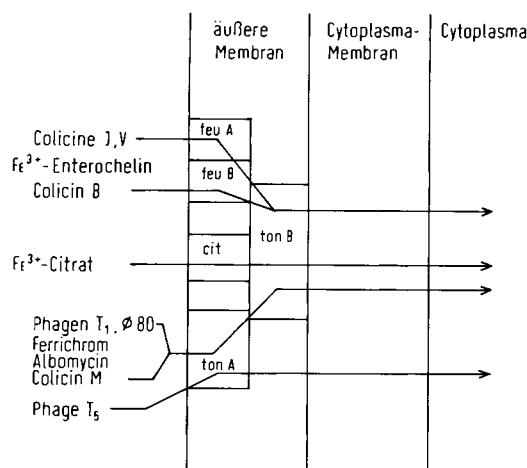
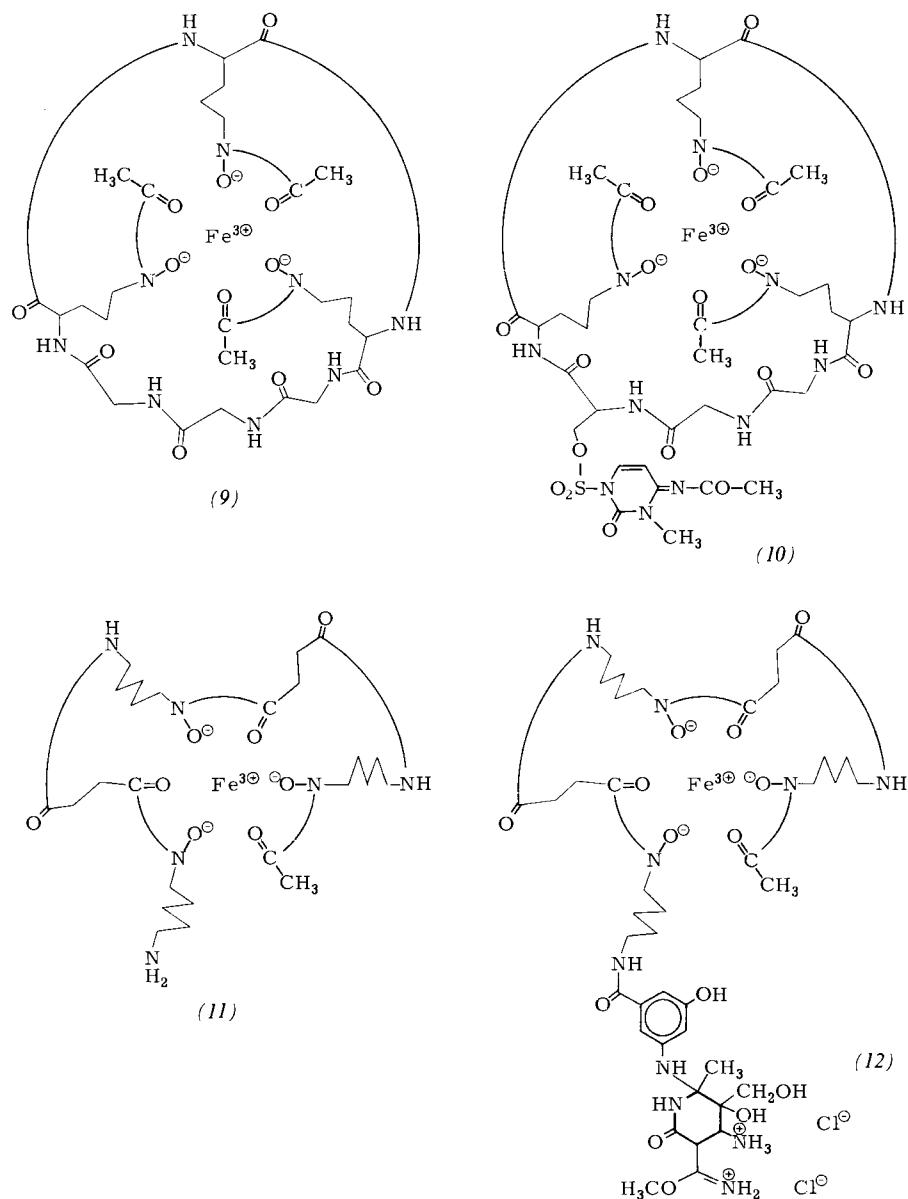


Abb. 1. Systeme des Fe^{3+} -Transportes in *Escherichia coli* [29]. Erklärung im Text.



äußeren Membran von *E. coli*, die in chemischer Hinsicht noch eingehender Untersuchung bedürfen, während die Gene ton A und ton B auf dem *Coli*-Chromosom bereits kartiert sind. Das Aufnahmesystem wird auch von den Phagen T₁, ϕ 80 und Colicin M benutzt.

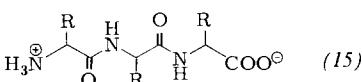
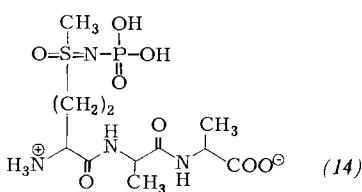
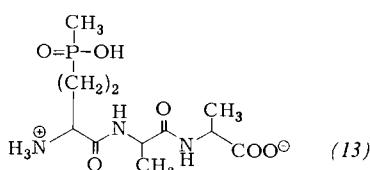
E. coli kann Fe³⁺ auf drei Wegen aufnehmen: über Enterochelin, Eisen(III)-citrat und Ferrichrom. Nur das Ferrichrom-Transportsystem vermag auch Albomycin zu transportieren.

