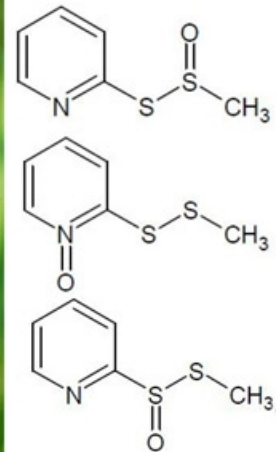
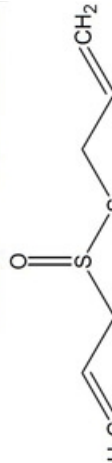


## „Russisches Penicillin?“

Adrian Brückner und Mathias Spengler



Russisches  
Penicillin ?!

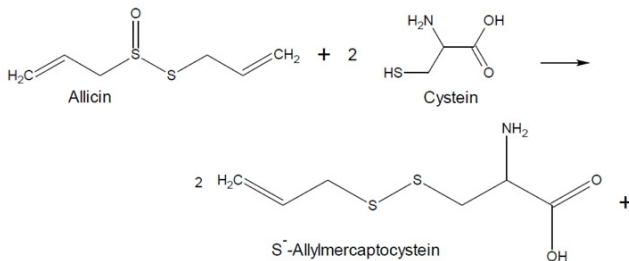


*Wundinfektionen! Syphilis! Malaria! Pest!* - seit Tausenden von Jahren sind die Menschen mit verschiedensten Krankheiten konfrontiert. Doch seit fast genauso langer Zeit helfen sich die Kulturen der Welt mit einem ganz besonderen Stoffgemisch – dem russischem Penicillin. In den indischen Veden, den ältesten heiligen Schriften des Hinduismus, als Medizin verehrt, fand es seinen Weg über die Sumerer zunächst nach Phönizien, Babylonien und Persien, sowie nach Ägypten. Dort half es den Bauarbeitern der Pyramiden nach harter, aufzehrender Arbeit wieder fit zu werden und sie widerstandsfähig gegen Infektionskrankheiten zu machen. Nach Europa gelangte es als leistungssteigernde Substanz für die Athleten des antiken Olympia. Die Römer nutzten es als Entzündungshemmer und zusätzlich als Aphrodisiakum – also einer etwas anderen Art der Leistungssteigerung. Auch nach dem Niedergang des römischen Reiches blieb es über das gesamte Mittelalter in Europa verbreitet als Mittel zur Reinigung von Bisswunden, oder gegen Zahnschmerzen und Hautausschläge, sowie gegen Menstruationsstörungen. Sogar Karl der Große legte die Nutzung per Verordnung fest. In der Obhut arabischer Ärzte, die es geschickt zur Behandlung vieler Krankheiten nutzten, überdauerte es das Spätmittelalter und die frühe Neuzeit im Mittelmeerraum. Auch Pasteur soll Experimente und Studien zu antimikrobiellen Eigenschaften damit durchgeführt haben. Doch welcher geheimnisvolle Stoff, der angebetet wurde, auf dessen Schultern sich Imperien gründeten und der Sportlern als Dopingmittel diente, steckt hinter dem „russischen Penicillin“? Es ist der Knoblauch (*Allium sativum*), eine mittlerweile weltweit verbreitete Nutzpflanze aus der Gattung der Lauchgewächse (*Allium spec.*), die zu Recht als eine der wichtigsten „Kulturpflanzen“ bezeichnet werden kann.

### Weshalb wirkt „russisches Penicillin“?

Doch woher kommt der Name „russisches Penicillin“ und die außergewöhnliche, heilende Wirkung des Knoblauchs? Ersteres ist leicht zu beantworten: Die Westalliierten nutzen zur Behandlung von bakteriellen Infektionen während des 2. Weltkrieges das 1928 entdeckte Penicillin. Zeitgleich verwendete die rote Armee der Sowjetunion noch den Knoblauch. Dadurch entstand der spöttische Spitzname „Russian penicillin“ (Petrovska/Cekovska; 2010). Eine erste Antwort auf die zweite Frage fand in den 40er und 50er Jahren eine

Gruppe von Biochemikern, die in mehreren Experimenten zunächst per Wasserdampfdestillation zahllose Substanzen aus Knoblauch isolierte. Letztlich identifizierten sie eine klare, ölige Flüssigkeit als einen der entscheidenden Stoffe, die für die antimikrobielle Wirkung verantwortlich sind. Diese Substanz erhielt den Namen Allicin. In Abbildung 1 ist die nach der Strukturaufklärung formulierte Reaktionsgleichung zu sehen, mit der man die Wirkung auf molekularer Ebene im Modellexperiment zu beschreiben versuchte. Allicin kann demnach durch seine reaktive Disulfid-Bindung mit Cysteinen in bakterieneigenen Proteinseitenketten reagieren.



