

Kombinatorische Biosynthese – eine Zukunftsstrategie?

Jürgen Rohr*

Bei der Suche nach Wirkstoffen müssen zehntausende von reinen Stoffen oder naturstoffhaltigen Rohextrakten etc. getestet werden, bevor eine neue, erfolgversprechende Leitstruktur gefunden wird. Die Chancen empirischer Suchstrategien und Verfahren zur Wirkstoffentwicklung, die sich auf den Naturstoffpool stützen, sinken, und es wird schwieriger, die vielen inzwischen zur Verfügung stehenden Testsysteme effizient zu bedienen. Eine alternative Strategie zur derzeit viel diskutierten kombinatorischen Synthese^[1] könnte im Zeitalter der Gentechnik aus der Herstellung einer Vielzahl von neuen Molekülen und deren Varianten bis hin zur gezielten Synthese maßgeschneiderter potentieller Wirkstoffe durch zufällige bzw. gezielte Kombination oder Veränderung von Biosynthese-Genen erwachsen. Jüngste Entwicklungen auf dem Gebiet der Polyketide lassen Tendenzen erkennen, die hinsichtlich einer solchen Vision, Bauprinzipien und -steine von Naturstoffen neu zu mischen, optimistisch stimmen.

Der Polyketid-Biosyntheseweg nimmt für kombinatorische Biosyntheseansätze eine Vorreiterrolle ein, da zum einen dieser Weg, der von unterschiedlichsten lebenden Organismen, z. B. Mikroorganismen, Pilzen und Pflanzen, beschritten wird, bereits von Natur aus besonders variantenreich ist und zum anderen auf ihm wichtige pharmazeutische Wirkstoffe, wie Antibiotika, Cytostatica und Immunsuppressiva, aufgebaut werden^[2]. Die damit verbundenen langjährigen, intensiven Untersuchungen zur Biosynthese von Polyketiden auf verschiedensten Ebenen – in jüngster Zeit besonders auf molekulargenetischer – beginnen Früchte zu tragen. Eine Anwendung der Erkenntnisse, die gezielte Kombination von Polyketid-Synthase-Genen, ist jetzt überzeugend gelungen, und ein Ausbau des Konzeptes wird sichtbar. Gleichzeitig wurden weitere allgemeine Erkenntnisse über die Polyketid-Biosynthese gewonnen.

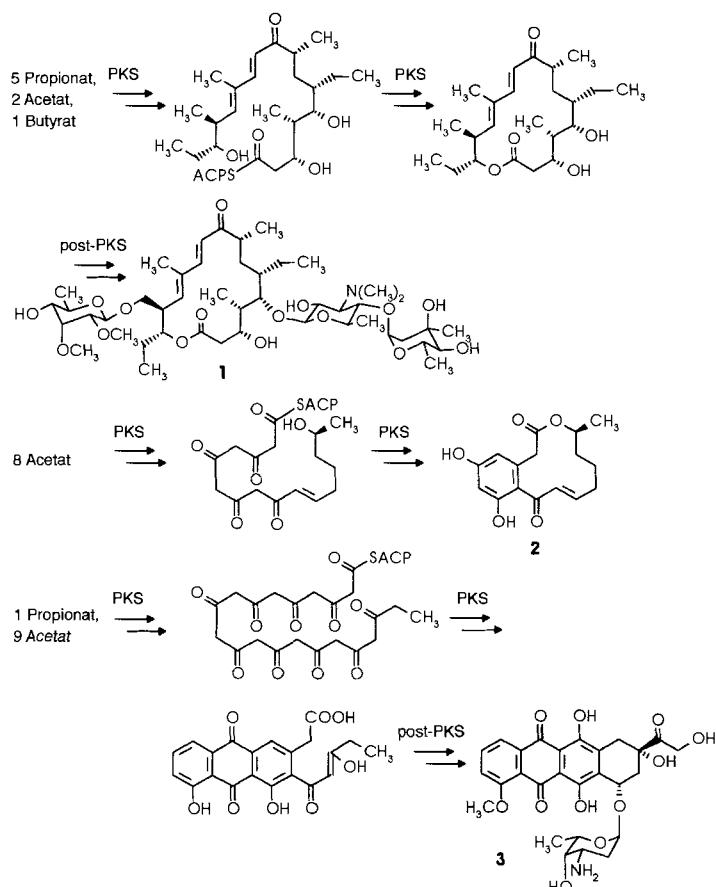
Polyketide werden durch multifunktionelle Enzyme, die Polyketid-Synthasen (PKSs), aus kurzkettenen Säurebausteinen – meist Acetat, Propionat, Butyrat – aufgebaut, die für die (Claisen-)Polykondensationsschritte als CoA-Thioester und durch Carboxylierung aktiviert (z. B. als Malonyl-CoA und Methylmalonyl-CoA) und unter Decarboxylierung zusammengefügt werden. Dabei können die intermediär entstehenden β -Oxoester wie bei der verwandten Fettsäure-Biosynthese im Zuge des Aufbaues oder nachträglich reduziert, dehydratisiert und hydriert werden^[2a].