Nach neueren Untersuchungen von *Wolf* und *Dengler*^[34] hemmen die Sideromycine die Proteinsynthese von *E. coli* durch Hemmung der Übertragung bestimmter Aminosäuren auf die tRNA. Die Wirkungsweise der Sideromycine hat also nichts mit dem Antagonismus mit den Sideraminen, d.h. der Konkurrenz beim Transport, zu tun. Sideramine werden in zunehmendem Maße bearbeitet^[35], wobei sich eine ausgesprochene Spezifität bei der Bildung und, damit teilweise korrespondierend, eine Spezifität beim Transport abzeichnen^[36]. Besonders interessant scheint die Beobachtung, daß spezifische Sideramin-Transportsysteme auch bei Organismen vorkommen, die selbst gar keine Sideramine bilden. *E. coli* zum Beispiel synthetisiert Enterochelin als Eisentransportverbindung, besitzt aber ein für Ferrichrom spezifisches Bindepolymer und kann das Eisen aus dem Ferrichrom verwerten. Auch höhere Zellen, z. B. humane Knochenmarkzellen, vermögen Sideramine spezifisch und mit sehr unterschiedlicher Geschwindigkeit zu transportieren und deren Eisen für die Hämsynthese zu verwenden^[37].

Die enge strukturelle Verwandtschaft zwischen Sideraminen und Sideromycinen geht aus der Gegenüberstellung von Ferrichrom (9)^[30] und Albomycin (10)^[31] sowie Ferrioxamin B (11)^[32] und Ferrimycin A₁ (12)^[33] hervor. Im Ferrimycin A₁ (12) ist das vollständige Molekül Ferrioxamin B (11) enthalten; der zusätzliche Teil hat ein Molekulargewicht von über 400. Albomycin (10) hemmt Gram-negative und Gram-positive Bakterien; seine Wirkung bei beiden Bakteriengruppen wird durch Ferrichrom (9) und damit verwandte Sideramine aufgehoben. Ferrimycin A₁ (12) hemmt nur Gram-positive Bakterien, und dementsprechend verhindert Ferrioxamin B (11) die Wirkung von Albomycin (10) auch nur bei Gram-positiven, nicht aber bei Gram-negativen Bakterien.

2. Das Oligopeptid-Transportsystem

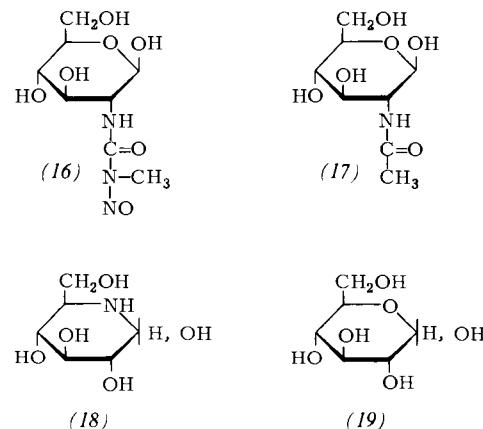
Payne und *Gilvarg* beschrieben vor einiger Zeit ein Transportsystem für Oligopeptide bei *E. coli*^[39]. Dieses bei Bakterien



en wahrscheinlich weit verbreitete System transportiert Tripeptide vom Typ (15), Tetrapeptide und teilweise noch Pentapeptide, praktisch unabhängig von ihrer Zusammensetzung. Wir konnten kürzlich zeigen^[38], daß die Tripeptid-Antibiotika Phosphinothricyl-alanyl-alanin (13)^[40] und Phosphonomethioninsulfoximyl-alanyl-alanin (14)^[41], die in der Zelle als Hemmstoffe der Glutamin-Synthetase wirken, durch dieses Transportsystem in die Zelle gelangen. Dort werden sie von einer Peptidase gespalten, so daß die wirksame Komponente – jeweils eine ungewöhnliche, phosphorhaltige Aminosäure – frei wird. Ein Ausfall des Oligopeptid-Transportsystems führt bei *E. coli* zu Resistenz gegen beide Antibiotika.

3. Transport von Antibiotica durch das Phosphoenolpyruvat: Zucker-Phosphotransferasesystem

Schindler^[42] hat kürzlich nachgewiesen, daß Streptozotocin (16)^[43] und Nojirimycin (18)^[44] durch das Phosphoenolpyruvat:Zucker-Phosphotransferasesystem^[45] in die Zelle gelangen. Dieses Transferasesystem enthält mehrere Enzyme. Das als Enzym II bezeichnete Protein erkennt den jeweiligen Zucker, ist also für bestimmte Zucker spezifisch, während die übrigen Teile – Enzym I und ein als HPr bezeichnetes Protein – für alle vom System transportierten Zucker gleich sind. Es ist noch offen, ob beim Transport von Streptozotocin (16) und Nojirimycin (18) eine Phosphorylierung stattfindet oder ob diese Antibiotica nur das Zucker-erkennende Enzym II benutzen und dann mehr oder weniger passiv in die Zelle eindringen.



