

ANGEWANDTE CHEMIE

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

HERAUSGEgeben von der GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

81. JAHRGANG 1969

HEFT 7

SEITE 233–268

Zur Biosynthese von Flechtenstoffen, Produkten einer symbiotischen Lebensgemeinschaft

Von K. Mosbach^[*]

Flechten setzen sich aus Algen und Pilzen zusammen, die miteinander in Symbiose leben. Sie bilden charakteristische, oft polycyclische Flechtenstoffe, welche nur in wenigen Fällen auch in anderen Organismen nachgewiesen werden konnten. Die biosynthetischen Fähigkeiten der Flechten setzen sich nicht additiv aus denen ihrer Bestandteile zusammen. Die in diesem Aufsatz besprochenen Erkenntnisse über die Biosynthese der Flechtenstoffe wurden meistens an ¹⁴C-markierten Verbindungen gewonnen.

1. Aufbau der Flechten

Die Flechten, von denen man bis heute etwa 15000 Arten kennt, sind symbiotische Lebensformen, die sich aus Pilz- (Mycobiont) und Algenteil (Phycobiont) zusammensetzen. Unter Symbiose wird im allgemeinen eine enge, langwährende Assoziation ungleicher Organismen verstanden. Bei den Flechten treffen wir auf die am weitesten fortgeschrittene Form der Symbiose, auch „Mutualismus“ genannt, bei der es als erwiesen gilt, daß beide Organismen von der Assoziation profitieren.

Eine solche Flechtenassoziation unterscheidet sich in vielen Merkmalen scharf von den alleinstehenden Partnern. 1. Während sowohl Pilz als auch Alge feuchtigkeitsbedürftig sind (Hygrophilie), treten sie in der Flechtengemeinschaft oft auch auf trockenen Standorten auf (Xerophilie). Algen sind Lichtpflanzen (Photophyten), Pilze Schattenformen (Skioxyphen); als Flechten vermögen sie an sowohl extrem hellen als auch dunklen Standorten zu gedeihen. 2. Durch die Flechtenassoziation entsteht eine neue morphologische Einheit, die hauptsächlich durch eine Differenzierung des Pilzteiles bei der Vereinigung mit dem Algenteil bewirkt wird. Es bilden sich Verdunstungsschutzeinrichtungen sowie Stützgewebe und beiden Partnern fremde Vermehrungsorgane. 3. Schließlich wird in der Flechtenassoziation eine Vielzahl von „Flechten-

stoffen“ gebildet, deren aromatische Vertreter, von wenigen Ausnahmen abgesehen, nur in Flechten vorkommen.

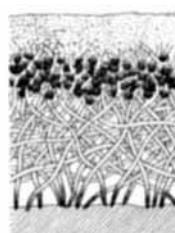
Die Morphologie der Flechten zeichnet sich durch große Vielfältigkeit aus. Drei wesentliche Formtypen können unterschieden werden. Krustenflechten sind wenig differenziert. Ihr Thallus wird nur einige Millimeter hoch; sie wachsen im engen Kontakt mit der Unterlage. Blattflechten sind höher organisierte Formen mit laubblattähnlicher Thallusstruktur. Strauchflechten zeigen hochdifferenzierte Formen mit Lägerstieln, kleinen Zweigen und Blättern; sie nehmen die bei Blütenpflanzen erfolgte Differenzierung in Wurzel, Sproß und Blatt vorweg. Einige Bartflechten (*Usnea*) werden bis zu fünf Meter lang (Abb. 1.)^[1].

Die Pilzkomponente bestimmt insbesondere das Aussehen der Flechte. Die überwiegende Zahl der Flechtenpilze gehört zur Klasse der Schlauchpilze (*Ascomycetes*). Vorwiegend in den Tropen finden sich einige Flechten, in denen Ständerpilze (*Basidiomycetes*) als Flechtenbildner auftreten. Schließlich kommen in einigen Fällen imperfekte Pilze (*Deuteromycetes*) als Mycobionten vor. Die Flechtenpilze haben sich im Verlauf der Evolution so weitgehend an die Flechtenassoziation angepaßt, daß sie ohne Algenpartner freilebend nicht lange existieren können. Demgegenüber treten die Flechtenalgen auch freilebend auf. Zur Bildung von Flechten eignen sich Algen von 12 Gattungen der Klasse der Blaualgen (*Cyanophyceae*) und 21 der Klasse der Grünalgen (*Chlorophyceae*). Von den Blaualgen kommen am häufigsten Arten der Gattung *Nostoc* vor, von den Grünalgen die einzelligen *Trebouxia*, die etwa 80% der Flechten Skandinaviens bilden^[2]. Eine Flechtenalge kann mit verschiedenen Flechtenpilzen unter Bildung verschiedener Flechtenarten in Symbiose treten. Zumeist enthalten die Flechtenthalli nur eine Art von Algen, in wenigen Fällen aber auch zwei wie die alpine Sackflechte *Solorina crocea*, bei der sich unter der peripheren

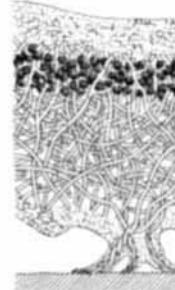
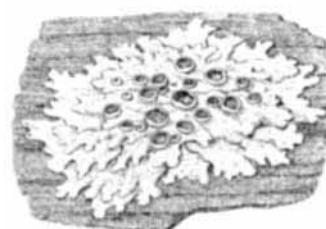
[*] Doz. Dr. K. Mosbach
Biokemiska Institutionen, Lunds Universitet
S-22007 Lund (Schweden)

[1] V. Ahmadjian, Sci. American Heft 2, 124 (1963).

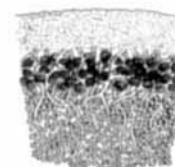
[2] R. Santesson, Symbolae bot. upsal. 12, 1 (1952).



a



b



c

A685.1

Abb. 1. Links: Die drei wichtigsten Formtypen der Flechten, Krust- und Blatt- und Strauchflechten. Rechts: a) und b) Längsschnitte durch den Flechtenthallus, c) Querschnitt durch einen Stengel. Das Flechten-gewebe setzt sich zusammen aus Algen (dunkel) und Pilzhyph'en (nach V. Ahmadjian [1] mit Genehmigung des Copyright-Inhabers wiedergegeben).

Grünalgen schicht eine separate stickstofffixierende Blaualgenzone befindet. Eine solche Dreiergemeinschaft wird Trisymbiose benannt. Andererseits können Flechtenpilze sich mit verschiedenen Algen assoziieren [3]. So befindet sich z. B. bei den morphologisch nicht unterscheidbaren Flechtenarten *Lobaria pulmonaria* und *L. retigera* im ersten Fall der Flechtenpilz in Symbiose mit einer Grünalge, im zweiten mit einer blaugrünen Alge [4].

Beide Komponenten der Flechte lassen sich verhältnismäßig einfach voneinander trennen und kultivieren. Während sich die Morphologie des isolierten Flechtenpilzes zumeist sehr von der im natürlichen Flechtenverband unterscheidet, verändern die isolierten Flechtenalgen ihr Aussehen nicht im gleichen Maß. Das Ziel der Flechtenbiologen, isolierte Symbionten in einer „Flechtesynthese“ wieder zu vereinigen, ist in letzter Zeit seiner Lösung nähergerückt. Man hat beide Symbionten unter speziellen Bedingungen zusammen kultiviert, wobei die Hyphen des Pilzes die Algen unter Bildung eines Pseudoparenchymas umschlossen (Abb. 2 [5a]). Ahmadjian [6] ist es kürzlich gelungen, auf diese Weise differenzierte, flechtenähnliche Strukturen zu erhalten. Diese Untersuchungen sollten tiefere Einblicke in den Ablauf der in der Natur nur schwer zu beobachtenden „Lichenisierung“ erlauben. Außerdem sollte es möglich sein, durch Kombinieren

von Mycobionten und Phycobionten neue künstliche Flechtenarten zu schaffen.

Die Verbindung zwischen beiden Symbionten ist sehr eng, wobei die Pilzhyphen die Algenzellen zumeist umschließen

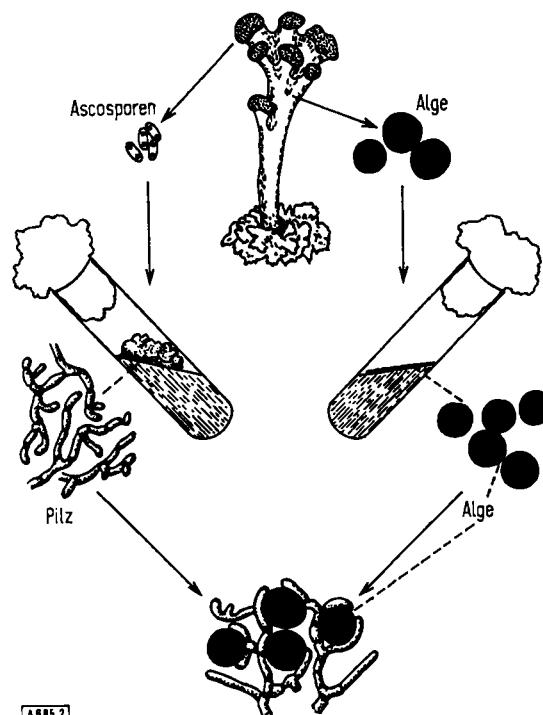


Abb. 2. Isolierung beider Symbionten aus einer Flechte sowie ihre Rekombination (schematisch) (nach M. E. Hale [5a] mit Genehmigung des Copyright-Inhabers wiedergegeben).

oder auch mit besonderen Saugorganen (Haustorien) in sie eindringen, wodurch ein schneller Nahrungsaustausch gewährleistet wird (Abb. 3) [7]. (Zur Biologie der Flechten s. [5, 7–10].)

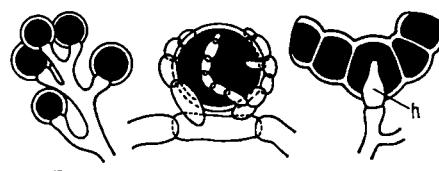


Abb. 3. Mehrere Formen der Kopplung zwischen Flechtenalge und Flechtenpilz (h = Haustorien) (nach G. Follmann [7] mit Genehmigung des Copyright-Inhabers wiedergegeben).