Variationsmöglichkeiten, die schließlich zum großen Repertoire der Polyketide führen, bestehen im Grad der Reduktion der β -Ketofunktion (\rightarrow Carbonyl-, Hydroxymethylen-, Olefin- oder Methylengruppe) während des Aufbaues der Polyketidkette, der dabei gegebenenfalls eingeführten stereochemischen Informationen (*R/S*-Alkohole, *E/Z*-Olefine), der Art (Acetat, Propionat, Butyrat, Aminosäurestartereinheiten etc.) und der Zahl der verwendeten Säurebausteine (\rightarrow Art der Seitenketten, Kettenlänge). Dazu kommt die Faltung der wachsenden Polyketidkette, die gegebenenfalls durch anschließende intramolekulare Cyclisierungen (Aldolkondensationen, Diels-Alder-Reaktionen etc.) fixiert wird, wodurch unterschiedliche Ringgerüste resultieren. Schließlich gibt es noch die vielen „postpolyketidischen“ Modifikationen (Oxidationen, Reduktionen, Alkylierungen, Acylierungen, Glykosylierungen, Einführung von weiteren Heteroatomen etc.), durch die aus primär gebildeten Grundverbindungen hochspezifische Wirkstoffe gebildet werden können (Schema 1).

Nach den genetischen Studien unterscheidet man zwischen modularen, komplexen (Typ I) und polycyclischen, aromatischen Polyketid-Synthasen (Typ II)^[2b, 3], obwohl es wahrscheinlich fließende Übergänge gibt^[4]. Typische Produkte einer Typ I-PKS sind Makrolide (z. B. Tylosin^[5a] 1, 6-Desoxyerythronolid B 18 und Dehydrocurvularin^[5b] 2) sowie Polyether, solche einer Typ II-PKS weitgehend aromatische Polycyclen, die aus etlichen, meist sechsgliedrigen Ringen zusammengesetzt sind, wie Anthracycline^[5c] (z. B. Adriamycin 3), Tetracycline und Angucycline^[5d]. Typ II-PKSs sind in Subfunktionen unterteilt, was sich in ihrem genetischen Pendant widerspiegelt (Abb. 1, B). Darin kodiert der erste offene Leserahmen (ORF1) die β -Keto-Synthase/Acyl-Transferase(KS/AT)-Untereinheit, die unter anderem die Claisen-Kondensationen katalysiert, der zweite Leserahmen (ORF2) eine bis zu den hier beschriebenen Arbeiten unklare Unterfunktion, für die man jetzt unter anderem eine Kontrolle der Polyketid-Kettenlänge (Kettenlängen-determinierender Faktor, CLF) vorschlägt. Hinter ORF3 verbirgt sich das Acylcarrier-Protein (ACP), an das die wachsende Polyketidkette gebunden ist, hinter ORF4 eine Cyclase und hinter ORF5 eine Keto-Reduktase, die allerdings nicht immer vorhanden ist. Diese Gesetzmäßigkeiten ergaben sich aus intensiven genetischen Studien von Streptomyces, hauptsächlich an *S. coelicolor* und an *S. glaucescens*, die Actinorhodin 4 bzw. Tetracenomycin C 8 bilden^[3, 6].

Daß eine Interkombination von ähnlichen Polyketid-Synthase-Genen zu sogenannten Hybridantibiotika führen kann, wurde bereits vor zehn Jahren erstmals von Hopwood et al. in aufsehen-erregenden Experimenten gezeigt, in denen es ihnen gelang,

[*] Priv.-Doz. Dr. J. Rohr
Institut für Organische Chemie der Universität
Tammannstraße 2, D-37077 Göttingen
Telefax: Int + 551/39-9660



Schema 1. Drei typische Beispiele für die Vielfalt von Polyketid-Biosynthesen. Aufbau des Primärpolyketids durch die Polyketid-Synthase (PKS), Cyclisierungen (meist auch durch die PKS) und nachgeschaltete Funktionalisierungen (post-PKS), zum Makrolidantibiotikum Tylosin **1** [5a], zum Phytotoxin Dehydrocurvularin **2** [5b] und zum Cytostaticum Adriamycin **3** [5c].

