

Eine neue Rolle für Polyketide

Jürgen Rohr*

Polyketide, die von verschiedenen Organismen, z.B. Bakterien, Pilzen oder Pflanzen, produziert werden, bilden unter den in der Wirkstoffforschung nach wie vor unverzichtbaren Naturstoffen^[1] die vielleicht interessanteste Untergruppe, weil diese die größte Diversität chemischer Strukturen und biologischer Wirkungen aufweist. Zwischen 5000 und 10000 Polyketide sind bekannt, und etwa 1% (!) von ihnen zeigen biologische Aktivität, was etwa fünfmal so häufig wie üblich ist. Unter den pharmazeutisch wichtigen Polyketiden findet man Antibiotika, Krebstherapeutika, Immunsuppressiva sowie Cholesterinspiegel-senkende und antifungische Wirkstoffe. Es werden Verkaufszahlen von über 15 Milliarden Dollar erreicht. Daher verbindet die pharmazeutische Industrie einen enormen Wert mit Polyketid-Naturstoffen, und immer mehr neue Polyketide werden über die mittlerweile fortgeschrittene Technik der kombinatorischen Biosynthese hergestellt.^[2] Man kann dabei neue Tendenzen beobachten, z.B. Versuche, modulare Polyketid- und nichtribosomale Peptidbiosynthesen miteinander zu verknüpfen^[3] oder wichtige Desoxyzucker an verschiedenste Polyketid-Aglycone anzuknüpfen.^[4]

Vor kurzem wurde von Small et al. in den Rocky-Mountains-Laboratorien der National Institutes of Health in Hamilton, Montana, USA, eine zuvor vollkommen unbekannte Rolle von Polyketiden gefunden: Die Rolle eines Virulenz-Toxins bei der Tropenkrankheit Buruli-Ulkus. Bei dieser durch das Bakterium *Mycobacterium ulcerans* ausgelösten Krankheit^[5] treten chronisch-nekrotische Geschwüre auf, für die es bislang keine medizinische Behandlung gibt. Die Entdeckung der Polyketid-Toxine könnte dazu beitragen, dass ein Target für zukünftige Therapiekonzepte gegen diese bösartige, hauptsächlich in Australien und Afrika auftretende Hautkrankheit gefunden werden kann. Auch gibt es Hinweise darauf, dass dieses Polyketid-Toxin lediglich das erste einer ganzen Familie von Virulenz-Faktoren ist, die mit anderen, noch gefährlicheren durch Mycobakterien ausgelösten Krankheiten, wie Lepra und Tuberkulose, zusammenhängen. Zunächst allerdings wurde ein Toxin lediglich im Zusammenhang mit dem Buruli-Ulkus vorgeschlagen,^[6] weil diese

Krankheit insofern einmalig unter den mycobakteriell verursachten Infektionen ist, als akute Immunantworten, wie Rötung oder Entzündungen, nur in geringem Maße auftreten.

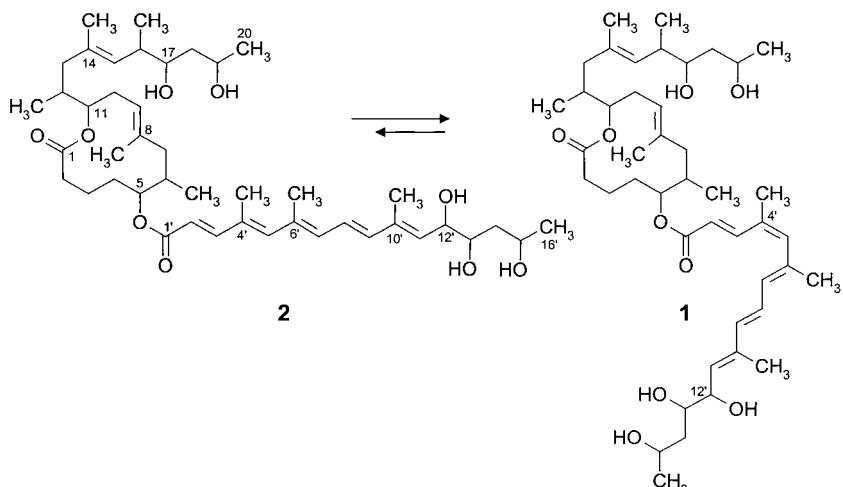
Obwohl schon früher über ein Toxin im Kultüberstand von *Mycobacterium ulcerans* berichtet wurde, das einen cytopathischen Effekt auf Mausfibroblasten ausübt,^[6] und sogar immunsuppressive Eigenschaften des Filtrats von *M. ulcerans* detektiert wurden,^[7] schien es unmöglich zu sein, die Substanz, die für diesen Effekt verantwortlich ist, zu isolieren und zu charakterisieren. Lediglich eine teilweise Reinigung gelang,^[8] und Hinweise auf eine lipophile Substanz wurden veröffentlicht, nachdem eine Methode zur Isolierung des Toxins aus intakten Bakterien beschrieben worden war.^[9] Jetzt aber gelang es Small et al., zwei Polyketide zu isolieren und als das giftige Prinzip zu identifizieren. Es handelt sich dabei um ungewöhnliche, zwölfgliedrige Makrolide mit je zwei längeren Seitenketten, genannt Mycolacton A **1** und B **2**. Durch Injektionen der gereinigten Makrolide in die Rückenhaut von Meerschweinchen konnte gezeigt werden, dass die Mycolactone direkt für die Nekrosen verantwortlich sind, die mit dem Buruli-Ulkus assoziiert werden.^[5, 10]