Das Studium der Physiologie der Flechten kann von zwei Seiten begonnen werden: Man kann die Physiologie der einzelnen Symbionten oder die des intakten Flechtenthallus untersuchen. Auf die vielen physiologischen Studien an den Komponenten der Flechten soll hier nicht eingegangen werden, ist doch die Physiologie der Flechte nicht einfach die Summe der Eigenschaften beider Symbionten. Vielmehr muß der Flechtenorganismus als eine neue funktionelle Einheit betrachtet werden.

[7] G. Follmann: Flechten (Lichenes). Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1960, S. 6.

[8] V. Ahmadjian: The Lichen Symbiosis. Blaisdell Publishing Co., London 1967.

[9] R. Schaede, neu bearbeitet von F. H. Meyer: Die pflanzlichen Symbiosen. G. Fischer-Verlag, Stuttgart 1962.

[10] V. Ahmadjian, Annu. Rev. Microbiol. 19, 1 (1965).

[3] E. G. Roms, Ukrains'kyj botaničnyj Ž. 20, 57 (1963).

[4] Y. Asahina, Bot. Mag. (Tokyo) 51, 759 (1937).

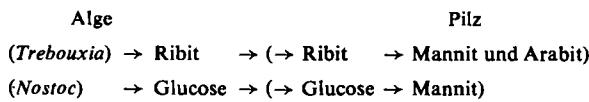
[5] a) M. E. Hale: Lichen Handbook. Smithsonian Institution, Washington 1961, S. 52; b) The Biology of Lichens. Edward Arnold Publishers, Ltd., London 1967.

[6] V. Ahmadjian, Science (Washington) 151, 199 (1966).

2. Stoffwechsel der Flechten

Zur Kohlenstoffversorgung der Flechte dient in erster Linie die Photosynthese im Algenpartner. D. C. Smith gelang es, die Identität der Kohlenstoffverbindungen festzustellen, die am Transport des fixierten Kohlenstoffes vom Algen- zum Pilzteil beteiligt sind^[11-13]. Aus dem Thallus von *Peltigera polydactyla*, einer Flechte mit einer blaugrünen *Nostoc*-Alge, wurden gleichförmige Stücke herausgeschnitten und auf ein $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ enthaltendes Medium gebracht. In gewissen Zeitabständen wurden einzelne Thallusstücke aufgenommen und die Algenschicht von der nur aus Pilzhyphen bestehenden Markschicht getrennt. Wie zu erwarten, trat die Aktivität zunächst in der Algenschicht auf. Von dort wanderte die gebildete $[^{14}\text{C}]$ -Glucose in das Pilzgerüst ab. Nach 45 min Inkubation im Licht lagen 60% des fixierten Kohlenstoffes im Pilzteil vor, und zwar als Mannit^[11, 12].

In der Flechte *Xanthoria aureola* hingegen, die als Phycobiont die Grünalge *Trebouxia* enthält, trat als erstes markiertes Produkt Ribit auf, das anschließend im Mycobionten in Mannit und Arabit umgewandelt wurde^[13]. Eine vergleichende Studie mit vier *Lobaria*-Flechten, die jeweils *Trebouxia*- oder *Nostoc*-Algen enthielten, führte zur Aufstellung der beiden folgenden prinzipiellen Überführungsreaktionen^[14]:



Demnach scheint der an der Symbiose teilnehmende Algenpartner Einfluß auf die Art der Kohlenhydratüberführung zu haben. Fox und Mosbach^[15, 16] haben mit $^{14}\text{CO}_2$ auf einem anderen Weg das Auftreten von ^{14}C -Aktivitäten im Tridepsid Gyrophorsäure [s. (15) in Abb. 8] nach Inkubation der Flechte *Umbilicaria papulosa* im Licht bestimmt. Schon innerhalb einer Minute wurde das Depsid markiert. Da wenigstens die monocyclischen Einheiten dieser Verbindungen im Pilzteil synthetisiert werden, muß innerhalb dieses kurzen Zeitraumes die gesamte Sequenz ablaufen: Photosynthese in der Alge – Transport der Zuckeralkohole zum Pilz – Biosynthese des Depsids aus Acetat- und Malonat-Einheiten, die aus dem Zuckeralkohol entstanden.

Flechten aus arktischen und alpinen Regionen zeigen auch noch bei tiefen Temperaturen eine hohe photosynthetische Aktivität. So erreicht die Kohlenstofffixierung von *Letharia vulpina* bei -5°C und Eisbildung in der Markschicht noch die Hälfte des bei optimalen Bedingungen gemessenen Wertes, und einige

- [11] E. A. Drew u. D. C. Smith, Lichenologist 3, 197 (1966).
- [12] E. A. Drew u. D. C. Smith, New Phytologist 66, 379 (1967).
- [13] D. H. S. Richardson u. D. C. Smith, Lichenologist 3, 202 (1966).
- [14] D. H. S. Richardson, D. C. Smith u. D. H. Lewis, Nature (London) 214, 879 (1967).
- [15] K. Mosbach u. C. H. Fox, IUPAC, X. Internationaler Kongress, Abstracts 152 (1966).
- [16] C. H. Fox u. K. Mosbach, Acta chem. scand. 21, 2327 (1967).

Flechten photosynthetisieren sogar bei -24°C ^[17, 18]. Die Kohlenstoffversorgung durch Photosynthese dürfte in der natürlichen Umgebung der Flechten durch saprophytische Ernährung ergänzt werden, hier also durch Absorption organischer Stoffe durch Thallus oder Rhizine (Haftfasern).

Zur Versorgung mit Stickstoff werden sowohl organische als auch anorganische Stickstoffverbindungen vom Flechtenthallus – somit im wesentlichen vom Pilzpartner – absorbiert. Bei Flechten mit blaugrünen Algen können diese außerdem, wie Henriksson^[19] und Scott^[20] mit ^{15}N zeigten, Luftstickstoff fixieren. Sicherlich dürften die Flechten selten genügend Stickstoffverbindungen bekommen. Deshalb sind das langsame Wachstum und die langsame Proteinsynthese der Flechten als eine Anpassung im Lauf der Evolution an die gegebenen Verhältnisse aufzufassen.

Über den Vitaminhaushalt der intakten Flechten ist wenig bekannt, doch kennt man einige für den isolierten Mycobionten essentielle Vitamine wie Thiamin und Biotin. Andererseits scheiden Phycobionten in Reinkultur große Mengen von Vitaminen ins Medium aus^[21]. Aus diesen an den einzelnen Symbionten erhaltenen Daten kann geschlossen werden, daß die intakte Flechte wenigstens zu einem Teil durch den Phycobionten mit Vitaminen versorgt wird.

Die Zufuhr von Mineralsalzen geschieht durch Absorption der im Regenwasser gelösten Salze durch den Flechtenthallus. Bemerkenswert ist der oft hohe Gehalt von Mineralien im Thallus; so enthält z. B. die Flechte *Diploschistes scruposus* 10% Zink in der Trockenmasse^[22]. Auch radioaktiver Niederschlag wurde in hohen Konzentrationen in lebenden Flechten gefunden^[23], die sich durch eine ausgeprägte Resistenz gegenüber γ -Strahlen auszeichnen^[24]. Der Wassergehalt schließlich wird durch den Mycobionten bestimmt, der auch den Algenpartner vor Austrocknung und zu starker Sonnenbestrahlung schützt.

3. Biosynthese der Flechtenstoffe

3.1. Allgemeines

Als Flechtenstoffe (englisch: lichen substances) werden die in Flechten vorkommenden organischen, zumeist niedermolekularen Verbindungen bezeichnet. Es handelt sich um sekundäre Metaboliten, denen man wie den vielen entsprechenden Metaboliten aus Pilzen bisher nur in wenigen Fällen eine direkte biologische

- [17] O. L. Lange u. H. Metzner, Naturwissenschaften 8, 191 (1965).
- [18] O. L. Lange, Planta 64, 1 (1965).
- [19] E. Henriksson, Physiol. Plantarum (Copenhagen) 10, 943 (1957).
- [20] G. D. Scott, New Phytologist 55, 111 (1956).
- [21] T. W. Bednar u. O. Holm-Hansen, Plant Cell Physiol. (Tokyo) 5, 297 (1964).
- [22] J. Lambinon, A. Maquinay u. J. L. Ramaud, Bull. Jard. Etat Bruxelles 34, 273 (1964).
- [23] E. Gorham, Canad. J. Botany 37, 327 (1959).
- [24] I. M. Brodo, Bryologist 67, 76 (1964).

Rolle zuschreiben konnte. Derzeit sind die Strukturen von etwa 120 Flechtenstoffen bekannt. Einen wichtigen Beitrag hierzu erbrachte die erste Synthese eines Depsids durch *Emil Fischer*^[25]. Hervorzuheben sind weiter die Arbeiten von *Robertson* und *Barton*^[26, 27] am Dibenzofuranderivat Usninsäure [s. (20) in Abb. 11] sowie die Untersuchungen der Arbeitskreise um *Asahina*, *Sheshadri* und *Shibata*. Als wertvoll, insbesondere bei der Aufklärung von Depsidstrukturen, hat sich die vergleichende Massenspektrometrie mit positiven und negativen Ionen erwiesen, wobei jeweils Säure- und Alkoholteil starke Massenspitzen ergeben^[28]. (Zusammenfassende Darstellungen der Flechtenchemie s. [28–34], Bibliographie s. [35].)