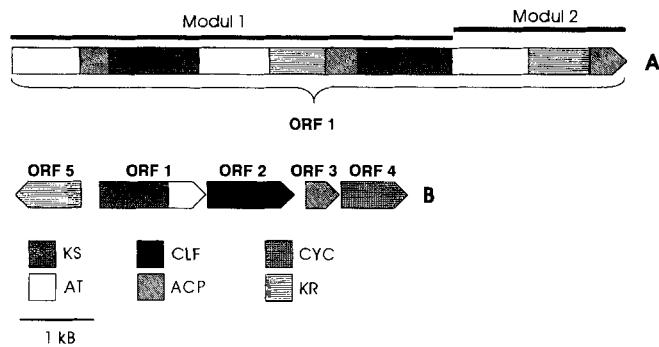


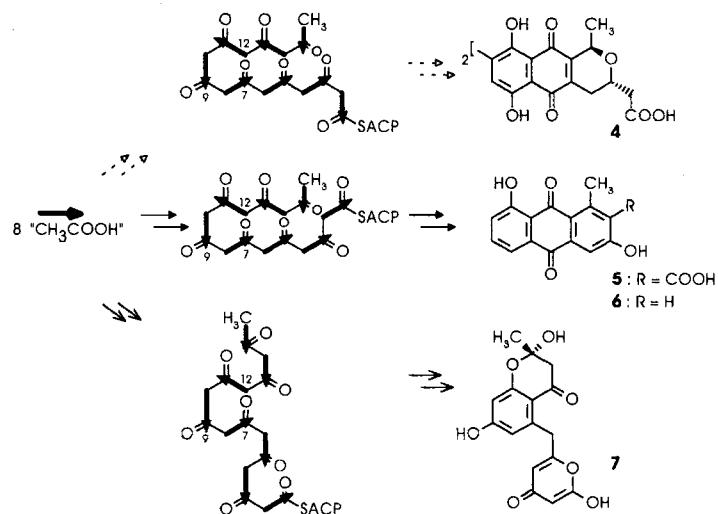
Abb. 1. Genetische Analyse der Polyketid-Synthasen. **A:** Ein Teil der Typ I-PKS aus der Erythromycin-Biosynthese [11a]; **B:** Typ II-PKS aus der Actinorhodin-Biosynthese [3, 6a]. KS = Keto-Synthase, AT = Acyl-Transferase, CLF = Kettenlängen-determinierender Faktor, ACP = Acylcarrier-Protein, CYC = Cyclase, KR = Keto-Reduktase.

Actinorhodin-Biosynthese-Gene mit Granaticin- und Medermycin-Biosynthese-Genen (ungezielt) zu mischen^[6d, e]. Nach diesen Anfangserfolgen, wo allerdings nur marginal veränderte Moleküle hergestellt werden konnten (andere Konfigurationen, eine zusätzliche OH-Gruppe), wurde es ziemlich still um die Hybridorganismen und Hybridantibiotica.

Ende 1993 beschrieben Khosla et al. ein Wirt/Vektor-System, das erstmals einen gezielten Austausch von Polyketid-Synthase-Genen ermöglichte^[7]. Das System wurde zunächst für Modifi-

kationen an den besser untersuchten Typ II-Polyketid-Synthasen entwickelt, läßt sich, wie neuere Arbeiten ergaben, aber auch für Typ I-PKSs verwenden^[8]. Der systematische Austausch von Typ II-PKS-Untereinheiten auf genetischer Ebene brachte nicht nur weitere Klarheit über deren Funktion, sondern besonders über die hierbei möglichen kombinatorischen Freiheitsgrade und öffnete Wege zur Herstellung völlig neuartiger Moleküle. In Khoslas *Streptomyces*-Wirt/Vektor-System, einem PKS-Genacceptor/Gendonor-System, fungiert als Genacceptor ein speziell konzipierter Organismus (*Streptomyces coelicolor* CH999), der aus dem Wildtyp, dem Actinorhodin-Produzenten *S. coelicolor*, durch präzises Entfernen der Actinorhodin-Biosynthese-Gene hergestellt worden war. Als Vektor, also als Gendonor, fungiert ein speziell auf diesen Wirt zugeschnittenes Low-copy-Plasmid, mit dem im Kontrollexperiment Teile der entfernten Gene und in den eigentlichen Experimenten analoge Gene, die fremde Polyketid-Synthase-Abschnitte kodieren, eingefügt werden können. Flexibel als Genkassetten austauschbar waren die Poly-β-keto-Synthase/Acyl-Transferase(KS/AT)-Gene (ORF1), die bis dahin nicht spezifizierten ORF2-Gene und die Acylcarrier-Protein-Gene (ORF3) angelegt. Als konstante Domänen wurden einige Komponenten des Actinorhodin-Polyketid-Synthase-Genclusters festgeschrieben, besonders die die Polyketid-Biosynthese aktivierenden Gene. Diese stellen das Anlaufen der Polyketid-Biosynthese zu einem „natürlichen“ Zeitpunkt (während der logarithmischen Wachstumsphase des Streptomyces) sicher. Das Plasmid enthielt zunächst auch jedesmal die Actinorhodin-Keto-Reduktase (ORF5), die die 9-C=O-Gruppe des Polyketids zum sekundären Alkohol reduziert, woraufhin das C-9-Sauerstoffatom durch Wassereliminierung entfernt werden kann. Enthalten ist auch die Cyclase (ORF4), die den zweiten Ring schließt. Alles zusammen entspricht einer minimalen PKS, d. h. mit weniger Genen ist der Aufbau einer funktionierenden Polyketid-Synthase nicht möglich^[7a]. Als Kontrollexperiment wurde der Acceptor-Organismus CH999 mit einem solchen Plasmid transformiert, das die Standard-Actinorhodin-ORF1/ORF2/ORF3-Gene enthielt (genannt Plasmid pRM5). Es zeigte sich, daß das konstruierte Wirt/Vektor-System funktioniert: Als Hauptprodukt entstand 3,8-Dihydroxy-1-methylanthrachinon-2-carbonsäure (DMAC) **5**, als einziges Nebenprodukt sein (vermutlich nichtenzymatisch) decarboxyliertes Analogon Aloesaponarin II **6** (Schema 2). Das entspricht prinzipiell den Erwartungen bei dem verwendeten Genset; denn bei **5** handelt es sich um ein C₁₆-Polyketid, das durch korrekte (vgl. **4**) erste und zweite Ringschließung sowie einen 9-C=O-Reduktionsschritt (und anschließende Dehydratisierung) gebildet wurde. DMAC **5** ist also das Produkt der „normalen“ minimalen Actinorhodin(*act*)-Polyketid-Synthase. Dementsprechend wurden dann systematisch alle ORF1/ORF2/ORF3-Varianten des Kontrollplasmids pRM5 konstruiert, wobei Fremd-PKS-Gene der gut untersuchten Tetracenomycin C- (aus *S. glaucescens*) und Granaticin-Bildner (aus *S. violaceoruber*), aber auch weniger gut charakterisierte Polyketid-Synthase-Gene verwendet wurden, z. B. die des Frenolicin/Nanaomycin-Bildners *S. roseofulvus* und des Oxytetracyclin-Bildners *S. rimosus*. Darüber hinaus wurden noch für zwei Fälle analoge Plasmide konstruiert, in denen die Keto-Reduktase(KR)-Gene (ORF5) deaktiviert worden waren.

