

Diels-Alder-Reaktionen

Chemie und Biologie natürlicher Diels-Alder-Reaktionen

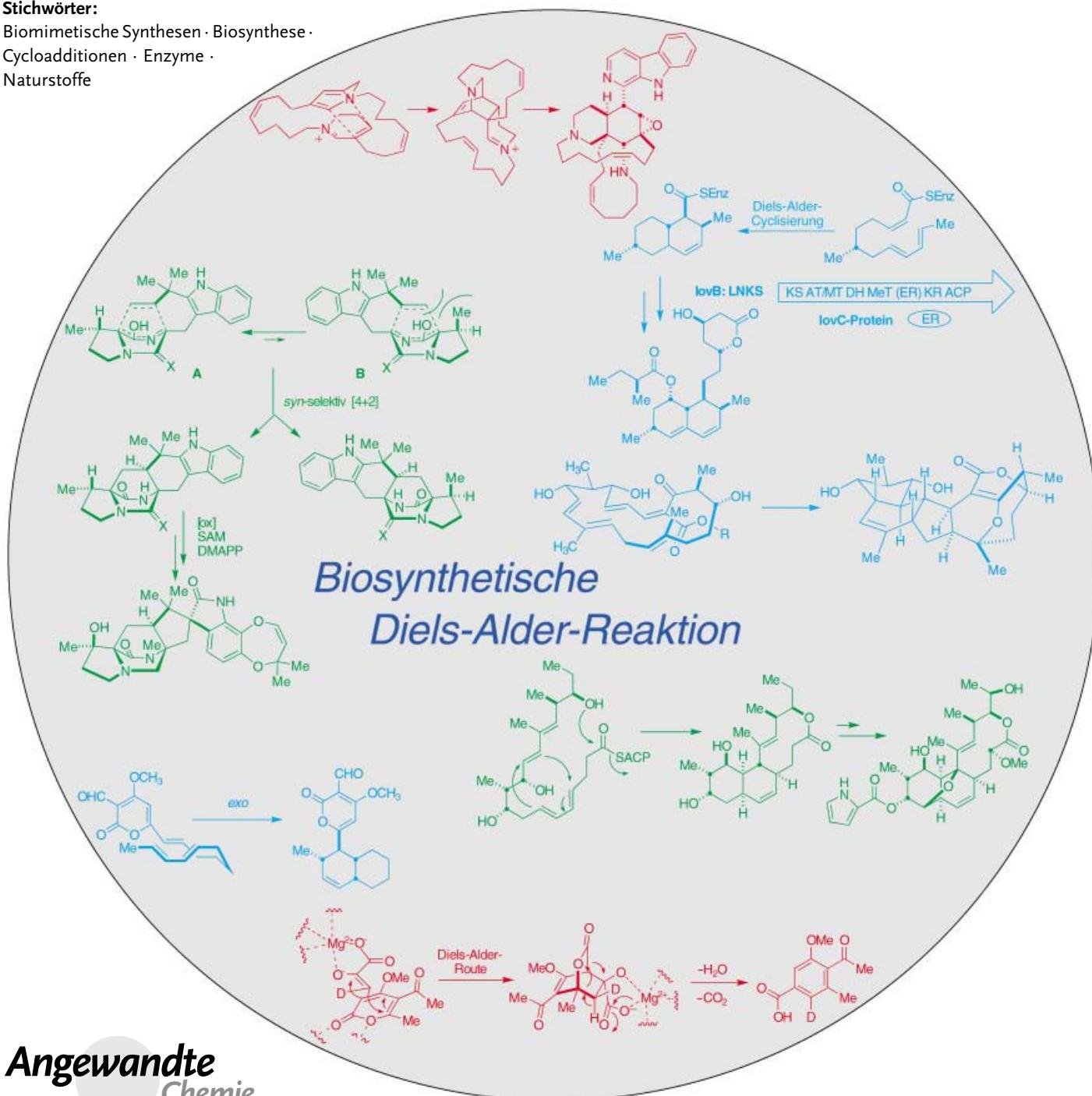
Emily M. Stocking und Robert M. Williams*

Stichwörter:

Biomimetische Synthesen · Biosynthese ·

Cycloadditionen · Enzyme ·

Naturstoffe



Angewandte
Chemie

Seit kurzem ist bekannt, dass Diels-Alder-Cycloadditionen zum Reaktionsrepertoire lebender Systeme gehören. Es gibt auch Anzeichen für eine vermittelnde Wirkung von Enzymen in Diels-Alder-Reaktionen bei der Biosynthese von Sekundärmetaboliten. 2002 jährte sich der Geburtstag von Alder zum 100. Mal und waren 75 Jahre seit der Entdeckung der Diels-Alder-Reaktion vergangen. Es scheint, als ob lebende Systeme schon vor Äonen diese überaus vielseitige und nützliche Ringschlussreaktion entdeckt hätten und seitdem zum Aufbau komplexer Naturstoffe nutzen. Wir geben hier einen Überblick über Naturstoffe verschiedener Verbindungsklassen (Polyketide, Isoprenoide, Phenylpropanoide, Alkaloide), bei deren Biosynthese eine Beteiligung von Diels-Alder-Reaktionen, katalysiert oder unkatalysiert, vermutet wird.

1. Einleitung

Die Diels-Alder-Reaktion ist ein leistungsfähiges Verfahren in der organischen Synthese zur Knüpfung von Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungen. Sie ermöglicht einen einfachen, stereospezifischen Zugang zu sechsgliedrigen Ringen.^[1] Es wird spekuliert, dass sich auch die Natur beim Aufbau einiger Sekundärmetabolite dieser Reaktion bedient.^[2] Viele der auf dieser Annahme beruhenden Biosynthese-Vorschläge enthalten die Möglichkeit einer enzymatischen Katalyse der [4+2]-Cycloaddition, die zum Naturstoff mit der „richtigen“ Konfiguration führt. Grundsätzlich katalysieren Enzyme Reaktionen durch Stabilisierung der Struktur und Ladung des sich bildenden Übergangszustands. Bei den meisten dieser Reaktionen unterscheiden sich sowohl das Substrat als auch das Produkt strukturell deutlich vom Übergangszustand. Daher sind sowohl das Produkt als auch das Substrat lockerer an das Enzym gebunden als der aktivierte Komplex, was die Katalyse ermöglicht. Bei Diels-Alder-Reaktionen ist jedoch der Übergangszustand hoch geordnet und ähnelt strukturell sehr dem Produkt. Ein Enzym, das diesen Übergangszustand stabilisiert, sollte auch das Produkt stark binden und dadurch inhibiert werden. Ein Fortschreiten der Reaktion und eine Katalyse wären also ausgeschlossen. Alternativ kann die freie Aktivierungsenergie einer Reaktion auch durch eine Erhöhung der Grundzustandsenergie der Reaktanten erniedrigt werden. Bei Diels-Alder-Reaktionen könnte das durch Einführen einer Torsionsspannung in Dienophil oder Dien bewerkstelligt werden, es ist aber schwierig, eindeutige Beispiele dafür in der Literatur zu finden. Die Aussicht auf den Nachweis einer Diels-Alderase ist daher für mechanistisch arbeitende Enzymologen verlockend, da hierüber auch ein in der Natur neuartiger Katalysemechanismus entdeckt werden könnte.

Bis vor kurzem war unklar, ob Diels-Alderasen existieren. Die Katalyse von Diels-Alder-Cycloadditionen durch Biomoleküle ist dagegen seit einigen Jahren bekannt. 1989 berichteten Hilvert et al. als erste über die Katalyse einer Diels-Alder-Reaktion durch Antikörper.^[3] Sie gewannen monoklonale Antikörper gegen das Hapten **1** (Schema 1), das dem Übergangszustand der Diels-Alder-Reaktion zwi-

Aus dem Inhalt

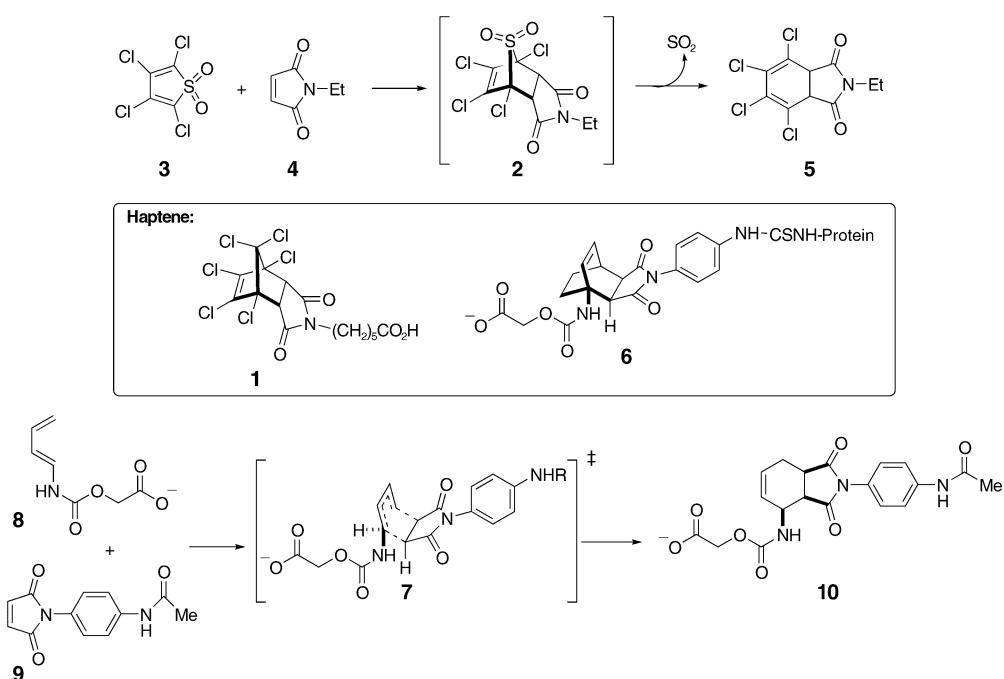
1. Einleitung	3187
2. Polyketide	3188
3. Isoprenoide	3200
4. Phenylpropanoide	3204
5. Alkaloide	3208
6. Addendum	3217
7. Zusammenfassung	3219

schen Tetrachlorthiophendioxid (**3**) und *N*-Ethylmaleimid (**4**) ähnelt. Der Antikörper katalysiert die Diels-Alder-Reaktion, indem das Dien **3** und das Dienophil **4** in einer reaktiven Konformation gebunden werden, wodurch die Aktivierungs-entropie erniedrigt wird. Eine Inhibierung des Katalysators durch das Produkt findet nicht statt, da das labile Cycloaddukt SO₂ abspaltet und das gebildete Produkt **5** dem Hapten **1** nicht mehr ähnelt.

Braisted und Schultz verfolgten einen anderen Ansatz zur Vermeidung der Produktinhibierung bei Antikörper-katalysierten Diels-Alder-Reaktionen (Schema 1).^[4] Sie zwangen durch die Ethano-Brücke den Cyclohexenring des Haptens **6** in eine Konformation, die dem vermuteten Übergangszustand **7** der Diels-Alder-Reaktion zwischen dem acyclischen Dien **8** und dem Dienophil **9** ähnelt. Die Autoren argumentieren, dass das Produkt **10** eine verdrehte Sesselkonformation der starren Bootkonformation, die durch das Bicyclo[2.2.2]hapten **6** induziert wird, vorzieht. Dadurch wird das Loslösen von der Bindungsstelle des Antikörpers möglich. Bei der anschließenden Aufklärung der Struktur dieses katalytischen Antikörpers im Komplex mit dem Hapten wurden 89 Van-der-Waals-Wechselwirkungen und zwei Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Antikörper und dem Hapten nachgewiesen. Durch diese Wechselwirkungen wird das Dienophil anscheinend aktiviert und die relative Anordnung der gebundenen Substrate kontrolliert.^[5]

Eine andere Art von Biomolekülen, die zur Katalyse der Diels-Alder-Reaktion eingesetzt werden, sind Ribonucleinsäuren (RNAs).^[6] Ihr Katalysemechanismus unterscheidet sich allerdings drastisch von dem katalytischer Antikörper. Weil die Aktivität der RNA-Diels-Alderase von der Spezifität der Base und der Koordination an ein Übergangsmetall abhängt, ähnelt der Mechanismus mehr dem einer Lewis-Säure-katalysierten Diels-Alder-Reaktion.

[*] Professor Dr. R. M. Williams, Dr. E. M. Stocking
Department of Chemistry
Colorado State University
Fort Collins, CO 80523 (USA)
Fax: (+1) 970-491-3944
E-mail: rmw@chem.colostate.edu



Schema 1. Antikörper-Katalyse von Diels-Alder-Reaktionen.^[3,4]

Die Bedeutung der Proteinorganisation für Diels-Alder-Reaktionen in biologischen Systemen und mögliche Katalysemechanismen war lange umstritten. Die Debatte lebte kürzlich, nach der Charakterisierung zweier natürlich vorkommender potenzieller Diels-Alderasen, neu auf.^[7,8] Nach der Isolierung dieser Enzyme ist nun auch die Diels-Alder-Reaktion zu den Biosynthesereaktionen zu zählen.

Im Folgenden geben wir einen Überblick über diejenigen Naturstoffe, für deren Biosynthese Diels-Alder-Reaktionen, katalysiert oder unkatalysiert, vorgeschlagen wurden. Sofern entsprechende Informationen vorliegen, fassen wir auch die Untersuchungen zusammen, die zu dieser Schlussfolgerung führten. Obwohl es zahllose Verbindungen gibt, deren Struktur formal durch eine [4+2]-Cycloaddition entstanden sein kann, beschränkt sich diese Übersicht auf die Naturstoffe, die als mutmaßliche Diels-Alder-Cycloaddukte beschrieben wurden. Der Aufsatz gliedert sich nach Verbindungsklassen gemäß ihrer biosynthetischen Bausteine: Poly-

ketide (Acetat), Isoprenoide (Mevalonat), Phenylpropanoide (Shikimisäure) und Alkaloide (Aminosäuren). Diese Aufteilung ist oft etwas künstlich, weil zahlreiche Stoffe biochemisch gemischten Ursprungs sind (z.B. Cytochalasine, Pycnidione und Brevianamide).

2. Polyketide

Da sich Polyketide von Acetat ableiten, ist diese Verbindungsklasse besonders gut für Isotopenmarkierungsuntersuchungen geeignet, weil z.B. isotopenmarkierte Vorstufen gut zugänglich und vergleichsweise billig sind und in Fütterungsexperimenten oft gut in die entsprechenden Sekundärmetabolite eingebaut werden. Es ist daher kaum überraschend, dass ein Großteil der experimentellen Daten zu natürlichen Diels-Alder-Reaktionen aus Biosyntheseuntersuchungen an Polyketiden gewonnen wurde. Auch Lovastatin



Robert M. Williams wurde 1953 in New York geboren und studierte an der Syracuse University. Dort erhielt er 1975 den Grad eines BA in Chemie. Seinen PhD erwarb er 1979 am MIT, anschließend war er Postdoktorand an der Harvard University (1979–1980). 1980 schloss er sich der Fakultät der Colorado State University an und wurde 2002 zum University Distinguished Professor ernannt. Sein Forschungsinteresse gilt der Totalsynthese von Naturstoffen, der Untersuchung von Biosynthesewegen und Wechselwirkungen von Krebstherapeutika mit DNA sowie dem Design und der Synthese von Antibiotika.



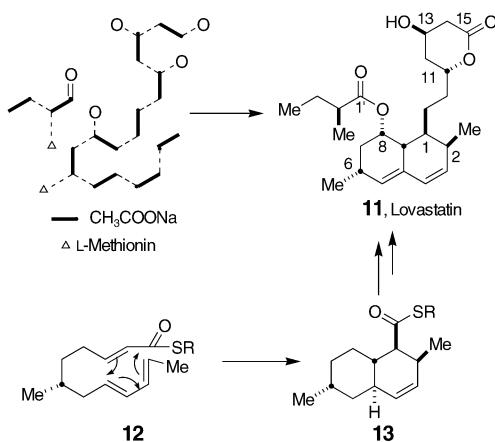
Emily M. Stocking wurde 1970 in Oakland, Kalifornien, geboren. Sie erhielt den Grad eines BAS in Chemie und Biologie von der University of California in Davis und ging 1993 an die NIH Stable Isotopes Resource am Los Alamos National Laboratory. 1994 wechselte sie in die Arbeitsgruppe von Professor R. M. Williams an die Colorado State University. Hier gelang ihr die Totalsynthese des Indolalkaloids VM55599, ferner untersuchte sie die Biosynthese von Paraherquamicid A. Seit ihrer Promotion im Jahr 2001 arbeitet sie bei Johnson and Johnson Pharmaceutical Research and Development in La Jolla, Kalifornien.

und Makrophomsäure, für die Enzyme (Diels-Alderasen) isoliert wurden,^[7,8] sind Polyketide.

2.1. Decalin-Polyketide

2.1.1. Lovastatin (Mevinolin)

Lovastatin (**11**), auch bekannt unter dem Namen Mevinolin, ist ein wirkungsvoller Inhibitor der Cholesterin-Biosynthese beim Menschen und ein klinisch nützliches und sehr erfolgreiches Medikament. Aus Fütterungsexperimenten mit dem produzierenden Pilzstamm, *Aspergillus terreus* (ATCC 20542), mit $[1-^{13}\text{C}]$ -, $[2-^{13}\text{C}]$ -, $[1,2-^{13}\text{C}_2]$ -, $[1-^{13}\text{C}, 1-^{18}\text{O}_2]$ -, $[1-^{13}\text{C}, 2-^2\text{H}_3]$ - und $[2-^{13}\text{C}, 2-^2\text{H}_3]$ Acetat ist bekannt, dass **11** aus einer C_{18} - und einer C_4 -Einheit besteht und durch die Kopf-Schwanz-Verknüpfung von Acetat gebildet wird (Schema 2).^[9] Interessanterweise konnte von den fünf Sauerstoffatomen in Lovastatin nur das an C11 eindeutig Acetat als Quelle zugeordnet werden. Die beiden Methylgruppen an C2 und C6 stammen aus S-Adenosylmethionin (SAM), wie durch



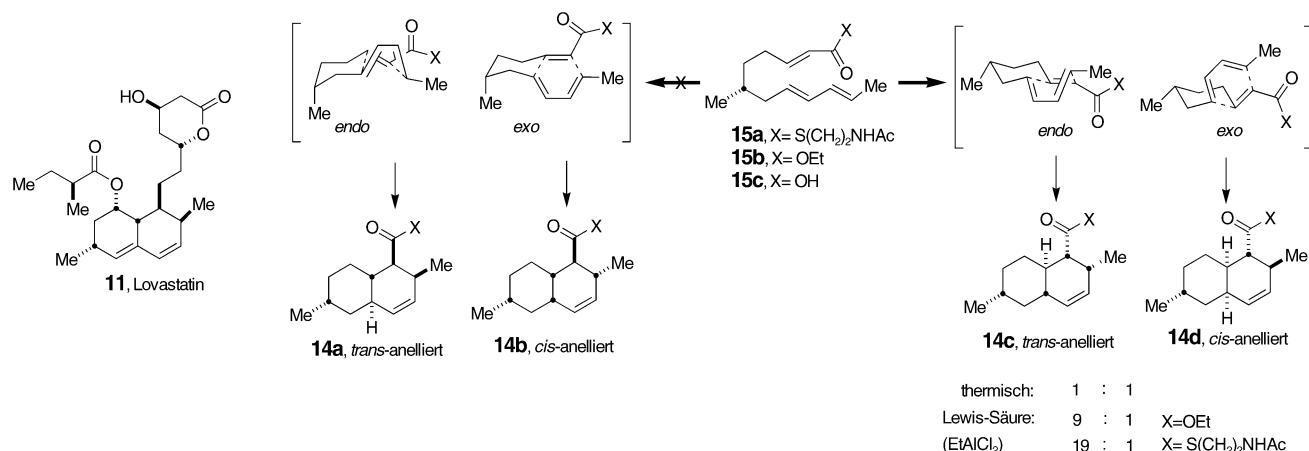
Schema 2. Herkunft der Kohlenstoffatome von Lovastatin (**11**) und möglicher Verlauf der Biosynthese.^[9,10]

Fütterungsexperimente mit $[^{13}\text{CH}_3]$ Methionin gezeigt werden konnte.

Durch Subkultur Selektion wurde ein neuer Stamm von *A. terreus* (MF 4845) erhalten, der **11** in einer wesentlich höheren Ausbeute produziert (200 mg pro Liter Kultur), sodass der Ursprung der Sauerstoffatome von **11** genauer untersucht werden konnte.^[10] Die Fermentation von *A. terreus* in einer $^{18}\text{O}_2$ -angereicherten Atmosphäre bewies, dass das Sauerstoffatom an C8 aus molekularem Sauerstoff stammt. Die Ergebnisse eines anderen Fütterungsexperiments mit $[1-^{13}\text{C}, 1-^{18}\text{O}_2]$ Acetat wiesen darauf hin, dass die Sauerstoffatome an C1', C11, C13 und C15 aus Acetat stammen. Basierend auf diesen Resultaten wurde der in Schema 2 vorgeschlagene Biosyntheseweg formuliert.^[9,10] Vederas, Hutchinson et al. vermuteten, dass die an der Biosynthese von **11** beteiligten Enzyme denen der Fettsäure-biosynthese ähneln.^[9,13] Demnach könnte die Kondensation von Acetat (über Malonat) zum Trien **12** mit anschließender *endo*-selektiver Diels-Alder-Cycloaddition zum Decalin **13** führen.

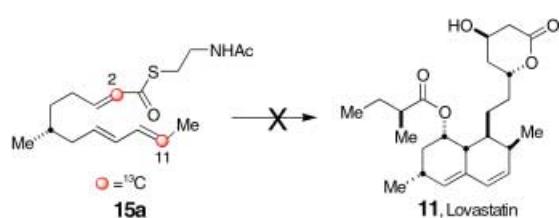
Zur Überprüfung dieser Hypothese wurden die Analoga **14** sowohl durch thermische als auch durch Lewis-Säure-katalysierte Diels-Alder-Cyclisierungen des Thioesters **15a**, des Ethylesters **15b** und der Säure **15c** synthetisiert (Schema 3).^[11] Bei der thermischen Cyclisierung betrug das Produktverhältnis *endo*(**14c**):*exo*(**14d**) 1:1, vermutlich wegen der sesselartigen Konformation des Übergangszustands mit pseudoäquatorialer Anordnung der Methylseitenkette. Das *endo*-Produkt **14a** (das über einen Übergangszustand mit pseudoaxialer Stellung der Methylseitenkette entstehen müsste) mit der gleichen Konfiguration wie **11** wurde nicht nachgewiesen. Die Lewis-Säure-katalysierte Diels-Alder-Reaktion lieferte die beiden gleichen Produkte wie die thermische Reaktion, das *endo*:*exo*-Verhältnis betrug aber 9:1 für **15b** und 19:1 für **15a**. Das Fehlen von **14a** bei den Laborversuchen legt eine Enzymkatalyse der Diels-Alder-Cyclisierung bei der Biosynthese von **11** nahe.

In vivo wurde die Diels-Alder-Aktivität in Fütterungsexperimenten mit *Aspergillus terreus* (MF 4845) und **15a** unter unterschiedlichen Bedingungen untersucht; verfüttert



Schema 3. In-vitro-Synthese der Decaline **14** durch Diels-Alder-Cyclisierung der Triene **15**. Thermisch: Toluol, 160°C, 4 Tage; Lewis-Säure-katalysiert: 0.9 Äquiv. EtAlCl_2 , RT, 3 h.^[11]

wurde an C2 und C11 ^{13}C -markiertes **15a** (Schema 4).^[11] Diese markierte Vorstufe kann durch β -Oxidation leicht in kleinere Bausteine (z.B. Acetat) gespalten werden. Der Einbau der vollständigen Vorstufe würde zur ^{13}C -Markierung benachbarter Kohlenstoffatome führen, die durch ^{13}C - ^{13}C -Kopplung im NMR-Spektrum erkennbar wäre. Nach Fütterung mit [2,11- ^{13}C]-**15a** trat allerdings keine ^{13}C - ^{13}C -Kopplung in den NMR-Spektren auf. Anscheinend wird **15a** katabolisiert, bevor es eine Cycloaddition eingehen kann.

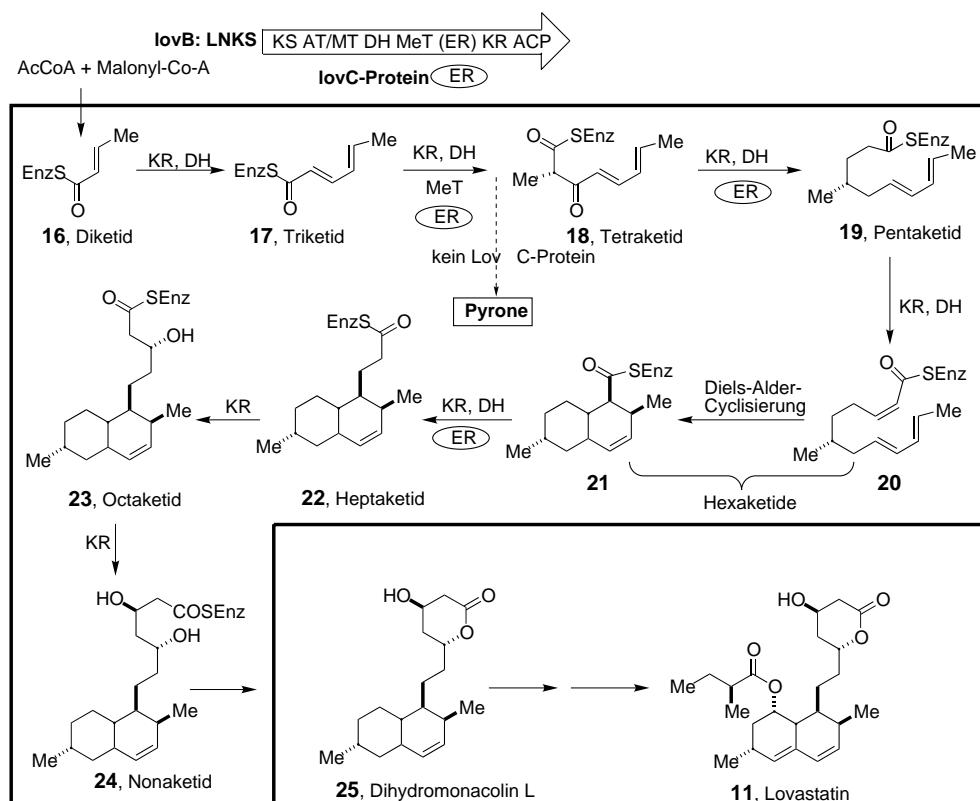


Schema 4. Fütterungsexperimente mit [2,11- ^{13}C]-**15a** zur Untersuchung der Diels-Alder-Aktivität von *A. terreus* (MF 4845).^[11]

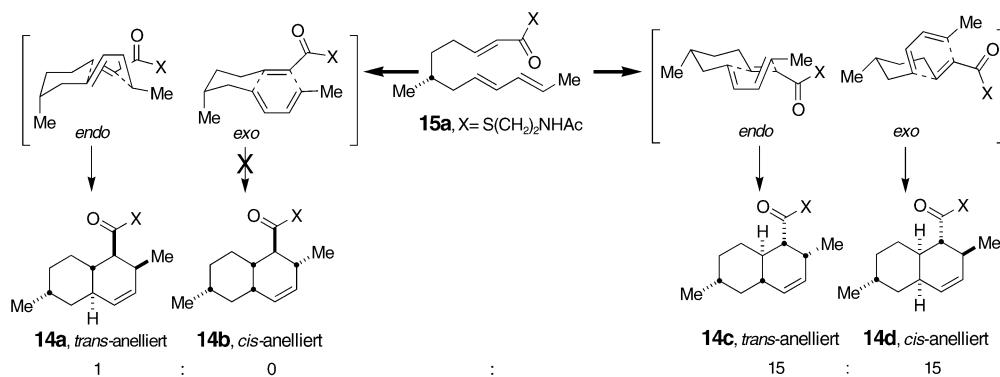
Schema 5 gibt einen Überblick über den angenommenen Verlauf der Biosynthese von **11** sowie die Rolle der hieran beteiligten Gene *lovB* und *lovC*. Vederas und Hutchinson et al. bewiesen, dass Dihydromonacolin L (**25**), ein Interme-

diat bei der Biosynthese von **11**,^[12] auch vom heterologen Wirt *Aspergillus nidulans* gebildet wird, wenn dieser die Gene *lovB* und *lovC* aus *Aspergillus terreus* enthält.^[13] Ferner entstehen bei der Expression des durch *lovB* kodierten Proteins (Lovastatin-Nonaketid-Synthase, LNKS) ohne das Protein LovC verkürzte Pyrone, weil die Enoyl-Reduktion auf der Stufe des Tetraketids nicht effizient abläuft. Diese Ergebnisse wurden als Indizien für die katalytische Aktivität von LNKS bei Diels-Alder-Reaktionen interpretiert.^[7,13]

Die enzymatische Aktivität von LNKS wurde am Analogon **15a** der vermuteten Cycloadditionsvorstufe getestet. Der *N*-Acetyl-cysteamin(NAC)-Ester **15a** (Schema 6) wurde einer wässrigen, gepufferten Lösung des reinen homogenen LNKS-Proteins zugesetzt.^[7] Das *endo*-Diels-Alder-Produkt **14a** mit der gleichen Konfiguration wie **11** wurde zusammen mit den Produkten **14c** und **14d** der nichtenzymatischen Reaktion erhalten (**14a**:**14c**:**14d** = 1:15:15). Das *cis*-verknüpfte Produkt **14b** wurde in keinem der Versuche nachgewiesen. Wurde **15a** zu thermisch denaturiertem LNKS gegeben, wurden **14c** und **14d**, aber kein **14a** gebildet. Die Cycloaddukte **14c** und **14d** entstehen aus einem Übergangszustand, bei dem die Methylgruppe an C6 sterisch günstig pseudoäquatorial angeordnet ist. Im zu **14a** führenden Übergangszustand muss diese Methylgruppe eine sterisch stärker gehinderte pseudoaxiale Orientierung einnehmen. LNKS scheint also das Substrat in einer Konformation zu binden,



Schema 5. Möglicher Biosyntheseweg zu Lovastatin (**11**). Der Kasten beinhaltet Reaktionen, die durch LNKS und das Protein LovC katalysiert werden. Die Domänen für LNKS und LovC wurden homolog zu den Sequenzen anderer Polyketid-Synthase(PKS)-Proteine zugeordnet.^[7] KR = Keto-Reduktase, DH = Dehydratase, MeT = Methyl-Transferase, ER = Enoyl-Reduktase, KS = β -Ketoacyl-Synthase, ACP = Acylträgerprotein, AT/MT = Acetyl-/Malonyl-Transferase.