Ist eine gesonderte Behandlung der Biosynthese von Flechtenstoffen überhaupt berechtigt? Dafür spricht, daß es sich besonders bei den wichtigen aromatischen Flechtenstoffen – nämlich Depsiden, Depsidonen, Depsonen, Dibenzofuran – und Pulvinsäurederivaten (s. Abb. 6 und 15) – um Verbindungen handelt, die fast alle nur in Flechten gefunden worden sind. Ferner sollte untersucht werden, ob und wie weit beide Symbionten bei der Biosynthese solcher Strukturen mitwirken. Es ist charakteristisch für Flechtenaromaten, daß sie im Gegensatz zu den z. B. in Schimmelpilzen vorkommenden monocyclischen aromatischen Metaboliten, di- oder tricyclisch sind. Sie bilden zu meist einen hohen Prozentsatz des Trockengewichtes der Flechten, z. B. beim Depsid Lecanorsäure bis zu 20%^[36]. In Schimmelpilzen entstehen die Aromaten meistens erst unter den üblichen Kulturbedingungen, also bei hohem Glucosegehalt des Mediums, in entsprechender Menge. Schließlich sollte eine Aufklärung der Bildungswege der Flechtenstoffe auch die Chometaxonomie der Flechten auf eine festere Grundlage stellen.

Bis vor kurzem blieb es bei theoretischen Erörterungen über die Biosynthese der Flechtenstoffe, da man annahm, daß diese langsam wachsenden Organismen für direkte Experimente ungeeignet seien. *Mosbach* konnte dagegen zeigen^[37], daß die Flechte *Umbilicaria*

- [25] *E. Fischer u. O. Fischer*, Ber. dtsch. chem. Ges. 46, 1138 (1913).
- [26] *F. H. Curd u. A. Robertson*, J. chem. Soc. (London) 1937, 894.
- [27] *D. H. R. Barton, A. M. Deflorin u. O. E. Edwards*, J. chem. Soc. (London) 1965, 530.
- [28] *S. Huneck*, Progr. Phytochemistry, 1968, 223.
- [29] *S. Neelakantan*: Advancing Frontiers in the Chemistry of Natural Products. Hindustani Publishing Corp., Delhi 1965, S. 35.
- [30] *S. Shibata* in *F. Linskens u. M. V. Tracey*: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. Springer-Verlag, Heidelberg 1963, Bd. 6, S. 155.
- [31] *Y. Asahina u. S. Shibata*: Chemistry of Lichen Substances, Japan. Society for the Promotion of Science Ueno, Tokyo 1954.
- [32] *J. Santesson*, Lic.-Dissertation, Universität Uppsala (Schweden), 1967.
- [33] *C. A. Wachtmeister*, Svensk kem. Tidskr. 70, 117 (1958).
- [34] *B. Åkermark*, Svensk kem. Tidskr. 79, 3 (1967).
- [35] *W. L. Culberson*, Recent Literature on Lichens. Viermal jährlich erscheinende Zusammenfassung sämtlicher publizierter Arbeiten auf dem Flechengebiet, in "The Bryologist".
- [36] *T. R. Seshadri u. S. S. Subramanian*, J. sci. ind. Res. (New Delhi) 8b, 170 (1949).
- [37] *K. Mosbach*, Acta chem. scand. 18, 329 (1964).

papulosa in einer Schüttelkultur 4% des als Vorläufer zugesetzten [¹⁴C]-Diäthylmalonats in das Tridepsid Gryophorsäure (15) einbaute. Diese hohe Inkorporation ist mit der bei Schimmelpilzen auftretenden zu vergleichen.

Zur detaillierten Besprechung der Biosynthese von Flechtenstoffen soll die Einteilung von *Shibata* in etwas abgeänderter Form zugrundegelegt werden^[38] (Tabelle 1).

Tabelle 1. Einteilung der Flechtenstoffe mit Hinweisen auf die Abschnitte, in denen sie behandelt werden.

Kohlenhydrate (3.2.)	Polyole, Polyolglykoside, Polysaccharide (3.2.)	
Acetat-Polymalonatgruppe (3.3.)	höhere Fettsäuren und Lactone (3.3.1.), aromatische Polyketide (3.3.2.)	Depside (3.3.2.1.), Depsidone und Depsonen (3.3.2.2.), Bibenzochinone (3.3.2.3.), Dibenzofurane (3.3.2.4.), Chromone, Xanthone, Anthrachinone und Chromanone (3.3.2.5.)
Mevalonsäuregruppe (3.4.)	Di- und Triterpene, Steroide, Carotinoide (3.4.)	
Shikimisäuregruppe (3.5.)	Diketopiperazine, Terphenylchinone, Pulvinsäurederivate (3.5.)	
Sonstige		Dimethylsulfon, Cholinschwefelsäure

3.2. Kohlenhydrate

Flechten zeichnen sich durch einen hohen Polyolgehalt aus. Die bisher gefundenen Verbindungen sind *meso*-Erythrit, *D*-Arabit, *D*-Ribit, *D*-Mannit, *D*-Volemit ($C_7H_{16}O_7$) sowie Siphulit ($C_7H_{16}O_6$), der erste in der Natur gefundene Desoxy-zuckeralkohol^[39]. Nach Untersuchungen von *Lindberg* et al.^[40] an 60 Flechtenarten scheint sich das Vorkommen der einzelnen Zuckeralkohole je nach Flechtenordnung zu unterscheiden. *D*-Mannit trat allerdings in allen untersuchten Arten auf. Erythrit kommt als Ester der Orsellinsäure (Montagnetol) sowie der Lecanorsäure (Erythrin) in einigen Flechten vor.

Polyol-glykoside sind erst kürzlich in Flechten gefunden worden. Von den drei bekannten Glykosiden sei hier Umbilicin (2-O- β -D-Galaktosyl-D-arabitol) erwähnt^[41].

Die Zellwände der Hyphen bestehen zum größten Teil aus Lichenin oder Isolichenin, seltener Pustulan, Glucan und anderen noch nicht identifizierten Poly-

- [38] *S. Shibata*, Beitr. Biolog. Physiol. Naturstoffen 1965, 451.
- [39] *B. Lindberg u. H. Meier*, Acta chem. scand. 16, 543 (1962).
- [40] *B. Lindberg, A. Misiorny u. C. A. Wachtmeister*, Acta chem. scand. 7, 591 (1953).
- [41] *B. Lindberg u. B. Wickberg*, Acta chem. scand. 16, 2240 (1962).

sacchariden. Einige davon treten nur in Flechten auf. Das in mehreren Flechten vorkommende Lichenin, ein lineares Polymeres aus β -D-Glucopyranoseeinheiten, steht mit einem Mol.-Gew. von 20000–40000 zwischen Stärke und Cellulose^[42]. Biosynthetische Untersuchungen an Flechtenkohlenhydraten liegen nicht vor, doch dürften ihre Bildungswege den anderweitig bekannten Mustern folgen. Besondere Bedeutung scheinen indes die allgemein vorkommenden Zuckeralkohole zu haben, die als Zwischenprodukte beim Kohlenstofftransport vom Algen- zum Pilzpartner auftreten.

3.3. Acetat-Polymalonatgruppe

Die bei weitem größte Anzahl von Flechtenstoffen lässt sich in die Acetat-Polymalonatgruppe einordnen, d. h. bei ihrer Biosynthese kondensieren ein „Starter“-Acetyl-SCoA^[4] und n Malonyl-SCoA-Einheiten. Verbindungen dieser Art werden auch Polyketide genannt, eine Bezeichnung, die auf *Collie*^[43] zurückgeht, der solche Strukturen als polymeres Keten auffaßte. Im weitesten Sinn gehören beispielsweise die gesättigten Fettsäuren als reduzierte Polyketide in diese Gruppe, doch sollte der Begriff besser auf die aromatischen Verbindungen beschränkt bleiben.

3.3.1. Höhere Fettsäuren und Lactone

Die in Flechten auftretenden höheren Fettsäuren und ihre Lactone lassen sich in drei Gruppen unterteilen: γ -Lactonsäurederivate [sieben Vertreter, Beispiel: Lichesterinsäure (1)], dibasische Fettsäuren [Rocellinsäure (2)] sowie tribasische Fettsäuren [Caperat- und Rangiformsäure (4)]. Daneben treten noch zwei Tetrahydroxyfettsäuren auf^[44] (Beispiel: Ventosinsäure, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8(\text{CHOH})_2\text{CH}_2(\text{CHOH})_2(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$). Alle aliphatischen Flechtensäuren sind optisch aktiv, die absolute Konfiguration ist vorläufig nur von Rangiform- und Rocellinsäure bekannt^[45]. Biosynthetische Untersuchungen mit den hier angeführten Flechtenstoffen liegen noch nicht vor.

Gatenbeck und Mählén gelang kürzlich eine enzymatische Synthese der in Pilzen vorkommenden verwandten Verbindungen Decyclcitronensäure (3a) und Spiculisporinsäure durch Kondensation von Lauryl-SCoA mit Oxalacetat bzw. α -Ketoglutarat^[46,47]. Analog dürften die Flechtenäuren durch Aldolkondensation langkettiger Alkanoyl-SCoA-Einheiten mit Ketosäuren gebildet werden, die ihrerseits durch Kondensation eines „Starter“-Acetyl-SCoA mit n Molekülen Malonyl-SCoA entstehen. Die in Abbildung 4 angeführten Flechtenstoffe dürften demnach

durch Kondensation von Myristoyl- oder Palmitoyl-SCoA mit Oxalessigsäure bzw. Brenztraubensäure gebildet werden. Bei den γ -Lactonsäuren bieten sich als mögliche Kondensationseinheiten die entsprechenden β -Hydroxyfettsäuren an. In der Zwischenzeit liegt eine biosynthetische Arbeit vor, nach der die in Flechten vorkommende Protolichesterinsäure durch Kondensation von Palmitin- mit Brenztraubensäure gebildet wird [47a].

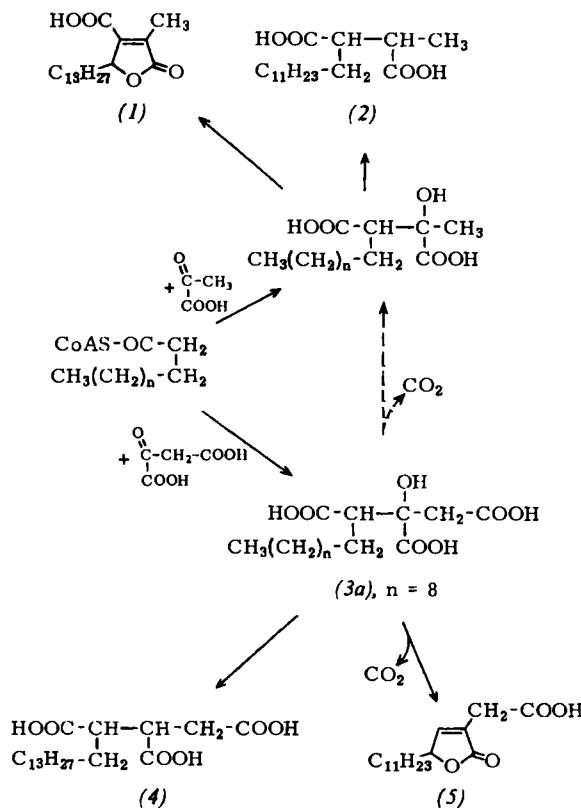


Abb. 4. Vorgeschlagene Biosynthese von Lichesterinsäure (1), Rocellinsäure (2), Rangiformsäure (4), Akarenoinsäure (5) und Decylcitronensäure (3a) (Pilz).