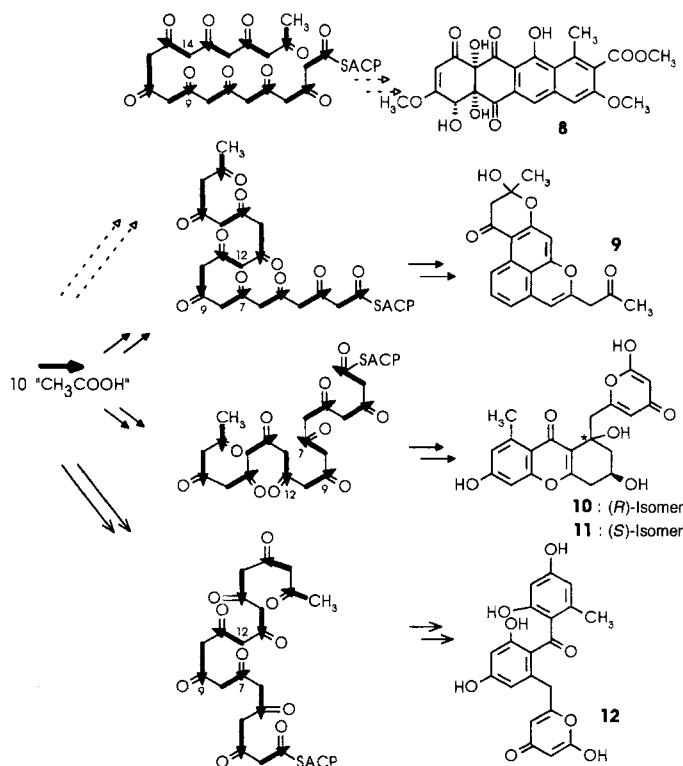
Es zeigte sich, daß die Kontrollprodukte **5** und **6** gebildet wurden, wenn ein beliebiges KS/AT-Gen (ORF1) mit einem Actino-



Schema 2. Die natürliche Biosynthese des Octaketids Actinorhodin (*act*) **4** (oben) im Vergleich mit den Kontrollexperimenten mit Khoslas Wirt/Vektor-System. Mitte: Die minimale *act*-PKS mit funktionierender Keto-Reduktase (KR) gibt die Anthrachinone **5** (Hauptprodukt) und **6**; diese Produkte entstehen auch, wenn das Octaketid-PKS des Granaticin-Produzenten (alle möglichen Kombinationen von ORF1, ORF2 und ORF3) oder nur ORF1 des Produzenten von Tetracenomycin, einem Decaketid, mit *act*-PKS kombiniert wurde. Unten: Die minimale *act*-PKS ohne *act*-KR liefert SEK4 **7**.

rhodin(*act*)-ORF2-Gen (C_{16}) kombiniert wurde. Das Acylcarrier-Protein-Gen (ORF3) konnte ohne Konsequenzen beliebig ausgetauscht werden. Neuartige, polycyclische Verbindungen mit völlig anderen Ringgerüsten und ebenfalls zum sekundären Alkohol reduzierten 9-C=O-Gruppen entstanden (RM20 **9**, RM20b **10**, RM20c **11**, RM18 **14**, RM18b **16**; Schema 3, 4), wenn sowohl ORF1- als auch ORF2-Fremd-PKS-Gene mit den übrigen Actinorhodin-PKS-Genen in einem Hybridorganismus vereinigt wurden; dabei müssen die Fremdorganismen in der Regel^[9a] Produzenten längerer (Nona-, Deca-) Polyketide (C_{18} , C_{20}) sein. Im allgemeinen wird die 9-C=O-Gruppe reduziert und findet die Dehydratisierung statt (\rightarrow **9**, **14** und **16**), in einigen Fällen aber auch nicht (\rightarrow **10** und **11**^[9b]), wobei ein anderes, neues Ringgerüst gebildet wird. Man erklärt die Ergebnisse dadurch, daß die Actinorhodin-Cyclase, das Enzym, das die zweite Ringschließung katalysiert, kettenlängenspezifisch ist, d. h. nicht imstande ist, Polyketide umzusetzen, die in ihrer Kettenlänge von der natürlichen Biosynthese (Octaketide) abweichen. Die neuen Gerüste werden vermutlich nichtenzymatisch gebildet.