**Abbildung 1:** Modellreaktion von Allicin mit Cystein, als mögliche Reaktion zur Erklärung der antimikrobiellen Wirkung von Allium Spec. entdeckt von Stoll und Seebeck im Jahr 1951.

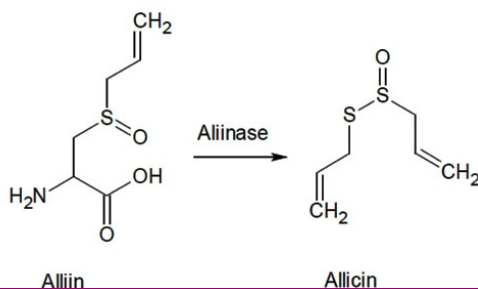
### Warum existiert ein solcher Mechanismus ?

Bei Knoblauch im Speziellen und bei der Gattung *Allium* im Allgemeinen findet man eine ganze Palette von Substanzen, die Disulfid-Bindungen enthalten. Diese werden von der Pflanze als Verteidigungsmechanismus gegen mikrobielle Pathogene (krankheitsauslösende Mikroorganismen) oder Pilze eingesetzt. Dabei ist das Allicin jedoch nicht ständig in seiner aktiven Form vorhanden, da es in der benötigten Menge auch für die Pflanze

toxisch wirken würde. Allicin wird stattdessen nur freigesetzt, wenn durch ein Pathogen oder eine physikalische Ursache die Zellwände und Membranen verletzt werden (Ankri/Mirelman; 1999). Dies ermöglicht die Vermischung der in unterschiedlichen Zellkompartimenten gelagerten Reaktanden. In Abbildung 2 ist der dann folgende enzymatische Umbau von Alliin zu Allicin dargestellt. Anschließend wird Allicin wieder zügig abgebaut. Die gezeigte Reaktion ist auch übrigens der Grund dafür, weshalb Knoblauch erst dann sein typisches Aroma entfaltet, wenn wir ihn während der Zubereitung von Speisen schneiden oder pressen.

### Wie Bakterien sich gegen Antibiotika wehren

Resistenzen gegen Penicillin sind bereits seit den 1940er Jahren bekannt und haben sich im letzten Jahrzehnt zu einem bedeutenden Problem entwickelt. Heute ist eine Vielzahl von Bakterienstämmen gegen alle bekannten Antibiotika resistent und bleiben es sowohl unter starkem Selektionsdruck als auch in anderen Umgebungen ohne Selektionsdruck. Die Resistenzentwicklung schreitet immer schneller voran, und neu entwickelte Antibiotika behalten nur noch wenige Jahre ihre Wirksamkeit. Besonders bedenklich ist, dass trotz der Vielzahl verschiedener Präparate nur eine sehr begrenzte Anzahl von Wirkmechanismen zur Verfügung steht. Bakterien-DNA z.B. durch geringen Schutz vor UV-Strahlen, fehlende Reparaturmechanismen oder Fehler



**Abbildung 2:** Bildung von Allicin aus Alliin durch das Enzym Alliinase beim Eindringen eines Pathogens in das pflanzliche Gewebe bei der Gattung Allium. (Kyung, 2012).

während der DNA-Replikation anfällig für Mutationen. Dank sehr kurzer Generationszeiten werden Mutationen im Genom schnell weitergegeben. Üblicherweise haben diese negative oder keine Effekte. Es können aber auch Gene für essentielle Proteine betroffen sein. Wenn das Protein ein Angriffsziel eines Antibiotikums ist, kann die Bindungsstelle so verändert werden, dass das Antibiotikum seine Wirkung verliert (vgl. Abbildung 3). Bei Fluorchinolonen ist dieser Effekt wohlbekannt. Sie entfalten ihre Wirkung durch Hemmung