3.3.2. Aromatische Polyketide

Unter den ungefähr 100 strukturaufgeklärten aromatischen Flechtenstoffen, mehrere unter ihnen mit antibiotischen Eigenschaften, sind 90 aromatische Polyketide. In den meisten von ihnen sind Orsellinsäure und ihre Homologen der wichtigste Baustein. Orsellinsäure (6) tritt in Schimmelpilzen als freie Verbindung auf^[48, 49], in Flechten hingegen fast ausnahmslos kondensiert zu di- oder tricyclischen Verbindungen. Sie entsteht, wie Untersuchungen mit ¹⁴C und ¹⁸O gezeigt haben^[50–53], durch Kondensation einer Acetyl-SCoA – mit drei Malonyl-SCoA-Einheiten unter Bildung einer vorläufig hypothetischen 3,5,7-Trioxooctan-

[42] S. Peat, W. J. Whelan, J. R. Turvey u. K. Morgan, J. chem. Soc. (London) 1961, 623.

[*] HS-CoA = Coenzym A.

[43] J. N. Collie, J. chem. Soc. (London) 91, 1806 (1907).

[44] Y. T. Solberg, Acta chem. scand. 11, 1477 (1957).

[45] B. Åkermark, Svensk kem. Tidskr. 79, 11 (1967).
[46] S. Gatenbeck u. A. Måhlén: Proceedings of the Congress on

[47] S. Gatenbeck u. A. Mählén, Acta chem. scand. 22, 2613.

[47a] J. L. Bloomer, W. R. Eder u. W. F. Hoffman, Chem. Commun. 1968, 354.

[48] L. Reio, J. Chromatogr. (Amsterdam) 1, 338 (1958).

[49] K. Mosbach, Z. Naturforsch. 14b, 69 (1959).

[50] K. Mosbach, Acta chem. scand. 14, 457 (1960).

[51] S. Gatenbeck u. K. Mosbach, Acta chem. scand.

(1959).

[52] K. Mosbach, Naturwissenschaften 48, 525 (1961).

säure, die wahrscheinlich als Thiolester enzymgebunden vorliegt und durch innere Aldolkondensation cyclisiert. Eine alternative Aldolkondensation kann zu 3,5-Dihydroxyphenylsuccinsäure (8), Claisenkondensation zu Acetylphloroglucin (7) führen (Abb. 5).

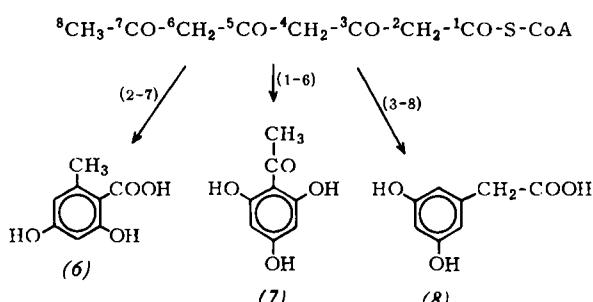
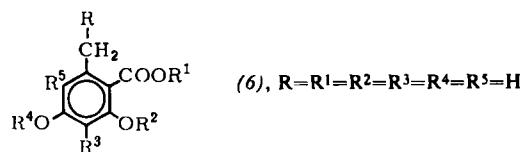


Abb. 5. Drei Möglichkeiten der Cyclisierung von 3,5,7-Trioxooctanoat zu den aromatischen Verbindungen (6)–(8). (Die Säure ist an Coenzym A oder ein Enzym gebunden.)

Die Bildung dieser Verbindungen findet mit großer Wahrscheinlichkeit analog der Fettsäurebiosynthese an einem Multienzymkomplex statt^[54], wie enzyma-

pen die eigentlichen aromatischen Flechtenstoffe. Sie sind in ihrem Vorkommen mit Ausnahme der Niduline (Depsidone in Schimmelpilzen) und der in Tanninen vorkommenden *m*-Digallussäure (Depside in Algen und höheren Pflanzen) auf die Flechten beschränkt.



Zusammenstellung der bisher in Flechtenstoffen gefundenen Substituenten der Orsellinsäure (6).

R	R ¹	R ² , R ⁴	R ³	R ⁵
C ₂ H ₅ n-C ₄ H ₉ CO-n-C ₃ H ₇ n-C ₆ H ₁₃	CH ₃ Erythrityl	CH ₃	CH ₃ CH ₂ OH CH ₂ O-COCH ₃ <i>trans</i> -CH ₂ O-CO- CH=CH-COOH CHO COOH OH Cl	
CO-n-C ₅ H ₁₁				CHO
OH				OH Cl

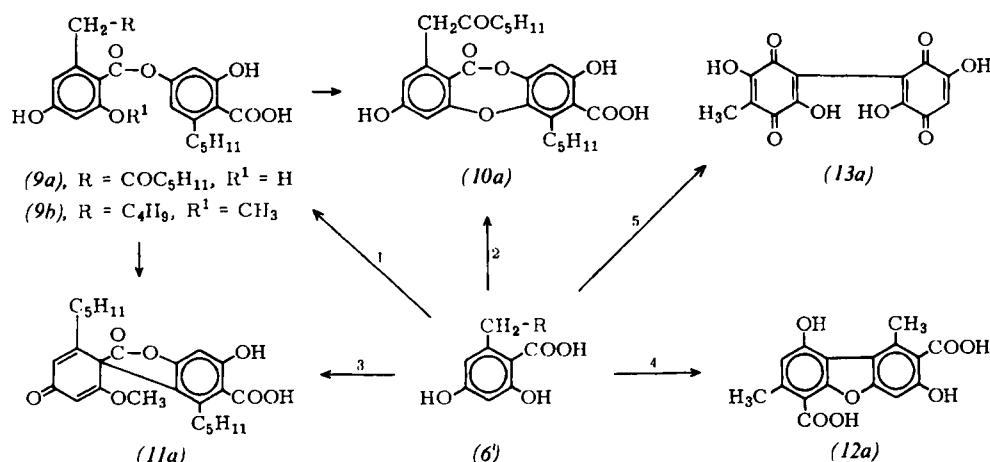


Abb. 6. Vorgeschlagene Biosynthese der fünf in Flechten vorkommenden Typen von Kondensationsprodukten der Orsellinsäure (6), und ihrer Homologen. (9a) = Olivetorsäure, (9b) = Dihydropikrolicheninsäure, (10a) = Physosäure, (11a) = Pikrolicheninsäure, (12a) = Pannarsäure, (13a) = Pyxiferin.

tische Versuche mit anderen Polyketiden, z. B. 6-Methylsalicylsäure und Alternariol zeigten^[54, 55]. Orsellinsäure und ihre Homologen als wichtigste Bausteine der Flechtenaromatene treten in Form vieler Derivate auf (Tabelle 2), wobei als allgemeine Regel gilt, daß die β-Orsellinsäuregruppe (Position 3 mit C₁-Einheiten substituiert) keine aliphatischen Seitenketten (R=H) aufweist. Diese Bausteine können fünf Typen von Kondensationsprodukten bilden (Abb. 6): 1. verestert ein Depsid (9), 2. ein cyclisches Depsid (Depsidon) (10), 3. ein Depsid mit einer zusätzlichen CC-Bindung (Depson) (11), 4. einen cyclischen Äther mit einer zusätzlichen CC-Bindung (Dibenzofuran) (12) und 5. Produkte mit einer zentralen CC-Bindung (Benzochinon) (13). Zusammen mit den Pulvinsäurederivaten (s. Abschnitt 3.5.) bilden die vier ersten Ty-

3.3.2.1. Depside

Mit 40 Vertretern bilden die Depside die größte Gruppe der aromatischen Flechtenstoffe. Je nach Art der Verknüpfung lassen sich die Depside in vier Untergruppen aufteilen (Abb. 7).

Die erste biosynthetische Arbeit an aromatischen Flechtenstoffen gelang an der gyrophorsäureproduzierenden Flechte *Umbilicaria papulosa*^[37]. In Schüttelkulturen wurde zum Flechtenthallus CH₂(¹⁴COOC₂H₅)₂ gegeben; nach dreitägiger Inkubation ließ sich eine Inkorporation von 4% der zugesetzten Radioaktivität in das Tridepsid Gyrophorsäure (15) nachweisen. Der anschließende Abbau ergab wie erwartet für alle drei Orsellinsäuremoleküle die gleiche spezifische Radioaktivität in den von den jeweiligen Malonyl-SCoA-„Startern“ stammenden Positionen, während in den von Acetyl-SCoA herzuleitenden Positionen nur eine geringe Aktivität auftrat (Abb. 8).

[54] F. Lynen u. M. Tada, Angew. Chem. 73, 513 (1961).

[55] S. Gatenbeck u. S. Hermodsson, Acta chem. scand. 19, 65 (1965).

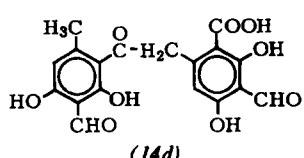
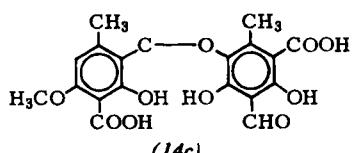
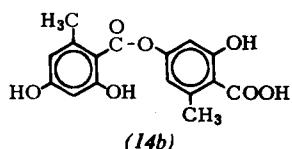
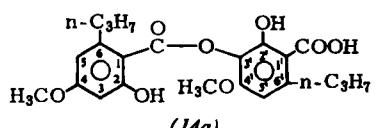


Abb. 7. Vertreter der vier Untergruppen der Depside. (14a) = Sekikasäure, (14b) = Lecanorsäure, (14c) = Thamnolsäure, (14d) = Barbatolsäure.