Schema 6. Synthese von 14 in vitro durch eine enzymatische Diels-Alder-Cyclisierung.^[7]

die dem **14a** liefernden *endo*-Übergangszustand ähnelt (analoge Wirkungsweise wie katalytische Antikörper). Eine Wasserstoffbrückenbindung des Carbonylsauerstoffatoms im aktiven Zentrum von LNKS macht zudem das Dienophil elektronenärmer, ähnlich der Lewis-Säure-Katalyse von Diels-Alder-Reaktionen im Labor. Weil **14a** in Gegenwart von denaturierter LNKS nicht gebildet wurde, kann die asymmetrische Induktion der Diels-Alder-Reaktion nicht von der unspezifischen Bindung eines chiralen Proteins herühren.^[14] LNKS ist also die erste natürliche, in Reinform erhaltene Diels-Alderase.^[7]

2.1.2. Solanapyrone

Andere Decaline polyketidischen Ursprungs, deren Bildung vermutlich über eine [4+2]-Cycloaddition verläuft, sind die Solanapyrone, Phytotoxine des pathogenen Pilzes *Alternaria solani*.^[15] Durch Fütterungsexperimente mit einfach und mehrfach isotopenmarkiertem Acetat und [¹³CH₃]Methionin wurde der Ursprung aller Kohlenstoffatome in Solanapyron A (**26**) aufgeklärt.^[16] Die Ergebnisse sind in Schema 7 wiedergegeben. Da nach Fütterung von [1-¹³C, 1-¹⁸O]Acetat im ¹³C-NMR-Spektrum von **26** die Signale für C13 und C15 hochfeldverschoben sind, ist ausgeschlossen, dass das Polyketid durch oxidative Spaltung einer längerkettigen Vorstufe gebildet wird. Ferner scheint C15 das terminale Kohlenstoffatom des Polyketids gewesen zu sein. In Fütterungsexperimenten mit [1-¹³C, 2-²H₃]- und [2-¹³C, 2-²H₃]Acetat wurde die Herkunft der Wasserstoffatome aufgeklärt und der Erhalt des (*pro-S*)-Wasserstoffatoms durch die Enoyl-Reduktase nach-

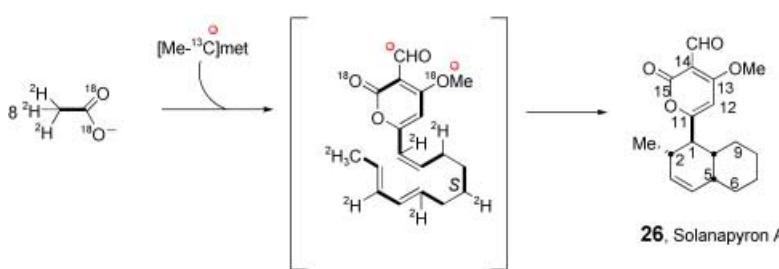
gewiesen. Die Konfiguration an C1, C2, C5 und C10, die Position der Doppelbindung und die Konfiguration von C5 und C7 mit den aus Acetat stammenden Deuteriumatomen lassen sich mit der Annahme vereinbaren, dass das Decalin-Ringsystem über eine Diels-Alder-Reaktion aufgebaut wird.

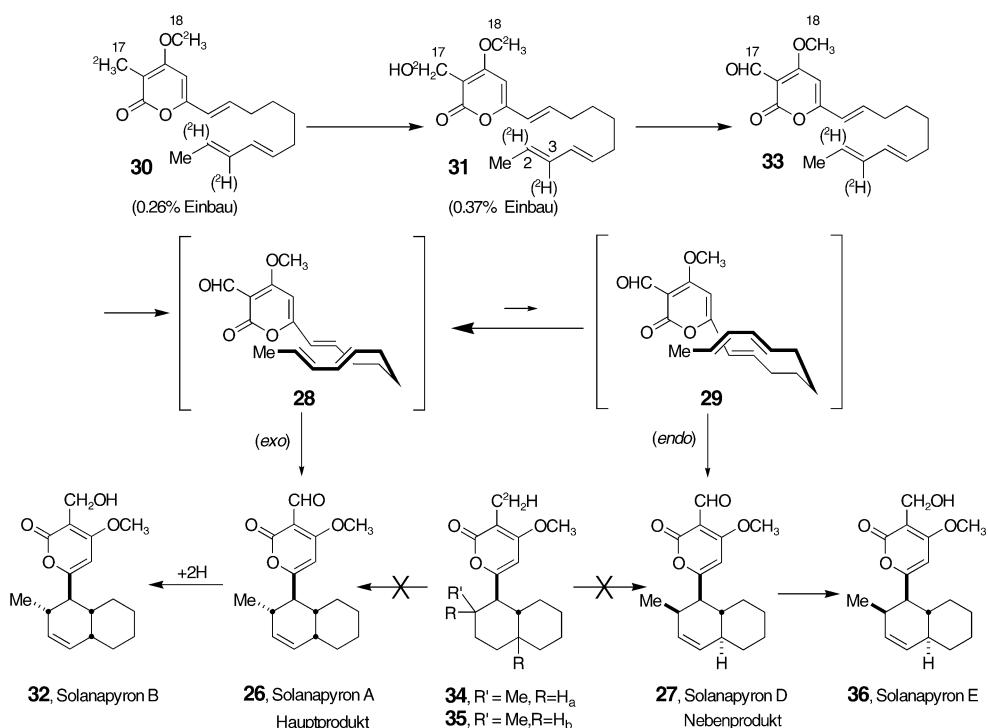
Auch die Isolierung des Nebenprodukts Solanapyron D (**27**), eines Diastereomers von **26**, stützt die Hypothese einer Diels-Alder-Reaktion bei der Biosynthese.^[17] Wegen der Drehbarkeit um die C5-C6-Bindung könnte die Diels-Alder-Reaktion zum *exo*- oder zum *endo*-Cycloaddukt führen (Schema 8). Dreiding-Modelle lassen eine ähnliche Stabilität für die beiden Übergangszustände **28** und **29** vermuten; die biomimetische Synthese von **26** ergab aber ein Produktverhältnis von 2:1 zugunsten des *endo*-Addukts **27**.^[18] Dagegen ist im lebenden Organismus das *exo*-Produkt das Hauptisomer, was der erste Hinweis auf eine enzymvermittelte Reaktion war.

Weitere Anhaltspunkte für eine Diels-Alder-Reaktion bei der Biosynthese der Solanapyrone lieferte der Einbau der achiralen deuterierten Triene **30** und **31** bei der In-vivo-Synthese von **26** und **32**.^[19,20] Der Einbau der Vorstufe **30** zeigte einen Verlust an Deuterium an C17 an. Im ²H-NMR-Spektrum änderte sich das Verhältnis der Integrale für die Signale von Deuterium an C17 zu Deuterium an C18 von 2:3 (**30**) zu 1:4.3 (**26**) bzw. 1:5.1 (**32**). Gleiche Deuterierungsgrade für **26** und **32** weisen darauf hin, dass **26** zu **32** reduziert wird und beide Trienvorstufen **30** und **31** zum gleichen Intermediat, vermutlich dem C17-Aldehyd Prosolanapyron II (**33**), oxidiert werden. Fütterungsversuche mit **33** waren wegen dessen hoher Reaktivität nicht möglich: In wässriger Umgebung tritt spontan *endo*-Cyclisierung ein.

Wegen dieser Reaktivität ist **33** wahrscheinlich das direkte Edukt für die Diels-Alder-Cyclisierung (Schema 8). Der Einbau von [²H₇]-**31** mit nahezu unverändertem Deuterierungsgrad belegt den Einbau der intakten Dien-/Dienophilvorstufe. Da die isotopenmarkierten Verbindungen **34** und **35** nicht in **26** oder **27** eingebaut wurden, tritt die Diels-Alder-Reaktion also wahrscheinlich nach der Oxidation ein.

Enzymaktivität wurde auch im zellfreien Extrakt von *Alternaria solani* nachgewiesen,

Schema 7. Einbau von isotopenmarkiertem Acetat und Methionin in Solanapyron A (**26**).^[16]



Schema 8. Einbau deuterierter Triene in die Solanapyrone A (26) und D (27). Das Thioacetal von 27 ist bei der Laborsynthese das Hauptprodukt (2:1).^[19,20]

wobei die Umsetzung von **33** zu den Solanapyronen A (**26**) und D (**27**) katalysiert wurde. Die Ausbeute betrug 25 %, das Verhältnis von *exo*- zu *endo*-Cycloaddukt 53:47.^[21] Da bei einem Kontrollexperiment mit denaturiertem Enzym dieses Verhältnis nur 3:97 betrug und nur 10 % des Ausgangsstoffs umgesetzt wurden, wurde diese Stereoselektivität im zellfreien Extrakt als Anzeichen für enzymatische Aktivität interpretiert.

Die Ausbeute bei der Umsetzung von **31** mit nicht gereinigtem Enzym betrug 25 % (19 % **26** und **27**, 6 % **33**) mit einem *exo/endo*-Cycloadditionsverhältnis von 85:15 und einer optischen Reinheit (für **26**) von 99 % *ee*. Die optische Reinheit von aus **33** gebildetem **26** betrug 92 % *ee*. Weil dieser Wert niedriger ist als der bei der Bildung aus **31**, scheint ein einziges Enzym die Oxidation und die Cycloaddition zu katalysieren und für die Entstehung der optisch reinen Solanapyrone im lebenden System verantwortlich zu sein. Die Unterdrückung der enzymatischen Cycloaddition von **31** bei Abwesenheit von Sauerstoff (Argonatmosphäre) ist dafür ein weiterer Beleg.

2.1.3. Nargenicin

Nargenicin (**37**) ist ein Polyketidantibiotikum aus *Nocardia argentinensis* und enthält ein makrocyclisches Lacton, das mit einem *cis*-Octahydronaphthalin(Octalin)ring verknüpft ist. Biosynthetisch wird **37** aus fünf Acetat- und vier Propionateinheiten gebildet.^[22] Nach Fütterungsexperimenten mit $[1-^{13}\text{C}, 1-^{18}\text{O}_2]$ -Acetat und $[1-^{13}\text{C}, 1-^{18}\text{O}_2]$ -Propionat sollten die Sauerstoffatome an C1 und C11 aus Acetat und die an C9 und C17 aus Propionat stammen (Einschub in Schema 9). In

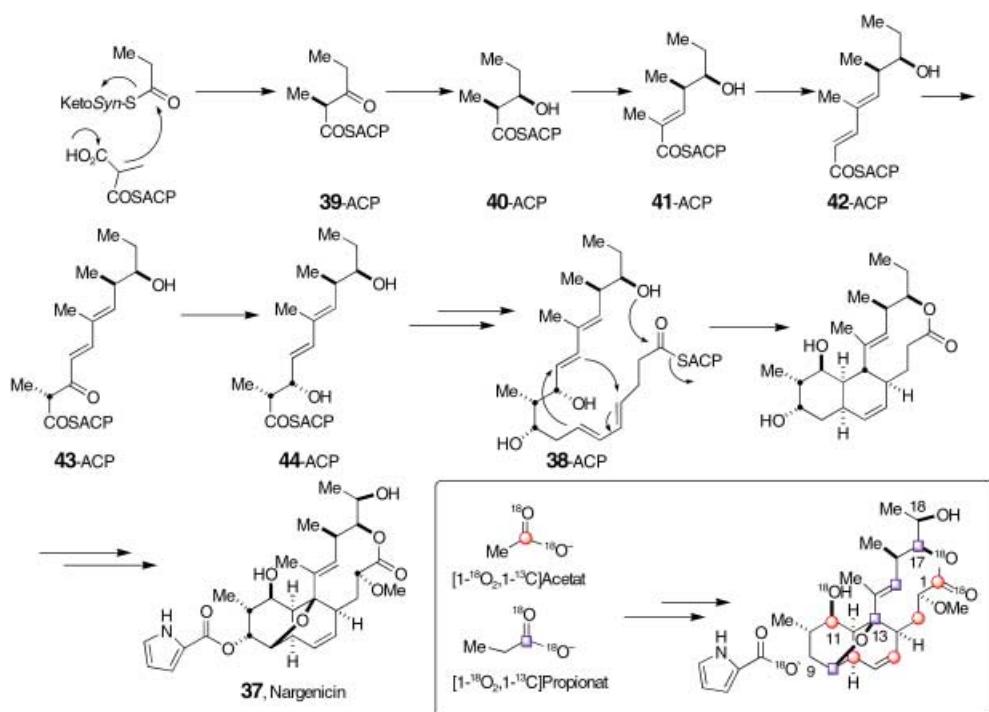
Einklang damit deutet die Inkubation von *N. argentinensis* mit ^{13}C -markiertem Acetat und Propionat in einer $^{18}\text{O}_2$ -angereicherten Atmosphäre auf molekularen Sauerstoff als Quelle der beiden Ethersauerstoffatome an C2 und C13 und der Hydroxygruppe an C18 hin.^[23]

Dass das Sauerstoffatom an C13 nicht aus Propionat stammt, impliziert, dass die C4-C13-Bindung nicht in einer Aldol-artigen Kondensationsreaktion gebildet wird. Das intermediäre Auftreten des Tetraens **38** legt vielmehr eine Diels-Alder-Cyclisierung nahe (Schema 9). Durch den Einbau der ^{13}C - und/oder ^2H -markierten NAC-Ester der Vorstufen **40**, **41**, **42** und **44** (Schema 9) wiesen Cane et al. nach, dass die Stereochemie und das Ausmaß der Oxidation vor der Kettenverlängerung festgelegt werden.^[24] Der Einbau von $[^{13}\text{C}_2]$ -**44** ist ein weiteres Indiz für die Entstehung des *cis*-Octalinrings in einer Diels-Alder-Cycloaddition.^[24]

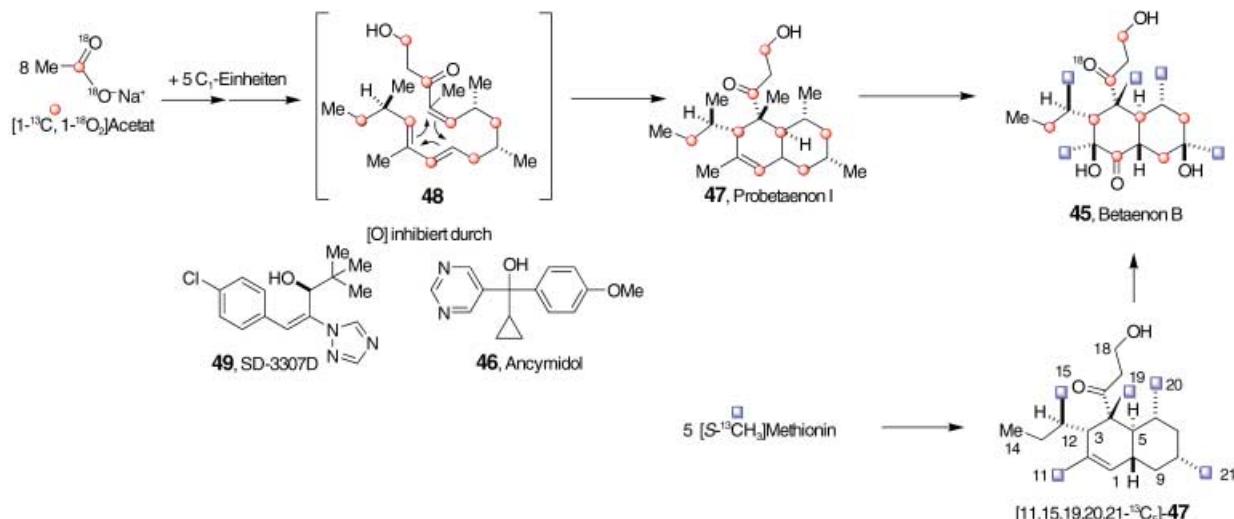
2.1.4. Betaenon B

Betaenon B (**45**) ist ein Phytotoxin aus *Phoma betae*, einem Pilz, der die Blattfleckenerkrankung an Zuckerrüben verursacht. Aus Fütterungsexperimenten mit $[1-^{13}\text{C}, 1-^{18}\text{O}_2]$ -Acetat ist bekannt, dass nur das Sauerstoffatom an C16 von **45** aus Acetat stammt (Schema 10).^[25] Für die fehlende ^{18}O -induzierte Isotopenverschiebung des Signals von C18 bei diesem Versuch gibt es mehrere mögliche Erklärungen. Das Sauerstoffatom kann aus molekularem Sauerstoff stammen, die Markierung kann aber auch durch eine Austauschreaktion mit Wasser verloren gehen.

Die Produktion von **45** wurde durch Zugabe des P450-Inhibitors Ancyimidol (**46**) zu Kulturen von *P. betae* gehemmt,



Schema 9. Biosynthese von Nargenicin (37).^[23, 24d]



Schema 10. Untersuchungen zur Biosynthese von Betaenon B (45).^[25, 26]

und zwar proportional zur Inhibitormenge. Außerdem wurde das Desoxyderivat **Probetaenon I (47)** isoliert, das die Vorstufe von **45** sein und in einer intramolekularen Diels-Alder-Reaktion aus dem Intermediat **48** gebildet werden könnte.^[25]

Fütterungsexperimente mit **[1-14C]Acetat**, **[1,2-13C₂]Acetat** und **[S-13CH₃]Methionin** in Gegenwart des P450-Inhibitors **SD-3307D (49)** lieferten isotopenmarkiertes **47**, wodurch belegt wurde, dass **47** in der Tat die Biosynthesevorstufe von **45** ist (Schema 10). Anschließende Fütterung der so erhaltenen unterschiedlichen Isotopomere von **47** führte zum Einbau dieser Vorstufen in **45** (6.02% Einbau von **[1-14C]Acetat**, 19.1% Anreicherung mit **[1,2-13C₂]Acetat** und

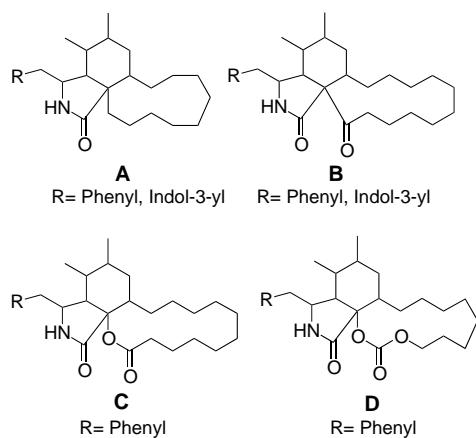
9.6% Anreicherung mit **[S-13CH₃]Methionin**).^[26] Die Synthese von **47** durch eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion (IMDA) bestätigte dessen Struktur und stützte die vorgeschlagene Biosyntheseroute.^[27]

2.2. Makrocyclische Polyketide

2.2.1. Cytochalasine

Die Cytochalasine bilden eine große Klasse makrocyclischer Polyketide mit cytostatischen Eigenschaften.^[28] Bis jetzt wurden etwa 60 dieser natürlich vorkommenden Mycotoxine

isoliert.^[29] Gemeinsam ist den Cytochalasinen ein hoch substituierter Perhydroisoindolring mit ankondensiertem Makrocyclus, wobei sich vier Grundstrukturtypen **A–D** unterscheiden lassen. Die Mehrzahl der Makrocyclen ist carbocyclisch, es treten aber auch Lactone und cyclische Carbonate auf.



In Fütterungsexperimenten wurden Acetat,^[30,31] Propionat,^[30,31] Methionin,^[31,32] Phenylalanin^[33] und Tryptophan^[31] als Biosynthesevorstufen der Cytochalasine nachgewiesen. Die Perhydroisoindolgruppe der Cytochalasine **A** (**50**) und **B** (**51**) entsteht vermutlich in einer *endo*-selektiven intramolekularen Diels-Alder-Reaktion (Schema 11).^[28] Der Einbau von Desoxaphomin (**57**) in **51** weist darauf hin, dass die Oxidation zum Makrolid nach der mutmaßlichen Diels-Alder-Cyclisierung stattfindet, was einen gemeinsamen Biosyntheseweg für die Cytochalasine nahe legt.^[34]

Indirekte Hinweise auf die Diels-Alder-vermittelte Biosynthese der Cytochalasine erbrachten Fütterungsexperimente mit Biosynthesevorstufen^[35] und Inhibitoren^[36] mit *Chaetomium subaffine*. Dieser Organismus produziert Chaetoglobosin A (**58**, Schema 12). Die Fütterung von $[1-^{13}\text{C}, 2-^2\text{H}_3]$ Acetat führte zur Deuteriummarkierung an C8, C11 und C14.^[35] Die Deuterierung an C8 und C14 schließt die Entstehung des Perhydroisoindols und des Makrocyclus

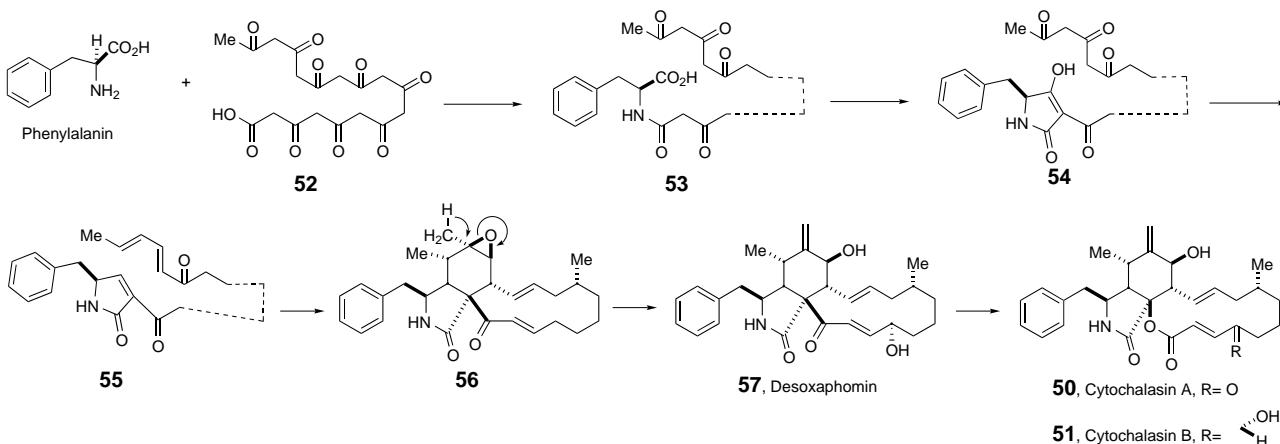
durch eine zuvor in Betracht gezogene C-C-Bindungsbildung über eine Carbonylgruppe an C14 aus.^[28] Nach Fütterung von $[1-^{13}\text{C}, 1-^{18}\text{O}_2]$ Acetat wurden markierte Sauerstoffatome an C1 und C23 nachgewiesen. Kultivierung in einer $^{18}\text{O}_2$ -angereicherten Atmosphäre führte dagegen zu einem Einbau von ^{18}O an C6, C7 und C20, was durch entsprechende Hochfeldverschiebung der Signale im NMR-Spektrum belegt ist.^[35] Die Zugabe des Cytochrom-P450-Inhibitors Metyrapon führte zur Bildung der Metabolite **59–62**, mit **59** als Hauptprodukt.^[36] Auf der Grundlage dieser Ergebnisse wurde für **58** der in Schema 12 dargestellte Biosyntheseweg abgeleitet: Intramolekulare Diels-Alder-Reaktion des angenommenen Hexaens **63** führt zu **59**, das dann schrittweise zu **58** oxidiert wird.

Hinweise auf eine Enzymbeteiligung bei der Diels-Alder-Cyclisierung zu den Cytochalasinen stammen aus der Retro-Diels-Alder-Reaktion von **59** (Schema 13). Dabei entsteht nicht das erwartete Hexaen **63**, vielmehr liefert die Pyrolyse von **59** (180°C, geschlossenes Rohr) gleiche Mengen an Edukt und dem Diastereomer **65**.^[35] Die fehlende Stereoselektivität dieser thermischen Diels-Alder-Reaktion stützt die Hypothese einer enzymatischen Präorganisation der Substratkonformation in vivo. Dadurch wird dort der *endo*-Übergangszustand begünstigt, und es entsteht ausschließlich **59**.