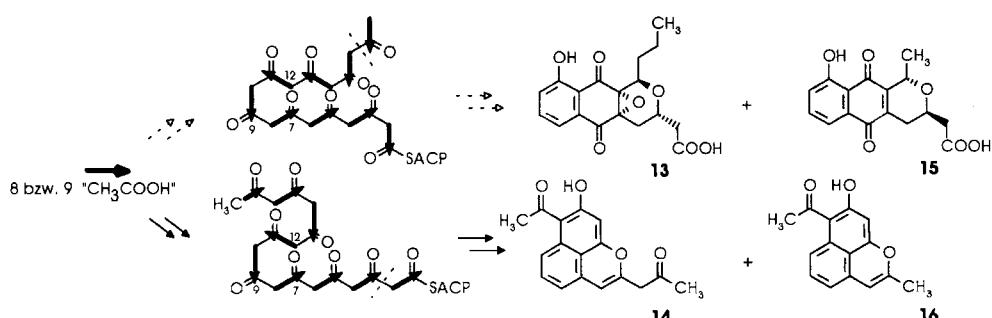
Die bis auf das Fehlen von funktionierender Keto-Reduktase (KR) ansonsten völlig identischen transformanten Organismen lieferten weitere Verbindungen mit anderen Molekülgerüsten^[10] und zwar SEK4 **7** für den Octaketid- (Schema 2, unten) sowie SEK15 **12** für den Decaketid-Fall (Schema 3, unten). Diese entstehen erwartungsgemäß ohne Reduktion der CO-Gruppen und sind offenbar deshalb durch noch andere Faltungen und Cyclisierungen gekennzeichnet, deren Regioselektivitäten wiederum als Resultate nichtenzymatischer (d. h. thermodynamischer-



Schema 3. Natürliche Biosynthese des Decaketids Tetracenomycin C (*tcm*) **8** (oben) und PKS-Kombinationsprodukte aus der Decaketid-*tcm*-PKS (ORF1/ ORF2) und der Octaketid-*act*-PKS. Mitte: Das minimale *tcm*-PKS/*act*-PKS-Hybrid mit *act*-KR liefert als Hauptprodukt RM20 **9** und als Nebenprodukte RM20b **10** sowie RM20c **11**; letztere entstehen auch mit Tetracyclin/Actinorhodin-Hybridorganismen. Unten: Die minimale *tcm*-PKS ohne *act*-KR führt zu SEK15 **12**.

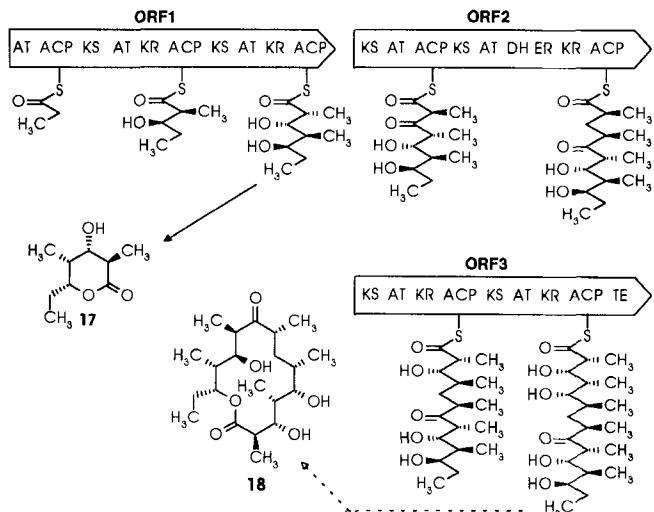
mischiert kontrollierter) Reaktionen interpretiert werden. Entfernung oder Beibehaltung der Keto-Reduktase-Aktivität bedeutet also einen weiteren Freiheitsgrad für genkombinatorische Polyketidkonstrukte.

Einige neue Erkenntnisse über die Funktion der Typ II-PKS-Untereinheiten wurden gewonnen: Die Polyketid-Kettenlänge der Produkte entspricht immer der des natürlichen Produkts, aus dessen Biosynthese die ORF2-Gene stammen. Daraus wurde geschlossen, daß in ORF2 unter anderem ein die Kettenlänge determinierender Faktor (CLF) enthalten ist^[7a]. Die Reduktion der CO-Gruppen findet hier (anders als bei der Typ I-PKS) nach der Biosynthese der Kette, möglicherweise sogar erst nach der ersten Cyclisierung statt^[10]; denn Hybridorganismen ohne funktionierende KR cyclisieren nach wie vor regiospezifisch zwischen C-7 und C-12 der ursprünglichen Polyketidkette.



Schema 4. Kombinationen mit Nonaketid-PKS. Oben: Natürliche Biosynthese von Frenolicin B **13** und Nanaomycin A **15**. Unten: Die minimale Frenolicin-PKS/Actinorhodin-PKS mit *act*-KR liefert die Hybridprodukte RM18 **14** und RM18b **16**.