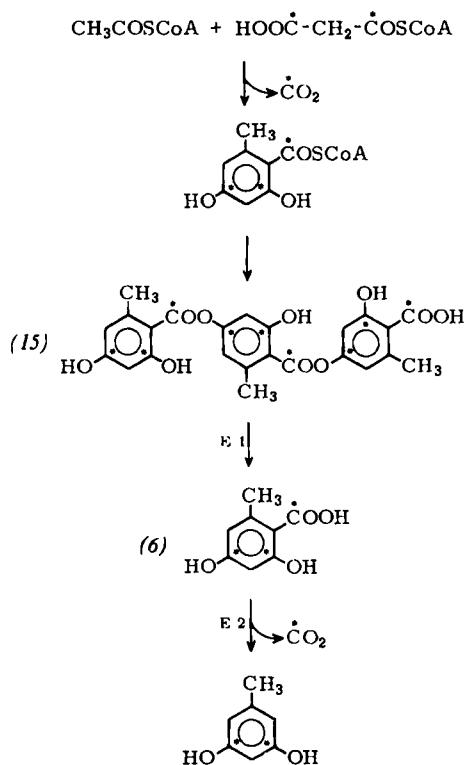


Abb. 8. Biosynthese und Abbau des Tridepsids Gyrophorsäure (15). Markierungsmuster (*) erhalten nach Inkubation mit $\text{CH}_2(\text{C}^{14}\text{OOC}_2\text{H}_5)_2$. Der Abbau wird durch Depsidase (E1) aus der Alge und Orsellinsäure-Decarboxylase (E2) aus dem Pilz bewirkt. (Die Malonsäure ist an Coenzym A oder ein Enzym gebunden.)

Die anschließenden Versuche mit dem Depsid Atranorin (14e), das zur β -Orsellinsäuregruppe gehört, mit ^{14}C -markierter Essig- und Ameisensäure ergaben einen spezifischen Einbau von Ameisensäure in die CHO- und CH_3 -Gruppen des Depsides [56] (Abb. 9).

[56] S. Shibata, M. Yamazaki u. M. Matsuo, Chem. pharmac. Bull. (Tokyo) I3, 1015 (1965).

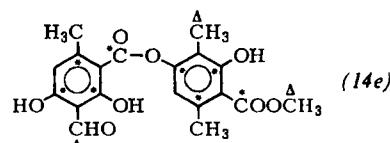


Abb. 9. Markierungsmuster im Depsid Atranorin (14e) nach Inkubation mit $\text{CH}_3\text{C}^{14}\text{OOC}$ (*) und H^{14}COOH (Δ).

Als mögliche aktivierte Form dieser aus dem C₁-Pool stammenden Gruppen bietet sich S-Adenosylmethionin an. Später wurde unter Verwendung tritierter Verbindungen gezeigt, daß die beiden monocyclischen Einheiten des Altranorins von der Flechte wieder zum Depsid vereinigt werden können [57].

Über die einzelnen Schritte dieses Vorgangs ist wenig bekannt. Es darf als gesichert angesehen werden, daß die monocyclischen Einheiten vom Pilzpartner gebildet werden. Dafür spricht einmal die Tatsache, daß sie in Schimmelpilzen vorkommen und daß zum anderen bei Flechtenpilzen, die normalerweise in der Flechtenassoziation Depside bilden, in Reinkultur nur Orsellinsäure oder Hämatommsäure (3-Formyl-orsellinsäure) vorkommen [58]. Es ist möglich, daß der Algenpartner anschließend diese wahrscheinlich als Orsellinoyl-SCoA-Ester aktivierten Verbindungen enzymatisch kondensiert. Eine Parallel zu einer solchen Arbeitsteilung zwischen beiden Symbionten finden wir beim enzymatischen Abbau von Flechtendepsiden (s. Abb. 8) [59].

Andererseits kann eine solche enzymatische Kondensation aktiver Monomerer auch im Pilzteil stattfinden. Als dritte Alternative schließlich besteht die Möglichkeit, daß sich die gesamte Depsidbiosynthese an einem Multienzymkomplex vollzieht, in welchem zwei oder drei Orsellinsäure-Synthetasekomplexe so nahe aneinander gekoppelt sind, daß eine direkte Kondensation der enzymgebundenen Monomeren möglich wird. Dies könnte u.a. erklären, warum in einigen Flechten nur Tridepside und keine Didepside auftreten.

Man darf annehmen, daß die höheren Orsellinsäure-homologen, z.B. Olivetorsäure (9a), analog der „C₁₀-Säure“ (6-Acetyl-2,4-dihydroxybenzoësäure) aus einem Acetyl-SCoA und n Malonyl-SCoA-Einheiten aufgebaut werden [60]. Eine Kondensation separater gebildeter Alkanoyl-SCoA-Einheiten mit Orsellinsäure ist weniger wahrscheinlich.

3.3.2.2. Depsidone und Depsone

Unter den Flechtenstoffen sind etwa 20 Depsidone. Experimentell kann noch nicht zwischen den folgenden alternativen Bildungswegen unterschieden werden:

1. Intramolekulare oxidative Phenolkupplung [61, 62] des Depsids durch eine „Depsid-Dehydrogenase“,
2. Entstehung ohne Teilnahme eines freien intermediären Depsids an einem separaten „Depsidonmulti-enzymkomplex“. Für die erste Alternative spricht, daß in Flechten die einzigen Depsiden entsprechenden Depsidone auftreten: neben dem in Abbildung 6 wiedergegebenen Depsid-Depsidon-Paar Olivetor-

[57] M. Yamazaki u. S. Shibata, Chem. pharmac. Bull. (Tokyo) I4, 96 (1966).

[58] D. Hess, Z. Naturforsch. I4b, 345 (1959).

[59] K. Mosbach u. U. Ehrensvärd, Biochem. biophysic. Res. Commun. 22, 145 (1966).

[60] A. H. Manchanda u. C. E. Stickings, IUPAC, XIX. Internationaler Kongress, Abstracts 209 (1963).

[61] D. H. R. Barton u. T. Cohen: Festschrift A. Stoll Birkhäuser, Basel 1957, S. 117.

[62] H. Erdtman u. C. A. Wachtmeister, siehe [61], dort S. 144.

säure (9a) – Physodsäure (10a) die Paare Atranorin (14e)–Virensäure, Microphyllinsäure- α -Collatolsäure sowie Shaerophorin-Grayansäure. In einigen Flechtenarten treten außerdem Olivetor- und Physodsäure gemeinsam auf [63]. Schließlich kann die Synthese des Depsidons Diploicin durch Oxidation des entsprechenden Depsids mit Mangandioxid als weiterer Hinweis dafür gelten [64]. Depsidone, die sich von Depsiden wie Sekika- (14a) oder Thamnolsäure (14c) ableiten lassen, sind nicht gefunden worden. Im ersten Fall verhindert die Methoxygruppe die sonst biosynthetisch plausible C–O \cdot -Kupplung; stattdessen können die bei Phenoldehydrierungen wahrscheinlich als Biradikale vorliegenden Depside eine alternative C–C \cdot -Kupplung eingehen, wie sie bei den Depsonen verwirklicht ist.

Bisher kennt man nur ein Depson, die Pikrolicheninsäure (11a) [65], die sich aus dem entsprechenden Depsid, der Dihydropikrolichinsäure (9b), durch eine solche intramolekulare Oxidation bilden dürfte. In Einklang mit dieser Vorstellung steht die kürzlich gelungene Synthese von (11a) durch Oxidation von (9b) mit Mangandioxid [66].

3.3.2.3. Bibenzochinone

Trotz des häufigen Vorkommens von Bibenzochinonen in freilebenden Pilzen ist in Flechten erst kürzlich ein

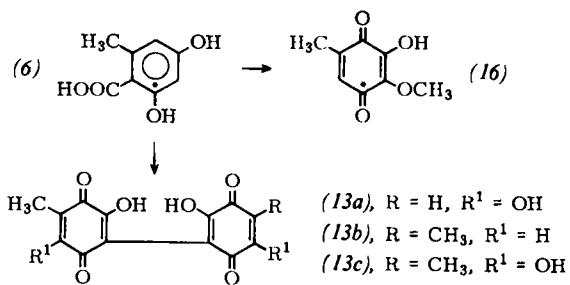


Abb. 10. Vorgeschlagene Biosynthese von Pyxiferin (13a), R=H, R¹=OH; Strukturen der Pilzbibenzochinone Phoenicin (13b), R=CH₃, R¹=H, und Oosporein (13c), R=CH₃, R¹=OH. Markierungsmuster im Pilztoluchinon Fumigatin (16) nach Inkubation mit [2-¹⁴C]-Orsellinsäure (6).

Repräsentant, Pyxiferin (13a), gefunden worden [67]. Wie aus Abbildung 10 hervorgeht, ist Pyxiferin strukturell nahe verwandt mit den Pilzbibenzochinonen Oosporein (13c) und Phoenicin (13b). Die Biosynthese der monocyclischen Chinone dürfte über Orsellinsäure verlaufen, wie es für das Pilztoluchinon Fumigatin (16) gezeigt worden ist [68]. Die beiden monocyclischen Teile sollten sich durch oxidative phenolische Kupplung vereinigen [69]. Für die Biosynthese von Phoenicin (13b) ist ferner gezeigt worden, daß zugesetzte Orsellinsäure sowie Orcin spezifisch eingebaut werden [70].

