



# Biotransformation von Fluorchinolonen durch *Xylaria longipes*

M. Rusch<sup>1</sup>, A. Kauschat<sup>1</sup>, A. Spielmeyer<sup>1</sup>, A. Römpf<sup>2</sup>, H. Hausmann<sup>3</sup>, H. Zorn<sup>1</sup>, G. Hamscher<sup>1</sup>

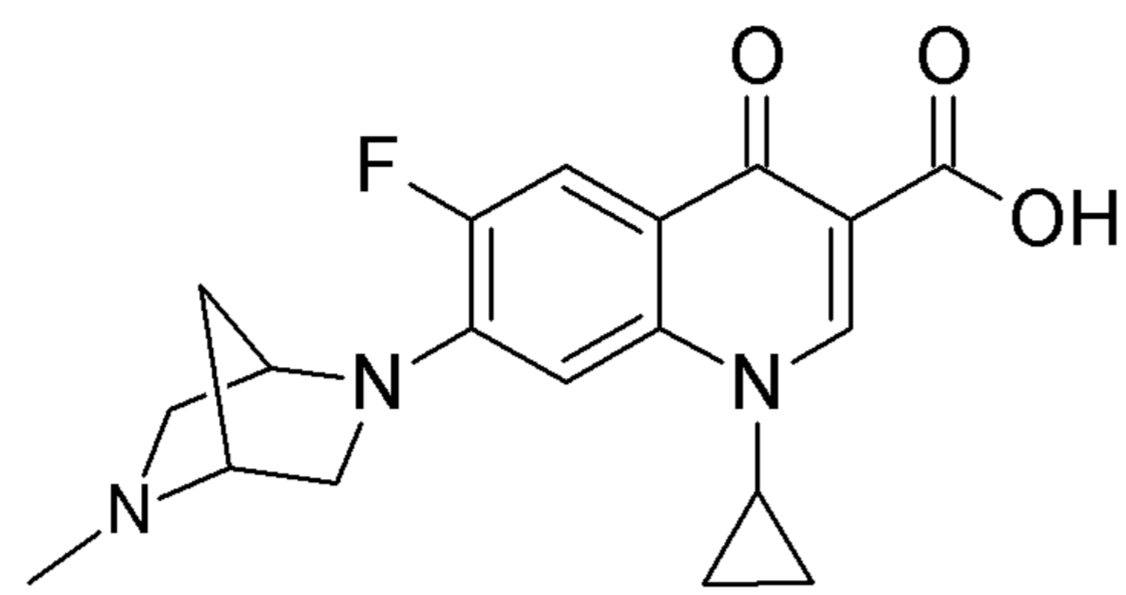
<sup>1</sup>Institut für Lebensmittelchemie und Lebensmittelbiotechnologie, Justus-Liebig-Universität Gießen, Heinrich-Buff-Ring 17, 35392 Gießen

<sup>2</sup>Institut für Anorganische und Analytische Chemie, Justus-Liebig-Universität Gießen, Heinrich-Buff-Ring 17, 35392 Gießen

<sup>3</sup>Institut für Organische Chemie, Justus-Liebig-Universität Gießen, Heinrich-Buff-Ring 17, 35392 Gießen

## Einleitung

In der Nutztierhaltung werden Fluorchinolone wie Danofloxacin (DFX) im großen Maßstab eingesetzt. Obwohl im Jahr 2014 die Gesamtabgabemenge der Antibiotika im Vergleich zu 2011 um 27% gesunken ist, erhöhte sich im gleichen Zeitraum der Anteil an Fluorchinolonen um 50% (2011: 8,2 t, 2014: 12,3 t) [1]. Nach Applikation werden die Wirkstoffe meist unverändert ausgeschieden und gelangen bei Verwendung der Gülle als Dünger auf landwirtschaftliche Nutzflächen und durch Auswaschung letztendlich ins Grundwasser. Durch Antibiotika-Rückstände in der Umwelt wird der Therapieerfolg sowohl in der Human- als auch in der Tiermedizin durch das Auftreten antibiotikaresistenter Bakterien zunehmend gefährdet. Deshalb ist es notwendig, die Einträge dieser Stoffe in die Umwelt zu reduzieren. Dies könnte durch die Behandlung von Gülle vor ihrer Ausbringung - z.B. durch den Einsatz von Pilzen wie *X. longipes* - vorgenommen werden.