Bei den hier beschriebenen Fällen eines aktiven Antibiotica-Transports ist die Verwandtschaft zwischen den Antibiotica, z. B. (16) und (18), und den entsprechenden Substraten, hier N-Acetylglucosamin (17) bzw. D-Glucose (19), offensichtlich. Dasselbe gilt für die Transportwege von Cycloserin und Phosphonomycin. Bei komplizierter gebauten Antibiotica ist keine Übereinstimmung mit bestimmten Substraten erkennbar. Auch der Nachweis eines aktiven Transports konnte dort bisher kaum geführt werden. Trotzdem dürfte es sich lohnen, nach weiteren aktiv transportierten Antibiotica zu suchen und diese Transportsysteme genau kennenzulernen. Bessere Kenntnisse über den Antibiotica-Transport versprechen einige Fortschritte:

Wenn bekannt ist, über welche Transportsysteme komplizierte Moleküle in die Zelle gelangen, könnten diese Systeme vielleicht auch für den Transport von Hemmstoffen anderer Art missbraucht werden.

Wenn die Resistenz eine Eindringungsresistenz ist wie bei den Tetracyclinen, ließe sie sich vielleicht durch Koppeln der Antibiotika an ein Transportvehikel durchbrechen.

Bei Engspektrum-Antibiotica könnte das Spektrum möglicherweise durch gezielte Derivatisierung zur Verbesserung der Transporteigenschaften wesentlich erweitert werden.

These IV: Antibiotica sind sekundäre Metabolite, deren Bedeutung für die Produzentenzelle eher auf der Ebene des Primärstoffwechsels, der Regulation, des Transports, der Differenzierung oder der Morphogenese zu suchen ist als in der Abwehr von Konkurrenten

Im Hinblick auf die weite Verbreitung der Antibiotica sowie die Verschiedenartigkeit der chemischen Strukturen und der Angriffsstelle stellt sich immer wieder die Frage nach der Bedeutung der Antibiotica für die Produzentenzelle. In Lehrbüchern wird ihnen meist eine große Bedeutung im Konkurrenzverhalten der Mikroorganismen zugeschrieben, wenn sie nicht soweit gehen zu behaupten, daß ein Mikroorganismus Antibiotica bilde, um sich andere Organismen vom Leibe zu halten.

Zu Zweifeln an der „Abwehrtheorie der Antibiotica“ führten mehrere Beobachtungen:

Zahlreiche Antibiotica-produzierende Organismen sind gegen die von ihnen gebildeten Antibiotica ebenso empfindlich wie irgendwelche Konkurrenten.

Ein Teil der Antibiotica wird erst am Ende der log-Phase, häufig im Zusammenhang mit der Sporenbildung, produziert; wenn nun die Sporen gegen das eigene Antibioticum empfindlich sind, sind sie darauf angewiesen, daß es von anderen Organismen abgebaut oder inaktiviert wird, bevor sie auskeimen können.

Nur in Ausnahmefällen können Antibiotica in der natürlichen ökologischen Nische nachgewiesen werden.

Das Wirkungsspektrum der gebildeten Antibiotica stimmt mit dem Spektrum der Konkurrenten meist nicht überein.

Wir haben Antibiotica zu sekundären Metaboliten erklärt, die mehr oder weniger zufällig eine antibiotische Wirkung besitzen, und wollen uns nun mit der Rolle des Sekundärstoffwechsels befassen. Handelt es sich bei den sekundären Metaboliten wirklich um bloße Abfallprodukte des Primärstoffwechsels oder um nicht eliminierte Überreste aus der phylogenetischen Entwicklung^[46]?

Die Entwicklung der Organismen spielt sich auf den Ebenen Primärstoffwechsel, Stoffwechselregulation, Stofftransport, Differenzierung und Morphogenese ab. Der Motor für die weitere Entwicklung ist das Zusammenspiel von zunehmender Variation durch Mutation und abnehmender Variation durch Selektion. Erst kürzlich haben *Eigen* und *Winkler*^[47] diesen Spielcharakter der Evolution neu herausgearbeitet. Die außergewöhnlich harten Randbedingungen – der Zwang zur Erhaltung der Fortpflanzungs- und Konkurrenzfähigkeit – führen dazu, daß nur noch ein geringer Freiraum für das Spiel Mutation/Selektion bleibt. Man kann sich nun vorstellen, daß daneben ein Spielraum besteht, dessen Randbedingungen weniger hart sind.

Ein Beispiel soll den krassen Unterschied in bezug auf den Spielraum im Primär- und im Sekundärstoffwechsel verdeutlichen. Wenn im Primärstoffwechsel ein Produkt verändert wird, so führt dies sofort zum Absterben der Zelle, falls das neue Produkt nicht alle Funktionen des ursprünglichen Pro-

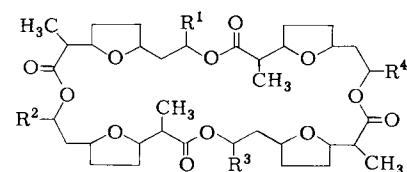
dukts übernehmen kann. Im freieren Spielraum Sekundärstoffwechsel kann ein Produkt fast beliebig verändert werden, solange die Veränderung keine negativen Auswirkungen auf eine der genannten fünf Ebenen hat. Dies führt dazu, daß im Sekundärstoffwechsel häufig Variationen über ein Thema vorliegen, z. B. in einem einzigen Stamm über zwanzig Anthracycline.