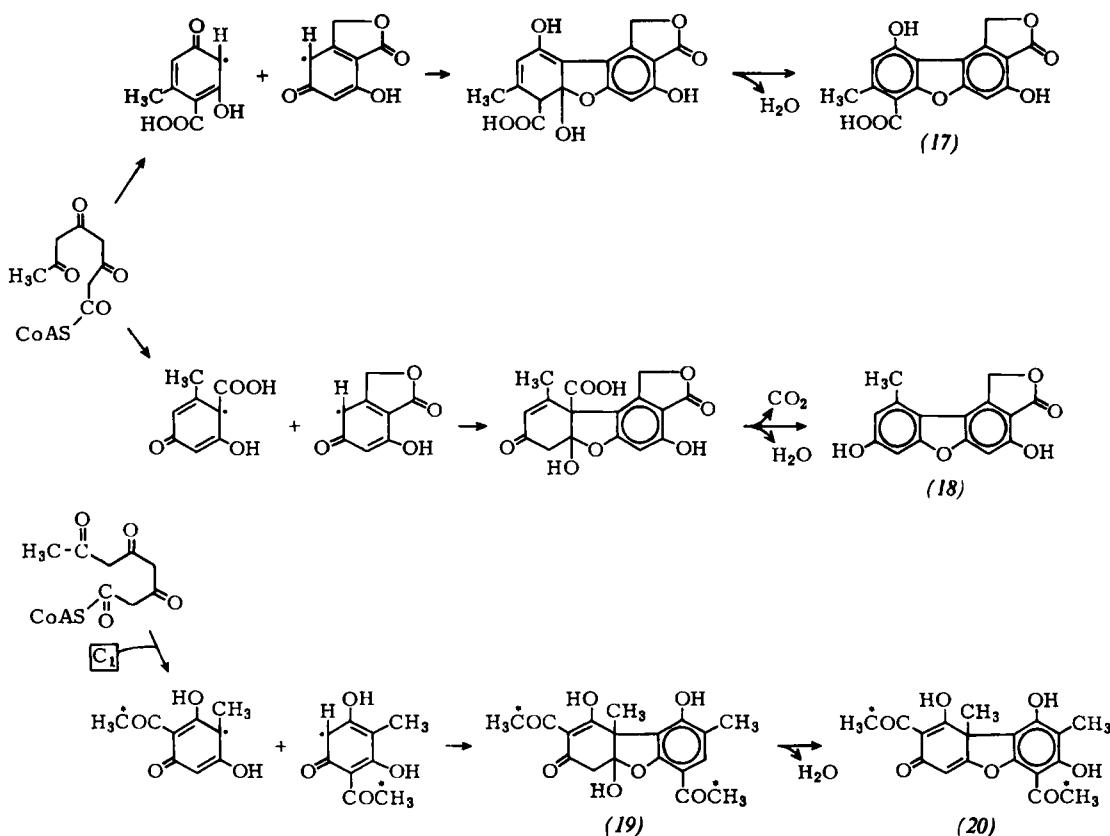


Abb. 11. Vorgeschlagene Biosynthese von Dibenzofuranen: Porphyrlsäure (17), Strepsilin (18) und Usninsäure (20). Markierungsmuster in (20) nach Inkubation mit [¹⁴CH₃–CO]–Acetylphloroglucin. (Die Ausgangsstoffe sind an Coenzym A oder ein Enzym gebunden.)

[63] C. Culberson, Science (Washington) 143, 255 (1964).

[64] C. J. Brown, D. E. Clark, W. D. Ollis u. P. L. Veal, Proc. chem. Soc. (London) 1960, 393.

[65] C. A. Wachtmeister, Acta chem. scand. 12, 147 (1958).

[66] T. A. Davidson u. A. I. Scott, J. chem. Soc. 1961, 4075.

[67] S. Neelakantan, siehe [29], S. 58.

[68] G. Pettersson, Svensk kem. Tidskr. 78, 6–7, 349 (1966).

[69] L. Westerfield, J. biol. Chemistry 145, 403 (1942).

[70] E. Charollais, S. Fliszar u. T. Posternak, Arch. Sci. (Genève) 16, 474 (1963).

3.3.2.4. Dibenzofurane

Dibenzofurane sind in ihrem Vorkommen im wesentlichen auf Flechten beschränkt; nur Rhodomycin [71] ist bisher außerhalb der Flechtengruppe ange troffen worden. Von sieben strukturaufgeklärten Dibenzofuranen sind fünf als Kondensationsprodukte der Orsellinsäure und ihrer Homologen aufzufassen; nur Usnin- (20) sowie Isousninsäure [72] setzen sich aus zwei Acetylphloroglucineinheiten zusammen. Die Usninsäuren sind die einzigen aromatischen Flechten stoffe, die anstelle von Orsellinsäure Acetylphloroglucin als Baustein enthalten, wobei die Kernmethylierung, die wahrscheinlich vor der Aromatisierung stattfindet, den Typ der Cyclisierung (Claisen) zu bestimmen scheint. Die erste Synthese der Usninsäure (20) gelang Barton et al. [73] in ihrer klassischen Arbeit durch Oxidation von Acetyl methylphloroglucin mit Kaliumhexacyanoferrat(III). Die zunächst gebildete Hydroxy-dihydrousninsäure (19) wurde anschließend mit Schwefelsäure zu (20) dehydratisiert. Kürzlich gelang Pentilla und Fales die gleiche Kupplung enzymatisch mit einem Peroxidasesystem [74]. Shibata et al. [75] schließlich konnten mit ^3H - sowie ^{14}C -markiertem Acetyl methylphloroglucin nachweisen, daß sich Usninsäure (20) im Flechtenthallus aus diesen Einheiten bildet. Markiertes Acetylphloroglucin wurde dagegen nicht in Usninsäure eingebaut (Abb. 11). Nach diesen Befunden erfolgt die Biosynthese der Usninsäure und wahrscheinlich anderer Dibenzofurane durch oxidative Phenolkupplung, der sich ein dehydratisierender Schritt anschließt. Die Frage, ob separate Dehydrogenasen und Dehydratasen oder ob sich die gesamte Biosynthese an einem Multienzymkomplex vollzieht, steht allerdings noch offen.

3.3.2.5. Chromone, Xanthone, Anthrachinone und Chromanone

Chromone (21), Xanthone (22), Anthrachinone (23) und Chromanone (24) sind nicht als typische Flechtenmetaboliten zu betrachten, da sie auch in anderen Organismen vorkommen. Biosynthetische Untersuchungen an solchen Flechtenverbindungen liegen bislang nicht vor. Gemeinsam für sie gilt, daß sie sich alle über eine β -Polyoxomethylenkette als Vorstufe entstanden lassen denken, wie in Abbildung 12 ange deutet. Allerdings kann die weniger wahrscheinliche Bildung durch Kondensation zweier separater gebildeter Polyketidketten oder ihrer cyclisierten Produkte, wie sie bei der Biosynthese von Citromycetin nachgewiesen wurde [76], vorläufig nicht ganz ausgeschlossen werden. Die beiden bekannten Chromone, Leprarsäure [77]

[71] S. Trippet, J. chem. Soc. (London) 1957, 414.

[72] S. Shibata u. H. Taguchi, Tetrahedron Letters 1967, 4867.
[73] D. H. R. Barton, A. M. Deflorin u. O. E. Edwards, J. chem. Soc. (London) 1956, 530.

[74] A. Pentilla u. H. M. Fales, Chem. Commun. 1966, 656.

[75] H. Taguchi, U. Sankawa u. S. Shibata, Tetrahedron Letters 1966, 5211.

[76] S. Gatenbeck u. K. Mosbach, Biochem. biophysic. Res. Commun. 11, 166 (1963).

[77] K. Soviar, O. Motl, Z. Samek u. J. Smolikowa, Tetrahedron Letters 1967, 2277.

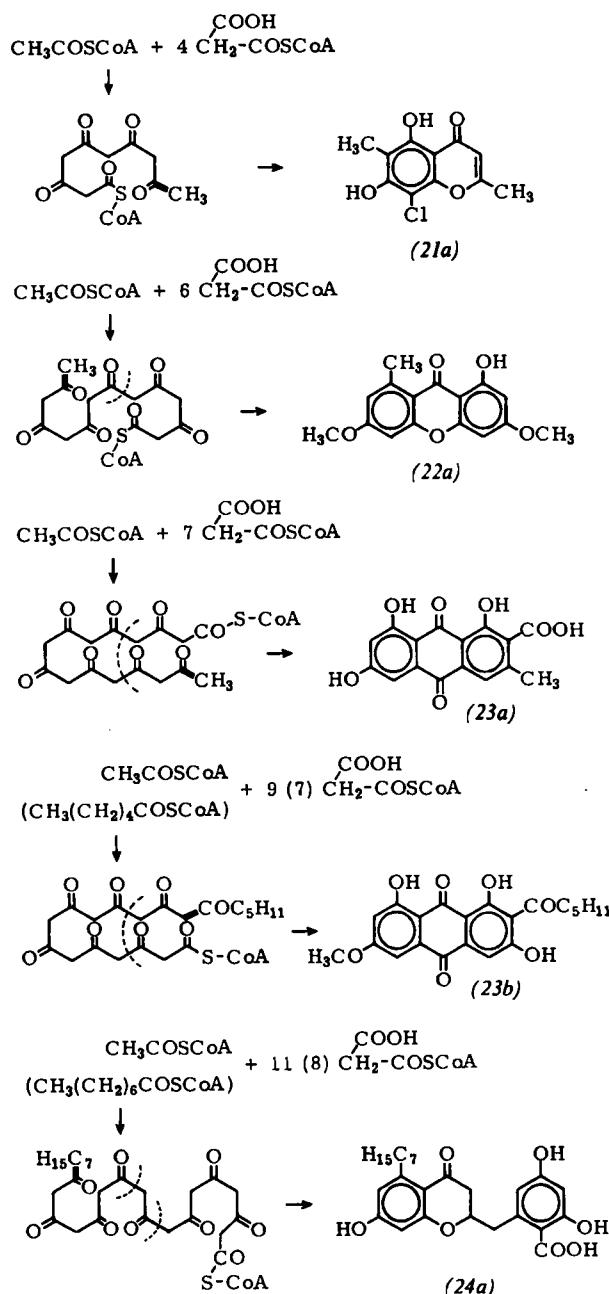


Abb. 12. Vorgeschlagene Biosynthesewege nichtkondensierter aromatischer Flechtenpolyketide aus einer β -Polyoxomethylenkette. Die jeweiligen „Starter“-Positionen sind durch dicke Striche verdeutlicht. Die gepunkteten Linien zeigen die theoretisch mögliche Bildung solcher Verbindungen aus zwei separaten Einheiten. (Die Ausgangsstoffe sind an Coenzym A oder ein Enzym gebunden.)

und Rupicolin (21a) [78], dürften durch Kondensation einer Acetyl-SCoA-Einheit mit vier Malonyl-SCoA-Einheiten entstehen.