Struktur von Danofloxacin

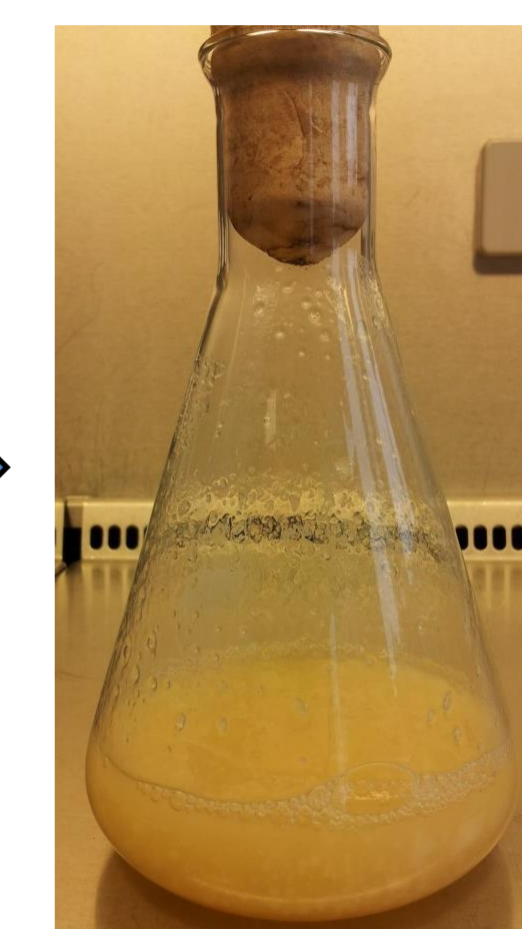


*Xylaria longipes*  
Langstielige  
Ahorn-Holzkeule [2]