Die chemischen Strukturen und physikochemischen Daten der Mycolactone A **1** und B **2** wurden kürzlich veröffentlicht (Schema 1).^[11] Die vorgeschlagenen Strukturen lassen erkennen, dass diese Substanzen aus zwei Typ-1-Polyketidketten aufgebaut werden: einem Decaketid (aufgebaut aus fünf Acetat- und fünf Propionateinheiten), von denen die letzten fünf Bausteine sich zu dem zwölfgliedrigen Lacton schließen, und einem Octaketid (aufgebaut aus fünf Acetat- und drei Propionateinheiten). Dieses bildet die zweite Seitenkette, eine Hexadecanekette, die durch eine Esterbindung mit der Lactoneinheit verknüpft ist (Schema 2).

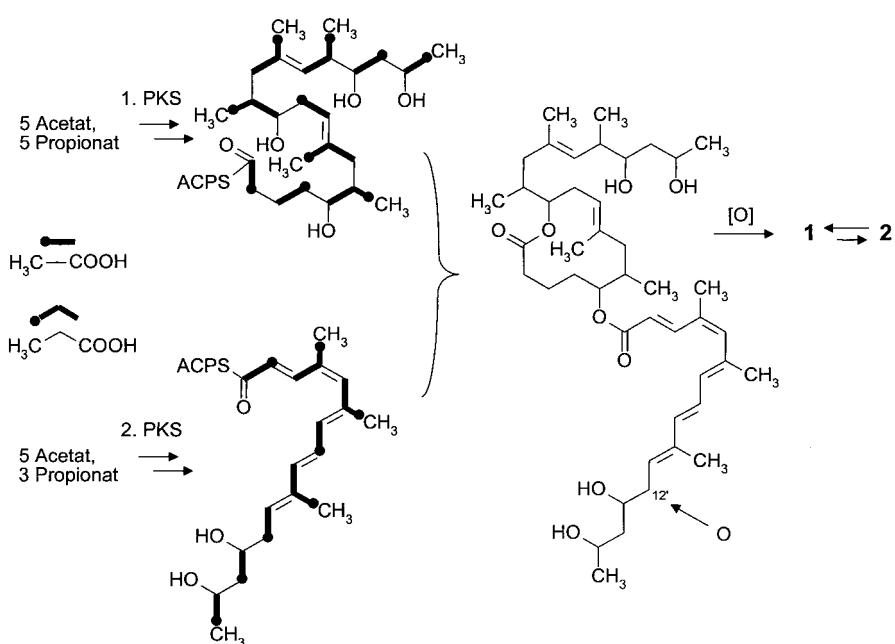
Es wird vermutet, dass sich die Strukturen von Mycolacton A und B nur bezüglich ihrer Esterseitenkette unterscheiden; in **1** ist die 4',5'-Doppelbindung Z- und in **2** E-konfiguriert. Beide Strukturen scheinen miteinander im Gleichgewicht zu stehen, da eine HPLC-Trennung und erneute Analyse durch HPLC und NMR immer wieder die gleiche Mischung ergibt (**1:2** = 3:2). Dies erschwert offensichtlicherweise die Strukturaufklärung,^[11] hätte aber möglicherweise durch Lichtausschluss vermieden werden können, da die beobachtete E/Z-Isomerisierung vermutlich durch Licht induziert wird. Obwohl die in den Formeln **1** und **2** dargestellten Strukturen eine E-konfigurierte 8,9-Doppelbindung haben, wird seitens der Autoren eine Z-Konfiguration sowohl im Text als auch im abgeleiteten IUPAC-Namen