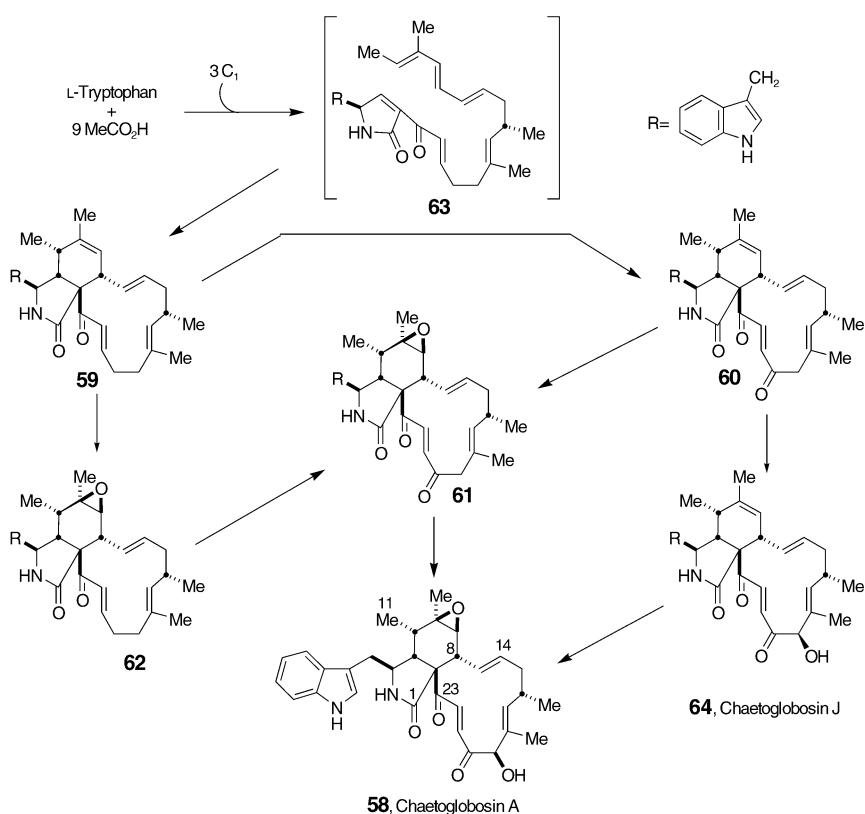
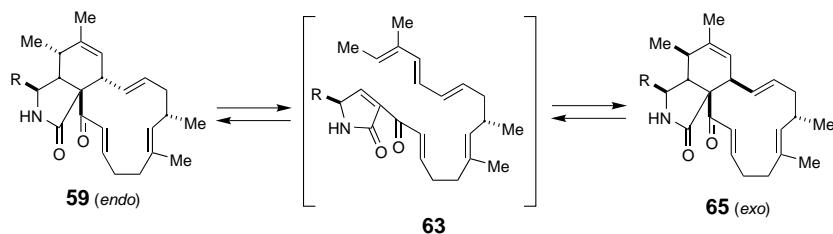
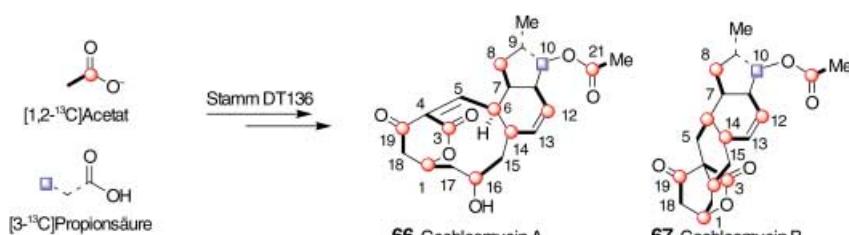
2.2.2. *Cochleamycine*

Wie Fütterungsversuche mit $[1-^{13}\text{C}]$ - und $[2-^{13}\text{C}]$ Acetat, $[1,2-^{13}\text{C}_2]$ Acetat und $[3-^{13}\text{C}]$ Propionsäure belegen, sind die *Cochleamycine A* (**66**) und *B* (**67**) aus *Streptomyces* sp. DT136 ihrem Ursprung nach Polyketide (Schema 14).^[37] Der aus diesen Ergebnissen abgeleitete Biosyntheseverlauf ist in Schema 15 dargestellt.

Ausgehend vom Intermediat **70** könnten die Oxidation der allylischen Methylgruppe, eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion und eine Aldolkondensation zu **66** führen. Wahrscheinlich durch anschließende reduktive transanulare Cyclisierung zwischen C4 und C16 und Eliminierung der Hydroxygruppe an C16 wird **67** gebildet. Für die richtige Konfiguration an den AB- und BC-Ringverknüpfungen kann



Schema 11. Mögliche Biosynthese von Cytochalasin A (**50**) und B (**51**).^[28]

Schema 12. Möglicher Biosyntheseweg zu Chaetoglobosin A (58).^[35]Schema 13. Retro-Diels-Alder-Reaktion der Vorstufe 59 von Chaetoglobosin A (58).^[35]Schema 14. Einbau von Acetat und Propionsäure in Cochleamycin A (66) und B (67).^[37]

das *trans*-Olefin an C6 entweder *endo* an die Dieneinheit in 11-*trans*-13-*cis*- oder *exo* an die Einheit in 11-*cis*-13-*trans*-Konformation addieren (Einschub in Schema 15).

2.2.3. Ikarugamycin

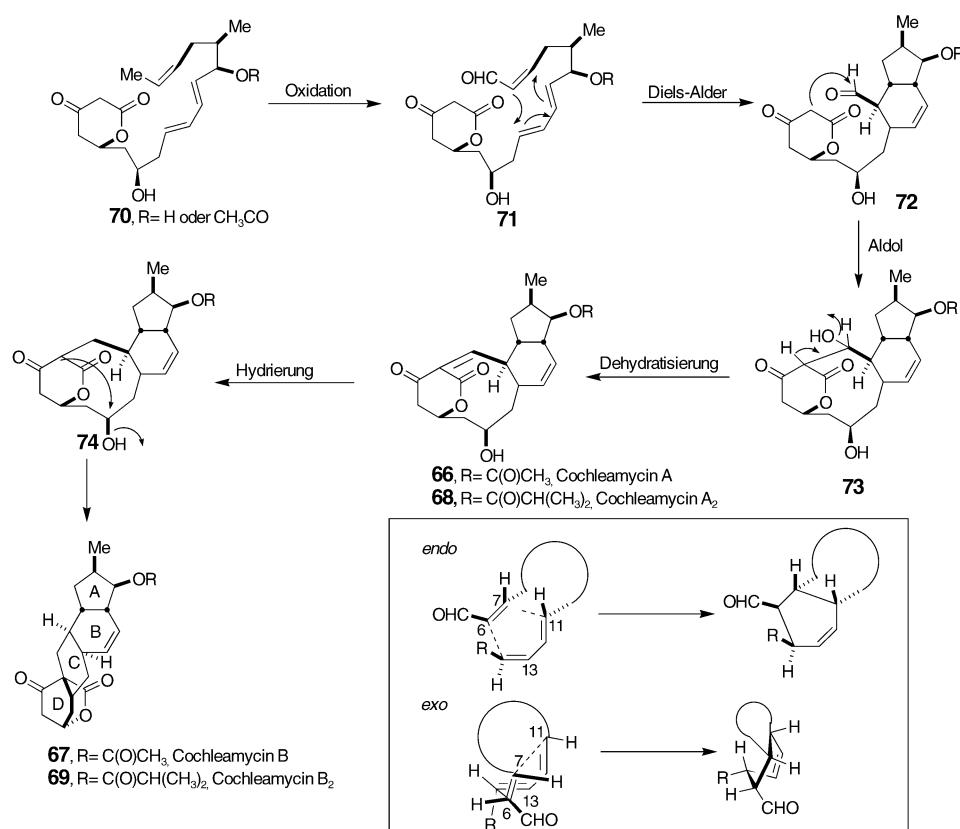
Ikarugamycin (75)^[38] ist ein Mitglied einer kleinen Familie macrocyclischer Antibiotika aus *Streptomyces phaeochromogenes* var. *ikaruganensis* Sakai, die ein ungewöhnliches, weitgehend hydriertes *as*-Indacen-Ringsystem aufweisen. Zu dieser Familie gehören auch Lepidin A (76, A83543A)^[39] und Capsimycin (77).^[40] Die Struktur und die absolute Konfiguration von 75 wurden 1972 von Ito und Hirata aufgeklärt.^[38a,b] Als Biosynthesebausteine schlugen sie zwei Hexaketideinheiten 78 und L-Ornithin vor und nahmen an, dass der Aufbau des Decahydroindacengerüsts durch eine transanulare Diels-Alder-Reaktion von 79 erfolgt (Schema 16).

Roush und Works synthetisierten das Indacenringssystem über das funktionalisierte Cyclododecatrien 81 (Schema 17)^[41], das in situ bei der stereoselektiven Enolat-Claisen-Ringverengung des Lactons 80 entstand und beim mehrstündigen Erhitzen auf 65°C zu einem Gemisch des Diels-Alder-Cycloaddukts 82 und eines Diastereomers (4:1–5:1) führte. Evans und Black synthetisierten das Octa-*as*-indacengerüst von 76 auf einem anderen Weg durch eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion in Verbindung mit einer Aldolreaktion.^[42] Andere Untersuchungen zur Biosynthese dieser interessanten Naturstofffamilie sind bisher nicht erschienen.

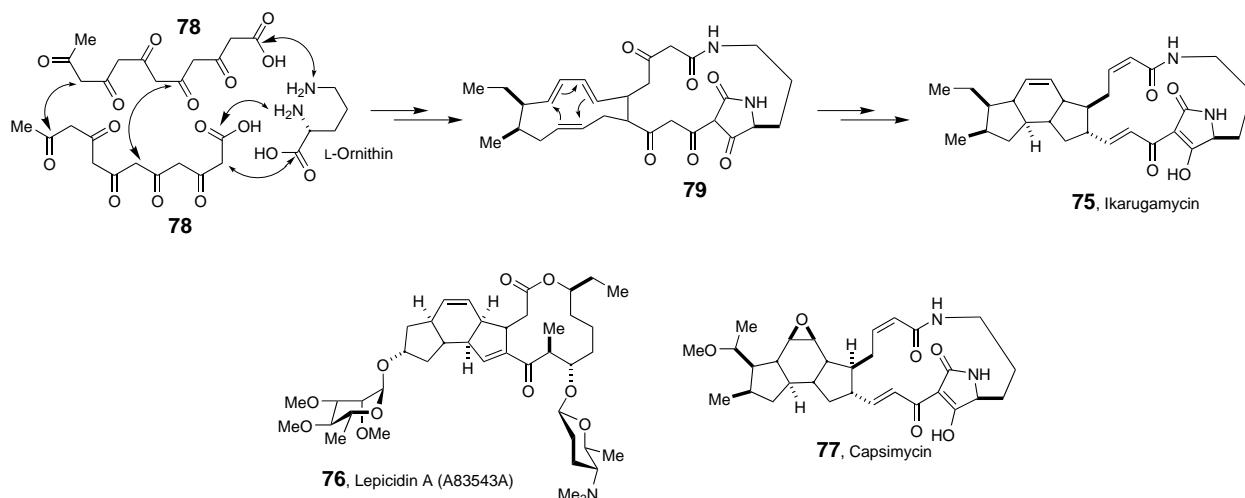
2.3. Perhydroindan-Polyketide

Indanomycin (83, X14547A)^[43] gehört zu einer kleinen Familie von Polyketiden aus *Streptomyces antibioticus* mit einem weitgehend hydrierten Indangerüst. Andere Mitglieder der Familie sind das Antibiotikum A83099A (84) aus *Streptomyces setonii*,^[44] der marine Naturstoff Pulo'upon (85) aus dem Weichtier *Philinopsis speciosa*^[45] und die Verbindung Stawamycin (86) aus *Streptomyces* sp. Tula-

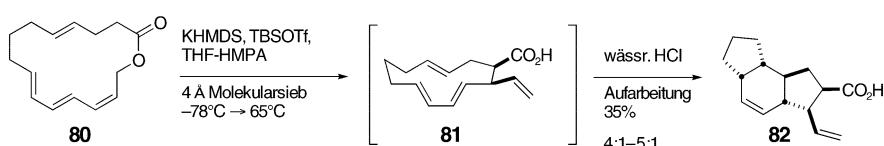
rik 8349.^[46] Roush et al. stellten die Hypothese auf, dass die Biosynthese von 83 über eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion eines Pentaen-Intermediats wie 89 verlaufen könnte.^[47] Auf dieser Hypothese aufbauend gelang die Totalsynthese von 83, mit der intramolekularen [4+2]-Cycloaddition von 89 als Schlüsselschritt (Schema 18).^[47c]



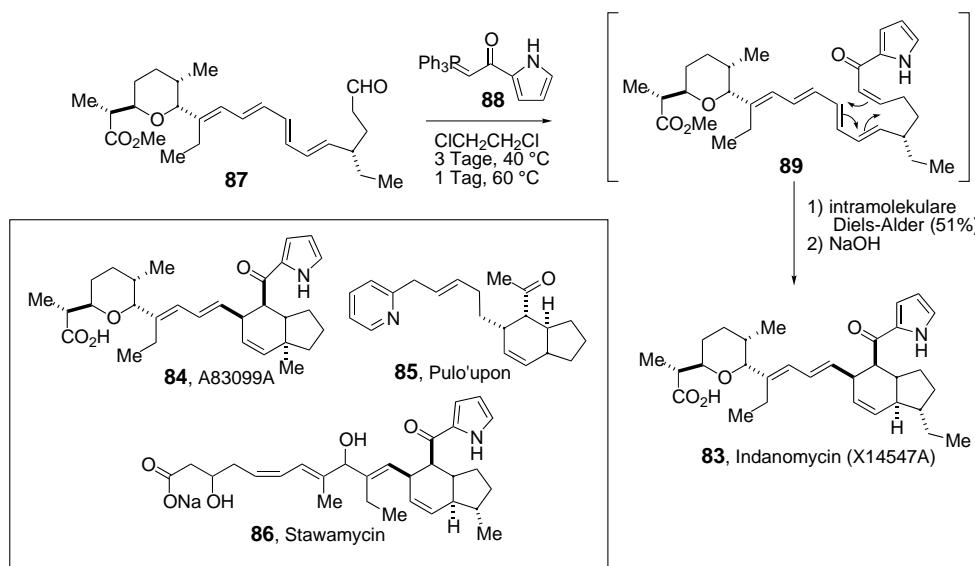
Schema 15. Möglicher Verlauf der Biosynthese von Cochleamycin A (66) und B (67).^[37]



Schema 16. Möglicher Biosyntheseweg von Ikarugamycin (75) und die Strukturen der verwandten Naturstoffe Lepicidin A (76) und Capsimycin (77).^[38–40]



Schema 17. Biomimetische Synthese des Decahydro-*as*-indacen-Ringsystems von 75.
KHMDS = Kaliumhexamethyldisilazid, TBS = Tributylsilyl, Tf = Trifluormethansulfonyl,
HMPA = Hexamethylphosphorsäuretriamid.^[41]



Schema 18. Biomimetische Totalsynthese von Indanomycin (83).^[47c] Der Einschub zeigt die Strukturen der verwandten Naturstoffe A83099A (84),^[44] Pulo'upon (85)^[45] und Stawamycin (86).^[46]

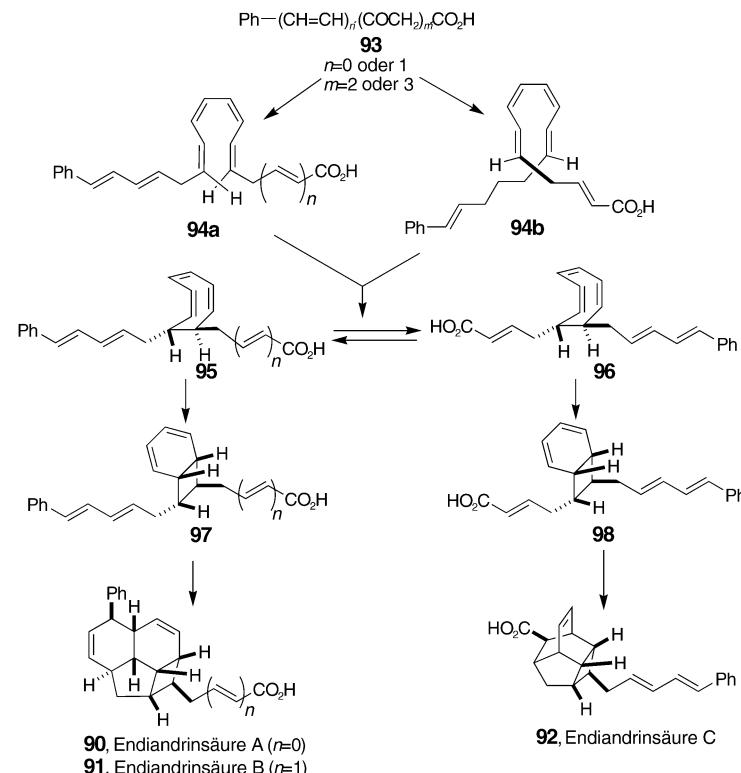
Das isomerenreine Produkt wurde in 51 % Ausbeute erhalten, neben 5 % einer Mischung *cis*-verknüpfter Produkte und 5 % des (C10,C11-*Z*)-Isomers.

2.4. Weitere Polyketide

2.4.1. Endiandrinsäuren

Die Endiandrinsäuren wurden aus den Blättern der australischen Pflanze *Endiandra introrsa* (Lauraceae) isoliert.^[48] Weil Endiandrinsäure A (90) und B (91) zusammen mit Endiandrinsäure C (92) vorkommen und als Racemat isoliert wurden, postulierten Bandaranayake et al. eine einheitliche Biogenese aus einer achiralen Vorstufe über eine Reihe von Elektrocyclisierungen (Schema 19).^[49] Aus einem Polyketid des Typs 93 könnte eine Phenylpolyensäure 94 mit zentraler, konjugierter Tetraeneinheit gebildet werden. Aus dem all-*cis*-Tetraen 94a oder dem *trans,cis,cis,trans*-Isomer 94b könnte dann eine konrotatorische 8π - mit anschließender disrotatorischer 6π -Elektrocyclisierung und intramolekularer $[4\pi\text{ts}+2\pi\text{ts}]$ -Diels-Alder-Cycloaddition 90 und 91 bzw. 92 liefern.

Nicolaou et al. untersuchten die Plausibilität dieses Biosyntheseweges durch biomimetische Synthese. Zunächst wurden dazu die Endiandrinsäuren A–D (90–92, 101) stufenweise stereokontrolliert aufgebaut.^[50] Anschließend arbeiteten die Autoren eine elektrocyclische Eintopf-Kaskadenreaktion aus.^[51] Die Hydrierung der acyclischen Vorstufe 99 (Schema 20) lieferte die Methylester 100 und 101 der Endiandrinsäuren E und D; durch kurzes Erhitzen der Reaktionsmischung wird der Methylester 102 der Endiandrinsäure A (90) gebildet. Ein Analogon von 99 mit längerer Kette wurde zur Synthese von 91 und 92 zusammen mit den bislang nicht in der Natur nachgewiesenen Endiandrinsäuren G und F eingesetzt. Diese Synthesen bestätigten die Richtigkeit der Hypothese von Bandaranayake et al. und deuteten darauf hin, dass die elektrocyclischen Reaktionen nicht enzymatisch

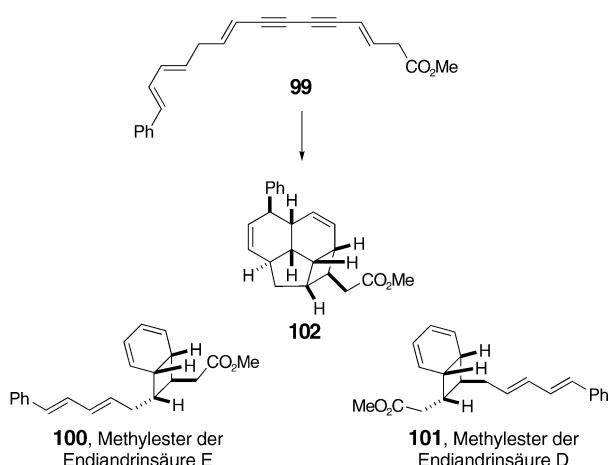


Schema 19. Mögliche Biosynthese der Endiandrinsäuren A–C (90–92).^[49]

katalysiert werden. Die Synthese der nichtnatürlichen Endiandrinsäuren E–G könnte die Identifizierung dieser Verbindungen in lebenden Systemen erleichtern.

2.4.2. Bisorbicillinoide

Die Bisorbicillinoide 103–109 gehören zu einer wachsenden Gruppe von Mycotoxinen, für deren Biosynthese eine gemeinsame Vorstufe, Sorbicillin (110), angenommen wird



Schema 20. Biomimetische Synthese der Endiandrinsäuren.^[51]

(Schema 21). Das erste isolierte Mitglied dieser Verbindungs-klasse war Bisvertinochinol (103), das 2',3'-Dihydroderivat von Bisorbicillinol (104); es wurde als Diels-Alder-Addukt zweier unterschiedlicher Chinole aufgefasst, die durch enantioselektive Oxidation von C5 aus den Cometaboliten 110 und 2',3'-Dihydrosorbicillin gebildet werden.^[52] Diese Route wurde postuliert, weil die Struktur von 103 in Einklang mit einer spontanen *endo*-selektiven Diels-Alder-Reaktion ist. Wegen der unterschiedlichen Sorbyl- und Dehydrosorbyl-seitenketten sind allerdings vier Diels-Alder-Addukte möglich. Da jedoch nur ein optisch aktives bisvertinochinolartiges Produkt in den Kulturen nachgewiesen wurde, scheint die

Differenzierung der Seitenketten nach der Diels-Alder-Reaktion einzutreten und 103 demnach kein Isolierungsartefakt zu sein.

Eine ähnliche Biosynthese mit einer Diels-Alder-Reaktion wurde von Murata und Hirota et al. für Bisorbicillinol (104) vorgeschlagen. Aus 104 könnte Bisorbutenolid (105) in einer anionischen Kaskadenreaktion gebildet werden.^[53] Auch für die Syntheseroute zu Sorbichinol (106) wurde eine [4+2]-Cycloaddition postuliert. Die Diels-Alder-Reaktion trate hier allerdings zwischen der 2',3'-Doppelbindung in der Seitenkette von Sorbicillin (110) als Dienophil und einem enantioselektiv oxidierten Sorbicillin als Dien ein.^[54] Alternativ könnten die Biosynthesen von Bisorbicillinol (107) und Trichodimerol (109) auch über eine Oxidations-Michael-Ketalisierungskaskade verlaufen.^[55]

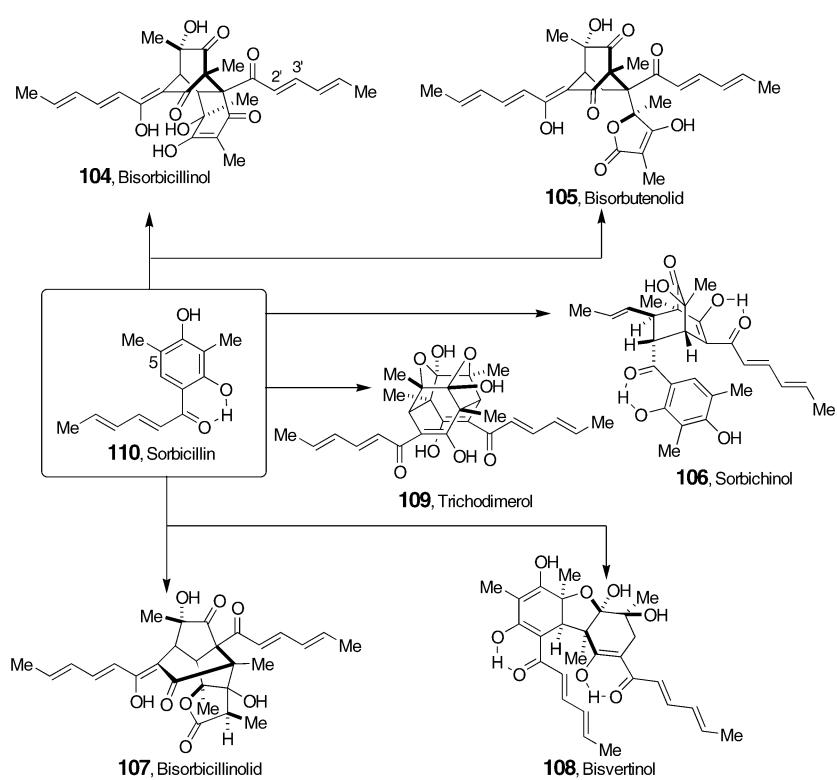
Diese Biosyntheserouten wurden durch biomimetische Totalsynthesen von 104 und 109 gestützt, die zwei Arbeitsgruppen unabhängig voneinander durchführten und gleichzeitig zum Abschluss brachten (Schema 22).^[55] Nicolaou et al. berichteten, dass basische oder saure Hydrolyse der Acetoxygruppe von 111 die Chinole 112a und 112b liefern, die spontan das Diels-Alder-Cycloaddukt 104 bilden (Weg A in Schema 22).^[55a,b] In der Diels-Alder-Reaktion entstehen vier stereogene Zentren unter vollständiger Regio- und Diastereokontrolle. Ferner ist das Chinolintermediat 112b kürzlich als Metabolit des Bisorbicillinoid produzierenden Pilzes *Trichoderma* sp. USF-2690 nachgewiesen worden.^[56]

Barnes-Seeman und Corey nutzten das gleiche Acetoxydien 111 wie Nicolaou et al., fanden aber, dass aus der Reaktionsmischung der Hydrolyse von 111 mit Natriummethoxid durch vorsichtige Neutralisation mit NaH_2PO_4 und Umsetzung mit methanolischer HCl 109 in 10% Ausbeute erhalten werden kann (Weg B in Schema 22).^[55c]

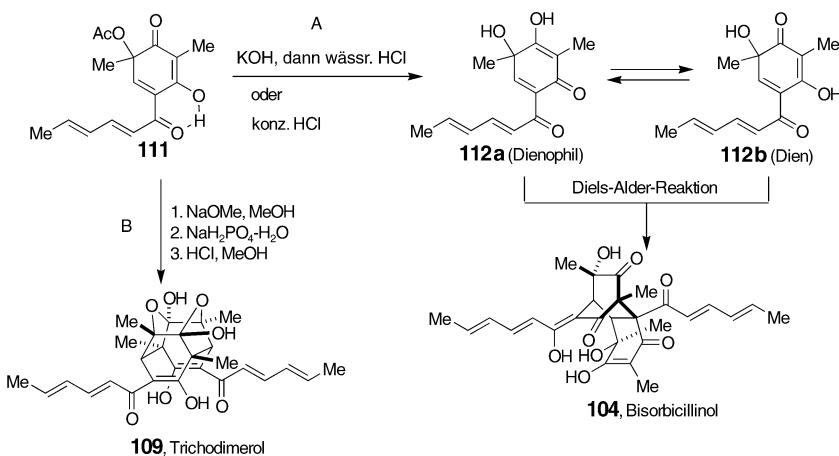
2.4.3. Makrophomsäure

Makrophomsäure (113) ist ein Metabolit aus dem Pilz *Macrophoma commeliniae*. Nach Sakurai et al. entsteht 113 aus dem 2-Pyron 114 und einer nicht identifizierten C_3 -Einheit unter Abspaltung von CO_2 .^[57] In späteren Arbeiten zur Biosynthese von 113 von Oikawa et al. wurde der Einbau von [$1-^{13}\text{C}$]-L-Alanin, [$1-^{13}\text{C}$]-L-Serin, [$U-^{13}\text{C}$]-Glycerin, (1RS,2S)-[1- ^2H]-Glycerin und (1RS,2R)-[1- ^2H]-Glycerin nachgewiesen.^[58] Darauf aufbauend formulierten die Autoren den in Schema 23 wiedergegebenen Biosyntheseweg, mit Phosphoenolpyruvat (115) als C_3 -Einheit. Inkubation des zellfreien Extraks von *M. commeliniae* mit 114 und 115 führte zur enzymatischen Bildung von 113.^[58]