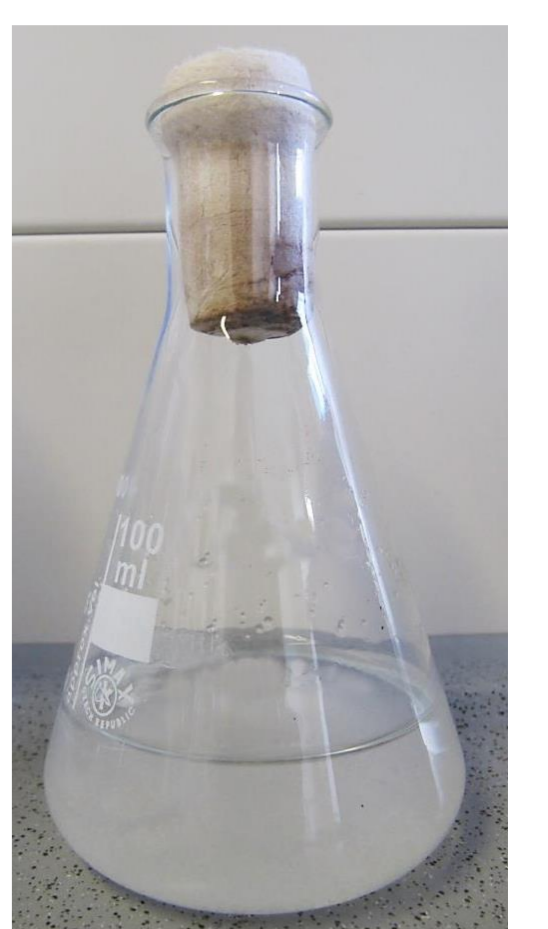
## Experimentelles Design



*X. longipes* auf  
Agarplatte

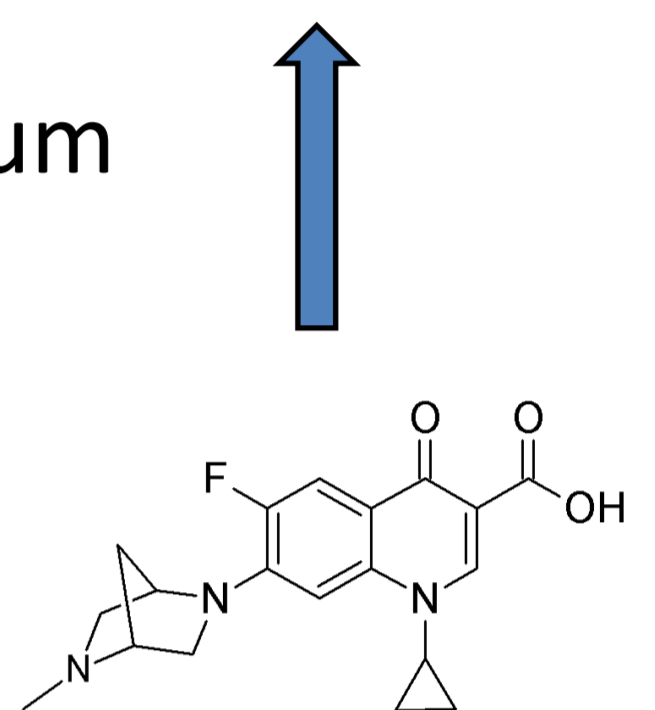