[*] Prof. Dr. J. Rohr

Medical University of South Carolina
Department of Pharmaceutical Sciences
171 Ashley Avenue
Charleston, SC 29425-2303 (USA)
Fax: (+1) 843-792-0759
E-mail: rohrj@musc.edu



Schema 1. Die vorgeschlagenen Strukturen der beiden anscheinend im Gleichgewicht befindlichen Mycolactone A **1** und B **2**.



Schema 2. Plausible Biosynthesehypothese für die Bildung der Mycolactone, die sich aus der Struktur ableiten lässt. Involviert sind zwei verschiedene Typ-1-Polyketidsynthasen (PKS) und nur ein Post-PKS-Enzym, eine Monooxygenase.

konstatiert.^[11] Die nicht beobachtbare NOE-Korrelation zwischen 22-CH₃ und 9-H stützt ebenfalls eher eine *E*- als eine *Z*-Konfiguration dieser Doppelbindung. Die nicht bekannte Konfiguration der zehn Chiralitätszentren und diese fragwürdig konfigurierte 8,9-Doppelbindung bedeuten zwar eine unvollständige Strukturaufklärung, aber es gibt keinen Zweifel hinsichtlich der Makrolid-Strukturen und des Polyketidursprungs.

Dass ungewöhnlicherweise zwei unabhängige Typ-1-Polyketidsynthasen (PKS) für deren Aufbau benötigt werden, ergibt sich daraus, dass beide PKS-abgeleiteten Strukturhälften sich nicht nur in Kettenlängen und Bausteinsequenz unterscheiden (AAPPPAPPA für die Decaketid- und AAAPAPPA für die Octaketidkette; A = Acetat, P = Propionat), sondern auch bezüglich des Reduktionsgrades. Von modularen Typ-1-PKS^[12] ist bekannt, dass diese verschieden

weit reichende Reduktionszyklen nach erfolgter Kettenverlängerung katalysieren können; entweder es erfolgt gar keine Reduktion, nur Ketoreduktion (KR), KR mit anschließender Dehydratisierung (DH) oder vollständige Reduktion zu einer gesättigten CH₂-Gruppe durch KR, DH und ER (Enoyl-Reduktion). Hier kann man entweder KR, oder KR-DH oder KR-DH-ER-Reduktionszyklen „beobachten“, und zwar in unterschiedlicher Sequenz für die Octaketid- und Decaketid-abgeleiteten Molekülhälften der Mycolactone. Typisch für die meisten Polyketide sind Post-PKS-Modifikationen, z.B. Glycosyltransferschritte oder die Einführung von zusätzlichen Sauerstoffatomen durch Oxygenasen. Hier scheinen kaum Post-PKS-Enzyme involviert zu sein, lediglich das Sauerstoffatom an C-12' verlangt von seiner Position im Molekül her das Eingreifen einer Oxygenase (Schema 2). Gensequenzanalysen ergaben eine enge Verwandtschaft zwischen *M. ulcerans*, *M. tuberculosis* und *M. marinum*.^[13a] Zwar sind die Gene, die die Biosynthese der Mycolactone kodieren, noch nicht gefunden oder zumindest nicht beschrieben worden, aber es wurden Typ-1-PKS-Gene im Zuge des *M.-tuberculosis*-Genomprojektes gefunden,^[13b] und daher wird spekuliert, ob Polyketid-Toxine auch eine Rolle bei Gewebezerstörungen oder Immunmodulationen spielen, die für Lepra bzw. Tuberkulose charakteristisch sind.^[5]

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Mycolactone interessante, neue Strukturen aufweisen, für deren Aufbau ein Zusammenwirken zweier Polyketidsynthasen nowendig ist. Noch

wichtiger ist jedoch, dass die Mycolactone die ersten Makrolide aus *Mycobacterium* darstellen, die als Virulenzdeterminanten eines bakteriellen menschlichen Pathogens identifiziert worden sind, was eine völlig neue Rolle für biologisch aktive Polyketide bedeutet.