Typ I-PKSs sind wesentlich größer und komplizierter aufgebaut als die oben besprochenen Typ II-PKSs (A in Abb. 1, Schema 5). Sie katalysieren einen analog zur Fettsäure-Biosynthese schrittweise ablaufenden Aufbau von Molekülen (z. B. Makroliden), wobei die nach jedem Kondensationsschritt zunächst entstehende β -Ketofunktion entweder erhalten bleibt oder unterschiedlich weit reduziert wird^[2d]. Die modular strukturierten



Schema 5. Biosynthese von 6-Desoxyerythronolid B 18 mit modular aufgebauter Typ I-PKS. Die Synthese läuft auch nach Transformation der hier gezeigten Genabschnitte ORF1/ORF2/ORF3 in den *S.coelicolor*-Wirt vollständig (incl. Lactonisierung) ab. Das Lacton 17 entsteht, wenn nur ORF1 in das Wirtssystem transformiert wird. AT = Acyl-Transferase, ACP = Acylcarrier-Protein, KS = β -Keto-ACP-Synthase, KR = β -Keto-ACP-Reduktase, DH = Dehydratase, ER = Enoyl-Reduktase, TE = Thio-Esterase/Cyclase.

offenen Leserahmen ihrer Gencluster enthalten für alle hierbei möglichen Varianten die notwendigen Genabschnitte im 1:1-Verhältnis zum programmierten Biosyntheseschritt. Es gibt also nach den für den Aufbau der Polyketidketten notwendigen Acyl-Transferasen/ β -Keto-Synthasen (AT/KS) je nach Programm nachgeschaltete Keto-Reduktasen (KR), Dehydratosen (DH) und Enoyl-Reduktasen (ER). Eine der Zahl der verwendeten Säurebausteine entsprechende Menge von Acylcarrier-Proteinen übernimmt sukzessiv die wachsende Polyketidkette, bis diese schließlich durch eine Thio-Esterase (TE) von der PKS abgespalten wird (Schema 5)^[11a, b]. Die Unterdrückung einzelner Subaktivitäten der PKS durch Modifikation der entsprechenden Genabschnitte konnte bereits zur Darstellung gezielt veränderter Makrolidanaloga genutzt werden^[11a, c–e]. Jetzt gelang es Khosla et al., unterschiedliche Makrolid-PKS, z. B. die gesamte 6-Desoxyerythronolid B (18)-Synthase in den oben beschriebenen *S.coelicolor*-CH999-Wirt zu exprimieren, und damit Makrolide zu produzieren^[8a]. Weiterhin war es – wenn auch nur in geringen Ausbeuten – möglich, nur den ersten offenen Leserahmen (ORF1) allein einzubringen, was zur Bildung des δ -Lactons 17 führte^[8b]. 17 enthält wie erwartet alle Funktionalitäten, die in den beiden Modulen dieses ORF1 vorprogrammiert sind (Abb. 1, Schema 5). Es sind damit Wege bereit, Makrolid-PKS mit anderen (Typ I- oder II-)PKS zu kombinieren. Überraschend ist hierbei die Lactonbildung, denn an sich sollte man offenkettige Verbindungen erwarten. Während die Cyclisierung

zu 6-Desoxyerythronolid B 18 offenbar direkt durch die Thio-Esterase katalysiert wird, kann man bei 17 wiederum nur eine nichtenzymatische Cyclisierung vermuten. Möglicherweise werden die Zwischenprodukte aber auch als Lactone aktiviert innerhalb der PKS „weitergereicht“. Analoge Lactone wurden auch schon als Nebenprodukte anderer Makrolidproduzenten gefunden^[12].

Die Ergebnisse sind ermutigend, obwohl die Zahl der gebildeten unterschiedlichen Ringgerüsttypen, prinzipiell drei neue Grundgerüste, kleiner ist als man erwarten könnte, wenn – wie diskutiert – vorzugsweise nichtenzymatische Reaktionen beteiligt sind. Der resultierende Gerüsttyp scheint vornehmlich vom Reduktionsgrad der 9-C=O-Gruppe (und der damit zusammenhängenden Dehydratisierung) abzuhängen. Sicherlich sind noch nicht alle limitierenden und kontrollierenden Faktoren dieses genkombinatorischen Ansatzes verstanden. Wodurch wird beispielsweise bei den Typ II-PKS die erste Cyclisierung kontrolliert? Warum decarboxylieren die Hybridmoleküle oft (von C-1 der Polyketidkette), was bei den natürlichen Biosynthesen seltener, und beim Kontrollexperiment nur in geringem Maße geschieht? Eventuell könnten Modellrechnungen^[6a] hier weiterhelfen. Es lassen sich auch nicht alle Gensets (ORFs) unterschiedlicher Organismen beliebig kombinieren, aber es gibt viel mehr Beispiele für positive Interkombinationen als für negative (wo keine Polyketide produziert wurden). Auch gibt es Anzeichen, daß es zukünftig möglich sein wird, Polyketid-Biosynthese-Gene mit nachgeschalteten post-Polyketid-Biosynthese-Genen (Oxygenasen, Glycosyl-Transferasen) fremder Organismen zu kombinieren^[13], wobei die Bildung neuer Moleküle von der Substrattoleranz der post-PKS-Enzyme abhängt. So könnte eine noch wesentlich größere Palette gentechnisch hergestellter Hybridprodukte zugänglich werden. Auch die Vision, gezielt Hybridorganismen zu konstruieren, in denen nur erwünschte Biosynthese-Gene so kombiniert würden, daß damit ein gezielter Zugang zu bestimmten Strukturtypen gegeben ist, könnte eher Wirklichkeit werden, als man jetzt ahnen kann. Die Tore für eine solche Perspektive sind mit den hier zitierten Arbeiten bereits aufgestoßen, die eindeutig zeigen, daß es bei der Kombination von Biosynthese-Genen ungeahnte Freiheitsgrade gibt. Darüber hinaus könnte dieser Ansatz durch die Verwendung von Organismen bereichert werden, die hinsichtlich ihres Primärstoffwechsels gentechnisch verändert wurden; diese könnten von ihnen normalerweise nicht begangene Stoffwechselwege einschlagen^[14] und so intermediär neue Bausteine für Naturstoff-Biosynthesen verfügbar machen.