Dieser Spielraum Sekundärstoffwechsel ist nicht isoliert von den fünf Ebenen Primärstoffwechsel, Stoffwechselregulation, Stofftransport, Differenzierung und Morphogenese zu schen. Von diesen Ebenen werden einerseits die Bausteine und einige Enzyme für den Sekundärstoffwechsel geliefert, und andererseits werden dessen Ergebnisse in eine Ebene hineingenommen, wenn sie dort einen Vorteil bringen. Es gibt mehrere Substanzgruppen, die zwischen dem Sekundärstoffwechsel und einer der Ebenen stehen. Zwei Beispiele sollen dies illustrieren und zugleich die „Zufälligkeit“ der antibiotischen Wirkung belegen.

Die Sideramine, z. B. (9) und (11), sind dem Eisentransport zuzuordnen; sie kommen in großer Vielfalt in der Natur vor. Einerseits besteht eine beachtliche Spezifität in der Sideraminbildung, und andererseits bilden die meisten Sideraminproduzenten viele ähnliche Sideramine. Aus dem gleichen Actinomycetenstamm lassen sich z. B. die Ferrioxamine A₁, A₂, B, C, D₁, D₂, E, F und G^[32] isolieren. Die Sideramine weisen sowohl Merkmale des Sekundärstoffwechsels (Spezifität der Bildung, Variation) als auch Merkmale des Primärstoffwechsels (Funktion im Eisentransport) auf. Von den neun Ferrioxaminen wirkt nur eisenfreies Ferrioxamin E antibiotisch; es wurde bereits unter dem Namen Nocardamin^[48] als Antibioticum beschrieben. Seine Wirkung beruht auf der Tatsache, daß es ein sehr starker Eisenkomplexbildner ist und daß viele Mikroorganismen nicht imstande sind, das Eisen aus dem Nocardamin-Eisen-Komplex aufzunehmen. Die Zahl der Actinomyceten, die Ferrioxamin B als Hauptkomponente bilden, also eine antibiotisch nicht aktive Komponente, ist wesentlich größer als die der Actinomyceten, die Nocardamin (eisenfreies Ferrioxamin E) als Hauptkomponente aufweisen. Es erscheint also mehr oder weniger als Zufall, daß Nocardamin neben seiner Funktion im Eisentransport der Produzentenzelle noch eine antibiotische Wirkung auf andere Mikroorganismen ausübt. In der Reihe der Pilzsideramine, insgesamt über zwanzig, besitzt auch nur eine Verbindung antibiotische Wirkung, und zwar Desferri-triacetylfsuginen^[49].

Die Beobachtung, daß nur einer oder wenige Vertreter einer in der Natur vorkommenden Variation antibiotisch wirksam ist, könnte man viel häufiger machen, wenn man bei der Isolierung sekundärer Metabolite nicht die antibiotische Wirkung als Leitschiene verwendet.

Das zweite Beispiel bilden die Makrotetrolide (20)^[50]. Makrotetrolide sind ionophore Antibiotica, die bisher nur für



(20a), R¹ = R² = R³ = R⁴ = CH₃, Nonactin

(20b), R¹ = R² = R³ = CH₃, R⁴ = C₂H₅, Monactin

(20c), R¹ = R³ = CH₃, R² = R⁴ = C₂H₅, Dinactin

(20d), R¹ = CH₃, R² = R³ = R⁴ = C₂H₅, Trinactin

eine – allerdings große – Reihe von Actinomyceten beschrieben wurden. Andere Mikroorganismen bilden andere ionophore Antibiotica. Die Biophysiker haben in ihnen hervorragende Modelle für das Studium des Ionentransports erkannt; ob ihnen in der Produzentenzelle dieselbe Funktion zukommt, ist noch offen.

Wir konnten am Beispiel des Nonactin-Produzenten *Streptomyces griseus* zeigen, daß der Produzent aus der Fähigkeit, derartige Stoffe zu bilden, einen Nutzen ziehen kann. Mutanten ohne diese Fähigkeit sind zum Beispiel bei ungünstigen Natrium-Kalium-Verhältnissen im Medium gegenüber dem Makrotetrolid-Produzenten benachteiligt^[51]. Auch bei *Streptococcus faecalis* gibt es Mutanten mit gestörtem Alkalimetallionen-Transport^[52]; der Wildstamm bildet ebenfalls ein ionophores Antibioticum^[53]. Ob es in den Mutanten fehlt, ist noch nicht bekannt. Diese ionophoren Antibiotica weisen alle Merkmale sekundärer Metabolite auf (Spezifität der Bildung, Variation) und haben zugleich bereits eine Funktion im Ionenhaushalt der Produzenten; die antibiotische Aktivität ist mehr oder weniger zufällig damit verknüpft.

Für einige wenige Beispiele ist belegt^[53], daß mindestens ein Teil der Information für die Synthese von Antibiotica auf Plasmiden liegen kann und nicht im Chromosom liegen muß. Seitdem wird diskutiert, wie groß der Anteil, der auf Plasmiden liegt, an der Gesamtheit der Information über den Sekundärstoffwechsel ist. Falls dieser Anteil bedeutend sein sollte, wären auch auf der genetischen Ebene die Randbedingungen für das Spiel Mutation/Selektion im Bereich des Sekundärstoffwechsels im Vergleich mit den übrigen Bereichen erleichtert. Plasmide können leichter verdoppelt werden als Chromosomenstücke, und sie können auch außerhalb der Kette Vorfahre–Nachkommen weitergegeben werden. Die Übertragbarkeit der Plasmide auf andere Organismen könnte wesentlich zur Beschleunigung der Entwicklung und zur Verbreitung einmal gewonnener Möglichkeiten beigetragen haben.