- [1] a) T. Henkel, R. M. Brunne, H. Müller, F. Reichel, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 688–691; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 643–647; b) G. M. Cragg, D. J. Newman, K. M. Snader, *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 62–60.
 - [2] a) J. K. Borchardt, *Modern Drug Discovery* **1999**, 22–29; b) R. McDaniel, A. Thamchaipenet, C. Gustafsson, H. Fu, M. Betlach, M. Betlach, G. Ashley, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 1846–1851; c) F. A. Marsden, B. Wilkinson, J. Cortés, N. J. Dunster, J. Staunton, P. F. Leadlay, *Science* **1998**, *279*, 199–202; d) J. R. Jacobsen, C. R. Hutchinson, D. E. Cane, C. Khosla, *Science* **1997**, *277*, 367–369;

- e) C. L. Hershberger, *Curr. Opin. Biotechnol.* **1996**, 7, 560–562; f) P. F. Leadlay, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, 1, 162–168; g) R. W. Wallace, *DDT* **1997**, 12, 505–506; h) J. Rohr, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 963–967; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 881–885.
- [3] a) J. Kennedy, C. R. Hutchinson, *Nature Biotechnol.* **1999**, 17, 538–539; b) D. E. Cane, C. T. Walsh, C. Khosla, *Science* **1998**, 282, 63–68; c) R. S. Gokhale, S. Y. Tsuji, D. E. Cane, C. Khosla, *Science* **1999**, 284, 482–485; d) P. J. Belshaw, C. T. Walsh, T. Stachelhaus, *Science* **1999**, 284, 486–489.
- [4] a) L. Zhao, J. Ahlert, Y. Xue, J. S. Thorson, D. H. Sherman, H.-w. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 9881–9882, zit. Lit.; b) S. A. Borisova, L. Zhao, D. H. Sherman, H.-w. Liu, *Org. Lett.* **1999**, 1, 133–136; c) S. E. Wohlert, G. Blanco, F. Lombó, E. Fernández, A. F. Brana, S. Reich, G. Udvarnoki, C. Méndez, H. Decker, J. Frevert, J. A. Salas, J. Rohr, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 10596–10601; d) L. S. Zhao, D. H. Sherman, H. W. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 10256–10257; e) H. Decker, S. Haag, G. Udvarnoki, J. Rohr, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 1214–1217; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 1107–1110; f) J. M. Weber, J. O. Leung, S. J. Swanson, K. B. Idler, J. B. McAlpine, *Science* **1991**, 252, 114–117.
- [5] K. M. George, D. Chatterjee, G. Gunawardana, D. Welty, J. Hayman, R. Lee, P. L. C. Small, *Science* **1999**, 283, 854–857.
- [6] a) J. K. Read, C. M. Heggie, W. M. Meyers, D. H. Connor, *Infect. Immun.* **1974**, 9, 1114–1122; b) D. H. Connor, H. F. Lunn, *Arch. Pathol.* **1966**, 81, 183–199; c) D. H. Connor, H. F. Lunn, *Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.* **1965**, 33, 698–709.
- [7] M. Pimsler, T. A. Sponsler, W. M. Meyers, *J. Infect. Dis.* **1988**, 157, 577–580.
- [8] T. Tonjum, D. B. Welty, E. Jantzen, P. L. Small, *J. Clin. Microbiol.* **1998**, 36, 918–925.
- [9] K. M. George, L. P. Barker, D. M. Welty, P. L. C. Small, *Infect. Immun.* **1998**, 66, 587–593.
- [10] R. E. Krieg, W. T. Hockmeyer, D. H. Connor, *Arch. Dermatol.* **1974**, 110, 783–788.
- [11] G. Gunawardana, D. Chatterjee, K. M. George, P. Brennan, D. Whittern, P. L. C. Small, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 6092–6093.
- [12] a) J. Cortes, S. F. Haydock, G. A. Roberts, D. B. Bevitt, P. F. Leadlay, *Nature* **1990**, 348, 176–178; b) S. Donadio, M. J. Staver, J. B. McAlpine, S. J. Swanson, L. Katz, *Science* **1991**, 252, 675–679; c) P. F. Leadlay, J. Staunton, J. F. Aparicio, D. J. Bevitt, P. Caffrey, J. Cortes, A. Marsden, G. A. Roberts, *Biochem. Soc. Trans.* **1993**, 21, 218–222; e) J. Staunton, *Angew. Chem.* **1991**, 103, 1331–1335; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1302–1306.
- [13] a) A. A. Pahlevan, D. J. M. Wright, C. Andrews, K. M. George, P. L. C. Small, B. M. Foxwell, *J. Immunol.* **1999**, 163, 3928–3935; b) S. T. Cole, R. Brosch, J. Parkhill, T. Garnier, C. Churcher, D. Harris, S. V. Gordon, K. Eiglmeier, S. Gas, C. E. Barry III, F. Tekaiwa, K. Badcock, D. Basham, D. Brown, T. Chillingworth, R. Connor, R. Davies, K. Devlin, T. Feltwell, S. Gentles, N. Hamlin, S. Holroyd, T. Hornsby, K. Jagels, A. Krogh, J. McLean, S. Moule, L. Murphy, K. Oliver, J. Osborne, M. A. Quail, M.-A. Rajandream, J. Rogers, S. Rutter, K. Seeger, J. Skelton, R. Squares, S. Squares, J. E. Sulston, S. Taylor, S. Whitehead, B. G. Barrell, *Nature* **1998**, 393, 537–544.