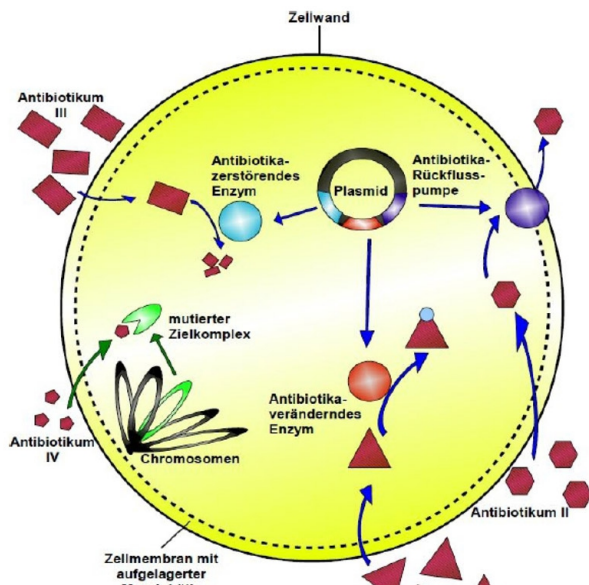
der DNA-Gyrase sowie der Topoisomerase IV, zwei Enzyme, die eine wichtige Rolle bei der DNA-Replikation spielen. Ein anderes Beispiel ist die Mutation der RNA-Polymerase, die in *M. tuberculosis* statistisch mit einer Rate von 1 zu 10 Millionen auftritt. Rifamycine, die bevorzugt bei Tuberkulose und Lepra eingesetzt werden, können dadurch ihre Wirkung verlieren. Mutationen im Bakteriengenom, die Resistenzen vermitteln, bezeichnet man als "low-level" Resistenz, da sie zuerst nur in einem Bakterienstamm auftreten.

Diese Resistenzen können nur an Nachkommen, nicht aber an andere Bakterien weitergegeben werden. Bedeutend gefährlicher ist die "high-level" Resistenz (Aleksun und Levy; 2007). Hierbei befinden sich Gene, welche die Resistenz vermitteln, auf einem mobilen genetischen Element, üblicherweise einem Plasmid oder einem Transposon. Diese Form der DNA wird sehr häufig zwischen Bakterien ausgetauscht und erlaubt so eine rasche Verbreitung von Genen, die für Antibiotika abbauende oder modifizierende Enzyme kodieren. Am verbreitetsten sind  $\beta$ -Lactamasen, von denen mittlerweile hunderte verschiedene bekannt sind und Resistenz gegen Penicilline und Cephalosporine vermitteln. Diese Antibiotika besitzen einen viergliedrigen  $\beta$ -Lactam-Ring, der die Peptidoglycansynthese bei der Zellteilung von Bakterien hemmt.

Lactamasen hydrolysieren dies Ring und inaktivieren so das Antibiotikum. Neben Hydrolyse katalysierenden Enzymen gibt es auch solche, welche die aktiven Strukturen von Antibiotika N-acetylieren, phosphorylieren oder adenylieren und damit wirkungslos werden lassen. Ein weiterer Mechanismus, mit dem sich Bakterien vor einem Antibiotikum schützen, besteht in der Expression eines Transportproteins, das das aufgenommene Antibiotikum sehr schnell wieder aus dem Zellinnenraum hinaus befördert. Man kennt bereits Transportproteine, die unspezifisch mehrere Klassen von Antibiotika erkennen. Ein einziges mobiles DNA-Element kann alle Arten dieser Gene enthalten und so auf einen Schlag die Resistenz gegen sehr viele Gruppen von Antibiotika vermitteln. Bekannt ist das Super-Integron von *V. cholerae*, welches aus hunderten verschiedener Resistenzgene zusammengesetzt ist und so eine umfassende Multiresistenz vermittelt. Zusätzlich können diese Elemente zwischen sehr verschiedenen Bakterienarten geteilt werden, wie grampositiven und -negativen Bakterien. Dies erhöht die Resistenzentwicklung enorm. Allicin könnte einen bis jetzt noch nicht von kommerziellen Antibiotika genutzten Wirkmechanismus aufweisen und damit Resistenzen entgegen.