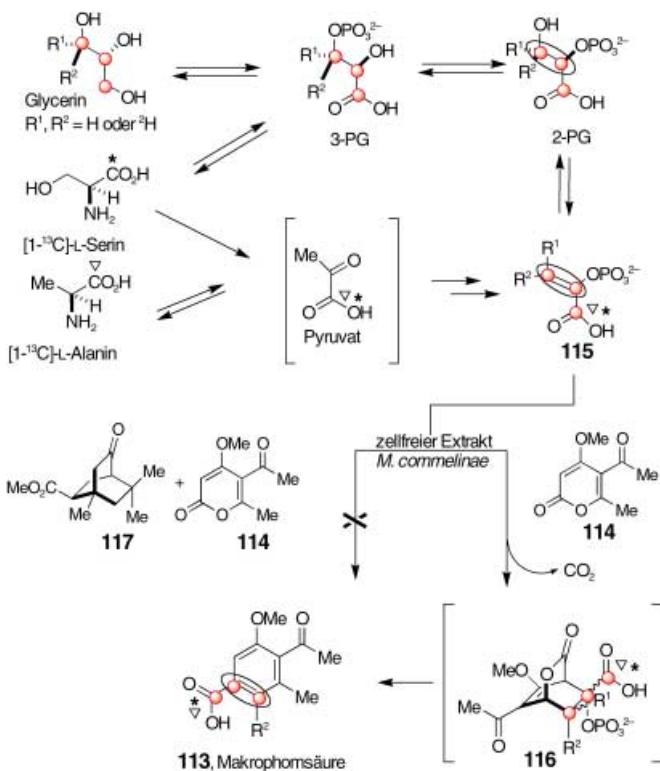
Teil der angenommenen Biosyntheseroute ist eine Diels-Alder-Reaktion mit inversem Elektronenbedarf zwischen 114 und dem Dienophil 115. Produkt ist das Intermediat 116, aus dem durch eine Retro-Diels-Alder-Reaktion und anschließende *syn*-Eliminierung von Phosphorsäure 113 entsteht. Um diese Hypothese zu prüfen, wurde das Analogon 117 des vermuteten bicyclischen Intermediats 116 syn-



Schema 21. Biosynthese der Bisorbicillinoid-Mycotoxine über die gemeinsame Vorstufe 110.^[55]



Schema 22. Biomimetische Totalsynthese von Bisorbicillinol (104) nach Nicolaou et al. (Weg A)^[55a,b] und von Trichodimerol (109) nach Barnes-Seeman und Corey (Weg B).^[55c]



Schema 23. Ursprünglicher Vorschlag zur Biosynthese von Makrophomsäure (113).^[58] 3-PG = Glycerin-3-phosphat.

thetisiert und mit dem zellfreien Extrakt von *M. commeliniae* sowie **114** und **115** inkubiert. **117** inhibiert die Bildung von **113** (IC_{50} -Wert 200 μ M).^[58]

Vor kurzem wurde die Herkunft der C₃-Einheit nochmals untersucht. Demnach ist Oxalacetat (**118**) eine effizientere und auch die direkte Vorstufe zu **113**. Mit **118** als einzigem Substrat für die C₃-Einheit wurde das Mg²⁺-haltige Enzym Makrophomatsynthase isoliert und gereinigt.^[59,60] Dieses Enzym, ein Homodimer eines 36 kDa großen Proteins, katalysiert eine fünfstufige Umsetzung mit zwei Decarboxy-

lierungen, zwei C-C-Bindungsknüpfungen und einer Dehydratisierung.^[8]

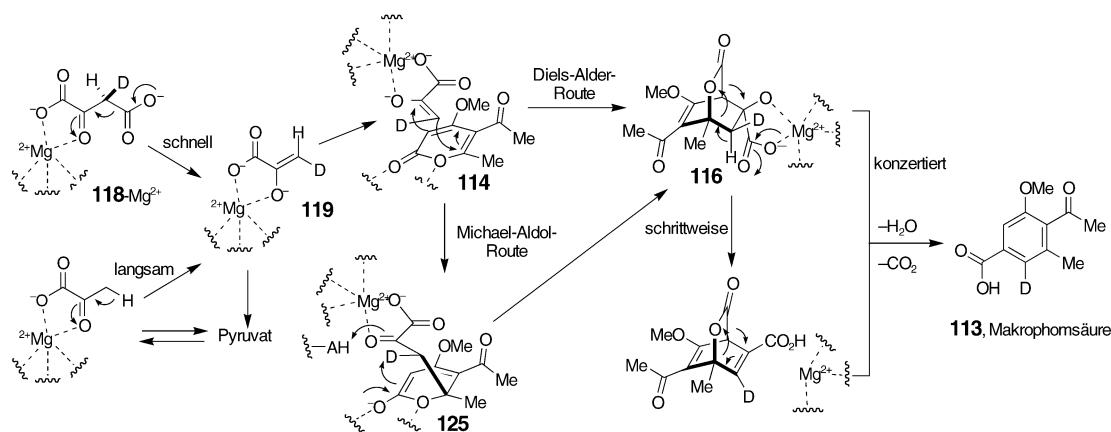
Oikawa et al. spekulierten darüber, ob das Enolpyruvat **119**, das Produkt der Decarboxylierung von Oxalacetat **118**, die gesuchte C₃-Einheit sein könnte. In einem gekoppelten Assay mit Lactat-Dehydrogenase wurde Makrophomatsynthase mit **118**, aber ohne **114**, inkubiert, wobei die rasche Bildung von Pyruvat nachgewiesen wurde.^[8] In einem Konkurrenzexperiment inhibierte **114** allerdings die Umwandlung von **118** in Pyruvat, was darauf hinweist, dass das enzymatisch gebildete Produkt der Decarboxylierung von Oxalacetat nicht hydrolysiert wird und mit **114** weiterreagiert (Schema 24).

Die Inkubation von Makrophomatsynthase mit Oxalacetat **118** und 2-Pyronen ohne Substituent an C4, wie die

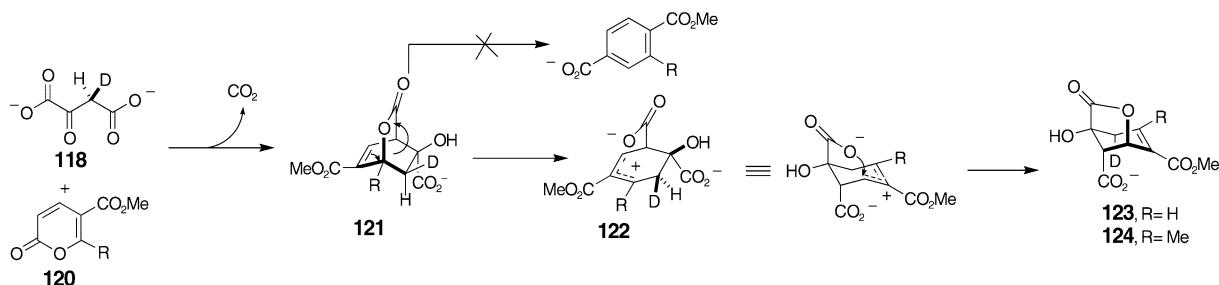
Cumalinsäuremethylester **120**, führt zur Bildung anderer bicyclischer Verbindungen wie **123** und **124** (Schema 25).^[8,61] Die Position der Doppelbindung und das Fehlen eines sauerstoffhaltigen Substituenten an C5 deuten auf eine Allylumlagerung in Intermediat **121** und eine anschließende Relactonisierung hin. **123** entsteht vielleicht statt des Benzoats, weil das Fehlen eines Substituenten an C4 in **121** zu einer ungünstigen Wechselwirkung zwischen dem katalytischen Zentrum und den Abgangsgruppen führt. Auch die Verhinderung des Angriffs des Carboxylatrests auf das Carbokation durch den Substituenten an C4 könnte der Grund sein. In jedem Fall ist eine Verringerung der sterischen Spannung von **121** wahrscheinlich die treibende Kraft für die Umlagerung. Deuteriummarkierungsexperimente verliefen unter Erhaltung der (*pro-R*)-Position von **124**. Die erste Decarboxylierung liefert daher vermutlich das (*Z*)-Enolat.^[8] Dieser Decarboxylierungsmechanismus entspricht dem des Enzyms Phosphoenolpyruvat-Carboxylase.

Für die C-C-Bindungsbildung durch die Makrophomatsynthase gibt es zwei mögliche Mechanismen: eine schrittweise Michael-Aldolreaktion und eine konzertierte Diels-Alder-Reaktion (Schema 24).^[8] Im ersten Fall führt der Angriff des Enolats auf **114** zur Knüpfung der ersten C-C-Bindung und zur Stabilisierung der negativen Ladung am 2-Pyron. Anschließend könnte das Enolat die neu gebildete Carbonylgruppe unter Bildung des bicyclischen Intermediats **116** angreifen. Ein Intermediat mit nur einer neuen C-C-Bindung, z. B. **125**, konnte bei Makrophomatsynthase-katalysierten Reaktionen aber nicht nachgewiesen werden. Im zweiten Fall könnte die Cyclisierung einer Antikörperkatalysierten Diels-Alder-Reaktion ähneln. Möglicherweise wird **116** bei der enzymkatalysierten Reaktion durch die Gruppen, die das Enolat und **114** erkennen, stabilisiert.

Die Annahme einer Diels-Alder-Reaktion wird durch das ähnliche Beispiel einer [4+2]-Cycloaddition eines 2-Pyrons mit einem Äquivalent Pyruvatenolat gestützt.^[62] Oikawa et al. sehen die hohe Stereospezifität der Nebenproduktbildung bei der Makrophomatsynthase-katalysierten Cyclisierung in Einklang mit einem konzertierten Mechanismus. Da die



Schema 24. Modifizierter Vorschlag zur Biosynthese von 113.^[8]



Schema 25. Möglicher Mechanismus der Bildung von Nebenprodukten bei Makrophomat-Synthase-katalysierten Cyclisierungen.^[8]

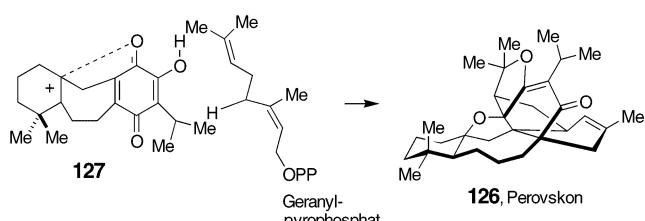
„normalen“ Reaktionsprodukte der Synthase-katalysierten Reaktion achiral sind, ist das allerdings sehr spekulativ. Bislang lässt sich also noch nicht eindeutig entscheiden, ob C-C-Bindungsbildungsreaktionen in Gegenwart von Makrophomat-Synthase tatsächlich konzertiert verlaufen und enzymvermittelt sind.

3. Isoprenoide

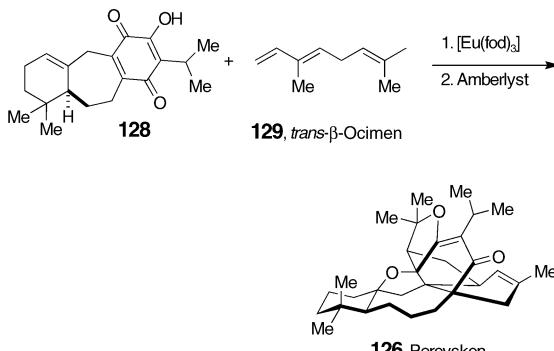
3.1. Derivate von Myrcen und trans- β -Ocimen

3.1.1. Perovskon

Die Terpene Myrcen und trans- β -Ocimen (129) werden oft als Diene in Diels-Alder-Reaktionen bei der Synthese von Naturstoffen eingesetzt. Perovskon (126) ist ein Triterpen aus der Taubnessel *Perovskia abrotanoides*. Ursprünglich wurde 126 als Produkt der Vorstufe Icetexon (127) und Geranylpyrophosphat aufgefasst (Schema 26).^[63] Später wurde ein



Schema 26. Erster Vorschlag zur Biosynthese von Perovskon (126).^[63]

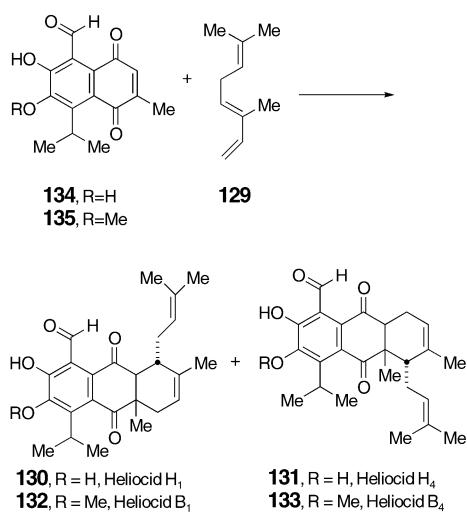


Schema 27. Biomimetische Totalsynthese von Perovskon (126).^[64]
fod = 1,1,1,2,2,3,3-Heptafluor-7,7-dimethyl-4,6-octandionat.

[4+2]-Cycloadditionsmechanismus über 128 und 129 vorgeschlagen und auch in einer biomimetischen Totalsynthese genutzt (Schema 27).^[64]

3.1.2. Heliocide

Die Heliocide H₁ (130), H₄ (131), B₁ (132) und B₄ (133) entstehen vermutlich aus 129 und Hemigossypol (134) oder dem Methylether 135. 132 und 133 wurden bei einer biomimetischen [4+2]-Cycloaddition im Verhältnis 3:1 gebildet (Schema 28) – im gleichen Verhältnis, in dem die isolierten Naturstoffe vorliegen.^[65] Untersuchungen zum Einbau isotopenmarkierter Vorstufen wurden zwar nicht durchgeführt, die

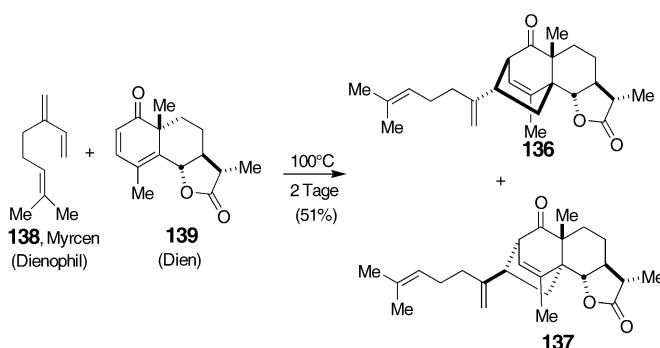


Schema 28. Biomimetische Synthese von Heliocid B₁ (132) und B₄ (133).^[65]

biomimetische Synthese lieferte aber indirekte Anhaltspunkte für den postulierten Biosyntheseweg.

3.1.3. Eudesmanolide

Die Eudesmanolide **136** und **137** wurden aus den oberirdischen Teilen von *Artemisia herba-alba* isoliert.^[66] Formal kann man ihre Bildung erklären als eine Diels-Alder-Reaktion mit inversem Elektronenbedarf zwischen Myrcen (**138**) als Dienophil und dem Dienon **139**. Zweitägiges Erhitzen von **138** und **139** auf 100 °C lieferte die Verbindungen **136** und **137** im Verhältnis 1:1 (Schema 29). Wegen dieser drastischen



Schema 29. Biomimetische Synthese der Eudesmanolide **136** und **137**.^[66]

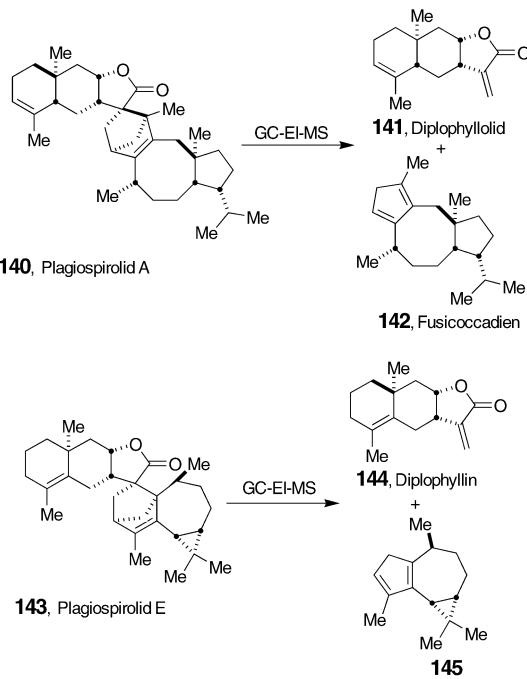
Reaktionsbedingungen ist es unwahrscheinlich, dass die isolierten Naturstoffe **136** und **137** Isolierungsartefakte sind.

3.2. α -exo-Methylen- γ -lactone

3.2.1. Plagiospirolide

Zur Strukturaufklärung von Spiroterpenoiden aus der panamaischen Leberwurz *Plagiochila moritziana* wurden

GC-EI-MS-Analysen an Plagiospirolid A (**140**) durchgeführt. Die dabei nachgewiesenen, auch in Extrakten aus dieser Pflanze enthaltenen Naturstoffe Diplophyllolid (**141**) und Fusicoccadien (**142**) entstanden möglicherweise in einer Retro-Diels-Alder-Reaktion.^[67] Auch Plagiospirolid E (**143**) wurde aus *Plagiochila moritziana* isoliert und massenspektrometrisch untersucht; hierbei wurden die potenziellen Retro-Diels-Alder-Produkte Diplophyllin (**144**) und das Dien **145**, ebenfalls Pflanzenisolate aus *P. moritziana*, identifiziert (Schema 30).^[68]

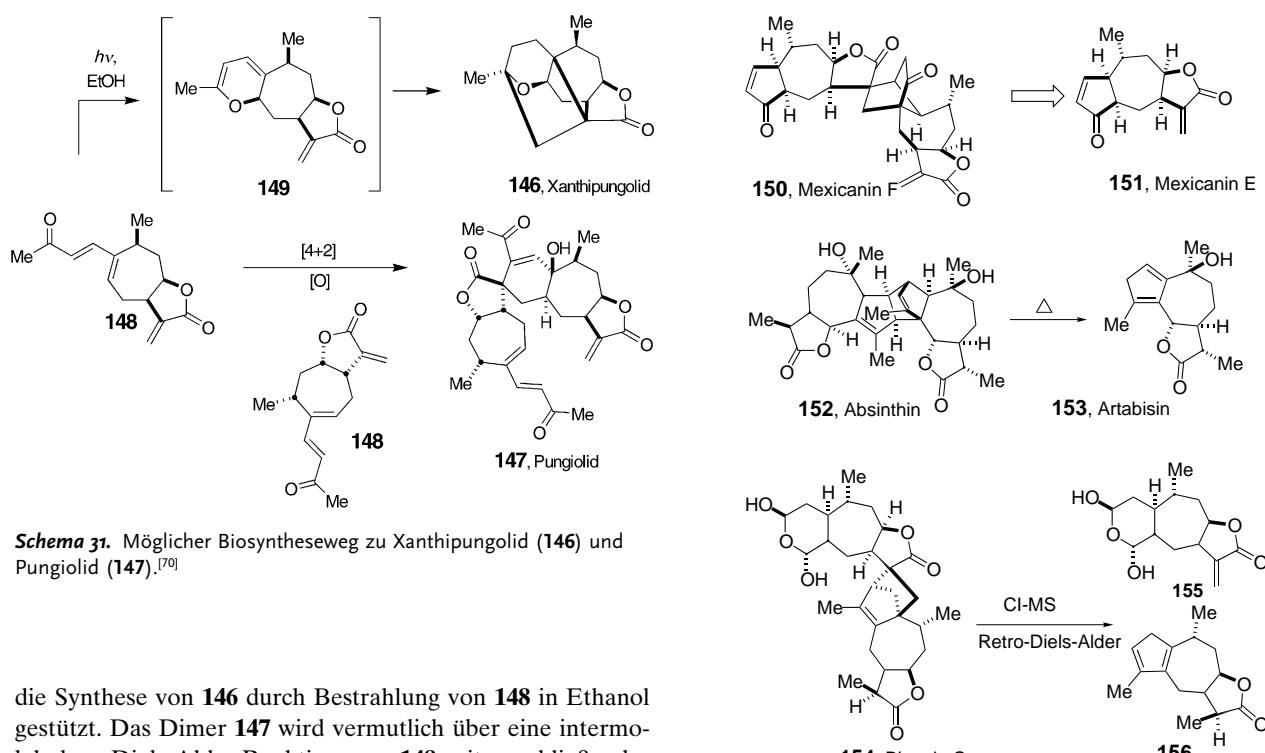


Schema 30. Retro-Diels-Alder-Fragmentierung von Plagiospirolid A (**140**) und Plagiospirolid E (**143**).^[67,68]

Weil die Synthese der verwandten Triterpene aus *Heleinum autumnale* über eine Diels-Alder-Reaktion drastische Bedingungen erforderte und nur niedrige Ausbeuten einer Mischung von Isomeren lieferte,^[69] ist **140** wahrscheinlich kein Isolierungsartefakt. Da in *P. moritziana*-Kulturen keine anderen Diastereomere von **140** gefunden wurden, wird die bei der Biosynthese vermutlich auftretende Diels-Alder-Reaktion möglicherweise enzymatisch katalysiert.

3.2.2. Xanthipungolid, Pungolid und andere

Außer den Plagiospiroliden gibt es weitere vermutliche Diels-Alder-Addukte, die sich von α -exo-Methylen- γ -lactonen ableiten. Die Art *Xanthium pungens* produziert Xanthipungolid (**146**) und Pungolid (**147**).^[70] Die Biosynthese beider Verbindungen könnte von Xanthanolid (**148**) ausgehen (Schema 31). Für die Biosynthese von **146** wird angenommen, dass zunächst aus **148** in einer elektrocyclischen Reaktion **149** entsteht und anschließend eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion abläuft. Diese Hypothese wurde durch



Schema 31. Möglicher Biosyntheseweg zu Xanthipungolid (146) und Pungiolid (147).^[70]

die Synthese von **146** durch Bestrahlung von **148** in Ethanol gestützt. Das Dimer **147** wird vermutlich über eine intermolekulare Diels-Alder-Reaktion von **148** mit anschließender Oxidation gebildet.

Mexicanin F (**150**), aus *Helenium mexicanin*, wird vermutlich aus dem Cometaboliten Mexicanin E (**151**) gebildet.^[71] Beim Erhitzen liefert das dimere Sesquiterpenlacton Absinthin (**152**) das Monomer Artabasin (**153**).^[72] Ausgehend vom Spaltungsmuster im CI-Massenspektrum wurde für die Biosynthese von Biennin C (**154**) eine intermolekulare Cycloaddition der Monomere **155** und **156** vorgeschlagen.^[73] Ornativolid A (**157**)^[74] und Fruticolid (**158**)^[75] könnten ebenfalls von α -exo-Methylen- γ -lactonen abgeleitete [4+2]-Cycloaddukte sein (Schema 32).

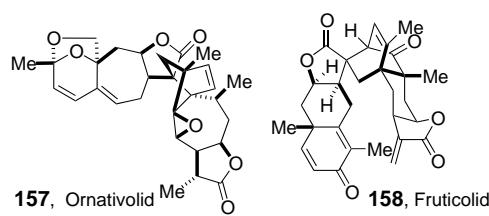
3.3. Homodimere Terpenoide

3.3.1. Torreyansäure

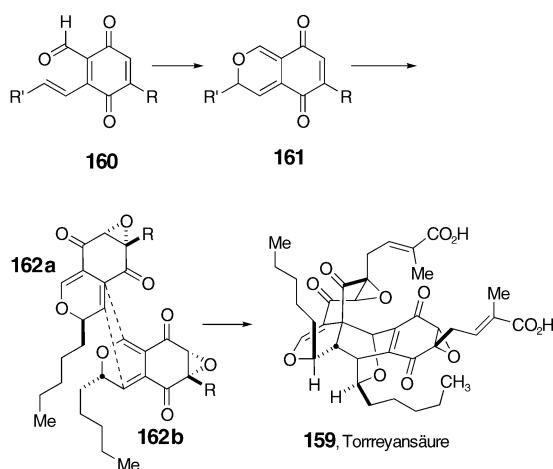
Torreyansäure (**159**) ist ein Cytotoxin aus dem endophytischen Pilz *Pestalotiopsis microspora*.^[76] Diese Verbindung hat eine ungewöhnliche dimere Chinonstruktur, für deren Entstehung eine Diels-Alder-Cycloaddition zweier diastereomerer Monomere postuliert wurde. Der vorgeschlagene Biosyntheseweg könnte über die folgenden Stufen verlaufen: a) einen elektrocyclischen Ringschluss in der achiralen Verbindung **160** unter Bildung von racemischem **161**; b) eine enzymatische Oxidation zu den Diastereomeren **162a** und **162b**; c) eine [4+2]-Cycloaddition zu **159** (Schema 33). Eine im Jahr 2000 abgeschlossene biomimetische Totalsynthese von **159** nutzte eine derartige [4+2]-Dimerisierung diastereomerer Monomere.^[77]

3.3.2. Longithorone und andere homodimere Terpenoide

Auch einige andere homodimere Terpenoide könnten über eine [4+2]-Cycloaddition gebildet werden. Ein neueres

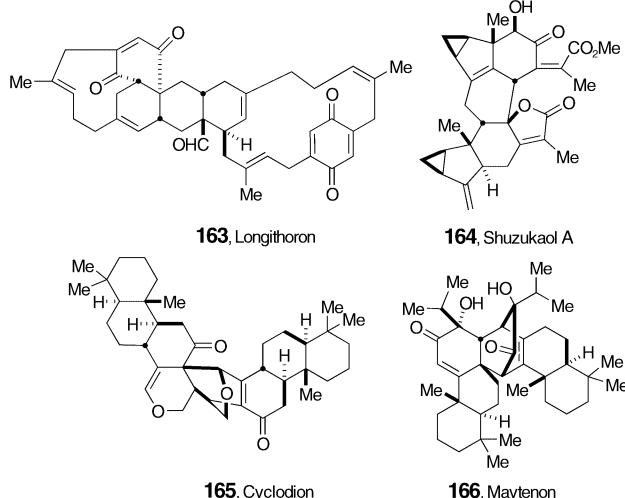


Schema 32. Diels-Alder-Cycloaddukte von α -exo-Methylen- γ -lactonen.^[71-75]



Schema 33. Möglicher Biosyntheseweg zu Torreyansäure (**159**).^[76]
 $R = \text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{COOH}$, $R' = \text{C}_5\text{H}_{11}$.