*X. longipes* in  
Vorkultur

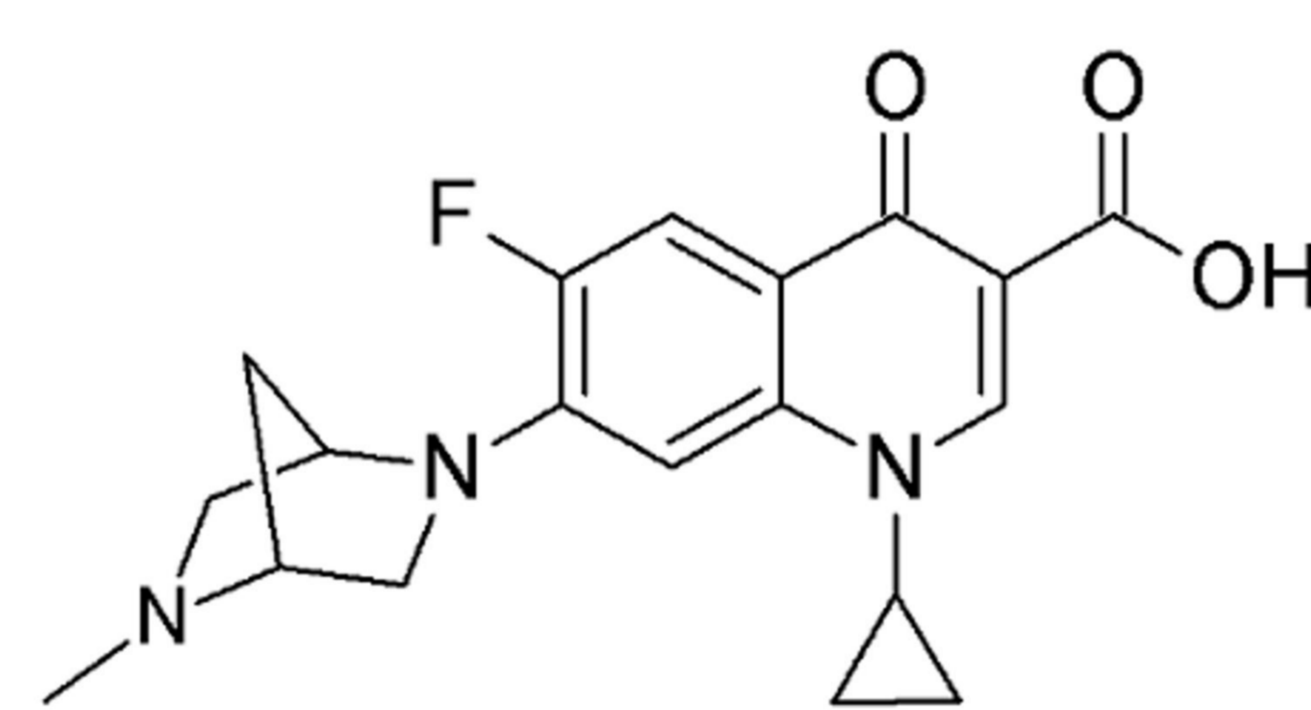
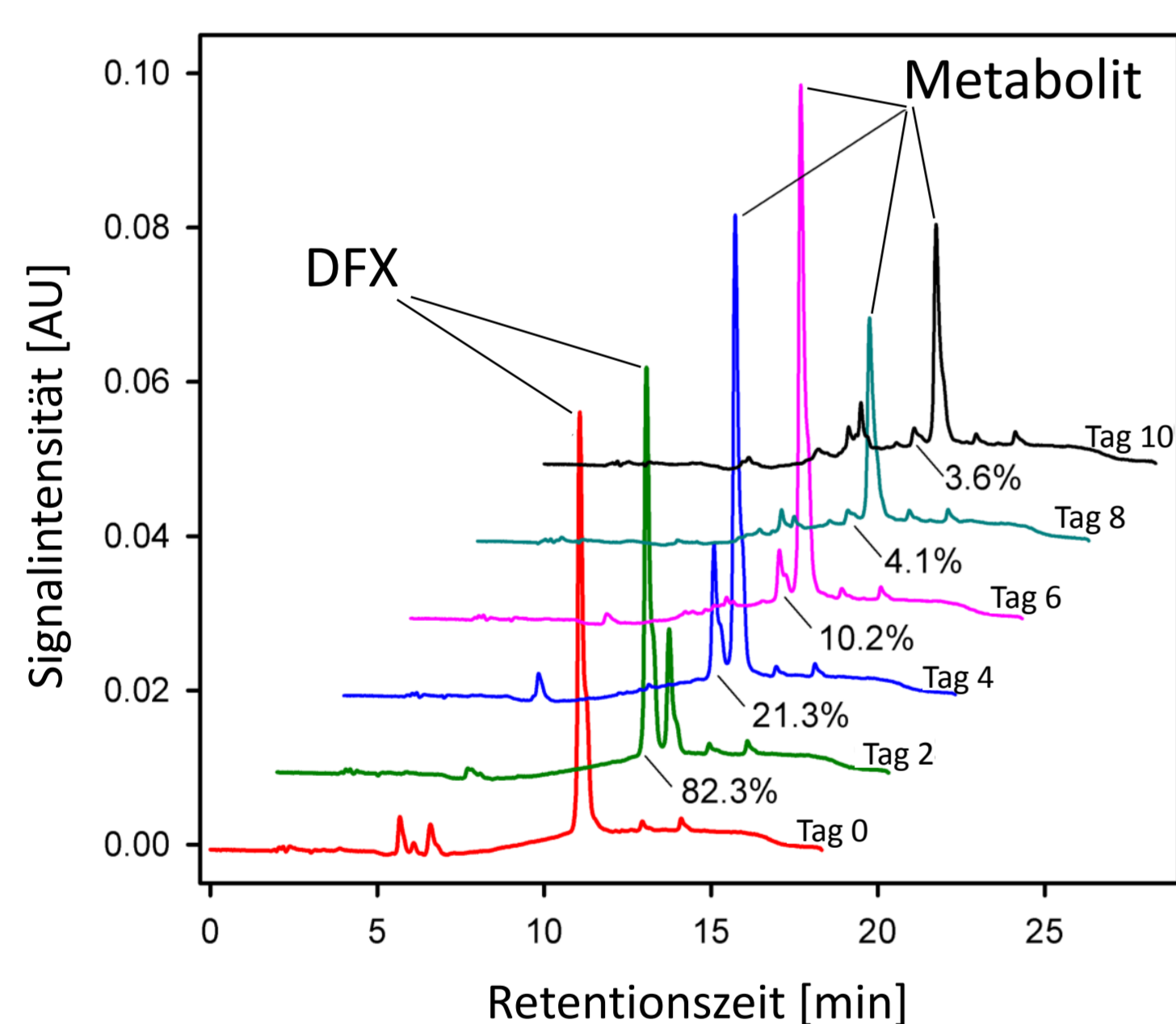