Die hier vorgetragene Hypothese über die Funktion des Sekundärstoffwechsels als „Spiel“-Raum der phylogenetischen Entwicklung weist ihm eine viel größere Bedeutung zu als frühere Hypothesen. Der Sekundärstoffwechsel ist dann das Feld, auf dem zukünftige Entwicklungen sich abzeichnen.

Wenn der Sekundärstoffwechsel tatsächlich der Spielraum der biochemischen Evolution ist, dann entstehen auch laufend neue Metabolite einschließlich neuer Antibiotica, und zwar mehr, als bei aller Anstrengung von uns beschrieben werden können. Die eingangs aufgestellte These II, daß wir erst einen kleinen Teil der natürlichen Antibiotica kennen, wäre dann dahingehend zu erweitern, daß wir nie mehr als einen kleinen Teil erfassen werden.

These V: Biotechnologische Prozesse bergen auch Gefahren

Bei der Fülle der neuen Möglichkeiten, die die Biotechnologie im allgemeinen und die Antibiotica-Forschung im speziellen bietet, wird leicht übersehen, daß nicht alle Möglichkeiten gutzuheißen sind. Auf einige Gefahren möchte ich hier speziell hinweisen:

1. Bei biotechnologischen Prozessen fallen stark verunreinigte Abwässer an. Um sie soweit zu reinigen, daß sie den üblichen biologischen Kläranlagen zugeführt werden kön-

nen, ist mehr als eine bloße Neutralisation oder Verdünnung erforderlich; sehr wahrscheinlich sind spezielle biologische Reinigungsverfahren vorzuschalten. Die direkte Ableitung in den Vorfluter oder ins Meer sollte unbedingt unterbleiben.

2. Mikroorganismen können Allergien auslösen. Dies gilt besonders für Sporen von Pilzen, aber auch für bestimmte Inhaltsstoffe von Mikroorganismen. Bei der Einführung neuer biotechnologischer Prozesse oder der Umstellung bestehender Prozesse dürfen diese Fragen nicht übersehen werden.

3. Mikroorganismen bilden meist sekundäre Metabolite, nicht nur die gewünschten, sondern häufig auch unerwünschte und noch unerkannte. Die heute angewendeten biotechnologischen Prozesse sind in den meisten Fällen noch nicht ausreichend auf das Auftreten unerwünschter sekundärer Metabolite untersucht. Jeder Stamm von *Penicillium* oder *Aspergillus* ist bis zum Nachweis des Gegenteils als verdächtig auf Bildung der extrem stark cancerogenen Aflatoxine oder anderer Mykotoxine zu betrachten^[53]. Die meisten in der Biotechnologie verwendeten Substrate sind ideale Nährböden für diese Pilze und häufig auch massiv damit verunreinigt. Die Kontrolle auf Mykotoxine muß auch auf die Substrate anderer Prozesse ausgedehnt werden, wenn die Möglichkeit besteht, daß eines der Mykotoxine bis zum Menschen gelangt^[55].

4. In die biotechnologischen Prozesse werden in zunehmendem Maße Stämme übernommen, deren Pathogenität für Menschen, Tiere oder Pflanzen und deren Schädlichkeit für Holz, Textilien oder Nahrungsmittel wenig untersucht sind. Wenn beispielsweise die Kultur bestimmter, bisher nur regional üblicher Speisepilze weltweit eingeführt werden soll, so ist darauf zu achten, ob sie in der neuen Umwelt möglicherweise phytopathogen oder holzzerstörend wirken. Wenn sich physiologische Eigenschaften von Mikroorganismen durch Mutation ändern, z. B. das Temperaturopimum, so ist die Pathogenität erneut zu prüfen. Änderungen im Wirkungsspektrum schwach pathogener Stämme sind ebenso in betracht zu ziehen wie die Pathogenität für eine bestimmte Spezies.

Die hier genannten Gefahren sind in ihren Auswirkungen zwar weniger spektakulär als die Gefahren, die aus dem „Genetical Engineering“^[54] erwachsen könnten; die Wahrscheinlichkeit für ihren Eintritt ist aber wesentlich größer. Es liegt an uns, diesen Gefahren durch Umsicht und Achtsamkeit zu begegnen und mitzuhelfen, daß unerwünschte Entwicklungen unterbleiben.

Die hier vorgetragenen Arbeiten wurden vorwiegend im Rahmen des Sonderforschungsbereichs 76 „Chemische Biologie der Mikroorganismen“ ausgeführt. Ich möchte der Deutschen Forschungsgemeinschaft auch an dieser Stelle für die großzügige Hilfe danken. Mein Dank gilt auch den vielen Mitarbeitern und Partnern, ohne deren Hilfe alle Belege zu dieser Arbeit fehlen würden.