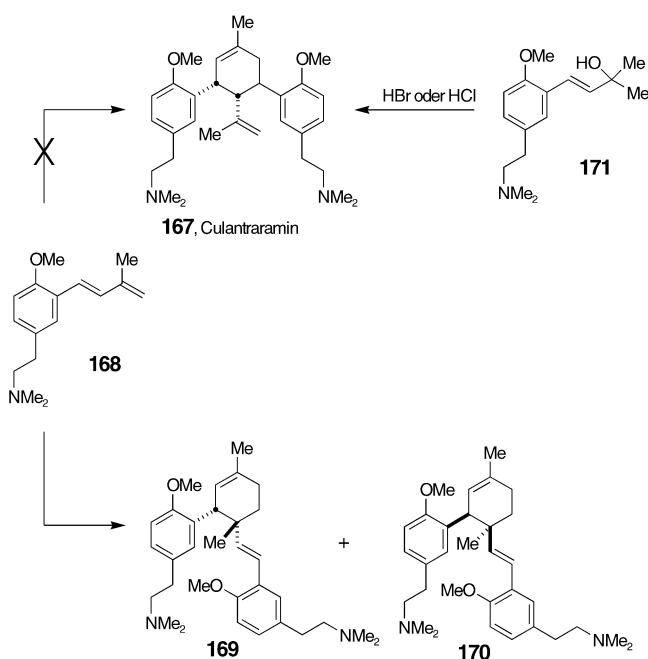
Beispiel für ein Chinondimer, bei dessen Bildung eine Diels-Alder-Reaktion auftritt, ist Longithoron (**163**), das aus einem marinen Tunicaten isoliert wurde.^[78] Andere Beispiele sind Shizukaol A (**164**),^[79] Cyclodion (**165**)^[80] und Maytenon (**166**) (Schema 34).^[81]



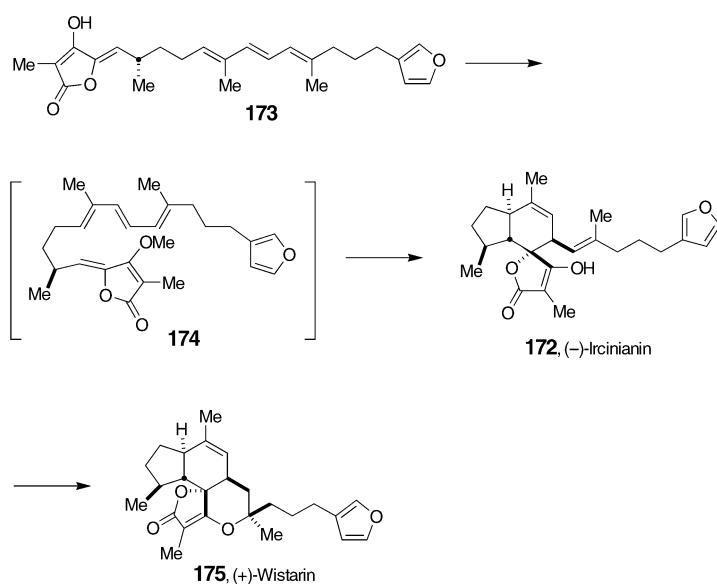
Schema 34. Homodimere Terpenoide als mögliche Diels-Alder-Cycloaddukte.^[78-81]

3.3.3. Culantraramin

Bei Annahmen über die Biosynthese von homodimeren Terpenoiden ist Vorsicht geboten, z. B. könnte Culantraramin (**167**) als natürliches Diels-Alder-Cycloaddukt aufgefasst werden.^[82] Wurde die vermeintliche Vorstufe **168** allerdings in Xylool bei Raumtemperatur zehn Tage stehen lassen, wurden die Cycloaddukte **169** und **170**, und nicht **167**, als Produkte erhalten (Schema 35). Dagegen entstand **167** bei Raumtemperatur innerhalb von 30 min, wenn **171** mit Säure umgesetzt wurde. Anscheinend verläuft die Biosynthese von **167** nicht über eine „echte“ Diels-Alder-Cyclisierung, sondern vielleicht über eine nichtsynchrone Kation-Dien-[4+2]-Cycloaddition.



Schema 35. Untersuchungen zur Biosynthese von Culantraramin (**167**).^[82]



Schema 36. Möglicher Biosyntheseweg zu Ircinianin (**172**) und Wistarin (**175**).^[83]

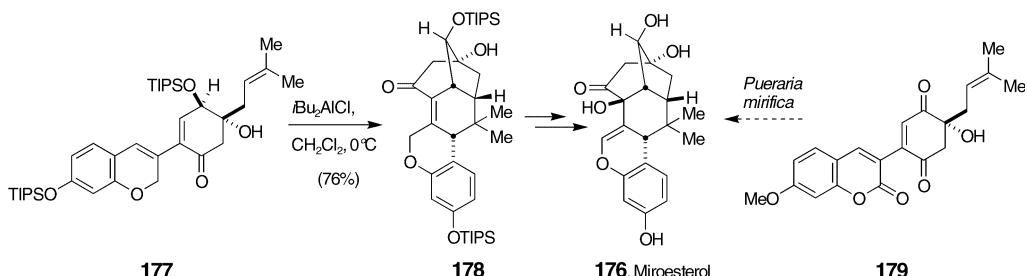
3.4. Weitere Isoprenoide

3.4.1. Ircinianin und Wistarin

Ircinianin (**172**) ist ein Sesterterpen aus dem Meereschwamm *Ircinia wistarii*. Für **172** wurde die Bildung durch eine [4+2]-Cycloaddition des langkettigen Tetraens **173** postuliert.^[83] Sowohl das Racemat als auch das (–)-Isomer von **172** wurden auf diesem Weg synthetisiert.^[84] Wistarin (**175**) ist ein tetracyclisches Isomer des Tricyclus **172**. Interessanterweise wurden beide Enantiomere von **175**, aber nur eines von **172** isoliert (Schema 36).^[85] Dies könnte als Hinweis darauf gedeutet werden, dass die Bildung von **175** enzymkatalysiert verläuft.

3.4.2. Miroesterol

Miroesterol (**176**) ist ein östrogen wirkendes Phenol aus der thailändischen Arzneipflanze *Pueraria mirifica*. Ein Schlüsselschritt bei der ersten Totalsynthese dieser Verbindung durch Corey und Wu war die Lewis-Säure-katalysierte Cyclisierung des tricyclischen Ketons **177** zu **178** (Schema 37).^[86] Diese Reaktion kann als transannulare doppelte Kation-Olefin-Cyclisierung oder als Lewis-Säure-katalysierte Diels-Alder-Reaktion mit inversem Elektronenbe-



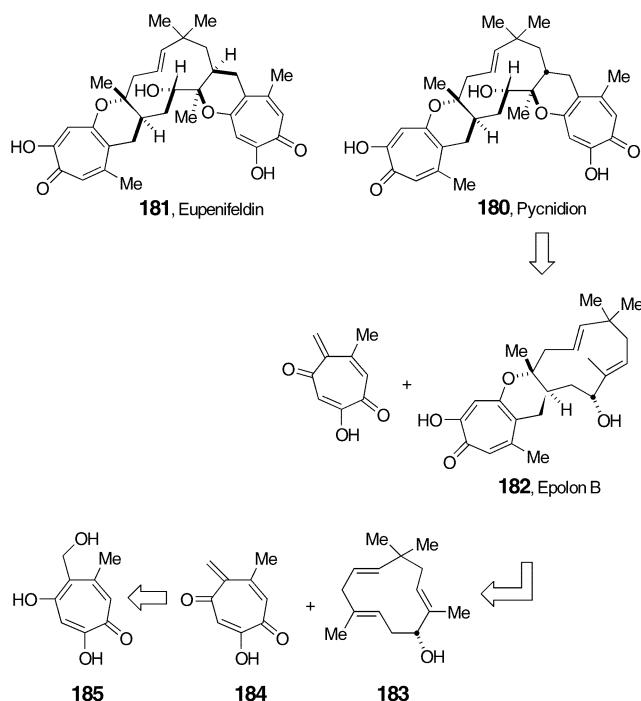
Schema 37. Schlüsselschritt bei der Totalsynthese von Miroesterol (176).^[86] TIPS = Triisopropylsilyl.

darf angesehen werden. Zeitgleich mit der Totalsynthese von **176** wurde **179** auch aus Extrakten von *P. mirifica* in einer Ausbeute von ca. 1 mg isoliert. Möglicherweise ist diese Verbindung eine Vorstufe bei der Biosynthese von **176**, was für eine inverse Diels-Alder-Cycloaddition spricht.

3.4.3. *Pycnidion und andere*

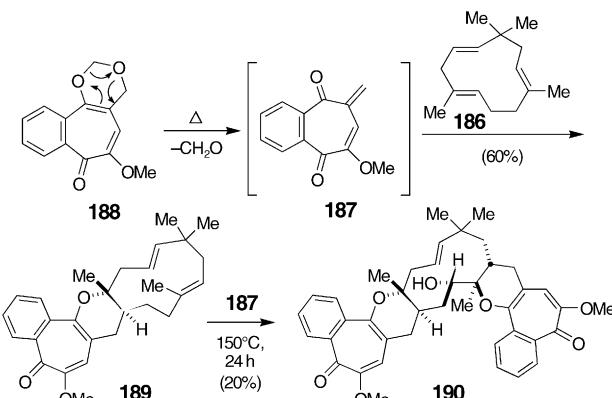
Pycnidion (**180**),^[87] Eupenifeldin (**181**)^[88] und Epolon B (**182**)^[89] bilden eine Gruppe von Pilzmetaboliten mit identischem Tropolonring an einem Sesquiterpengerüst. Für die Biosynthese dieser Verbindungen wurde eine Hetero-Diels-Alder-Reaktion zwischen dem an C11 hydroxylierten Humulen **183** und dem Chinonmethidtropolon **184** vorgeschlagen (Schema 38). **184** wiederum könnte durch eine Dehydratisierung der Trihydroxyverbindung **185** gebildet werden. Nach Cai et al. könnte **182** eine Vorstufe bei der Biosynthese von **180** über eine zweite Hetero-Diels-Alder-Reaktion sein.^[89]

Um dies zu prüfen, wurde in einer Modellreaktion α -Humulen (186) mit dem Benzotropolon 187 umgesetzt



Schema 38. Überlegungen zum Verlauf der Biosynthese von Epolon B (182) und Pycnidion (180).^[90]

(Schema 39). **187** wurde hierfür durch eine thermische Retro-Diels-Alder-Reaktion von **188** synthetisiert.^[90] Beim In-situ-Abfangen von **187** mit **186** wurde das zu **182** analoge Diels-Alder-Cycloaddukt **189** erhalten. Die Zugabe von **187**



Schema 39. Biomimetische Synthese des Epolon-B-Analogs **189** und des Pycnidion-Analogs **190** [90]

im Überschuss lieferte bei 150°C **190** als 1:1-Diastereomerengemisch. Weil die natürlichen Diels-Alder-Cycloaddukte **180–182** enantiomerenrein vorkommen, ist die Addition des Tropolons im lebenden System möglicherweise enzymatisch katalysiert.

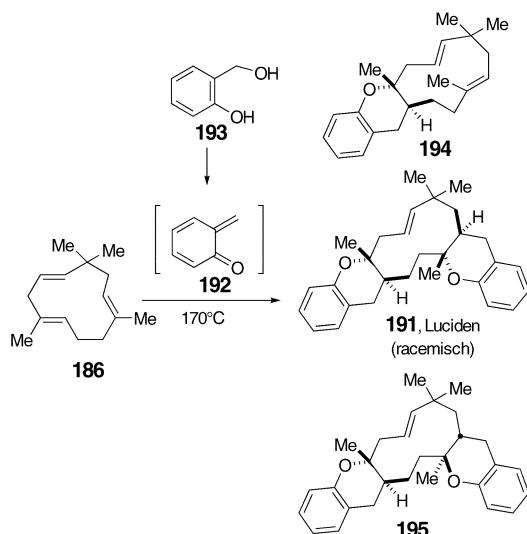
Die strukturell ähnliche Verbindung Luciden (**191**) wurde als Racemat aus der Wurzelrinde von *Uraria lucida* isoliert.^[91] **191** könnte das Produkt einer doppelten [4+2]-Cycloaddition von *o*-Benzochinonmethid (**192**) und α -Humulen (**186**), einem Cometaboliten, sein. Eine biomimetische Synthese lieferte den Naturstoff **191**, das Monoaddukt **194** und Isoluciden (**195**).^[92] Anders als **180–182** ist **191** nicht optisch aktiv, daher entsteht es sehr wahrscheinlich in einer nicht-enzymatischen Diels-Alder-Reaktion (Schema 40).

4. *Phenylpropanoide*

4.1. Intramolekulare Cycloaddukte

4.1.1. *Phenylphenalenone*

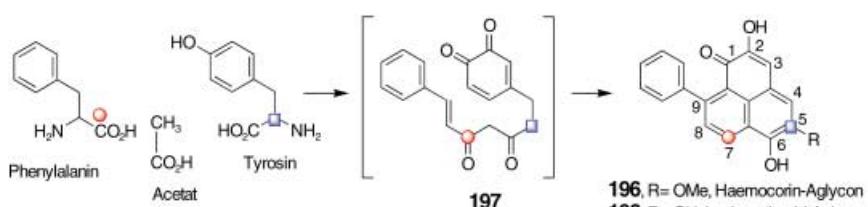
Phenylphenalenone sind charakteristische Pigmente in den einkeimblättrigen Pflanzen der Familie *Tinctoria*. Eine frühe Untersuchung zur Biosynthese dieser Verbindungen



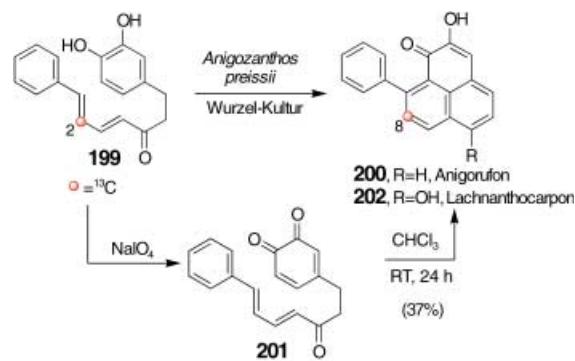
Schema 40. Biomimetische Totalsynthese von Luciden (191).^[92]

ließ vermuten, dass $[2-^{14}\text{C}]$ Tyrosin spezifisch an C5 des Haemocorin-Aglycons (196) eingebaut wird.^[93] Der vorgeschlagene Biosyntheseweg (Schema 41) beinhaltet die Kondensation je eines Moleküls Phenylalanin und Tyrosin (oder ihrer metabolen Äquivalente) mit einem Molekül Essigsäure unter Abspaltung einer Carboxygruppe. Intermediäres Produkt ist das Diarylheptanoid 197, das vielleicht in einer Diels-Alder-Reaktion, cyclisiert und so das Phenylphenalenon-Ringsystem liefert. Ein weiteres Indiz für diesen Verlauf war der spezifische Einbau von $[1-^{13}\text{C}]$ Phenylalanin an C7 des Lachnanthosid-Aglycons (198).^[94] Außer Phenylalanin und Tyrosin sind auch andere von Shikimisäure abgeleitete Phenylpropanoide, wie Zimtsäure und Cumarsäure, ebenfalls als Vorstufen der Phenylphenalenone nachgewiesen worden.^[95,96]

Erst 1995 wurden experimentelle Beweise für das intermediäre Auftreten eines Diarylheptanoids bei der Phenylphenalenon-Biosynthese gefunden. Höschler et al. zeigten, dass die ^{13}C -markierte Diels-Alder-Vorstufe 199 bei Fütterungsexperimenten mit einer Kultur von Wurzeln von *Anigozanthos preissii* spezifisch in Anigorufon (200) eingebaut wird (Schema 42).^[96] Aus einer früheren Untersuchung war bereits bekannt, dass nach Oxidation mit NaIO_4 aus unmarkiertem 199 bei Raumtemperatur durch eine intramolekulare Diels-Alder-Cycloaddition spontan Lachnanthocarpon (202) gebildet wird.^[97] Die Diels-Alder-Cyclisierung zum Phenylphenalenon-Ringsystem scheint daher nicht enzymkatalysiert zu verlaufen.



Schema 41. Vorschlag zur Biosynthese der Phenylphenalenone.^[97]



Schema 42. Synthese und Biosynthese der Phenylphenalenone 200 und 202.^[96,97]

4.1.2. Brombyine

Die Brombyine sind Decalinderivate aus dem australischen Baum *Brombya platynema*, die in der Natur in racemischer Form vorkommen.^[98] Die beiden Metabolite 203 und 204 könnten im lebenden System zwar durch oxidative Kupplung zweier Zimtsäurereste (an den 9-2'- und 7-7'-Positionen in 205, Schema 43) entstehen, was aber wegen der vollständigen Hydrierung eines der sechsgliedrigen Ringe und der fehlenden optischen Aktivität der Naturstoffe unwahrscheinlich erscheint.

Stattdessen führte die Isolierung von 206 zur Annahme der Verknüpfung einer C_6C_3 -Einheit 207 mit einer Pentaketidkette zum Intermediat 208 (Schema 43). Spontane intramolekulare Diels-Alder-Cyclisierung des Intermediats 209 könnte dann zwei racemische, 203 und 204 entsprechende Produkte liefern.

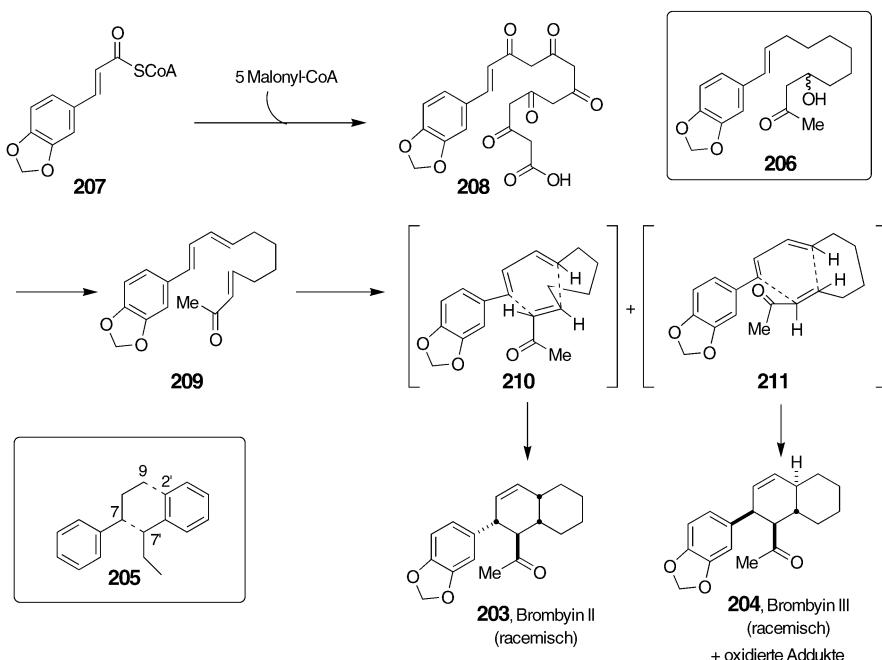
4.2. Intermolekulare dimere Cycloaddukte

4.2.1. Dimere Cumarine

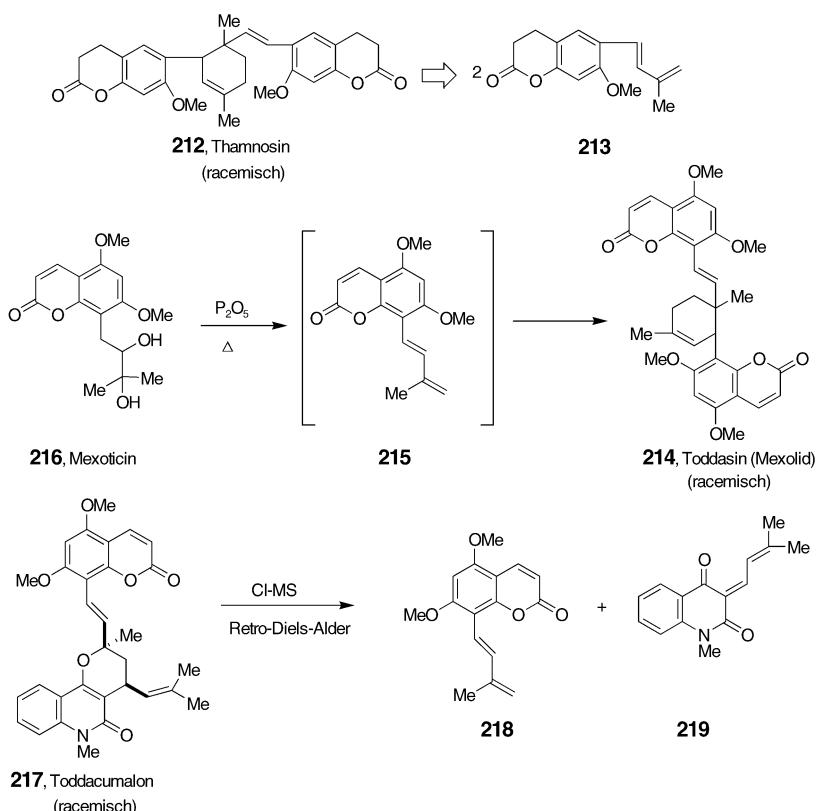
Eine andere Gruppe von Phenylpropanoid-Diels-Alder-Addukten sind dimere Cumarine (Schema 44). Für die Bildung des ersten entdeckten Dicumarins, Thamnosin (212), wurde eine Diels-Alder-Reaktion zwischen zwei Monomeren 213 postuliert.^[99] Später wurde das Dicumarin Toddasin (214, Mexolid) aus zwei unterschiedlichen Quellen, *Toddalia asiatica* und *Murraya exotica*, isoliert.^[100,101] Bei der Aufnahme von EI-Massenspektren von 214 wurde das Retro-Diels-Alder-Fragment 215 gebildet.^[100] Die Umsetzung von Mexoticin (216), einem Cometaboliten von 214 in *M. exotica*, mit P_2O_5 in siedendem Xylool lieferte 214, vermutlich über das Dehydratisierungsprodukt 215.^[101] Toddacumalon (217) war das erste Beispiel eines gemischten Cumarindimers. Im CI-Massenspektrum von 217 treten Peaks auf, die den protonierten Ionen des Cumarsins 218 und des Chinolons 219 entsprechen.^[102]

4.2.2. Kuwanon J und Chalcomoracin

Ebenfalls über eine biologische Diels-Alder-Cyclisierung entstehen die



Schema 43. Vorschlag zur Biosynthese der Brombyine.^[98]



Schema 44. Diels-Alder-Cycloaddition zu Cumarindimeren und deren Fragmentierung durch Retro-Diels-Alder-Reaktion.^[99–102]

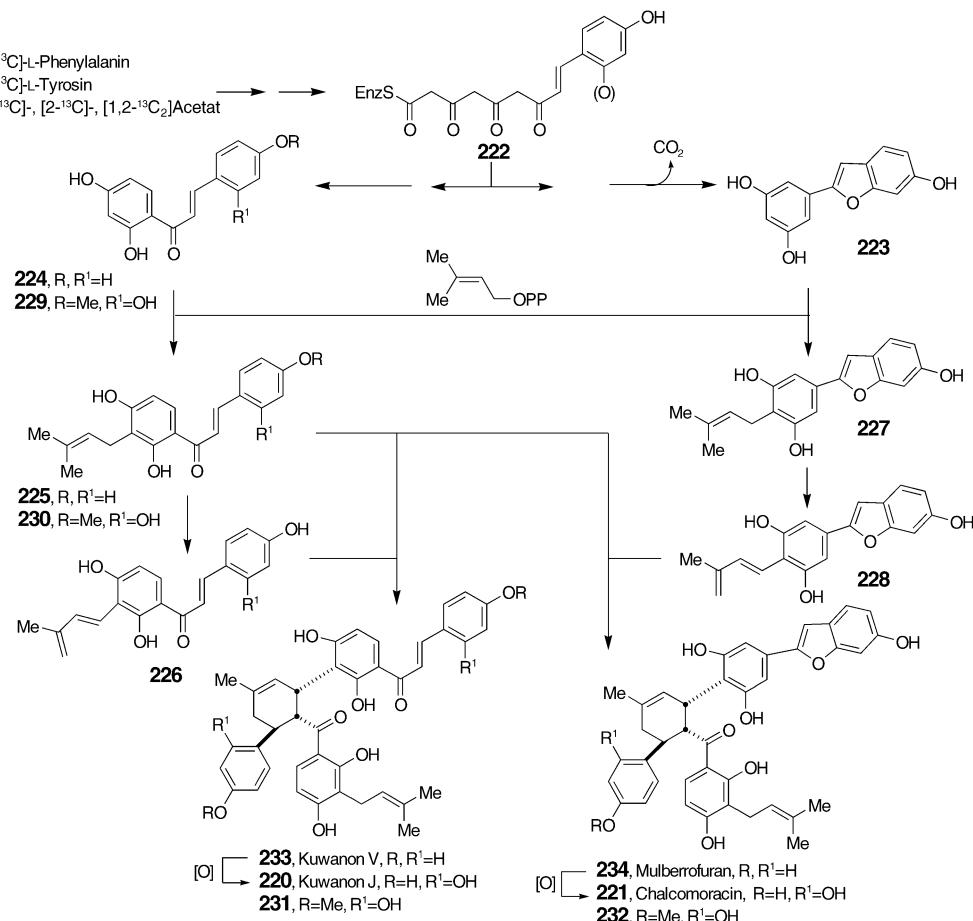
Phenylpropanoide Kuwanon J (220) und Chalcomoracin (221) aus *Morus alba* L. Die Selektion von Kalluskulturen aus *M. alba*, die wesentlich mehr Diels-Alder-artige Addukte produzieren (rund 100 Mal mehr 220 und 221 als die ganze

Pflanze), ermöglichte die Untersuchung der Biosynthese dieser Verbindungen.^[103] Fütterungsexperimente mit [1-¹³C]-, [2-¹³C]- und [1,2-¹³C₂]Acetat zeigen, dass 220 und 221 durch die Kondensation zweier Einheiten entstehen, die sich vom Zimtsäurepolyketid 222 ableiten (Schema 45).

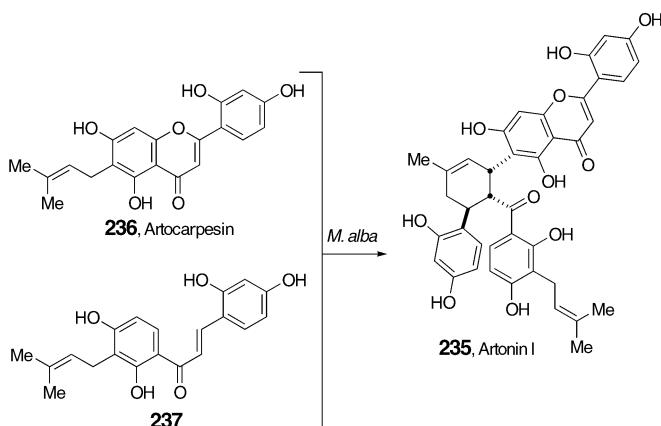
Das Arylbenzofurangerüst von 221 wird anscheinend in einem neuartigen Typ von Cyclisierung aus dem Zimtsäurepolyketid 222 gebildet, daran schließt sich eine Decarboxylierung zu 223 an.^[103] [1-¹³C]-, [2-¹³C]- und [1,2-¹³C₂]Acetat wurden nicht in die Prenylgruppen von 220 und 221 eingebaut, was darauf hindeutet, dass die Isopreneinheiten nicht auf dem klassischen Mevalonatweg gebildet werden.^[103,104] Der Einbau von [3-¹³C]-L-Phenylalanin und [3-¹³C]-L-Tyrosin in beide Hälften von 220 und 221 lässt auf einen gemeinsamen Biosyntheseweg über *p*-Cumarat zum Zimtsäurepolyketidgerüst schließen.^[105]

Die Zugabe des O-methylierten Chalcons 229 zu Zellkulturen von *Morus alba* führte zur Bildung von 230 sowie der O-Methylderivate 231 und 232 von Kuwanon J (220) bzw. Chalcomoracin (221).^[106] Die Struktur von 230 deutet auf eine Prenylierung nach der Aromatisierung des Zimtsäurepolyketids hin. Die Zugabe von 230 zu Zellkulturen von *M. alba* führte ebenfalls zur Bildung von 231 und 232. Dies ist ein starkes Indiz dafür, dass im lebenden System ein Molekül des prenylierten Chalcons 225 als Dienophil reagiert und ein zweites nach Dehydrierung als Dien (226 oder 228). 231 und 232 sind optisch aktiv und weisen die gleiche Konfiguration wie 220 und 221 auf. Dies lässt auf eine enzymatische Kondensationsreaktion schließen.^[106] Eine genauere Untersuchung der Diels-Alder-artigen Addukte nach Fütterung von [2-¹³C]Acetat an *M. alba* ergab für

die Addukte Kuwanon V (233) und Mulberrofuran (234) einen höheren Anreicherungsgrad (24 bzw. 22 %) als für 220 und 221 (4 bzw. 17 %).^[107] Das deutet darauf hin, dass 233 und 234 zu 220 und 221 hydroxyliert werden.