*X. longipes* in  
Hauptkultur

- Kultivierung von *X. longipes* in definiertem Medium mit DFX (20 mg L<sup>-1</sup>)
- Mitführung biotischer und abiotischer Kontrollen
- Probenahme in regelmäßigen Zeitabständen
- Analyse der Proben mittels HPLC-DAD
- Kultivierung im größerem Maßstab
- Isolierung der Metaboliten mittels präparativer HPLC
- Strukturaufklärung mittels HRMS und NMR
- Bestimmung der antibakteriellen (Rest)Aktivität

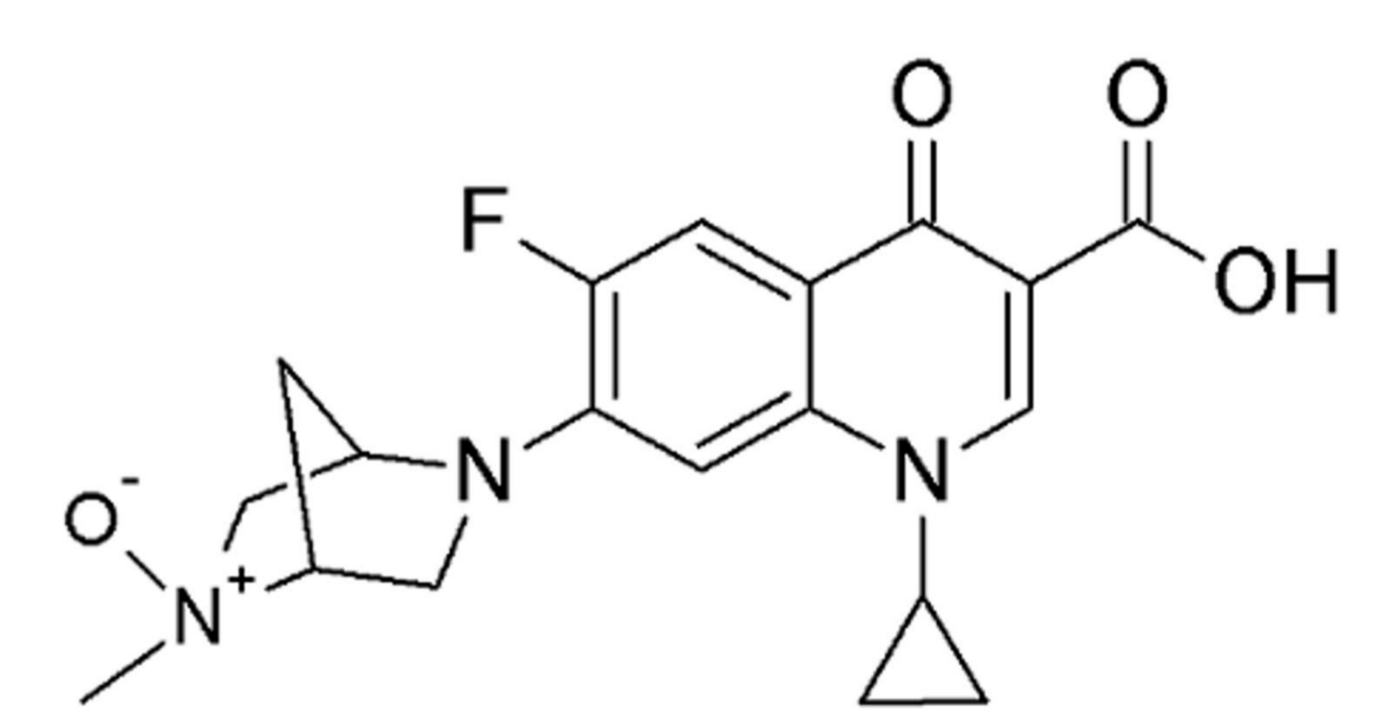


## Ergebnisse

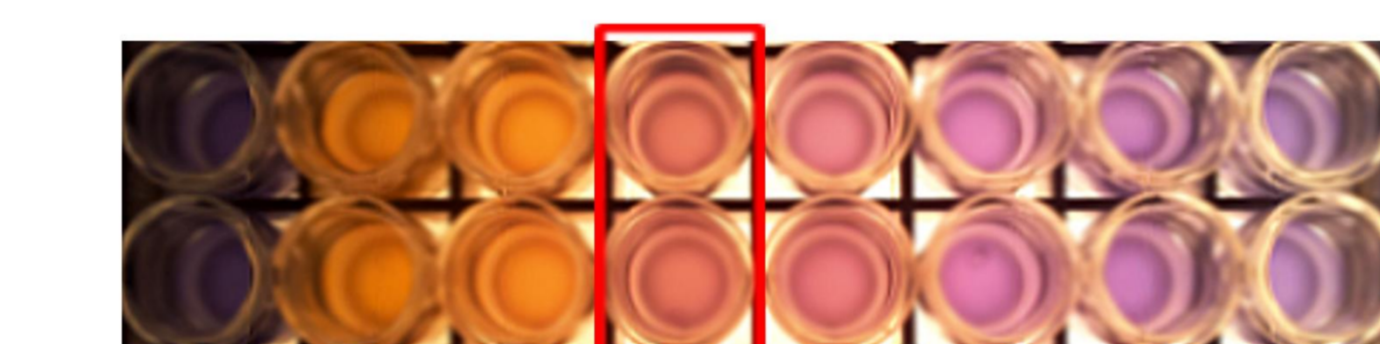


Danofloxacin (DFX)

### *Xylaria longipes*



Danofloxacin N-oxid (DFX-O)



Positiv-  
kontrolle  
Negativ-  
kontrolle  
2 mg L<sup>-1</sup>  
4 mg L<sup>-1</sup>  
6 mg L<sup>-1</sup>  
10 mg L<sup>-1</sup>  
20 mg L<sup>-1</sup>  
24 mg L<sup>-1</sup>

### Antibakterielle Aktivität



Positiv-  
kontrolle  
Negativ-  
kontrolle  
2 mg L<sup>-1</sup>  
4 mg L<sup>-1</sup>  
6 mg L<sup>-1</sup>  
10 mg L<sup>-1</sup>  
20 mg L<sup>-1</sup>  
24 mg L<sup>-1</sup>

- Bildung eines einzigen Peaks parallel zu abnehmender DFX-Konzentration
- nahezu quantitative Umsetzung von Edukt zum Produkt
- bereits nach 6 Tagen 90% von DFX zum Produkt umgesetzt
- nahezu gleiches UV-Spektrum von DFX und Metabolit [3]

- Hinweis auf Oxidation durch Zunahme des Molekulargewichts des Biotransformationsproduktes um 16 Da im Vergleich zu DFX [3]