Analog dürften die sechs Xanthone (22) aus einem Acetyl-SCoA-Molekül und sechs Malonyl-SCoA-Molekülen entstehen. Von Interesse ist die kürzlich aufgeklärte Struktur der Thiophansäure (2,4,5,7-Tetrachlor-1,3,6-trihydroxy-8-methylxanthon), einem Tetrachlorxanthon [79]; wie überhaupt unter den aromatischen Flechtenmetaboliten auffallend viele chlor substituierte Verbindungen sind.

[78] M. Arshard, J. P. Devlin, W. D. Ollis u. R. E. Wheeler, Chem. Commun. 1968, 154

[79] S. Huneck, Tetrahedron Letters 1966, 3547.

Die Strukturen von zehn Anthrachinonen (23) aus Flechten sind bis heute aufgeklärt worden. Biosynthetische Untersuchungen an Pilzanthrachinonen von Gatenbeck^[80] und Shibata^[81] deuten auf eine Bildung aus einem Acetyl-SCoA-Molekül und n Malonyl-SCoA-Einheiten hin. Während der Cyclisierungsschritt, der zu Endocrocin (23a) führt, dem Ringschluß zur Orsellinsäure gleicht, finden wir bei Solorinsäure (23b) eine Parallele zur Acetylphloroglucinacyclisierung (Bildung der Pentanoylseitenkette vgl. Abschnitt 3.3.2.1.). Von den Chromanonen (24) schließlich ist bisher nur Siphulin (24a)^[82] gefunden worden. Auch hier gilt die Bildung über eine lange C₂₄-β-Polyoxomethylenkette als wahrscheinlichste Alternative.

3.4. Mevalonsäuregruppe

Von Flechtenstoffen, deren Biosynthese sich aus Mevalonsäure ableiten läßt, sind bisher ein Diterpen, (-)-16α-Hydroxykauran^[83], eine Reihe interessanter Triterpene^[28] sowie einige Steroide (Ergosterin, β-Sitosterin, Vitamin D₂) und Carotinoide (β- und γ-Carotin sowie einige Xanthophylle) gefunden worden. Biosynthetischen Untersuchungen an diesen Flechtenmetaboliten liegen nicht vor, doch darf angenommen werden, daß ihre Bildung dem bekannten Muster folgt (Abb. 13)^[84].

Die Triterpene sind alle pentacyclisch; Zeorin und Leukotylin zeichnen sich durch einen seltenen fünfgliedrigen Ring E aus. Zeorin (26), das am häufigsten vorkommende Flechtenterpen (6α, 22-Dihydroxy-

hopan)^[85,86], dürfte sich durch Cyclisierung von Squalen (25) bilden (Abb. 14). Als direkter Vorläufer von Flechtentriterpenen mit Sauerstoff-Funktion in Position 3 wie in Friedelin kommt 2,3-Epoxy-squalen in Frage^[87].

3.5. Shikimisäuregruppe

Nur zwölf aromatische Flechtenverbindungen gehören der Shikimisäuregruppe an, d. h. ihre Biosynthese vollzieht sich in der Sequenz: Phosphoenolbrenztraubensäure + Erythrityl-4-phosphat → Shikimisäure → Chorisminsäure → Prephensäure → C₆-C₃-Derivate. Ein Diketopiperazin, Pikrorocellin (27), zwei Terphenylchinone, Telephor- (29) und Polyporsäure (28) sowie neun Pulvinsäurederivate (30)–(35) sind bisher in Flechten gefunden worden (Abb. 15). Phenylchinone sind besonders in Pilzen weit verbreitet, dagegen müssen die zumeist gelben Pulvinsäurederivate als typische Flechtenstoffe angesehen werden. Während Pikrorocellin (27) offenbar durch direkte Kondensation zweier Phenylalanineinheiten entsteht, werden die Terphenylchinone, wie am Pilzchinn Volucrisporin, einem *meta*-Dihydroxyterphenylchinon, gezeigt worden ist^[88], durch Kondensation zweier wahrscheinlich aktivierter Phenylbrenztraubensäurederivate gebildet. Die anschließende oxidative Ringöffnung der auf diese Weise gebildeten symmetrischen Terphenyle wie Polyporsäure führt dann zu den Pulvinsäurederivaten mit ihrem charakteristischen Diphenylbutadiensystem, wie Versuche mit [1-¹⁴C]-DL-3-Phenylalanin^[89,90] sowie [¹⁴C]-Polyporsäurechinon^[91] zeigten.

Die Frage nach der Rolle beider Symbionten in der Biosynthese von Flechtenstoffen ist für Pulvinsäurederivate beantwortet. Nachdem schon Thomas^[92] gezeigt hatte, daß isolierte Flechtenpilze in der Lage sind, „Stictaurin“ zu bilden, ein Gemisch aus Calycin (33) und Pulvinsäuredilacton (30), wie sich später herausstellte, konnten kürzlich aus dem Extrakt einer Flechtenpilzkultur von *Candellariella vitellina* die vier Pigmente Pulvinsäure (31), Pulvinsäuredilacton (30), Calycin (33) und Vulpinsäure (32a) isoliert werden^[93]. Hier nimmt also der Algenpartner nicht direkt an der Biosynthese teil. Überraschend war das Auftreten von Vulpinsäure, die nicht in der entsprechenden natürlichen Flechtenassoziation gebildet wird. Pulvinsäurederivate sind kürzlich auch in freilebenden flechtenähnlichen Pilzen gefunden worden^[94].

- [85] S. Huneck u. J. M. Lehn, Bull. Soc. chim. France 1963, 1702.
[86] T. Nakanishi u. J. Kitagawa, Tetrahedron Letters 1968, 1485.
[87] E. J. Corey u. P. R. Ortiz de Montellano, J. Amer. chem. Soc. 89, 3362 (1967).

[88] G. Read, L. C. Vining u. R. H. Haskins, Canad. J. Chem. 40, 2357 (1962); P. Chandra, G. Read u. L. C. Vining, ibid. 44, 403 (1966).

[89] K. Mosbach, Biochem. biophys. Res. Commun. 17, 363 (1964).

[90] W. Maas u. A. Neish, Ber. dtsch. chem. Ges. 77, 157 (1964).

[91] W. Maas u. A. Neish, Canad. J. Botany 45, 59 (1967).

[92] E. Thomas, Beitr. Kryptogamenflora der Schweiz 9, 1 (1939).

[93] K. Mosbach, Acta chem. scand. 21, 2331 (1967).

[94] J. Santesson, Phytochemistry 6, 685 (1967).

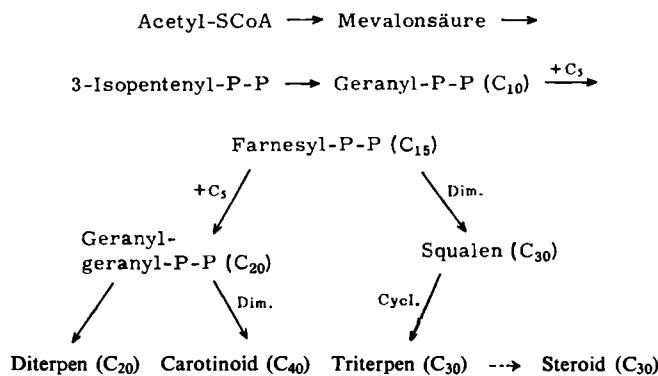


Abb. 13. Biosynthesewege der Verbindungen der Mevalonsäuregruppe.

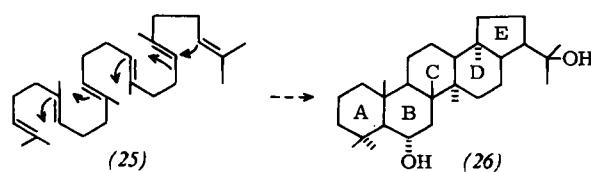


Abb. 14. Cyclisierung von Squalen (25) zu Zeorin (26).

- [80] S. Gatenbeck, Acta chem. scand. 16, 1053 (1962).
[81] S. Shibata u. T. Ikekawa, Chem. pharmac. Bull. (Tokyo) 11, 368 (1963).
[82] T. Bruun, Acta chem. scand. 19, 1677 (1965).
[83] S. Huneck u. G. Follmann, Z. Naturforsch. 20b, 611 (1965).
[84] J. H. Richards u. J. B. Henrickson: The Biosynthesis of Steroids, Terpenes, and Acetogenins. W. A. Benjamin, Inc., New York 1964, S. 205.