Schema 45. Möglicher Verlauf der Biosynthese von Kuwanon J (220) und Chalcomoracin (221).^[106]



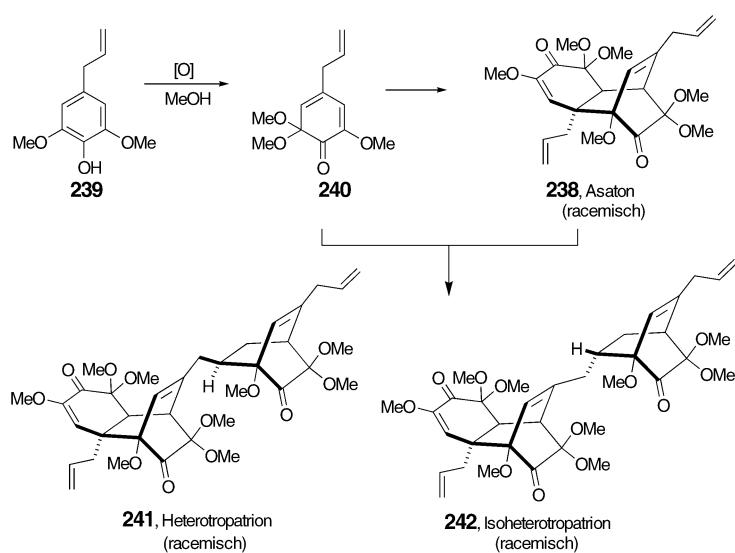
Schema 46. Hypothese zur Biosynthese von Artonin I (235) über eine Diels-Alder-Reaktion.^[108]

Durch Biotransformationsexperimente mit *M. alba*-Kulturen gelang auch die Aufklärung der Struktur des Diels-Alder-Addukts Artonin I (235) (Schema 46).^[108] Weil 235 nur ein Nebenmetabolit aus der Wurzelrinde von *Artocarpus heterophyllus* ist und nur in sehr geringer Menge vorlag (0.7 mg, $3.5 \times 10^{-6}\%$), war eine Strukturaufklärung dieser

Verbindung vorher nicht möglich. Das Vorkommen von Artocarpesin (236) in der gleichen Pflanze führte zu dem in Schema 46 wiedergegebenen Vorschlag für die Biogenese und die Struktur von 235. Um dies zu prüfen, wurde 236 zu Zellkulturen von *M. alba* zugesetzt. Bei der Aufarbeitung wurden 8 mg eines Nebenmetaboliten nachgewiesen, der das gleiche Massen- und ¹H-NMR-Spektrum wie 235 aufwies. In den *M. alba*-Kulturen reagierte 236 also vermutlich als Dien mit dem in den Zellen gebildeten Dienophil 237 zum vermuteten Cycloaddukt 235.

4.2.3. Asaton

Asaton (238) ist ein Neolignan aus den Stängeln und Rhizomen von *Asarum teitonese* Hayata.^[109] Im Massenspektrum von 238 tritt der Basispeak bei der halben Molekülmasse auf, was in Einklang mit einer Retro-Diels-Alder-Fragmentierung ist. 238 ist aus zwei C₆C₃-Einheiten zusammengesetzt, deren Biosynthese durch die enzymatische Oxidation von 4-*Allyl-2,6-dimethoxyphenol* (239) denkbar ist (Schema 47). Das optisch inaktive Dienon 240 dimerisiert dann in einer intermolekularen Diels-Alder-Reaktion zu 238. In der Tat lieferte die anodische Oxidation von 239 in Methanol eine Mischung aus 240 und 238. Beim Stehenlassen bei Raum-



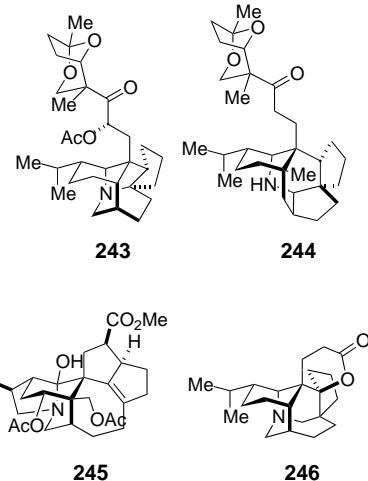
Schema 47. Überlegungen zur Biosynthese von Asaton (238) und der Heterotropatrin (241) und 242.^[10,11]

temperatur wandelte sich **240** quantitativ in **238** um.^[110] Die verwandten Lignane Heterotropatrin (241) und Isoheterotropatrin (242) werden als Diels-Alder-Addukte aus **238** und **240** aufgefasst.^[111]

5. Alkaloide

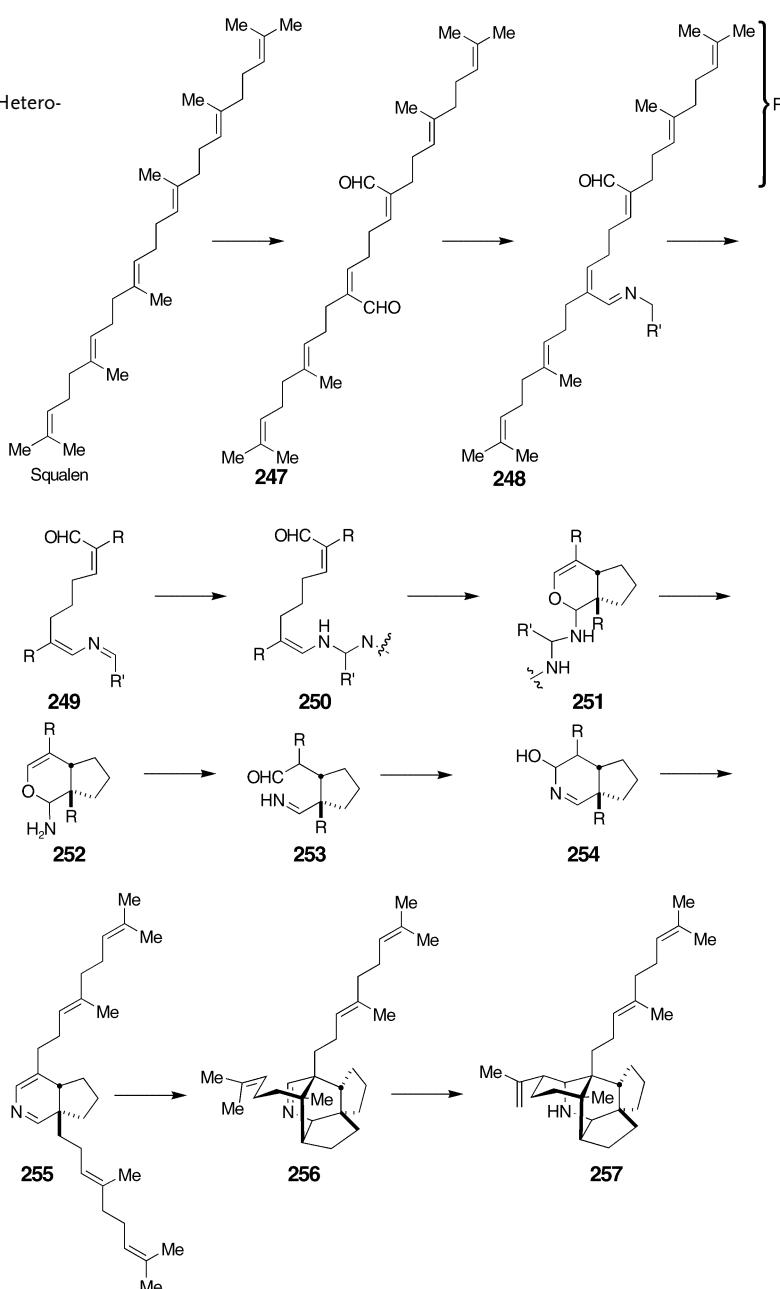
5.1. Daphniphyllum-Alkaloide

Die Daphniphyllum-Alkaloide bilden eine wachsende Klasse polycyclischer Naturstoffe, die 1909 zuerst aus dem Laubbaum Yuzurha (*Daphniphyllum macropodum*) isoliert wurden. Die vier Strukturtypen der Daphniphyllum-Alkaloide werden durch Daphniphyllin (243), Secodaphniphyllin (244), Yuzurimin (245) und Daphnilacton A (246) repräsentiert. In frühen Arbeiten zur



Biosynthese von **243** wurde seine Bildung aus Mevalonat über ein Squalen-artiges Intermediat bewiesen.^[112] Später stellten Heathcock et al. eine Hypothese zur Biosynthese des komplexen polycyclischen Ringsystems der Daphniphyllum-Alkaloide durch eine Hetero-Diels-Alder-Cyclisierung auf (Schema 48).^[113,114]

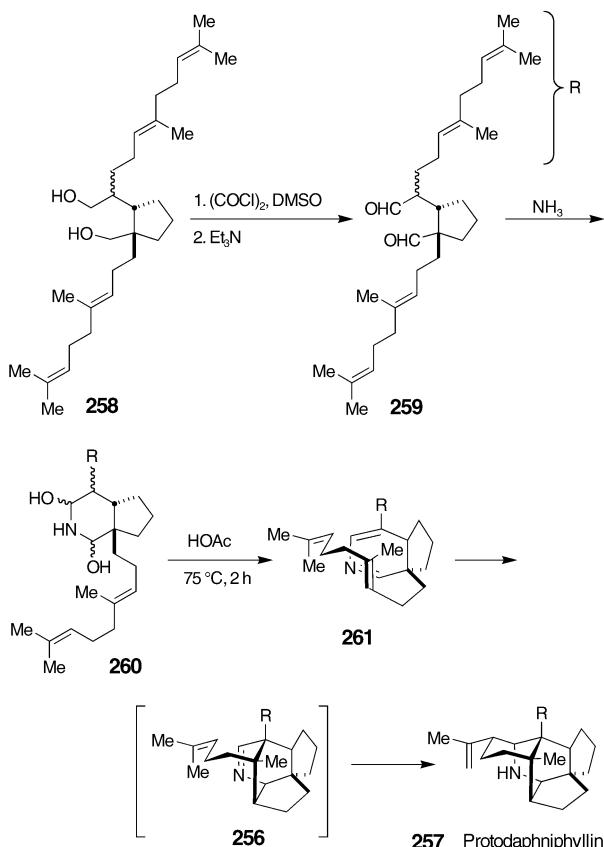
Demnach kondensiert der von Squalen abgeleitete Dialdehyd **247** mit Pyridoxamin zum Azadien **248**. Durch eine Protonenwanderung in **248** entsteht **249**, aus dem durch nucleophile Addition eines Amins (möglicherweise aus Lysin) das Enamin **250** gebildet wird. Eine intramolekulare Enamin-Enal-Cyclisierung von **250** liefert das bicyclische Dihydropyranerivat **251**, säurevermittelte Addition und Eliminierung führen dann zum Dihydropyridinderivat **255**



Schema 48. Möglicher Verlauf der Biosynthese der Daphniphyllum-Alkaloide.^[113,114]

und eine katalysierte intramolekulare Hetero-Diels-Alder-Reaktion zum Tetrahydropyridin **256**. Durch eine En-artige Cyclisierung von **256** entsteht schließlich die pentacyclische Verbindung Protodaphniphyllin (**257**), eine mutmaßliche Vorstufe von Daphniphyllin (**243**).

Um ihre Hypothese zu testen, führten Heathcock et al. eine biomimetische Totalsynthese von **257** durch



Schema 49. Biomimetische Totalsynthese von Protodaphniphyllin (**257**).^[115]

(Schema 49).^[115] Hierbei nutzten sie eine Eintopfreaktion, die sie auch zur Herstellung von fünf Daphniphyllum-Alkaloiden einsetzten.^[115,116] Durch eine Swern-Oxidation wurde das 1,5-Diol **258** zum Dialdehyd **259** umgesetzt. Die Reaktionsmischung wurde anschließend zuerst mit Ammoniak, dann mit Essigsäure und Ammoniumacetat umgesetzt, was zur Bildung des Azadiens **261** führte. Eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion lieferte das Imin **256**. Erhitzen der essigsauren Imin-Lösung erleichterte dann eine intramolekulare Aza-Prins-Cyclisierung zu **257**.

5.2. Indol-Alkaloide

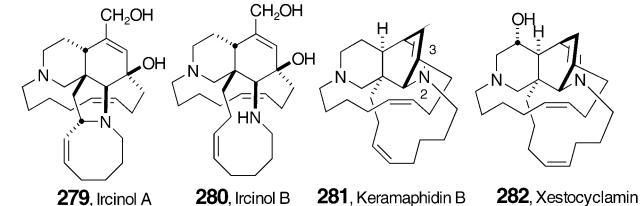
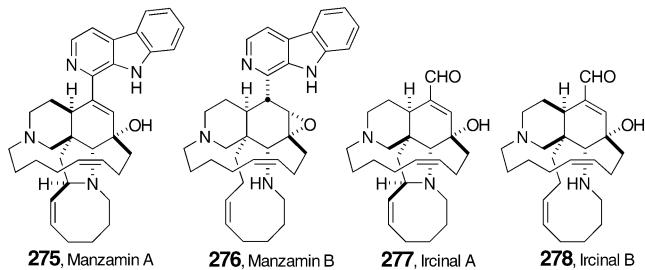
5.2.1. Iboga- und Aspidosperma-Alkaloide

Die Iboga- und Aspidosperma-Alkaloide sind vielleicht die bekanntesten Beispiele für Naturstoffe, deren Bildung möglicherweise durch eine biologische Diels-Alder-Reaktion erfolgt. Dennoch gibt es auch hier noch keinen endgültigen Beweis für diesen Biosyntheseschritt. Scott hatte bis zum Jahr

1970 bereits einen bedeutenden Teil des Biosyntheseweges durch Fütterungsexperimente mit *Vinca-rosea*-Schößlingen in Hydrokultur aufgeklärt.^[117] Seine Resultate führten zusammen mit chronologischen Isolierungsuntersuchungen zu dem in Schema 50 dargestellten vorgeschlagenen Biosyntheseweg. Das intermediäre Auftreten von Dehydrosecodin (**271**) wurde angenommen, um den Einbau von Stemmadenin (**272**) sowohl in Catharanthin (**273**, Iboga-Gerüst) als auch in Vindolin (**274**, Aspidosperma-Gerüst) erklären zu können. Scott vermutete, dass die heterolytische Ringöffnung und die gleichzeitige Dehydratisierung von **272** zur Bildung von **271** führen, das dann zwei mögliche [4+2]-Cycloadditionen eingehen könnte. Reagiert der Dihydropyridinteil von **271** als Dienophil, entsteht **274**; reagiert **271** dagegen als Dien, wird **273** gebildet. Abgesehen von einer biomimetischen Synthese^[118] gibt es aber bisher keinen direkten Beweis für diese etwas gewagte Hypothese.

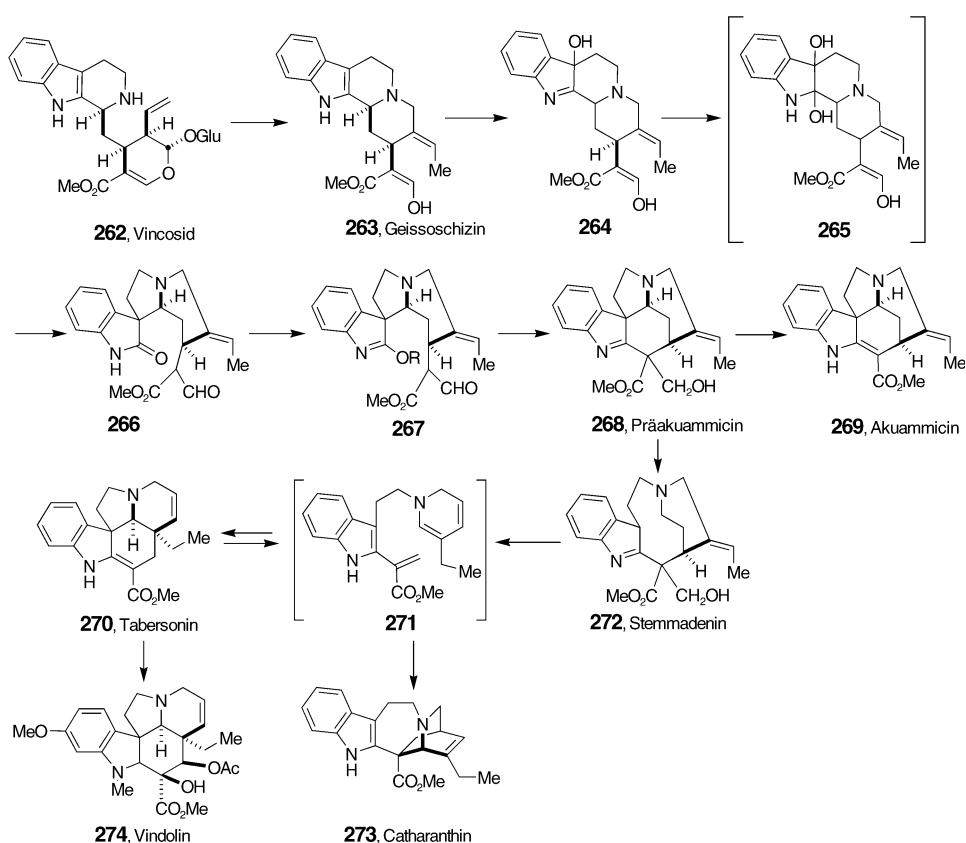
5.2.2. Manzamin-Alkaloide

Die Manzamine sind eine wachsende Gruppe cytotoxischer Alkaloide aus Meeresschwämmen mit einem ungewöhnlichen polycyclischen Diamingerüst. Zu dieser Gruppe gehören Manzamin A (**275**) und B (**276**), Ircinal A (**277**)



und B (**278**).^[120] Ircinal A (**279**) und B (**280**).^[121] Keramaphidin B (**281**).^[122] Xestocyclamin (**282**).^[123] und Ingenamin.^[124] **277** und **278** wurden als Biosynthesevorstufen von **275** und **276** vorgeschlagen.^[120] Chemisch wurde **277** durch eine Pictet-Spengler-Cyclisierung mit Tryptamin und anschließende Dichloridcyanobenzochinon(DDQ)-Oxidation zu **275** umgesetzt.^[120] **279** und **280** sind Antipoden der zu den Alkoholen reduzierten Aldehyde **277** und **278** und die ersten Alkaloide dieser Klasse mit einer zu den Manzaminen entgegengesetzten absoluten Konfiguration.^[119] Auch **281** könnte eine Vorstufe bei der Biosynthese der Manzamine sein, da durch die Hydrolyse der N2-C3-Bindung der Iminoform von **281** ein Ircinal entsteht.^[122]

1992 entwarfen Baldwin und Whitehead ein elegantes Modell für eine einheitliche Biogenese der Manzamine

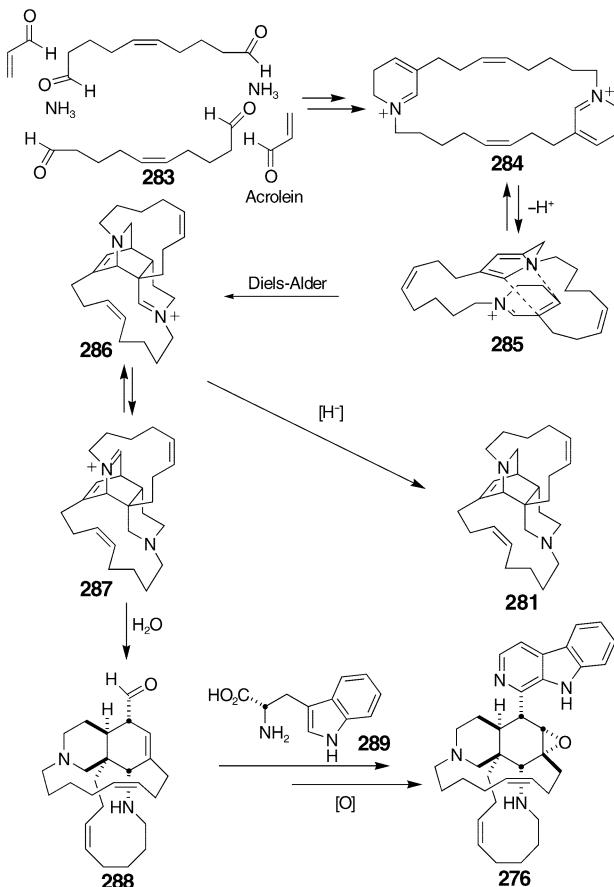


Schema 50. Mutmaßlicher Verlauf der Biosynthese der Iboga- und Aspidosperma-Alkaloide.^[117]

(Schema 51).^[125] **276** könnte demnach aus vier Bausteinen gebildet werden: Ammoniak, der C_{10} -Einheit **283**, Acrolein als C_3 -Einheit und Tryptophan. Schlüsselschritt der Biosynthese ist die intramolekulare *endo*-Diels-Alder-Cycloaddition einer partiell reduzierten Bispyridinium-Verbindung (**284** \rightarrow **285** \rightarrow **286**). Für ein intermediäres Auftreten von **284** spricht auch die Isolierung der Bispyridinium-Makrocyclen Cyclostellettamin A–F aus dem Meeresschwamm *Stelletta maxima*.^[126] Baldwin et al. erweiterten ihre Hypothese später noch durch die Einbeziehung von **281**.^[127]

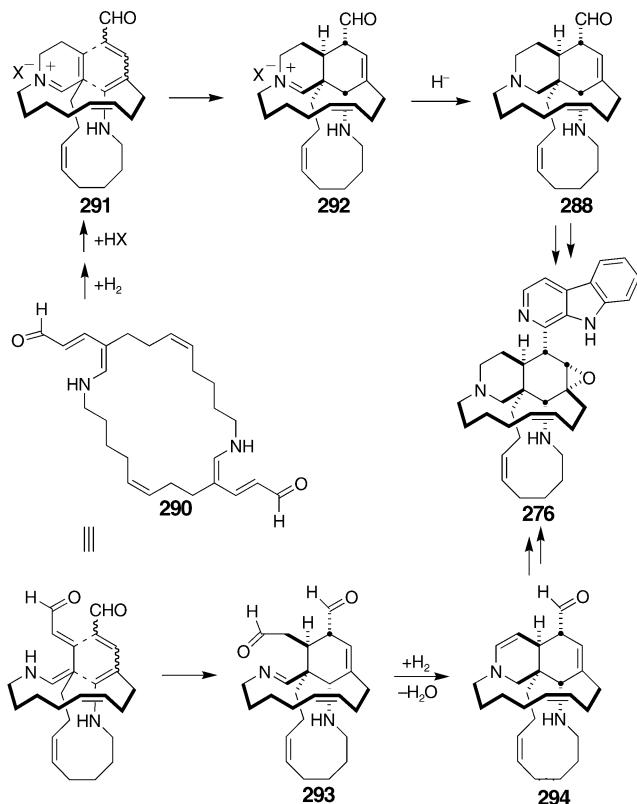
Baldwin et al. gelang auch eine biomimetische Totalsynthese von Keramaphidin B (**281**). Lösen des mutmaßlichen Intermediats **284** in einer Lösung aus Methanol und TRIS-Puffer und anschließende Reduktion mit NaBH_4 ergab eine geringe Menge an **281** (TRIS = Tris(hydroxymethyl)aminomethan).^[128] Die geringe Ausbeute an **281** wurde mit der Neigung von Intermediat **285** zur Disproportionierung erklärt. In vivo könnte dagegen eine Diels-Alderase die konformative Beweglichkeit des Substrats begrenzen, was nicht nur die Entropieänderung bei der Bildung des Übergangszustands minimieren, sondern auch eine mögliche Disproportionierung vermeiden würde.

Marazano et al. berichteten 1998 über einen alternativen Verlauf der Manzamin-Biosynthese.^[129] Demnach könnte eine Diels-Alder-Reaktion mit einem substituierten 5-Amino-2,4-pentadienal als Dien stattfinden. Eine Disproportionierung tritt hier nicht ein, und die Ringspannung während der [4+2]-Cycloaddition ist niedriger. Bausteine zum Aufbau



Schema 51. Hypothese von Baldwin et al. zur Biosynthese von Manzamin B (**276**).^[127]

des Makrocyclus **290** sind hier Malondialdehyd (statt Acrolein), Ammoniak und ein geeigneter ungesättigter Dialdehyd. Ausgehend von **290** wurden zwei mögliche Wege zur Bildung von **276** vorgeschlagen (Schema 52). Analog zum Modell von Baldwin et al. führt eine reduktive Cyclisierung von **290** zur



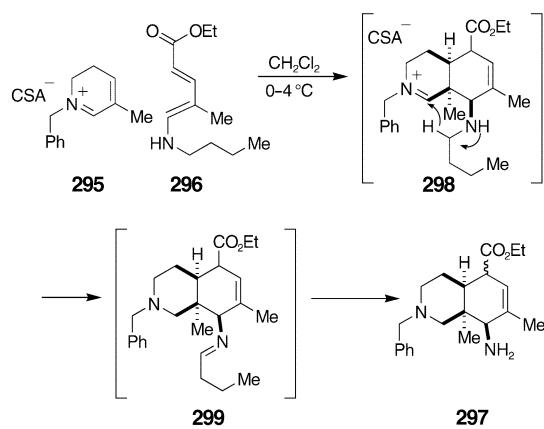
Schema 52. Vorschlag von Marazano et al. zur Biosynthese von Manzamin B (276).^[129a]

Dihydropyridinium-Verbindung 291. Eine Diels-Alder-Cycloaddition und die Reduktion von **292** liefern direkt die von Baldwin angenommene Manzamin-Vorstufe **288**. Alternativ kann bei der direkten Cyclisierung von **290** das Intermediat **293** gebildet werden. Durch die anschließende Reduktion des gebildeten Iminrestes und Cyclisierung entsteht das Enamin **294**, das zu Manzamin B (276) führt. Die Annahme von Enamin **294** als Intermediat wurde durch die Isolierung des Manzamindimers Kauluamin aus einem indonesischen Schwamm gestützt.^[130]

Zur Überprüfung des ersten dieser möglichen Biosynthesewege führten Marazano et al. eine Modellsynthese durch (Schema 53). Die Cycloaddition von **295** mit **296** lieferte aber nur den Aminoester **297**, der vermutlich durch eine intramolekulare Hydridverschiebung in **298** und Hydrolyse des dabei entstehenden Imins **299** gebildet wird.