Stichworte: Biosynthesen · Gentechnik · Polyketide

- [1] Vgl. hierzu: a) R. M. J. Liskamp, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 661–664; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 633–636, zit. Lit.; b) P. Eckes, *ibid.* **1994**, *106*, 1649–1651 bzw. **1994**, *33*, 1573–1575, zit. Lit.; c) R. M. Baum, *Chem. Eng. News* **1994**, *72*(6), 20–26; d) T. Carell, E. A. Wintner, A. Bashir-Hashemi, J. Rebek, Jr., *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2159–2162; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2059–2061.
- [2] a) D. O'Hagan, *The Polyketide Metabolites*, 1. Aufl., Ellis Horwood, Chichester, 1991; b) L. Katz, S. Donadio, *Annu. Rev. Microbiol.* **1993**, *47*, 875–912; c) D. E. Cane, *Science* **1994**, *263*, 338–340, zit. Lit.; d) J. Staunton, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 1331–1335; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1302–1306.
- [3] D. H. Hopwood, D. A. Sherman, *Annu. Rev. Gen.* **1990**, *24*, 37–66.
- [4] a) H. Bockholt, G. Udvarnoki, J. Rohr, U. Mocek, J. M. Beale, H. G. Floss, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2064–2069; b) S. Weber, C. Zolke, J. Rohr, J. M. Beale,

- ibid.* **1994**, *59*, 4211–4214, zit. Lit.; c) S. J. Gould, X.-C. Cheng, K. A. Halley, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10066–10068.
- [5] a) S. Yue, J. S. Duncan, Y. Yamamoto, C. R. Hutchinson, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 1253–1255, zit. Lit.; b) Z. Li, F. M. Martin, J. C. Vederas, *ibid.* **1992**, *114*, 1531–1533, zit. Lit.; c) C. Wagner, K. Eckardt, W. Ihn, G. Schumann, C. Stengel, W. F. Fleck, D. Tresselt, *J. Basic Microbiol.* **1991**, *31*, 223–240, zit. Lit.; J. Rohr, R. Thierike, *Nat. Prod. Rep.* **1992**, *9*, 103–137, zit. Lit.
- [6] a) D. H. Sherman, M. J. Bibb, T. J. Simpson, D. Johnson, F. Malpartida, M. Fernandez-Moreno, E. Martinez, C. R. Hutchinson, D. A. Hopwood, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 6029–6043; b) C. R. Hutchinson, H. Decker, H. Motamedi, B. Shen, R. G. Summers, E. Wendt-Pienkowski, W. Wessel in *Genetics and Molecular Biology of Industrial Microorganisms* (Hrsg.: R. H. Baltz, T. Ingolia, G. Hegeman), American Society for Microbiology, Washington, DC, **1993**, S. 203–216, zit. Lit.; c) H. Decker, H. Motamedi, C. R. Hutchinson, *J. Bacteriol.* **1993**, *175*, 3876–3886; d) H. Decker, R. G. Summers, C. R. Hutchinson, *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 54–63, zit. Lit.; e) D. A. Hopwood, F. Malpartida, H. M. Kieser, H. Ikeda, J. Duncan, I. Fujii, B. A. Rudd, H. G. Floss, S. Ömura, *Nature (London)* **1985**, *314*, 642–644; b) S. Ömura, H. Ikeda, F. Malpartida, H. M. Kieser, D. A. Hopwood, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1986**, *29*, 13–19.
- [7] a) R. McDaniel, S. Ebert-Khosla, D. A. Hopwood, C. Khosla, *Science* **1993**, *262*, 1546–1550; b) *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 11671–11675. c) H. Fu, S. Ebert-Khosla, D. A. Hopwood, C. Khosla, *ibid.* **1994**, *116*, 6443–6444; d) H. Fu, R. McDaniel, D. A. Hopwood, C. Khosla, *Biochemistry* **1994**, *33*, 9321–9326.
- [8] a) C. M. Kao, L. Katz, C. Khosla, *Science* **1994**, *265*, 509–512; b) C. M. Kao, G. Luo, L. Katz, D. E. Cane, C. Khosla, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11612–11613.
- [9] a) In einem Fall [7b] wurde zwar auch ein Octaketid (C_{16}) zu einem neuen Produkt umgesetzt, was mit einem „Durchschlüpfen“ der Polyketidkette in der PKS erklärt wird. Alternativ besteht aber auch hier die Möglichkeit, daß zunächst ein Nonaketid prozessiert und später desacetyliert wurde (Schema 4). b) RM20b **10** und RM20c **11** fallen als (Neben-)Produkte bei der Verwendung sowohl von Tetracenomycin(tcm)- als auch von Oxytetracyclin(oci)-Biosynthese-Genen an.
- [10] H. Fu, S. Ebert-Khosla, D. A. Hopwood, C. Khosla, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4166–4170.
- [11] a) S. Donadio, M. J. Staver, J. B. McAlpine, S. J. Swanson, L. Katz, *Science* **1991**, *252*, 675–679; b) 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; c) J. M. Weber, J. O. Leung, S. J. Swanson, K. B. Idler, J. B. McAlpine, *Science* **1991**, *252*, 114–117; d) D. Stassi, S. Donadio, M. J. Staver, L. Katz, *J. Bacteriol.* **1993**, *175*, 182–189; e) S. Donadio, J. B. McAlpine, P. J. Sheldon, M. Jackson, L. Katz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 7119–7123.
- [12] K. U. Bindseil, A. Zeeck, *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 150–156.
- [13] a) H. Decker, S. Haag, G. Udvarnoki, J. Rohr, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, im Druck; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, im Druck; b) C. R. Hutchinson, *Med. Res. Rev.* **1988**, *8*, 557–567, zit. Lit.
- [14] M. Zhang, C. Eddy, K. Deanda, M. Finkelstein, S. Picataggio, *Science* **1995**, *267*, 240–243.