### **Antimikrobielle Wirkung von Knoblauchextrakt und reinem Allicin**

Zunächst soll auf eine aktuelle Studie von H. Fujisawa et al. (2009) eingegangen werden. In dieser wurde die Wirkung klinisch eingesetzter Antibiotika (z.B. Streptomycin) mit Knoblauchextrakt und reinem Allicin verglichen. Durchgeführt wurden die Untersuchungen am grampositiven Bakterium *Staphylococcus aureus* und dem gramnegativen *Escherichia coli*. Die Versuche ergaben, dass wässriger Knoblauchextrakt und reines Allicin – entgegen der ursprünglichen Erwartungen – beim grampositiven *S. aureus* eine stärkere Wirkung zeigten als beim gramnegativen *E. coli*. Dies war überraschend, da grampositive Bakterien auf Grund ihrer mehrschichtigen Peptidoglycan-Hülle schwerer für Antibiotika zugänglich sind. Generell zeigte sich jedoch auch, dass die natürlichen Extrakte ihre antimikrobielle Wirkung erst bei etwa 10mal höherer Konzentration entfalteten als die klinischen Medikamente. Außerdem zeigte der wässrige Knoblauchextrakt eine höhere Wirksamkeit gegen *S. aureus*, als reines Allicin. Dies weist auf weitere Substanzen hin, die möglicherweise die Wirkung von Allicin verstärken oder selbst antibiotische Wirkung besitzen. Die Relevanz dieses Ergebnisses besteht darin, dass Allicin – möglicherweise in Kombination mit weiteren Strukturanaloga – gegen multiresistente Bakterien eingesetzt werden könnte.



**Abbildung 3:** Ausbildung der wichtigsten Resistenzmechanismen (Levy/Marshall, 2004) dargestellt an einem *S. aureus*. High-level Resistenzwege sind mit blauen Pfeilen gekennzeichnet. Low-level Resistenzwege sind mit grünen Pfeilen gekennzeichnet.

## Die Chance neuer Strukturanaloga aus *Allium spec.*

O'Donnell et al. gelang es, aus *Allium stipitatum*, dem als Zierpflanze bekannten Blumenlauch, mehrere Verbindungen zu isolieren, die der Klasse der Pyridin-N-oxid-disulfide angehören und Strukturähnlichkeit zu Allicin zeigen. Einer dieser Stoffe war jedoch bereits patentiert und auch zur Verwendung als Antibiotikum vorgeschlagen worden. Ein Test mit verschiedenen multiresistenten *S.aureus* Bakterienstämmen, die unter anderem Tetracyclin-, Fluorchinolone- und Chloramphenicol-Transportproteine besaßen, zeigte eine minimale Inhibitionskonzentration von 0,5 µg/mL, ein Wert, der mit kommerziell erhältlichen Antibiotika vergleichbar bzw. je nach Antibiotikum sogar bis zu 128 mal effektiver ist. Neben der Wirksamkeit gegen *S.aureus* zeigte sich auch eine starke Hemmung von *M. tuberculosis*. Um den Wirkmechanismus aufzuklären, wurde zuerst getestet, ob Allicin die

Proteinbiosynthese hemmt. Diese ist essentiell für das Überleben des Bakteriums und stellt, ähnlich wie bei anderen Antibiotika, ein mögliches Angriffsziel dar. Durch Zufüttern von radioaktiv markierten Aminosäuren bei gleichzeitiger Gabe hoher Konzentration der neuen Substanzen konnten nach Extraktion radioaktiv markierte Proteine festgestellt werden. Hätte das Antibiotikum einen Einfluss auf die Proteinbiosynthese gehabt, wären keine markierten Proteine zu finden gewesen. Nun wurde die Auswirkung auf die Fettsäuresynthese getestet, ein ebenfalls überlebenswichtiger Biosyntheseweg. Den Bakterien wurde radioaktiv markiertes Acetat angeboten, der Ausgangsstoff für die Fettsäuresynthese. Nach Extraktion der löslichen Lipide wurden diese auf Radioaktivität untersucht. Keine Radioaktivität konnte detektiert werden, was darauf hindeutet, dass die eingesetzten Naturstoffe die Fettsäuresynthese behindern. Dieser Biosyntheseweg wird bis jetzt noch nicht durch kommerziell erhältliche Antibiotika gestört. Man hat daher ein Antibiotikum gefunden, welches sich durch einen neuartigen Wirkmechanismus auszeichnet. Ein mögliches Ziel innerhalb dieses Biosyntheseweges könnten die Enzyme Fettsäuresynthetase FAS-I und FAS-II darstellen. Auch ist eine Inhibition der AcetylCoA-carboxylase AccD1 denkbar. Alle diese Enzyme sind essentiell für den Fettstoffwechsel. Da bis jetzt allerdings noch keine weiteren Experimente zur Klärung des tatsächlichen Angriffspunktes der Antibiotika durchgeführt wurden, kann noch nicht mit Sicherheit gesagt werden, auf welche Art und Weise die Stoffe ihre Wirkung entfalten. Es wäre ebenfalls möglich, dass der Ausfall der Fettsäuresynthese nur einen unspezifischen Nebeneffekt darstellt und der Wirkmechanismus ein völlig anderer ist. Hier ist also noch weitere Forschung nötig. Da es sich bei den vorgestellten Verbindungen um Natursubstanzen handelt, ist die Patentierung problematisch. Daher sind die Stoffe momentan nur wenig attraktiv für Forschung und Entwicklung (Kyung; 2012). Dies schmälert jedoch nicht den möglichen Einsatz von Knoblauch als Antibiotikum, und bestätigt die vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten neben der literarischen Abwehr von Vampiren – wahrlich eine "Kultur-Pflanze".