Eingegangen am 25. Oktober 1976 [A 178]

- [1] J. Berdy, Adv. Appl. Microbiol. 18, 309 (1974).
- [2] Diese Erfahrung deckt sich mit den Daten von H. B. Woodruff, L. E. MacDaniel in S. T. Cowan, E. Rowatt: The Strategy of Chemotherapy. 8th Symp. Soc. Gen. Microbiol., Cambridge 1958.
- [3] Beschreibung der Testordnung: R. Hütter, W. Keller-Schierlein, J. Nüesch, H. Zähner, Arch. Mikrobiol. 51, 1 (1965).
- [4] Beschreibung der Testanordnung: H. Kneifel, W. A. König, G. Wolf, H. Zähner, J. Antibiot. 27, 20 (1974).
- [5] R. Hütter, W. Keller-Schierlein, F. Knüsel, V. Prelog, G. C. Rodgers, P. Suter, G. Vogel, W. Voser, H. Zähner, Helv. Chim. Acta 50, 1533 (1967).

- [6] J. D. Dunitz, D. M. Hawley, D. Mikloš, D. N. J. White, *Yu. Berlin, R. Marušić, V. Prelog*, *Helv. Chim. Acta* 54, 1709 (1971).
- [7] W. Pache, H. Zähner, *Arch. Microbiol.* 67, 156 (1969).
- [8] M. Brufani, W. Keller-Schierlein, W. Löffler, I. Mansperger, H. Zähner, *Helv. Chim. Acta* 51, 1293 (1968); Erstbeschreibung von Venturicidin B, Venturicidin A: A. Rhodes, K. H. Fantes, B. Boothroyd, M. P. McGonagle, R. Grosse, *Nature* 192, 952 (1961); P. Langcake, R. B. Beechey, C. R. Lindop, S. G. A. Wickins, D. P. Lepworth, D. E. Wiggins, J. M. Broughal, *Trans. Biochem. Soc.* 2, 202 (1974).
- [9] M. Brufani, S. Cerrini, W. Fedeli, C. Musu, L. Cellai, W. Keller-Schierlein, *Experientia* 27, 604 (1971); M. Brufani, L. Cellai, C. Musu, W. Keller-Schierlein, *Helv. Chim. Acta* 55, 2329 (1972).
- [10] K. Isono, K. Asahi, S. Suzuki, *J. Am. Chem. Soc.* 91, 7490 (1969).
- [11] U. Dähn, H. Hagenmaier, H. Höhne, W. A. König, G. Wolf, H. Zähner, *Arch. Microbiol.* 107, 143 (1976).
- [12] D. L. Preuss, J. P. Scannell, *Adv. Appl. Microbiol.* 17, 19 (1974).
- [13] F. Buzetti, E. Gäumann, R. Hüttner, W. Keller-Schierlein, L. Neipp, V. Prelog, H. Zähner, *Pharm. Acta Helv.* 38, 871 (1963); K. Schröder, A. Zeeck, *Tetrahedron Lett.* 1973, 4995.
- [14] H. Wolf, Tübingen, persönliche Mitteilung.
- [15] B. Kunze, K. Schabacher, H. Zähner, A. Zeeck, *Arch. Microbiol.* 86, 147 (1972); K. Schabacher, A. Zeeck, *Tetrahedron Lett.* 1973, 2691.
- [16] J. Gyimesi, I. Ott, I. Koszka, K. Magyar, *J. Antibiot.* 24, 278 (1971); Gy. Horváth, J. Gyimesi, Zs. Méhesfalvi-Vajna, *Tetrahedron Lett.* 1973, 3643.
- [17] B. Kunze, Dissertation, Universität Tübingen 1975.
- [18] W. Keller-Schierlein, R. Muntwyler, W. Pache, H. Zähner, *Helv. Chim. Acta* 52, 127 (1969); R. Muntwyler, J. Widmer, W. Keller-Schierlein, *ibid.* 53, 1544 (1970); R. Muntwyler, W. Keller-Schierlein, *ibid.* 55, 2071 (1972); M. Brufani, S. Cerrini, W. Fedeli, F. Mazza, R. Muntwyler, *ibid.* 55, 2094 (1972); A. Gerhard, R. Muntwyler, W. Keller-Schierlein, *ibid.* 58, 1323 (1975).
- [19] P. W. Schindler, H. Zähner, *Arch. Microbiol.* 82, 66 (1972); *Eur. J. Biochem.* 39, 591 (1973); P. W. Schindler, *ibid.* 51, 579 (1975); P. W. Schindler, M. C. Scrutton, *ibid.* 55, 543 (1975).
- [20] H. Drautz, W. Keller-Schierlein, H. Zähner, *Arch. Microbiol.* 106, 175 (1975); *Abstr. Fifth Int. Fermentation Symp.*, Berlin 1976, S. 233. Strukturaufklärung: W. Keller-Schierlein, M. Dobler (Zürich), unveröffentlichte Daten.
- [21] A. I. Gurevich, M. G. Karapetyan, M. N. Kolosov, V. N. Omelchenko, V. V. Onoprienko, G. I. Petrenko, S. A. Popravko, *Tetrahedron Lett.* 1972, 1751; A. I. Gurevich, T. N. Deshko, G. A. Kogan, M. N. Kolosov, V. V. Kudryashova, V. V. Onoprienko, *ibid.* 1974, 2801; A. I. Gurevich, M. G. Karapetyan, M. N. Kolosov, V. N. Omelchenko, V. V. Onoprienko, G. I. Petrenko, I. I. Chervin, G. I. Yakovlev, *Sov. J. Bioorg. Chem.* 1, 62 (1975); A. I. Gurevich, M. G. Karapetyan, M. N. Kolosov, V. V. Onoprienko, G. I. Petrenko, I. I. Chervin, G. I. Yakovlev, *ibid.* 1, 67 (1975).