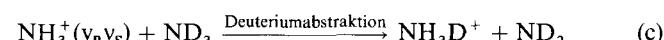
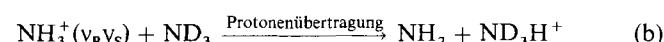
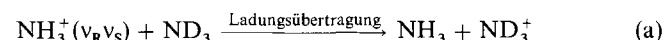
Kontrolle von Ionen-Molekül-Reaktionen in der Gasphase

Karl-Heinz Gericke*

Es ist der Traum eines Chemikers, durch gezielte Manipulationen an Edukten selektiv unterschiedliche Reaktionskanäle zu erreichen. Einfaches Erhitzen eines Reaktionsgemisches – die Standardoperation des präparativ arbeitenden Chemikers – führt im allgemeinen zu einer Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit von Haupt- und Nebenreaktionen; unter Umständen werden auch neue Reaktionskanäle geöffnet. Eine wirkliche Kontrolle über den Ausgang einer Reaktion wird so aber nicht erzielt. Die meisten chemischen Reaktionen verlaufen statistisch, und Wärmezufuhr ist der einzige Weg, um die Produktbildung zu beeinflussen. Glücklicherweise gibt es Ausnahmen von dieser allgemeinen Regel. So zeigen zum Beispiel Untersuchungen zur Reaktion von Wasserstoff- und Chloratomen mit HOD, daß es sehr wohl für die Produktbildung darauf ankommt, welche Bindung vibronisch angeregt wird^[1, 2]: Es ist die gestreckte Bindung, die reagiert. Deshalb kann man das Verhältnis der Produkte OH + HD und OD + H₂ in der Reaktion H + HOD (oder OH + DCI und OD + HCl in der Reaktion Cl + HOD) beeinflussen, indem man verschiedene Seiten des HOD-Eduktmoleküls aktiviert.

Leider ist unsere Kenntnis komplexerer Reaktionen sehr viel begrenzter (so drücken sich Wissenschaftler aus, wenn sie fast nichts wissen). Wird für größere Reaktionssysteme alles statistisch, oder ist der Ausgang doch noch durch spezifische interne

Bewegungen der Edukte bestimmt? Zare und Mitarbeiter haben kürzlich gezeigt, daß es im Falle der Umsetzung von NH₃⁺ mit ND₃ möglich ist, das Verzweigungsverhältnis zwischen den drei Reaktionskanälen (a)–(c) zu beeinflussen, je nachdem welche in-



terne Bewegung das NH₃⁺-Ion ausführt, obwohl die Energie der jeweiligen Bewegungsformen gleich ist^[3]. Zwei der sechs Schwingungsmoden vom NH₃⁺ sind für den Verlauf der Reaktion wesentlich (Abb. 1). Im Gegensatz zum neutralen NH₃ ist das positive Ion planar, und die sogenannte „Regenschirmschwingung“ (ν_R) entspricht einer aus der Molekülebene herausführenden Biegeschwingung, während die Strettschwingung (ν_S) einer vollkommen symmetrischen Strettschwingung der H-Atome in der Ebene entspricht.

Durch Multiphotonionisation von NH₃ wird das NH₃⁺-Edukt-Ion wahlweise in zwei nahezu isoenergetischen Zuständen präpariert, die sich dadurch unterscheiden, daß entweder zwei Quanten der Regenschirmschwingung und ein Quant der Strettschwingung (2 ν_R 1 ν_S) oder aber fünf Quanten der ν_R -Mode und kein Quant der ν_S -Mode (5 ν_R 0 ν_S) beteiligt sind. Es wird eine starke Abhängigkeit des Produktverhältnisses von der Art der Eduktbewegung beobachtet: Wenn zwei Quanten der ν_R -

[*] Dr. K.-H. Gericke

Institut für Physikalische und Theoretische Chemie der Universität
Marie-Curie-Straße 11, D-60439 Frankfurt am Main
Telefax: Int. + 69/7982-9445