- vergleichbare MS/MS-Spektren bei DFX und Biotransformationsprodukt [3]
- Identifizierung des Biotransformationsproduktes als Danofloxacin-N-Oxid mittels HRMS und NMR
- **Antibakterielle Restaktivität von 20% bei DFX-O im Vergleich zu DFX**

## Zusammenfassung und Ausblick

- **Schnelle, regioselektive und nahezu quantitative Biotransformation von DFX zu DFX-O durch *X. longipes***
- **Um 80% reduzierte antimikrobielle (Rest)Aktivität im Vergleich zur Muttersubstanz**
- **Biotransformation von Fluorchinolonen durch Pilze kann zur Reduktion der Antibiotikaeinträge in die Umwelt beitragen**
- Submerskultivierung von *X. longipes* mit weiteren veterinärmedizinisch relevanten Fluorchinolonen, Strukturaufklärung sowie Bestimmung der antibakteriellen (Rest)Aktivität der entstandenen Metaboliten

### Literatur:

- [1] Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. Antibiotikaabgabe in der Tiermedizin sinkt weiter, Pressemitteilung <http://www.bvl.bund.de> (Zugriff: August 2015).  
[2] Breitenbach, Kränzlin, Pilze der Schweiz, Band 1, Verlag Mycologia Luzern, 1991, S. 276.  
[3] Rusch *et al.* 2015, J. Agric. Food Chem., DOI: 10.1021/acs.jafc.5b02343.

### Danksagung:

Wir danken dem LOEWE-Schwerpunkt Pilzforschung (IPF) für die Unterstützung dieser Arbeit.