- [22] T. J. Franklin in B. Spencer: *Industrial Aspects of Biochemistry*. Federation Eur. Biochem. Soc. Vol. 30, Part II, Amsterdam 1974; *Crit. Rev. Microbiol.* 30, 253 (1973), hat erstmals eindringlich auf diese Fragen aufmerksam gemacht und die bisherigen Daten zusammengetragen.
- [23] R. J. Wargel, G. A. Shadur, F. C. Neuhaus, *J. Bacteriol.* 105, 1028 (1971).
- [24] F. M. Kahan, J. S. Kahan, P. J. Cassidy, H. Kropf, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 235, 364 (1974).
- [25] M. Kenig, E. P. Abraham, *J. Gen. Microbiol.* 94, 37 (1976); M. Kenig, E. Vandamme, E. P. Abraham, *ibid.* 94, 46 (1976).
- [26] H. Bickel, E. Gäumann, W. Keller-Schierlein, V. Prelog, E. Vischer, A. Wettstein, H. Zähner, *Experientia* 16, 129 (1960); H. Zähner, R. Hüttner, E. Bachmann, *Arch. Microbiol.* 36, 325 (1960).
- [27] J. Nüesch, F. Knüsel in D. Gottlieb, P. D. Shaw: *Antibiotics*. Vol. 1, Springer, Berlin 1967.
- [28] F. Knüsel, W. Zimmermann in J. W. Corcoran, F. E. Hahn: *Antibiotics*. Vol. 3, Springer, Berlin 1975.
- [29] K. Hantke, V. Braun, *FEBS Lett.* 49, 301 (1975). Abb. 1 ist mit noch unveröffentlichten Daten von V. Braun und K. Hantke ergänzt.
- [30] Ferrichrome; Erstbeschreibung: J. B. Neilands, *J. Am. Chem. Soc.* 74, 4846 (1952); Strukturaufklärung: S. J. Rogers, A. J. Warren, J. B. Neilands, *Nature* 200, 167 (1963); Synthese: B. Maurer, W. Keller-Schierlein, *Helv. Chim. Acta* 52, 388 (1969); W. Keller-Schierlein, B. Maurer, *ibid.* 52, 603 (1969).
- [31] Albomycin, Erstbeschreibung: G. F. Gause, M. G. Brazhnikova, *Nov. Med. (Moskau)* 23, 35 (1951); die Identität mit Grisein [D. M. Reynolds, A. Schatz, S. A. Waksman, *Proc. Soc. Exp. Biol.* 64, 50 (1947)] wurde durch E. O. Stapley, R. E. Ormond, *Science* 125, 587 (1957), sichergestellt; Strukturaufklärung: O. Mikes, J. Turková, F. Šorm, *Collect. Czech. Chem. Commun.* 28, 1747 (1963); J. Turková, O. Mikes, F. Šorm, *ibid.* 30, 118 (1965); 31, 2444 (1966). An der Richtigkeit der Formel zweifeln H. Maehr, R. G. Pitcher, *J. Antibiot.* 24, 830 (1971).
- [32] Ferrioxamin B, Erstbeschreibung: H. Bickel, R. Bosshardt, E. Gäumann, P. Reusser, E. Vischer, W. Voser, A. Wettstein, H. Zähner, *Helv. Chim. Acta* 43, 2118 (1960); Strukturaufklärung: H. Bickel, G. E. Hall, W. Keller-Schierlein, V. Prelog, E. Vischer, A. Wettstein, *ibid.* 43, 2129 (1960); Synthese: V. Prelog, A. Walser, *ibid.* 45, 631 (1962).
- [33] Ferrimycin A₁, Erstbeschreibung: H. Bickel, E. Gäumann, G. Nussberger, P. Reusser, E. Vischer, W. Voser, A. Wettstein, H. Zähner, *Helv. Chim. Acta* 43, 2105 (1960); Strukturaufklärung: H. Bickel, P. Mertens, V. Prelog, J. Seibl, A. Walser, *Tetrahedron Suppl.* 8, Part I, 171 (1966).
- [34] H. Wolf, D. Dengler (Tübingen), noch unveröffentlicht.
- [35] J. B. Neilands: *Microbial Iron Metabolism*. Academic Press, New York 1974; Zusammenfassung: H. Diekmann, E. Krezdon, *Arch. Microbiol.* 106, 191 (1975); R. E. Morre, Th. Emery, *Biochemistry* 15, 2719 (1976); Th. Emery, *ibid.* 15, 2723 (1976) (als Beispiele neuer Originalarbeiten).
- [36] G. Winkelmann, H. Zähner, *Arch. Microbiol.* 88, 49 (1973); G. Winkelmann, A. Barnekow, D. Igner, H. Zähner, *ibid.* 92, 285 (1973); G. Winkelmann, *ibid.* 98, 39 (1974); C. Wiebe, G. Winkelmann, *J. Bacteriol.* 123, 837 (1975).
- [37] A. Barnekow, G. Winkelmann, H. Zähner, *Arch. Microbiol.* 100, 329 (1974); A. Barnekow, G. Winkelmann, *Exp. Hematol. (Copenhagen)* 4, 70 (1976).
- [38] H. Diddens, H. Zähner, E. Kraas, W. Göhring, G. Jung, *Eur. J. Biochem.* 66, 11 (1976).