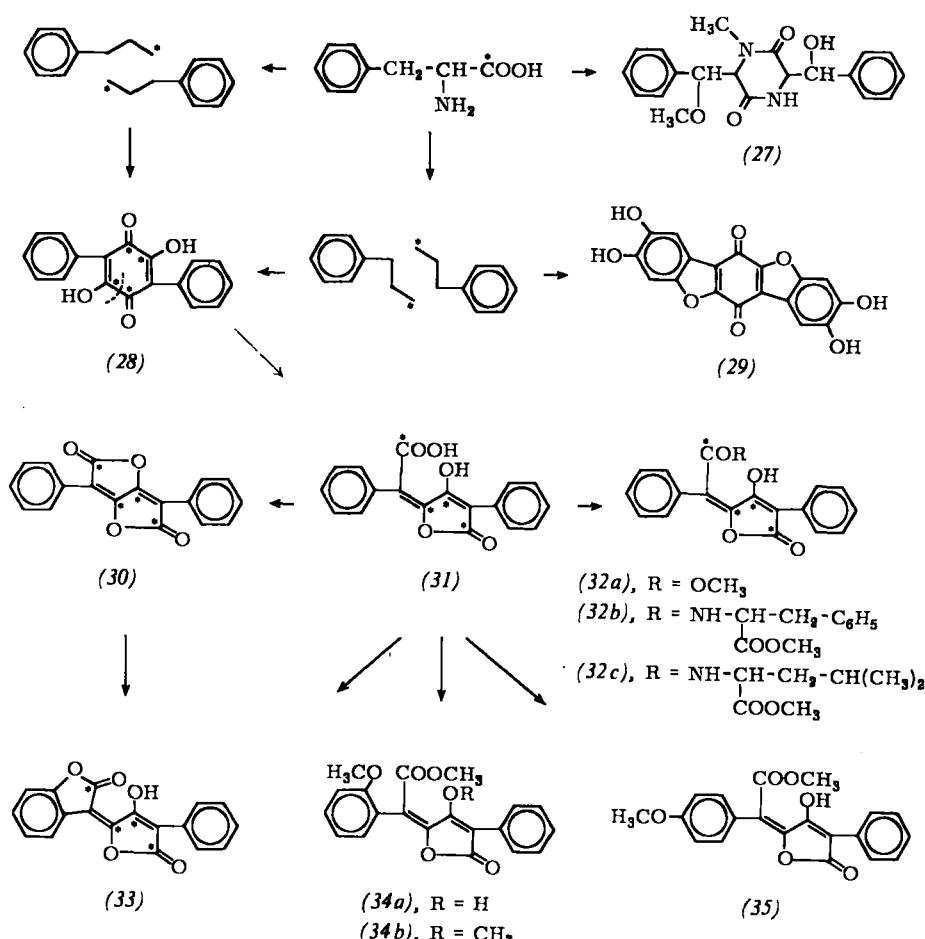


Abb. 15. Biosynthese von Flechtenaromaten der Shikimisäuregruppe aus C₆-C₃-Einheiten. In Verbindungen, deren Bildung aus [1-¹⁴C]-Phenylalanin experimentell nachgewiesen wurde, ist die gefundene ¹⁴C-Markierung (*) eingezeichnet. (32b) = Rhizocarpssäure, (32c) = Epanorin, (34a) = Leprapinsäure, (35) = Pinastrinsäure.

4. Schlußbetrachtung

Wie schon angeführt, können beide Flechten-symbionten beim Abbau von Verbindungen wie Depsiden zu Phenolen zusammenwirken. Die Frage, ob und wie weit eine solche Zusammenarbeit auch bei der Biosynthese derartiger Verbindungen stattfindet, ist noch nicht geklärt. Aber wenn der Algenpartner auch keine der direkt an diesen Synthesen teilnehmenden Enzymsysteme enthalten sollte, schafft er doch durch seine metabolische Aktivität, insbesondere die Photosynthese, die Voraussetzungen hierfür.

Allgemein gilt für die Vielfalt der in der Natur vorkommenden symbiotischen Lebensformen, daß beide Symbionten von der Assoziation profitieren, u.a. durch den Austausch von Metaboliten. So weiß man, daß die im Verdauungskanal von Säugetieren vorkommenden Bakterien die hier anzutreffenden Nahrungsstoffe aufnehmen und ihrerseits eine Reihe von Vitaminen an den Wirt abgeben. Bei der Symbiose der stickstoffbindenden Knöllchenbakterien mit Leguminosen wird der in den Nodulen fixierte Stickstoff an den Pflanzenpartner abgegeben, der dafür Kohlenstoffverbindungen liefert. Bei der Mykorrhiza, der Symbiose von Pilzen mit höheren Pflanzen, erfolgt die Wasser- und Mineralsalzversorgung durch den Pilzpartner, der seinerseits dem Pflanzenpartner Assimi-

late entzieht. Der hohe Grad der Integration in symbiotischen Lebensgemeinschaften wird besonders durch die Tatsache deutlich, daß Substanzen und Strukturen auftreten, die die einzelnen Symbionten allein nicht bilden können^[95]. Erwähnt sei hier u.a. die Bildung eines an der Stickstoffbindung teilnehmenden speziellen Hämoglobins, des Leghämoglobins, in den bakteriellen Nodulen von Leguminosen^[96,97], die Entwicklung von Rhizotamminen (Wurzelballen) in Actinomyceten-Symbiosen sowie der morphogenetische Effekt der intestinalen Flora bei Säugetieren auf die Entwicklung des lymphatischen Systems. Die hiermit zusammenhängenden Fragen nach Art und Grad des Austausches von Stoffwechselprodukten, ihrer Regulation, der Natur der die Morphologie des symbiotischen Organismus beeinflußenden Substanzen, kurz die „Biochemie der Symbiose“, erwarten noch zum größten Teil ihrer Beantwortung.

Abschließend wird, wie schon Dubos^[98] andeutete, eine Parallelie zwischen dem intakten Flechtenthallus und einer einzelnen Zelle gezogen. Die Zelle soll dabei

[95] S. M. Henry: Symbiosis. Academic Press, New York 1966, Bd. 1 und 2.

[96] A. J. Virtanen, Nature (London) 155, 747 (1945).

[97] C. A. Appley, Biochim. biophysica Acta 60, 226 (1962).

[98] R. Dubos, Symbiotic Associations, 13. Symposium of the Society for General Microbiology, Cambridge University Press, Cambridge 1963.

als eine verkleinerte symbiotische Lebensform betrachtet werden, die sich aus semiautonomen, genetisch unabhängigen, eng miteinander integrierten Organellen zusammensetzt. Für eine solche Betrachtungsweise spricht das Auftreten von DNS in Chloroplasten^[99] und Mitochondrien^[100] sowie das Vorkommen einer

[99] A. Gibor u. S. Granick, Science (Washington) 145, 890 (1964).
[100] M. M. K. Nass, Proc. nat. Acad. Sci. USA 53, 1215 (1966).

besonderen Messenger-RNS-Fraktion an den Polysomen plasmatischer Membranen^[101].

Für die großzügige Unterstützung der Arbeit durch den Schwedischen Naturwissenschaftlichen Forschungsrat wird gedankt.

Eingegangen am 1. Juli 1968 [A 685]

[101] B. Attardi u. G. Attardi, Proc. nat. Acad. Sci. USA 58, 1051 (1967).

Lysozyme: Ein Kapitel Molekularbiologie

Von P. Jollès^[*]

Hühnereiweiß-Lysozym war das erste Enzym, dessen Tertiärstruktur aufgeklärt werden konnte. Seine Peptidkette ist in zwei etwa gleich großen Teilen angeordnet, zwischen denen ein tiefer Spalt klafft. Die Substrate (und Inhibitoren) werden in diesem Spalt durch Wasserstoffbrücken gebunden und unter Mitwirkung von Glu 35 und Asp 52 – die das aktive Zentrum bilden – hydrolysiert. – Die Lysozyme, die in vielen Tier- und Pflanzenarten vorkommen, sind zwar chemisch verschieden, haben jedoch qualitativ die gleiche biologische Aktivität; quantitativ lassen sich große Unterschiede nachweisen, die auch die Spezifität betreffen. – Nach Infektion mit Bakteriophagen entsteht in *E. coli* ein Lysozym, dessen Bildung von der Phagen-DNS kontrolliert wird. Da mutierte Phagen abgeänderte Lysozyme erzeugen, eröffnet sich ein weites Feld für die molekularbiologische Forschung.

1. Einleitung

Eines der am eingehendsten untersuchten Enzyme ist das Lysozym des Hühnereiweißes (EC 3.2.1.17). Man kennt die Primärstruktur dieses Enzyms, die Lage der Disulfidbindungen, die Raumstruktur (erstmalige Aufklärung der dreidimensionalen Struktur eines Enzyms), sein aktives Zentrum sowie Spezifität und Art seiner Wirkungsweise.

Lysozyme sind weit verbreitete Enzyme, die nicht nur im Hühner- und Vogeleiweiß vorkommen, sondern auch in vielen menschlichen Geweben und Ausscheidungen sowie in einigen anderen Vertebraten und Invertebraten gefunden werden. Auch in Bakterien, Phagen und Pflanzen wurden Lysozyme festgestellt. Diese Enzyme eignen sich daher für vergleichende Studien, besonders über die Beziehungen zwischen chemischer Struktur und biologischer Aktivität. Es ist nicht beabsichtigt, in dieser Übersicht alle Forschungsergebnisse seit 1963^[1] zusammenzufassen, es sollen vielmehr Schwerpunkte und Entwicklungen dargelegt werden, die über die Lysozyme hinaus auch für andere Gebiete der Enzymforschung von Interesse sind.

2. Lysozym aus Hühnereiweiß

2.1. Primärstruktur und Disulfidbindungen

Die Aminosäuresequenz des Hühnereiweiß-Lysozyms wurde von Jollès et al.^[2,3] und von Canfield^[4] aufgeklärt. Dieses Protein enthält 129 Aminosäuren

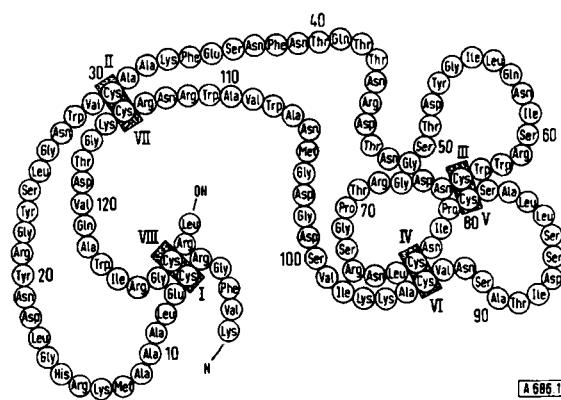


Abb. 1. Primärstruktur und Disulfidbindungen im Hühnereiweiß-Lysozym.

[*] Prof. Dr. P. Jollès
Laboratoire de Chimie biologique, Faculté des Sciences de l'Université
Paris VI, 96, Boulevard Raspail (Frankreich)
[1] P. Jollès, Angew. Chem. 76, 20 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. 3, 28 (1964).

[2] J. Jollès u. P. Jollès, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 253, 2773 (1961).

[3] J. Jollès, J. Jauregu-Adell, I. Bernier u. P. Jollès, Biochim. biophysica Acta 78, 668 (1963).

[4] R. E. Canfield, J. biol. Chemistry 238, 2698 (1963).