## Kurz gefasst

- Die Gattung Allium beinhaltet, insbesondere durch den Knoblauch (*Allium sativum*), sehr alte und bedeutsame Kulturpflanzen, die seit langer Zeit als universelles Heilmittel gegen viele Leiden genutzt werden.
- In den 1940er Jahren identifizierten Biochemiker den Stoff Allicin als eine antimikrobiell wirksame Substanz im Knoblauch.
- Viele Bakterien besitzen multiple Resistenzmechanismen gegen Antibiotika, die sehr schnell mittels mobiler DNA-Elemente verbreitet werden können.
- Wässriger Knoblauchextrakt und reines Allicin zeigen gegenüber grampositiven Bakterien wie *Staphylococcus aureus* antibiotische Wirkung.
- Allicin-Strukturanaloga aus anderen Allium-Arten, sind ebenfalls antibiotisch wirksam. Der genaue Wirkmechanismus ist unbekannt, erste Experimente deuten auf eine Störung der Fettsäuresynthese von Bakterien hin.
- Da es sich bei den vorgestellten Verbindungen um Natursubstanzen handelt, ist die Patentierung problematisch. Daher sind die Stoffe momentan nur wenig attraktiv für Forschung und Entwicklung.

Kontakt:	Schlauer Fuchs
<p>Der Artikel wurde im Rahmen des Studienprojektes HighChem des Fachbereichs Chemie der Technischen Universität Darmstadt verfasst (s. <a href="#">Woche 2</a>).</p> <p>Die Autoren, Adrian Brückner und Mathias Spengler, sind Studierende des Studiengang Lehramt Chemie an Gymnasien an der TU Darmstadt.</p> <p>Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. Katja Schmitz (E-Mail: <a href="mailto:schmitz@biochemie-tud.de">schmitz@biochemie-tud.de</a>).</p>	<p>Unsere Schlaue-Fuchs-Frage zu diesem Beitrag lautete:</p> <p>Welche klare, ölige Flüssigkeit wurde aus Knoblauch isoliert, die sich als entscheidender Stoff für die antimikrobielle Wirkung herausstellte?</p>
Literatur:	
<p>[1] B. B. Petrovska, S. Cekovska, <i>Pharmacognosy reviews</i> <b>2010</b>, 4, 106-110;</p>	
<p>[2] S. Ankri, D. Mirelman, <i>Microbes and infection / Institut Pasteur</i> <b>1999</b>, 1, 125-129;</p>	
<p>[3] K. H. Kyung, <i>Current opinion in biotechnology</i> <b>2012</b>, 23, 142-147</p>	
<p>[4] S. B. Levy, B. Marshall, <i>Nature medicine</i> <b>2004</b>, 10, S122-129;</p>	
<p>[5] M. N. Alekshun, S. B. Levy, <i>Cell</i> <b>2007</b>, 128, 1037-1050;</p>	
<p>[6] H. Fujisawa, K. Watanabe, K. Suma, K. Origuchi, H. Matsufuji, T. Seki, T. Ariga, <i>Bioscience, biotechnology, and biochemistry</i> <b>2009</b>, 73, 1948-1955;</p>	