- [39] J. W. Payne, Ch. Giltvarg, *Adv. Enzymol.* 35, 187 (1971); J. W. Payne, *Front. Biol.* 37, 283 (1975); *Adv. Microb. Physiol.* 13, 55 (1976).
- [40] E. Bayer, K. H. Hugel, K. Häggle, H. Hagenmaier, S. Jessipow, W. A. König, H. Zähner, *Helv. Chim. Acta* 55, 224 (1972); Y. Kondo, T. Shomura, Y. Ogawa, T. Tsuruoka, H. Watanabe, K. Totsukawa, T. Suzuki, C. Moriyama, J. Yoshida, S. Inouje, T. Niida, *Sci. Rep. Meiji Seika Kaisha* 13, 34 (1973); Y. Ogawa, T. Tsuruoka, S. Inouje, T. Niida, *ibid.* 13, 42 (1973); Y. Ogawa, T. Yoshida, S. Inouje, T. Niida, *ibid.* 13, 49 (1973); 13, 54 (1973); N. Ezaki, S. Amano, K. Fukushima, S. Inouje, T. Niida, *ibid.* 13, 60 (1973).
- [41] D. L. Preuss, J. P. Scannell, H. A. Ax, M. Kellett, F. Weiss, T. C. Demny, A. Stempel, *J. Antibiot.* 26, 261 (1973).
- [42] P. Schindler (Tübingen), noch unveröffentlicht.
- [43] Streptozotocin, ein gegen Bakterien wirkendes Streptomyces-Antibioticum, wird heute in vielen Laboratorien für die Auslösung eines experimentellen Diabetes am Tier verwendet. Erstbeschreibung: J. J. Vavra, C. DeBoer, A. Dietz, L. J. Hanka, W. T. Sokolski, *Antibiot. Ann.* 1959/60, 230; R. R. Herr, T. E. Eble, M. E. Bergy, H. K. Jahnke, *ibid.* 1959/60, 236; Struktur und Synthese: R. R. Herr, H. K. Jahnke, A. D. Argoudelis, *J. Am. Chem. Soc.* 89, 4808 (1967).
- [44] T. Niida, K. Hamamoto, T. Shomura, *J. Antibiot.* 20, 62 (1967); N. Ishida, K. Kumagai, T. Niida, T. Tsuruoka, H. Yumoto, *ibid.* 20, 66 (1967); S. Inouye, T. Tsuruoka, T. Niida, *ibid.* 19, 288 (1966); T. Niwa, S. Inouye, T. Tsuruoka, Y. Koaze, T. Niida, *Agric. Biol. Chem.* 34, 966 (1970).
- [45] Zusammenfassung über dieses Transferasesystem siehe W. Boos, *Ann. Rev. Biochem.* 43, 123 (1974).
- [46] Das Problem des Sekundärstoffwechsels wird bei Inhaltsstoffen von Pflanzen viel intensiver diskutiert als bei mikrobiellen Metaboliten; siehe z. B. M. Luckner: *Der Sekundärstoffwechsel in Pflanze und Tier*. G. Fischer Verlag, Jena 1969.
- [47] M. Eigen, R. Winkler: *Das Spiel. Naturgesetze steuern den Zufall*. Piper Verlag, München 1975.
- [48] A. Stoll, A. Brack, J. Renz, *Schweiz. Z. Pathol. Bakteriol.* 14, 225 (1951); A. Stoll, J. Renz, A. Brack, *Helv. Chim. Acta* 34, 862 (1951); W. Keller-Schierlein, V. Prelog, *ibid.* 44, 1981 (1961).
- [49] Nach unveröffentlichten Daten von H. Anke (Tübingen) zeigt Desferri-triacylifusigen eine vergleichbare antibiotische Wirkung wie Nocardamin. Triacylifusigen wurde von H. Diekmann, H. Zähner, *Eur. J. Biochem.* 3, 213 (1967), durch Acetylierung von Desferri-fusigen erstmals gewonnen und kürzlich von H. Diekmann, E. Krezdon, *Arch. Microbiol.* 106, 191 (1975); R. E. Moore, Th. Emery, *Biochemistry* 15, 1719 (1976), als Naturprodukt beschrieben.
- [50] Zusammenfassung: W. Keller-Schierlein, H. Gerlach, *Fortschr. Chem. Org. Naturst.* 26, 161 (1968); Synthese des Nonactins siehe H. Gerlach, K. Oertle, A. Thalmann, S. Servi, *Helv. Chim. Acta* 58, 2036 (1975).
- [51] R. Kanne, U. Klein-Vogler, H. Zähner, *Arch. Mikrobiol.* 93, 205 (1973); R. Kanne, H. Zähner, *Z. Naturforsch.* 31c, 115 (1967).
- [52] F. M. Harold, J. R. Baarda, *Biochemistry* 6, 3107 (1967); F. M. Harold, R. L. Harold, J. R. Baarda, A. Abrams, *ibid.* 6, 1777 (1967).
- [53] H. Schrempf, H. Bujard, D. A. Hopwood, W. Goebel, *J. Bacteriol.* 121, 416 (1975).
- [54] P. Berg, D. Baltimore, H. W. Boyer, S. N. Cohen, R. W. Davis, D. S. Hogness, D. Nathans, R. Roblin, J. D. Watson, S. Weissmann, N. D. Zinder, *Science* 185, 332 (1974).
- [55] Übersicht über Pilztoxine: A. Ciegler, S. Kadis, S. J. Ajl: *Microbial Toxins*. Vol. 4. Academic Press, New York 1971.