D-Serin als Modulator im Nervensystem

Ferdinand Hucho*

D-Aminosäuren sind in der Natur selten. Der Genetische Code hat nur für die 20 „Standard“-L-Aminosäuren Codewörter, bestehend aus einem Triplet von Nucleotiden. In der Zellwand Gram-negativer Bakterien, in zahlreichen Peptid-Antibiotika und anderen Naturstoffen gibt es D-Aminosäuren jedoch durchaus. Anders als die L-Isomere werden sie nicht mit der Nahrung aufgenommen oder durch eine stereospezifische Biosynthese produziert. Sie entstehen durch Racemisierung aus den L-Formen, enzymatisch katalysiert durch Racemase.

Wider Erwarten fanden zwei japanische Arbeitsgruppen vor einiger Zeit auch bei Säugern, z.B. im Hirn von Ratten und vom Menschen, D-Aminosäuren, das D-Serin und das D-Aspartat.^[1, 2] Im Laufe der Jahre sammelten sich genügend Hinweise für die Annahme, dass D-Serin im Sägerhirn nicht ein z.B. mit der Nahrung aufgenommenes Artefakt ist, sondern ein wichtiger Botenstoff.^[3] Den bisherigen Höhepunkt in der Beweiskette lieferte kürzlich die Arbeitsgruppe

von Snyder von der Johns Hopkins University in Baltimore.^[4] Ihr gelang es erstmals, eine Serin-Racemase aus Sägerhirn zu klonieren. Sie stellt ein neuartiges Enzym dar, vielleicht das erste Mitglied einer neuen Enzymfamilie, ohne Homologie zu den bisher bekannten Aminosäureracemases aus niederen Organismen (bis auf eine kurze Konsensussequenz in der Pyridoxalphosphat-Bindungsregion). Das Enzym ist 339 Aminosäuren lang, hat ein berechnetes Molekulargewicht von 36.3 kDa und arbeitet mit Pyridoxalphosphat als Cofaktor (Abbildung 1).

Verschiedene Aminosäuren, z.B. L-Glutamat, Glycin und γ -Aminobuttersäure (GABA), dienen im Nervensystem als Neurotransmitter der Übertragung von Nervenimpulsen von Zelle zu Zelle. D-Serin scheint kein derartiger Transmitter zu sein, sondern eher ein „Neuromodulator“, ein essentieller Regulator an Synapsen, die für die Impulsübertragung Glutamat als erregenden Transmitter nutzen. Er wird nicht wie ein „normaler“ Transmitter von Nervenzellen ausgeschüttet, sondern von Astrocyten, also von Gliazellen. In diesen lokalisierten Snyder und Mitarbeiter auch die Serin-Racemase.

Um die Bedeutung dieser Entdeckung einordnen zu können, muss man sich die Neurochemie der glutamatergen Synapsen vor Augen führen: L-Glutamat ist der wichtigste erregende Transmitter im Zentralnervensystem (ZNS) von

[*] Prof. Dr. F. Hucho
Institut für Chemie
Arbeitsgruppe Neurochemie
Freie Universität Berlin
Thielallee 63, 14195 Berlin (Deutschland)
Fax: (+49)30-8385-3753
E-mail: hucho@chemie.fu-berlin.de