5.2.3. Brevianamide

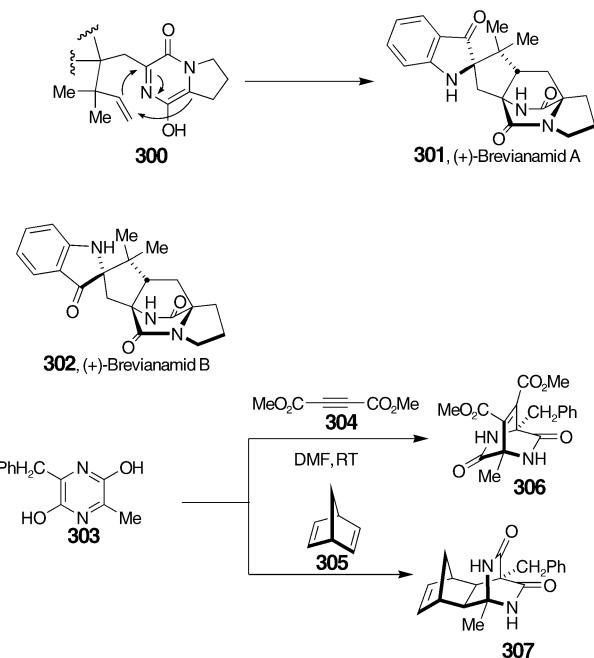
Birch und Wright et al. waren die ersten, die den Pilzmetaboliten Brevianamid A (301) aus *Penicillium brevicompactum* und einige Nebenmetabolite einschließlich Bre-



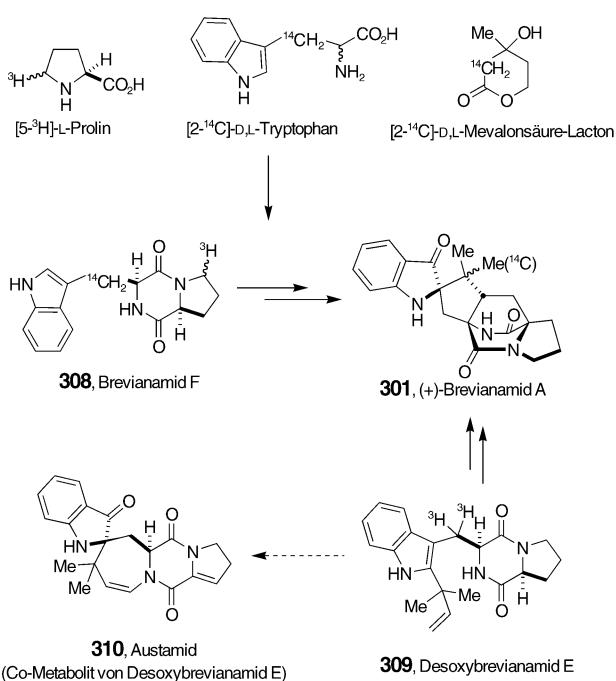
Schema 53. Diels-Alder-Cycloaddition als Modellversuch zur Biosynthese der Manzamin-Alkaloide. CSA = Camphersulfonsäure.^[129b]

vianamid B (302) isolierten.^[131] 1970 schlugen Sammes et al. für die Biosynthese des einzigartigen Bicyclo[2.2.2]diazaoctan-Ringsystems von **301** eine Hetero-Diels-Alder-Cycloaddition von **300** vor.^[132] Diese Hypothese wurde experimentell überprüft, indem als Modellverbindung das Dihydroxypyrazin **303** mit Dimethylacetylendicarboxylat (304) und Norbornadien (305) zu den Diels-Alder-Cycloaddukten **306** bzw. **307** umgesetzt wurde (Schema 54).

Frühe Markierungs- und Fütterungsversuche von Birch et al. wiesen auf Tryptophan, Prolin und Mevalonsäure als Vorstufen von **301** hin (Schema 55).^[133] In der gleichen Untersuchung wurde auch der Einbau von isotopenmarkiertem Brevianamid F (308) in **301** in einer signifikanten radiochemischen Ausbeute nachgewiesen. Das umgekehrte Prenylierte Intermediat Desoxybrevianamid E (309) wurde daher



Schema 54. Vorschlag und Modellversuch von Sammes et al. zur Biosynthese von Brevianamid A (301).^[132]

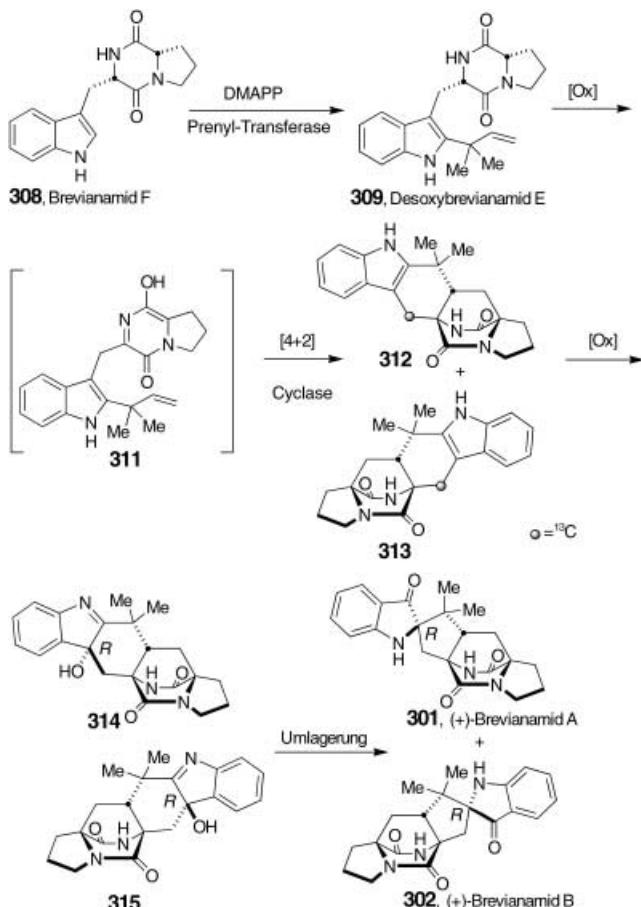


Schema 55. Untersuchungen zur Biosynthese der Brevianamide.^[133, 134]

als Biosynthesevorstufe postuliert. **309** wurde aus dem Pilz *Aspergillus ustus*, der Austamid (**310**) produziert, isoliert, als Metabolit in Brevianamid-produzierenden Kulturen aber noch nicht nachgewiesen. Williams et al. führten 1993 Fütterungsexperimente mit $[8\text{-}^3\text{H}_2]\text{-309}$ durch, die starke Indizien für **309** als Biosynthesevorstufe von **301** und **302** liefern.^[134]

Williams et al. gelang auch die erste asymmetrische Totalsynthese von (–)-Brevianamid B, bei der in Bezug auf die Bicyclo[2.2.2]diazoctaneinheit eine ungewöhnliche enantiomorphe Beziehung zwischen **301** und **302** entdeckt wurde.^[135] Basierend auf diesen Erkenntnissen wurde der in Schema 56 dargestellte Biosyntheseweg abgeleitet. Demnach liefert eine Zweielektronenoxidation von **309** das Azadien **311**. Durch eine intramolekulare Hetero-Diels-Alder-Cycloaddition entstehen daraus die enantiomeren hexacyclischen Addukte **312** und **313**. Schließlich liefern eine (R)-selektive Oxidation an der 3-Position des Indolrings und eine Pinacol-artige Umlagerung die Verbindungen **301** und **302**. Die synthetisierten ¹³C-markierten vermutlichen Intermediate **312** und **313** wurden in Fütterungsexperimenten mit *Penicillium brevicompactum* jedoch nicht eingebaut.^[134] Auch Bemühungen, **312** und **313** als natürliche Metaboliten von *P. brevicompactum* zu identifizieren, schlugen fehl. Diese Ergebnisse schließen das intermediäre Auftreten von **312** oder **313** bei der Biosynthese zwar nicht völlig aus, führten aber dennoch zur Aufstellung des in Schema 57 dargestellten alternativen Biosyntheseweges.^[134]

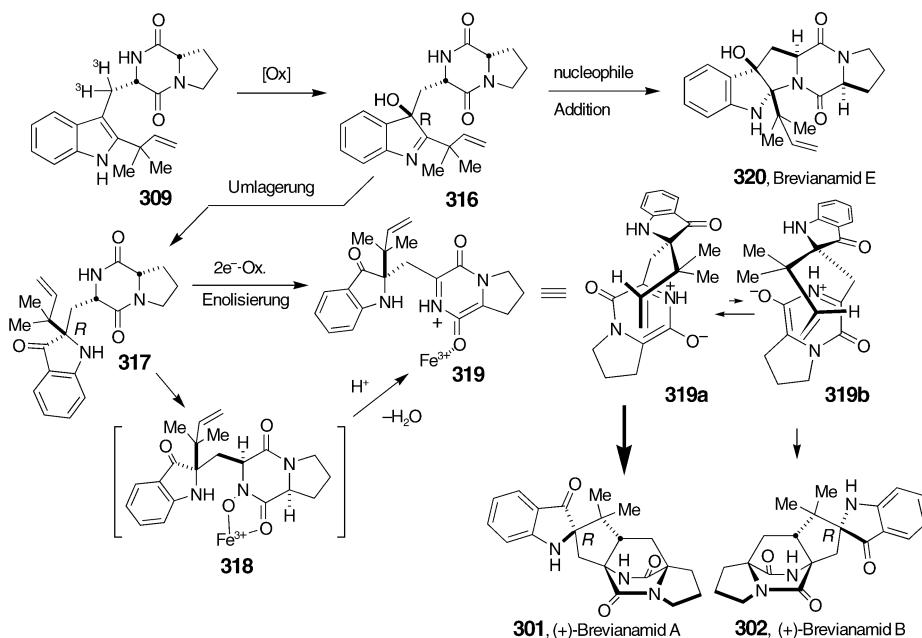
Nun wurde eine Oxidation von **309** zum Hydroxyindolenin **316** angenommen, der sich eine Pinacol-Umlagerung zum Indoxyl **317** anschließt, bevor das erforderliche Azadien **319** durch Zweielektronenoxidation und Enolisierung gebildet wird. Die Annahme von **316** als Intermediat wurde durch die Isolierung des Shunprodukte Brevianamid E (**320**)



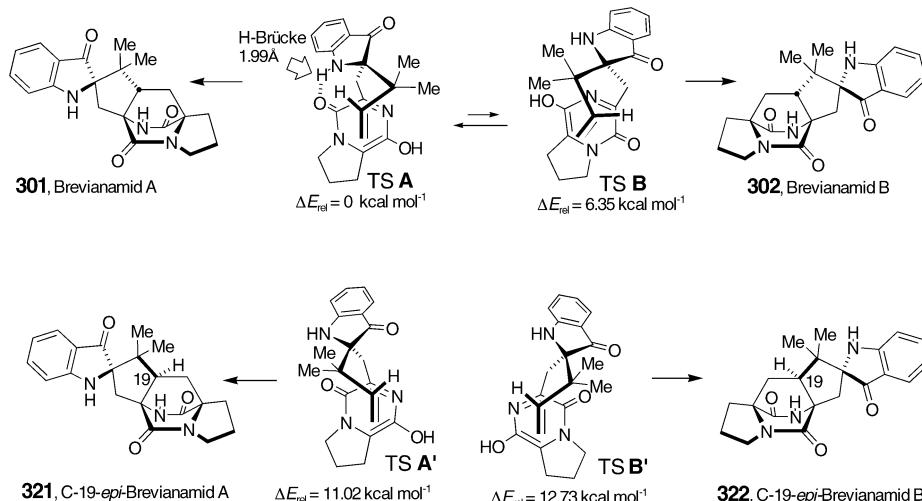
Schema 56. Erster Vorschlag von Williams et al. zur Biosynthese der Brevianamide.^[135] DMAPP = Allolidimethylidiphosphat.

gestützt, das durch einen irreversiblen nucleophilen Ringschluss aus **316** entsteht. [$8\text{-}^3\text{H}_2$]-**309** wird mit hoher radiochemischer Ausbeute (38.5 % spezifischer Einbau) in **320** eingebaut.^[134] Die Zugabe von ^3H -markiertem **320** zu Kulturen von *P. brevicompactum* führte nicht zur Bildung signifikanter Mengen markierter Isotopomere von Brevianamid A (**301**) oder B (**302**). Brevianamid E (**320**) ist also in der Tat ein Zweigmetabolit. Möglicherweise kann **316** auf zwei Wegen abreagieren: 1) einem irreversiblen Ringschluss zu **320** oder 2) einer Pinacol-artigen Umlagerung zu **317** und schließlich zu **301** und **302**. Beide Naturstoffe entstehen vermutlich in einer intramolekularen Hetero-Diels-Alder-Cycloaddition aus dem Azadien **319**. Dazu müsste **319** in zwei Konformeren **319a** und **319b** vorliegen, mit **319a** als Hauptkonformer. Aus **319a** entsteht dann **301**, **319b** liefert **302**. **316** könnte auch bereits vor der Pinacol-artigen Umlagerung zum entsprechenden Azadien oxidiert werden. Eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion lieferte dann die beiden diastereomeren Hydroxyindolenin-Vorstufen für **301** und **302**. Diese Möglichkeit ist bisher experimentell nicht geprüft worden.

Um zu untersuchen, ob es eine Vorzugskonformation von Azadien **319** gibt, wurden die Potentialenergiebarrieren für die vier möglichen diastereomeren Übergangszustände (TS) **A**, **B**, **A'** und **B'** berechnet (6-31G*/3-21G, Schema 58).^[13] Für **A** wurde ein Wert von 38.68 kcal mol⁻¹ erhalten, die Barrieren



Schema 57. Modifizierter Vorschlag zur Biosynthese der Brevianamide.^[134]



Schema 58. Berechnung der Energiebarrieren der vier möglichen Übergangszustände (TS) bei der Diels-Alder-Cyclisierung zu den Brevianamiden.^[136]

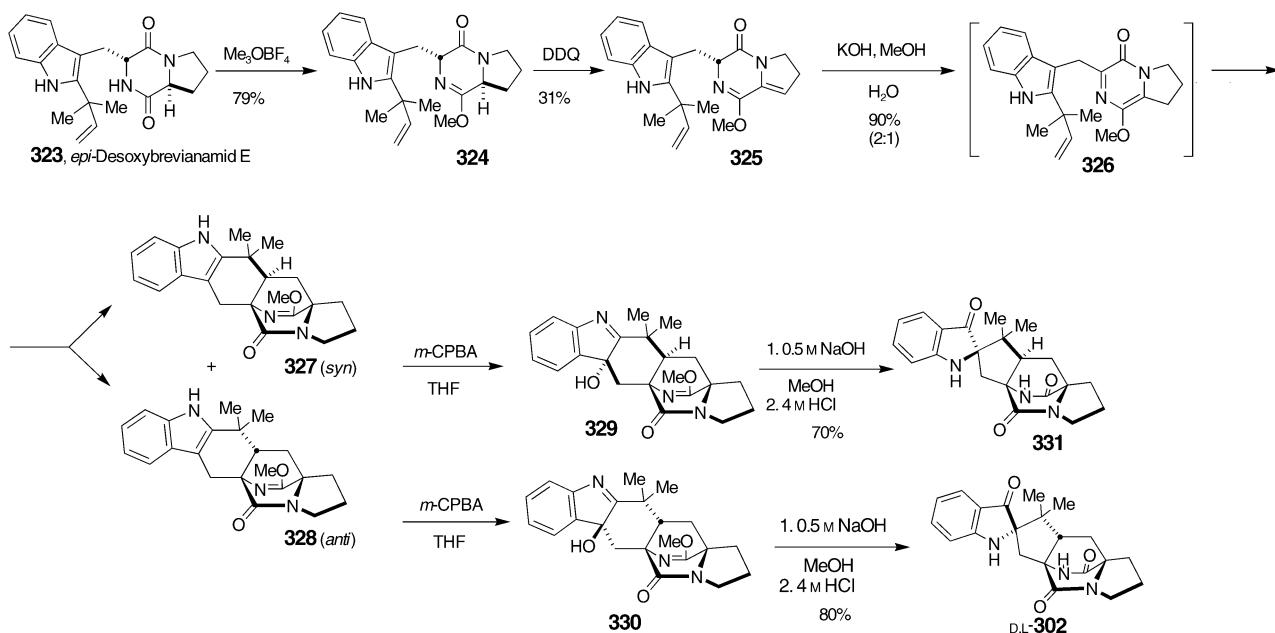
für **B**, **A'** und **B'** sind um 6.35, 11.02 bzw. 12.73 kcal mol⁻¹ höher. Während die Übergangszustände **A** und **B** zu den Biosyntheseprodukten **301** bzw. **302** führen, sind die Diastereomere **321** und **322**, die aus den Übergangszuständen **A'** bzw. **B'** entstehen, als Naturstoffe bislang unbekannt. Grund für die Energiedifferenz zwischen den vier Übergangszuständen könnte die Position der Vinylgruppe relativ zum Azadiensystem sein. Der Unterschied zwischen **A** und **B** wurde mit der bei **A** möglichen intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Indoxylaminogruppe und dem Sauerstoffatom der Amidgruppe erklärt. Die Ergebnisse dieser Rechnungen sind in Einklang mit dem gefundenen Produktverhältnis von **301** und **302** und stützen die Annahme einer intramolekularen Diels-Alder-Cycloaddition des

Schlüsselintermediats **319** dieser Biosynthese. Ob die Reaktion enzymatisch katalysiert ist oder die Prä-Übergangszustandskonformere durch ein Protein organisiert werden, ist noch offen.

Obwohl Porter und Sammes bereits 1970 für die Biogenese der Brevianamide eine natürliche Diels-Alder-Cycloaddition vorschlugen,^[132] gab es bis vor kurzem nur sehr wenige Daten zur Reaktivität solcher Azadiensysteme.^[137] Um die Möglichkeit des Aufbaus von Bicyclo[2.2.2]diazaoctan in einer intramolekularen [4+2]-Reaktion zu klären, führten Williams et al. eine biomimetische Totalsynthese von Brevianamid B (**302**) durch (Schema 59).^[138] Die Umsetzung von *epi*-Desoxybrevianamid E (**323**) mit Trimethyloxoniumtetrafluoroborat lieferte den Lactimether **324**. Bei der anschließenden Oxidation mit DDQ entstand das Azadien **325**, das nach Tautomerisierung in einer wässrigen, basischen Lösung spontan zu den racemischen, diastereomeren Addukten **327** und **328** (Verhältnis 2:1, 90 % Gesamtausbeute) cyclisierte. Das in der Natur nicht nachgewiesene *syn*-Produkt **327** ist hier also begünstigt.

327 und **328** wurden getrennt und diastereoselektiv mit *m*-CPBA zu den Hydroxyindoleninen **329** bzw. **330** oxidiert. Schließlich lieferten die basenkatalysierte Pinacol-artige Umlagerung und die Abspaltung der Lactimether racemisches C19-*epi*-Brevianamid A (**331**) und racemisches Brevianamid B (**302**). Die Versu-

che zeigen, dass die Bicyclo[2.2.2]diazaoctaneinheit durch eine intramolekulare Diels-Alder-Cyclisierung aufgebaut werden kann. Das von Isopren abgeleitete Dienophil war dabei nicht aktiviert, und das Azadien ähnelt strukturell und elektronisch dem vermutlich bei der Biosynthese in Wasser unter Umgebungsbedingungen auftretenden. Die Stereoselektivität der Reaktion im lebenden System (ausschließlich *anti*-Produkt) wurde bei der Cyclisierung unter Laborbedingungen (Begünstigung der *syn*-Konfiguration an C19) allerdings nicht gefunden. Dies macht eine Proteinorganisation der Prä-Übergangszustandskonformation des Substrats wahrscheinlicher. Der Oxidationsgrad der Indoleinheit (Indol, Hydroxyindolin oder Indoxyl) ist dabei noch unklar.

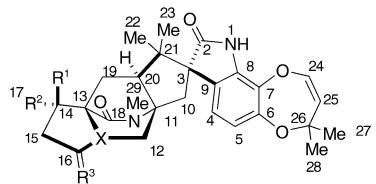


Schema 59. Biomimetische Synthese von Brevianamid B (302). DDQ = Dichlordin-cyanobenzochinon, *m*-CPBA = *m*-Chlorperbenzoësäure.^[138]

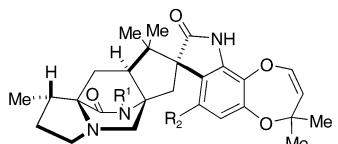
5.2.4. Paraherquamide

Die Paraherquamide (332–344) sind eine Familie heptacyclischer Mycotoxine aus *Penicillium* sp. und *Aspergillus* sp., die strukturell den Brevianamiden ähneln. Sie unterscheiden sich voneinander durch die Substituenten und den Oxidationsgrad im Prolinring, dem prenylierten Oxindolring und dem Bicyclodiazaoctanring. Als erstes dieser Spirooxindole wurde Paraherquamide A (332) 1980 aus *Penicillium paraherquei* isoliert.^[139] Später wurden die Paraherquamide A–G (332–335, 338, 341, 342) aus *Penicillium charlesii (fstellutanum)* isoliert.^[140] Aus *Penicillium* sp. (IMI332995) aus einer Bodenprobe von Kemer (Türkei) wurden 332, 338, 341 und 342 wie auch einige verwandte Verbindungen, z. B. VM55595 (343), VM55596 (336), VM55597 (337) und VM55599 (344) isoliert.^[141] 344 ist das einzige Mitglied dieser Familie mit einem Indolring anstelle eines Oxindolrings. Die zuletzt identifizierten Mitglieder der Paraherquamidefamilie sind SB203105 (339) und SB200437 (340), die 1998 aus *Aspergillus* sp. (IMI337664) isoliert wurden.^[142]

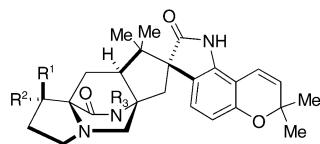
Durch Fütterungsexperimente identifizierten Williams et al. L-Methionin, L-Tryptophan und L-Isoleucin als die proteinogenen Aminosäurebausteine, die zur Biosynthese von Paraherquamide A (332) benötigt werden (Schema 60).^[143] Wie sich durch den Einbau von isotopenmarkiertem L-Isoleucin zeigte, ist diese Aminosäure die Quelle für die ungewöhnliche nichtproteinogene Aminosäure β -Methylprolin, die später in β -Methyl- β -hydroxyprolin umgewandelt wird. Die Reaktionssequenz von Isoleucin zu Methylprolin beinhaltet eine Vier elektronenoxidation/Zweielektronenreduktion unter Retention des (*pro-S*)-Wasserstoffatoms an C16 (Paraherquamide-Nummerierung).^[143,144] Bei weiteren Fütterungsversuchen mit $[^{13}\text{C}_2]$ Acetat und $[^{13}\text{C}_6]$ Glucose



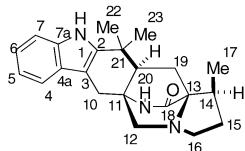
- 332, (-)-Paraherquamide A, $\text{R}^1 = \text{OH}$, $\text{R}^2 = \text{Me}$, $\text{R}^3 = \text{H}_2\text{X} = \text{N}$
 333, (-)-Paraherquamide B, $\text{R}^1 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{H}$, $\text{R}^3 = \text{H}_2\text{X} = \text{N}$
 334, (-)-Paraherquamide C, $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{CH}_2$, $\text{R}^3 = \text{H}_2$, $\text{X} = \text{N}$
 335, (-)-Paraherquamide D, $\text{R}^1 = \text{O}$, $\text{R}^2 = \text{CH}_2$, $\text{R}^3 = \text{H}_2$, $\text{X} = \text{N}$
 336, VM55596, $\text{R}^1 = \text{OH}$, $\text{R}^2 = \text{Me}$, $\text{R}^3 = \text{H}_2$, $\text{X} = \text{N}^+\text{O}^-$
 337, VM55597, $\text{R}^1 = \text{OH}$, $\text{R}^2 = \text{Me}$, $\text{R}^3 = \text{O}$, $\text{X} = \text{N}$



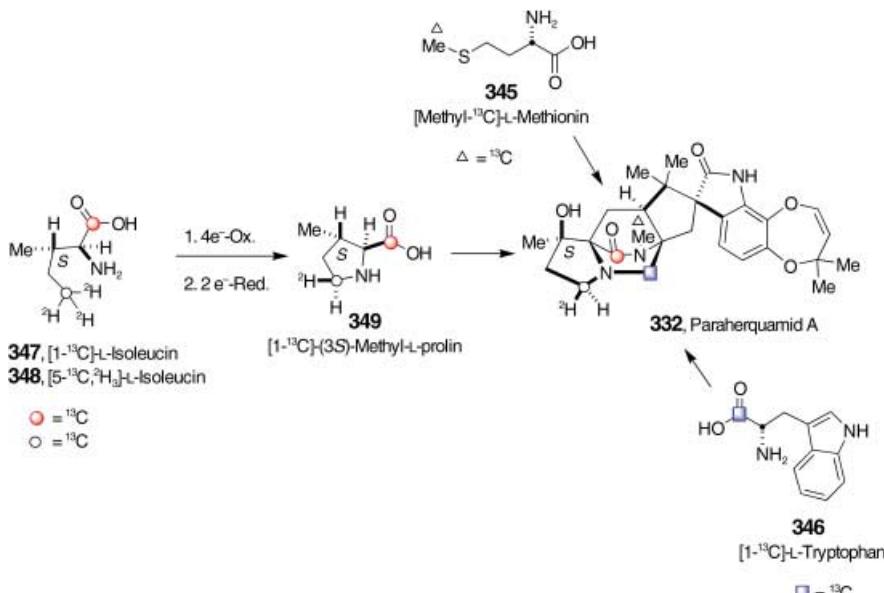
- 338, Paraherquamide E (VM54159), $\text{R}^1 = \text{Me}$, $\text{R}^2 = \text{H}$
 339, SB203105, $\text{R}^1 = \text{Me}$, $\text{R}^2 = \text{OH}$
 340, SB200437, $\text{R}^1 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{H}$



- 341, Paraherquamide F (VM55594), $\text{R}^1 = \text{H}$,
 $\text{R}^2 = \text{Me}$, $\text{R}^3 = \text{Me}$
 342, Paraherquamide G (VM54158), $\text{R}^1 = \text{OH}$,
 $\text{R}^2 = \text{Me}$, $\text{R}^3 = \text{Me}$
 343, VM55595, $\text{R}^1 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{Me}$, $\text{R}^3 = \text{H}$



344, VM55599



Schema 60. Einbau isotopenmarkierter Aminosäuren in Paraherquamid A (332).^[143]

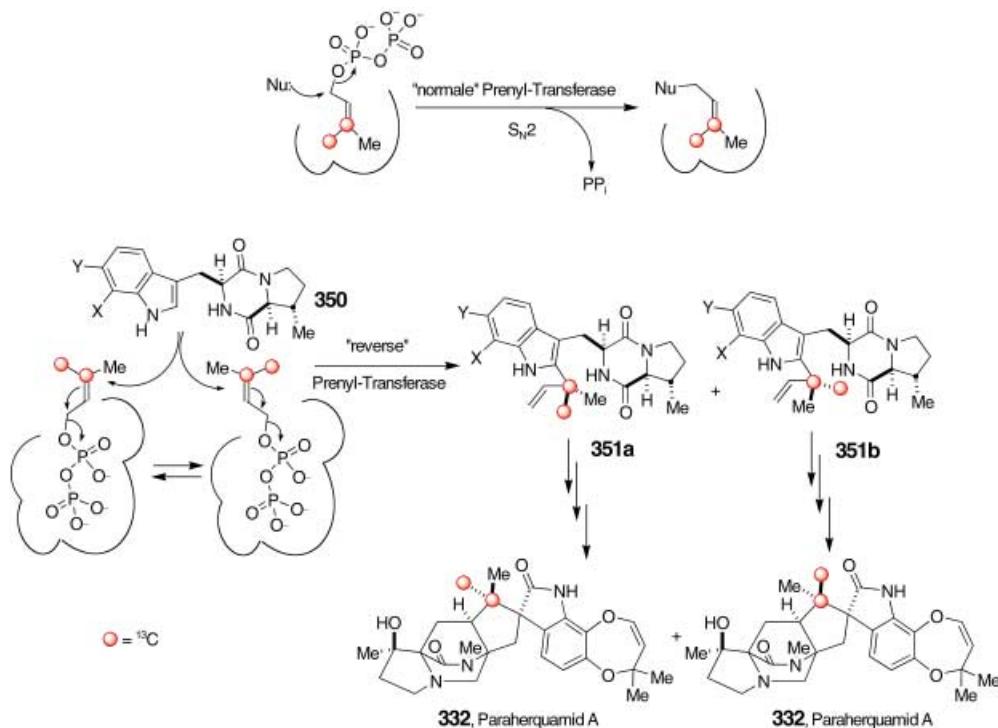
wurde der Aufbau der Isopreneinheiten (C19–C23 und C24–C28) von 332 über den Mevalonatweg nachgewiesen.^[145]

Diese Versuche wiesen auch darauf hin, dass *Penicillium fellutanum* die quartären Zentren in den Isopreneinheiten von 332 auf unterschiedlichen stereochemischen Wegen synthetisiert. Das quartäre Zentrum im Dioxepinring (C24–C28) wird vollständig stereospezifisch aufgebaut. Beim quartären Zentrum der Bicyclo[2.2.2]diazaoctaneinheit (C19–C23) werden die ¹³C-Isotope dagegen auf beide *gem*-Dimethyl-

gruppen verteilt. Das deutet darauf hin, dass die weitere Umsetzung von aus Acetat gebildetem, ¹³C-haltigem Dimethylallylpyrophosphat zum quartären Zentrum nicht stereospezifisch verläuft.

Williams et al. interpretierten dies als Hinweis auf eine „reverse“ Prenyl-Transferase, die die nicht-seitenselektive, intermolekulare, S_N2'-artige Addition von Dimethylallylpyrophosphat an die 2-Position des von Tryptophan abgeleiteten Indolrings katalysiert. Dadurch wird die vorher zum Pyrophosphat (Z)-ständige ¹³C-Isotopenmarkierung in der Isopreneinheit verteilt (Schema 61). Analog zu der für die Brevianamide vorgeschlagenen Biosynthese wurde auch hier eine [4+2]-Cycloaddition von umgekehrte prenyliertem 351 über die α -Kohlenstoffatome von L-Tryptophan und (3S)-Methyl-L-prolin vermutet, wodurch schließlich Paraherquamid A (332) entsteht.

Wie auch bei den Brevianamiden war unklar, ob die Tryptophaneinheit vor oder nach der vermuteten Hetero-Diels-Alder-Reaktion oxidiert wird. Die Isolierung des hexacyclischen Metaboliten VM55599 (344) aus dem Paraherquamide-Produzenten *Penicillium* sp. (IMI332995) deutet auf eine Oxidation nach dem Aufbau des Bicyclo[2.2.2]-Ringsystems hin. Die relative Konfiguration von 344 zwischen C14 und



Schema 61. Hypothese zum Mechanismus des Einbaus des C19-C23-Segments in Paraherquamide A (332).^[145]

C20, die durch Everett et al. durch ausführliche ^1H -NMR-NOE-Untersuchungen aufgeklärt wurde, ist allerdings entgegengesetzt zu der in **332**.^[141] Wenn der β -Methylprolinring von **344** wie der von **332** aus (*S*)-Isoleucin stammt, müsste die Cycloaddition von der anscheinend sterisch stärker gehinderten Seite des Azadiens eintreten (**B** in Schema 62). Dabei ist die Methylgruppe des β -Methylprolinrings *syn*-ständig zur überbrückenden Isopreneinheit. Im anderen Fall mit der Methylgruppe in *anti*-Stellung zur Isopreneinheit (**A** in Schema 62) würde ein Intermediat gebildet, aus dem alle Paraherquamide mit einer β -Methylprolineinheit entstehen könnten. Die Hypothese, die Cycloaddition verlaufe hauptsächlich über das Konformer **A**, wird indirekt durch die Isolierung einer kleinen Menge **344** aus Kulturen von *Penicillium* sp. (IMI332995) gestützt (Mengenverhältnis **344:332** ca. 1:600).^[146]

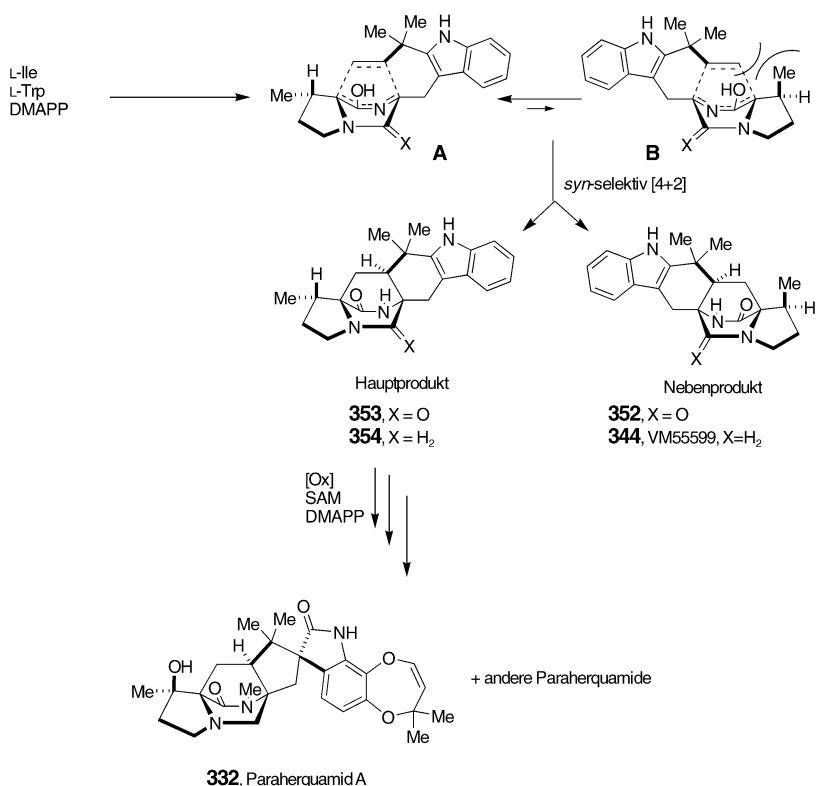
Um zu klären, ob **344**, wie zuerst durch Everett et al. postuliert, ein Intermediat bei der Biosynthese von **332** ist, synthetisierten Williams et al. [$^{13}\text{C}_2$]-(\pm)-**344**, die oxidierte Form [$^{13}\text{C}_2$]-(\pm)-**352** sowie ^{13}C -Isotopomere der als Paraherquamid-Vorstufen angesehenen Verbindungen **353** und **354** und untersuchten diese als potenzielle Intermediate in *Penicillium fellutanum*.^[147] Die Synthesestrategie, eine biomimetische intramolekulare Diels-Alder-Cycloaddition, ist in Schema 63 wiedergegeben.^[146,147] Bei der Cycloaddition im Labor ist ein Angriff des Dienophils von der Seite, auf der sich auch die Methylgruppe des β -Methylprolinrings befindet, leicht begünstigt (1.47:1). Hierdurch wird die relative Kon-

figuration von **344** im Produkt erhalten. Das Verhältnis von *anti*- und *syn*-Isomer an C20 betrug rund 1:2.4 zugunsten der Konfiguration der Naturstoffe. Wie bei der Cycloaddition der verwandten Verbindung **326** (Schema 59) weist die geringe Seitenselektivität der Labor-Diels-Alder-Reaktion auf eine Proteinorganisation der Prä-Übergangszustandskonformere hin, sofern man von einer Diels-Alder-Reaktion im lebenden System ausgeht.

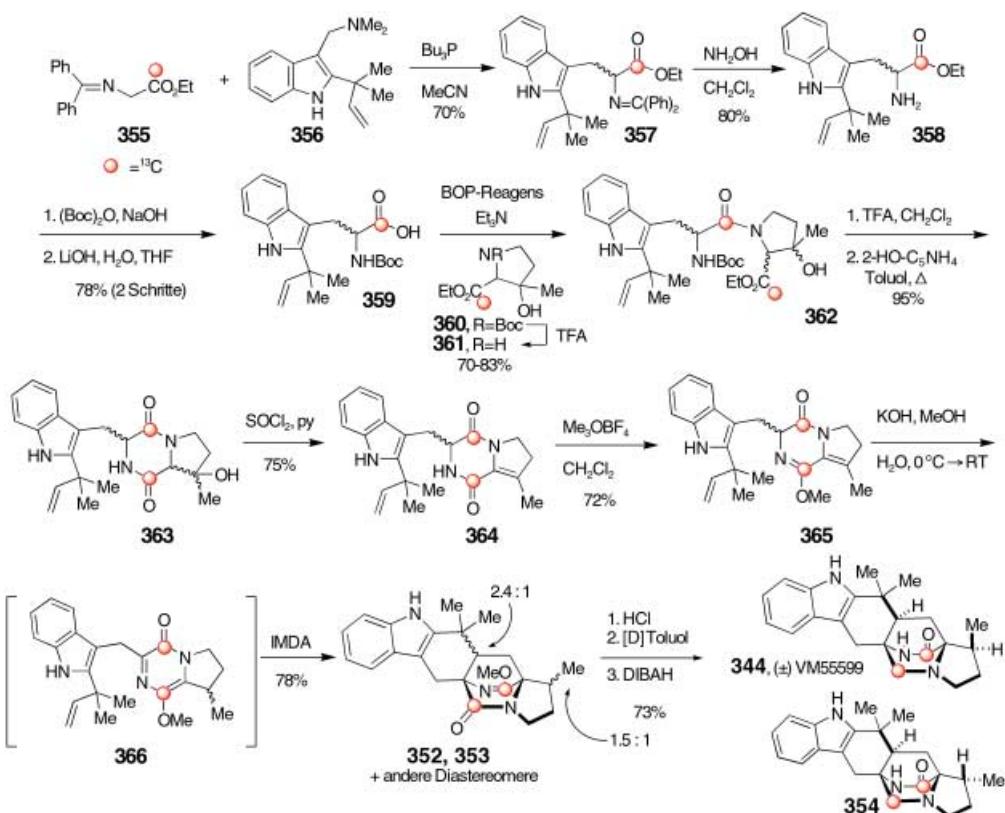
Fütterungsexperimente mit den ^{13}C -markierten Cycloaddukten führten nicht zu einem Einbau von (\pm)-**344**, seiner oxidierten Form (\pm)-**352** oder dem Diketopiperazin (\pm)-**353** (Schema 64). Dagegen wurde für (\pm)-**354**, das C14-Epimer von **344**, ^{13}C -NMR-spektroskopisch und durch Analyse des EI-Massenspektrums ein signifikanter Einbau (0.72 %) in Paraherquamid A (**332**) gefunden. Das deutet darauf hin, dass die Bildung des Bicyclo[2.2.2]diazaoctan-Ringsystems auf der Stufe der nichtoxidierten Tryptophyleinheit (also dem Indolylrest) erfolgt. Dies ist ein weiteres Indiz dafür, dass **344** ein Shunprodukt des Paraherquamid-Biosyntheseweges ist. Belegt ist nun auch das intermediäre Auftreten des Metaboliten **354**, der möglicherweise in einer intramolekularen Hetero-Diels-Alder-Cycloaddition gebildet wird und der bereits die Hauptstrukturmerkmale der Paraherquamide aufweist und durch eine Reihe von Oxidationen in diese übergeht.

Jüngst beendeten Williams und Sanz-Cervera eine asymmetrische biomimetische Totalsynthese von ($-$)-**344**, wodurch die absolute Konfiguration dieser Verbindung zweifelsfrei bestimmt wurde (Schema 65).^[148] Wie von ihnen im Entwurf eines einheitlichen Biogenesemodells (Schema 62) vorhergesagt, ist in **344** die (*S*)-Isoleucin-Konfiguration des β -Methylprolinrings erhalten. Das Bicyclo[2.2.2]diazaoctan-Ringsystem ist daher enantiomorph zu dem der Paraherquamide.

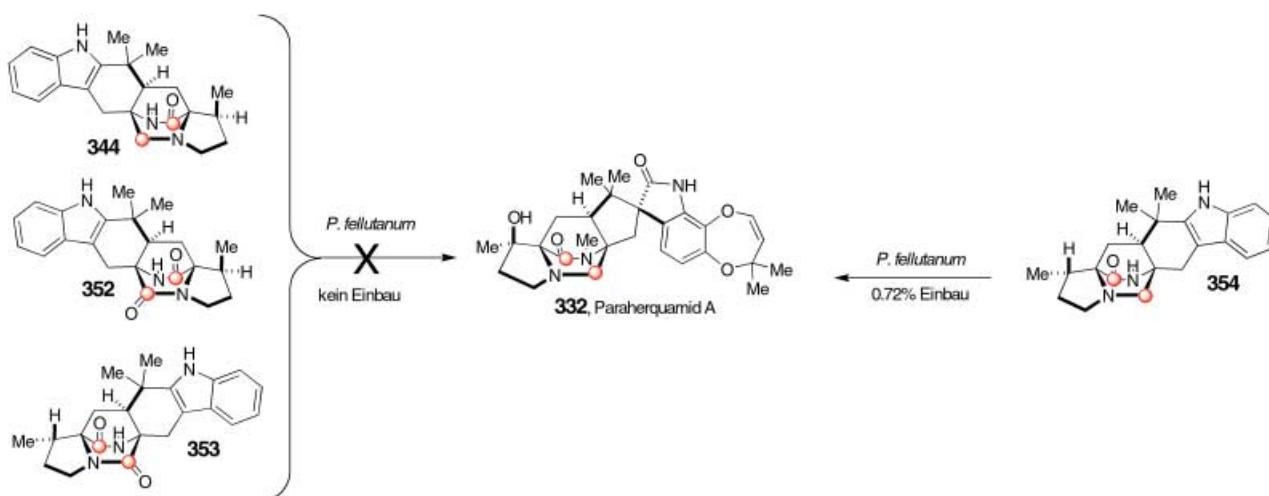
Überraschenderweise wurde das Cycloaddukt **353** mit der relativen und absoluten Konfiguration der Paraherquamide bei den Cycloadditionen nicht nachgewiesen. Die Cycloaddukte bei der oben beschriebenen Synthese des Racemats lieferten (als Lactimether) Verbindungen, die stereochemisch den Verbindungen **352**, **374**, **375** und **353** entsprechen (Mengenverhältnis in dieser Reihenfolge 3.7:1.6:1:2.6). Bei der enantioselektiven Synthese betrug das Verhältnis 3.5:1.5:1:0. Im lebenden System beträgt die Diastereomerenverteilung >600:1 (gemessen am Verhältnis **332:344**), natürliche Metabolite, die aus Verbindungen mit der Konfiguration von **374** oder **375** entstehen müssten, fehlen völlig. Die in Schema 63 und 65 beschriebenen intramolekularen Diels-Alder-Cycloadditionen unter Laborbedingungen belegen erneut die Neigung zur Bildung von Produkten mit der relativen Konfiguration von **344**.



Schema 62. Modell einer einheitlichen Biogenese von Paraherquamid A (**332**) und VM55599 (**344**).^[146]



Schema 63. Biomimetische Synthese von $[^{13}\text{C}_2](\pm)\text{-344}$ und anderen möglichen Intermediaten bei der Biosynthese von 332.^[146,147] Boc = 1-Butyl-oxycarbonyl, BOP = Benzotriazol-1-yloxymethylphosphoniumhexafluorophosphat, DIBAH = Diisobutylaluminiumhydrid. Die Zahlenangaben 2.4:1 und 1.5:1 an 352, 353 stehen für das *syn/anti*-Verhältnis zwischen C20 und dem cyclischen Aminosäurerest bzw. für das Verhältnis Methylgruppe „nach oben“ und „nach unten“.

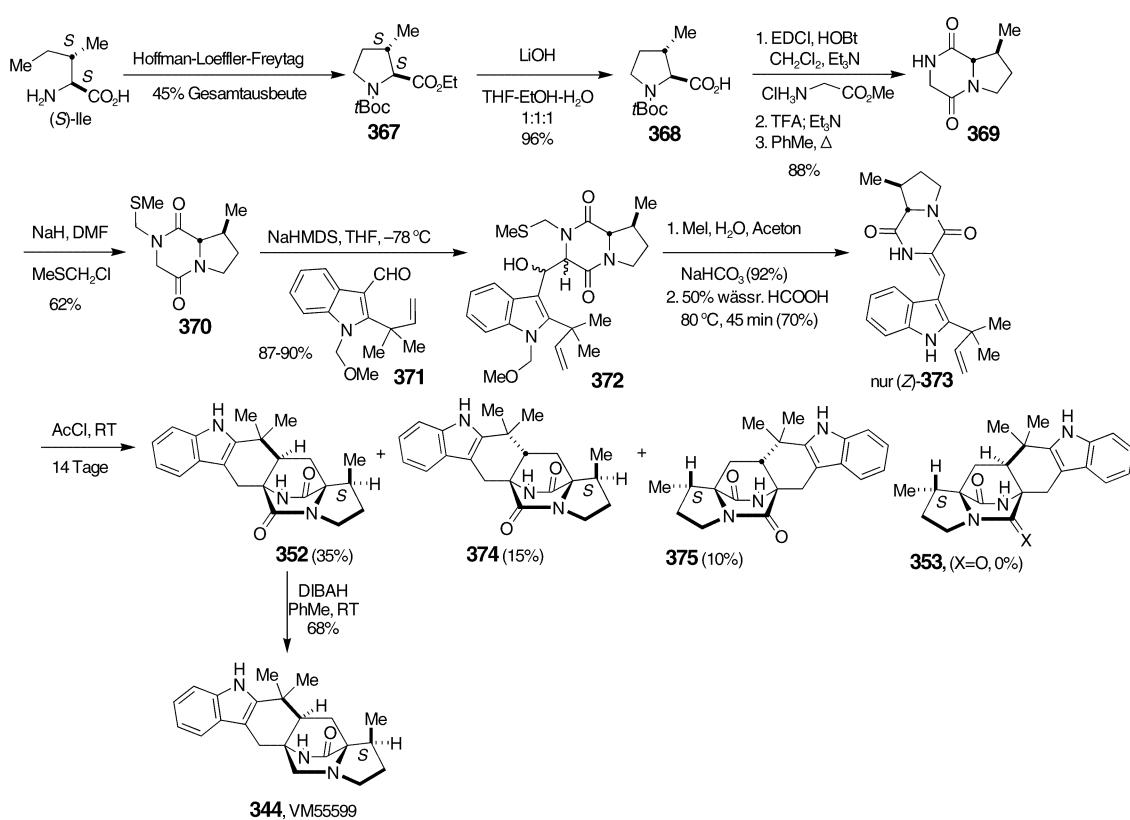


Schema 64. Fütterungsversuche mit ^{13}C -isotopenmarkierten, indolhaltigen möglichen Vorstufen von Paraherquamid A (332).^[146] EDCI = 3-[3-(Dimethylamino)propyl]-1-ethylcarbodiimidhydrochlorid; HOBT = 1-Hydroxybenzotriazol, NaHMDS = Natriumhexamethyldisilazid.

Dies steht im Gegensatz zu der in der Natur bevorzugten Stereochemie. Der Oxidationsgrad des vermuteten Azadiens (**A/B**, $\text{X} = \text{O}$ oder H_2 in Schema 62) im lebenden System ist derzeit unklar. Dennoch impliziert der Gegensatz zwischen den beiden biomimetischen Cycloadditionen im Labor und dem postulierten Biosyntheseweg eine Proteinorganisation der Substratkonformation vor der Cyclisierung, wodurch die Paraherquamide stereochemisch stark begünstigt werden.

6. Addendum

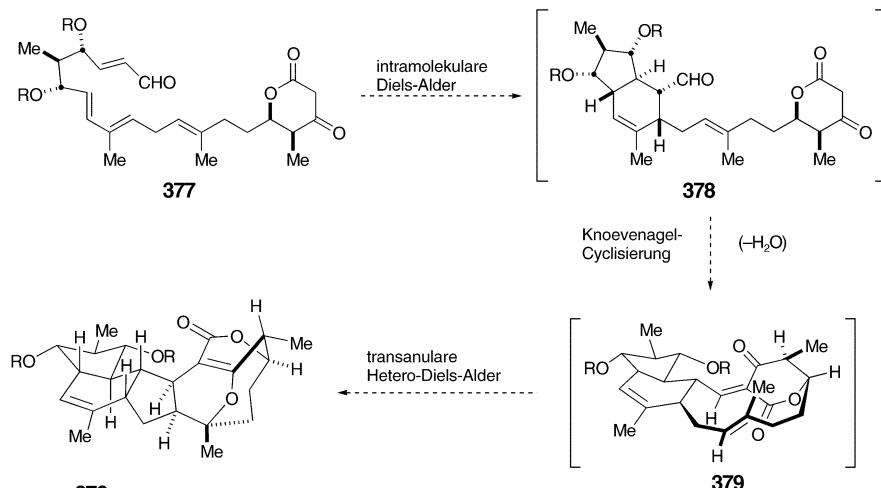
Seit der Einreichung des Manuskripts sind einige Beiträge zu biomimetischen Totalsynthesen von FR182877 (**376**) und Longithorone (**163**) erschienen. Da diese Arbeiten beträchtliche Bedeutung für die Modelle zur Biosynthese dieser Naturstoffe haben, werden die Kernaussagen hier kurz wiedergegeben.



Schema 65. Asymmetrische biomimetische Synthese von **344** und Bestimmung der absoluten Konfiguration.^[148]

FR182877

Zwei beeindruckende biomimetische Totalsynthesen^[149,150] von FR182877 (**376**) stützen experimentell eine im Jahr 1999 von Sorensen et al. vorgestellte Hypothese zur Biogenese dieser Verbindung.^[151] Für die Bildung von **376** (früher als WS9885B bekannt) ging Sorensen zunächst von einem Biosyntheseweg aus, der eine Kaskade von Cyclisierungsreaktionen mit folgenden Teilschritten beinhaltete



376, R=H, (+)-FR182877

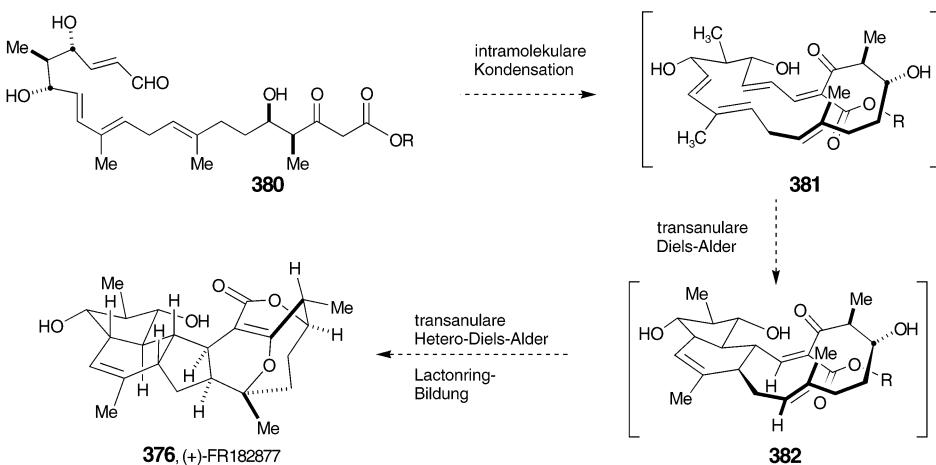
Schema 66. Ursprünglicher Vorschlag von Sorensen et al. zur Biosynthese von FR182877 (**376**).^[151a]

(Schema 66): a) eine intramolekulare Diels-Alder-Cycloaddition des Polyketids **377** zu **378**; b) eine intramolekulare Knoevenagel-Cyclisierung zu **379**; c) eine transanulare Hetero-Diels-Alder-Cycloaddition direkt zu **376**.

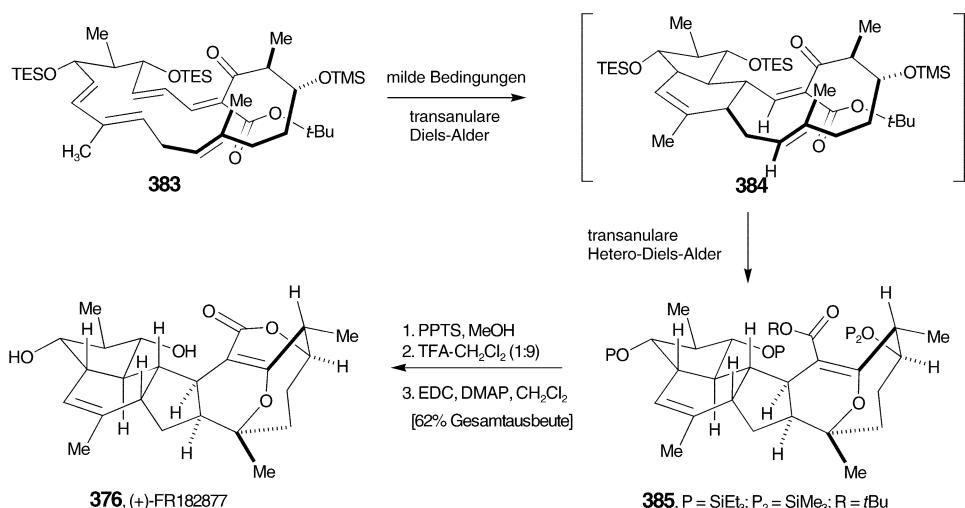
Im Jahre 2001 modifizierte Sorensen diesen eleganten Entwurf leicht und nahm nun eine intramolekulare Knoevenagel-Cyclisierung des verwandten Polyketids **380** zu **381** an. Daran sollten sich sukzessive eine transanulare Diels-Alder- und eine transanulare Hetero-Diels-Alder-Cycloaddition unter direkter Bildung von **376** anschließen (Schema 67).^[151b]

Dieses Modell reizte zur Durchführung einer biomimetischen Totalsynthese dieses Naturstoffs^[149], durch die sich starke, wenn gleich indirekte Anhaltspunkte für die Richtigkeit der Hypothese zur Biosynthese ergaben. Die Schlüsselemente der Synthese von (+)-**376** von Sorensen et al. sind in Schema 68 zusammengefasst.

Die zweite biomimetische Cyclisierungskaskade zu (–)-**376** stammt von Evans und Starr (Schema 69).^[150] Auch mit dieser Arbeit wurde die absolute Konfiguration des Naturstoffs bestätigt.^[152] Die Biosynthese des verwandten Naturstoffs Hexacyclin-**390**, Hexacyclinsäure



Schema 67. Modifiziertes Biosynthesemodell für 376 von Sorensen et al.^[151b]



Schema 68. Biomimetische Totalsynthese von (+)-376 durch Sorensen et al.^[149] DMAP = Dimethylaminopyridin, EDC = 1,2-Dichlorethan, PPTS = Pyridinium-p-toluolsulfonat, TES = Triethylsilyl.

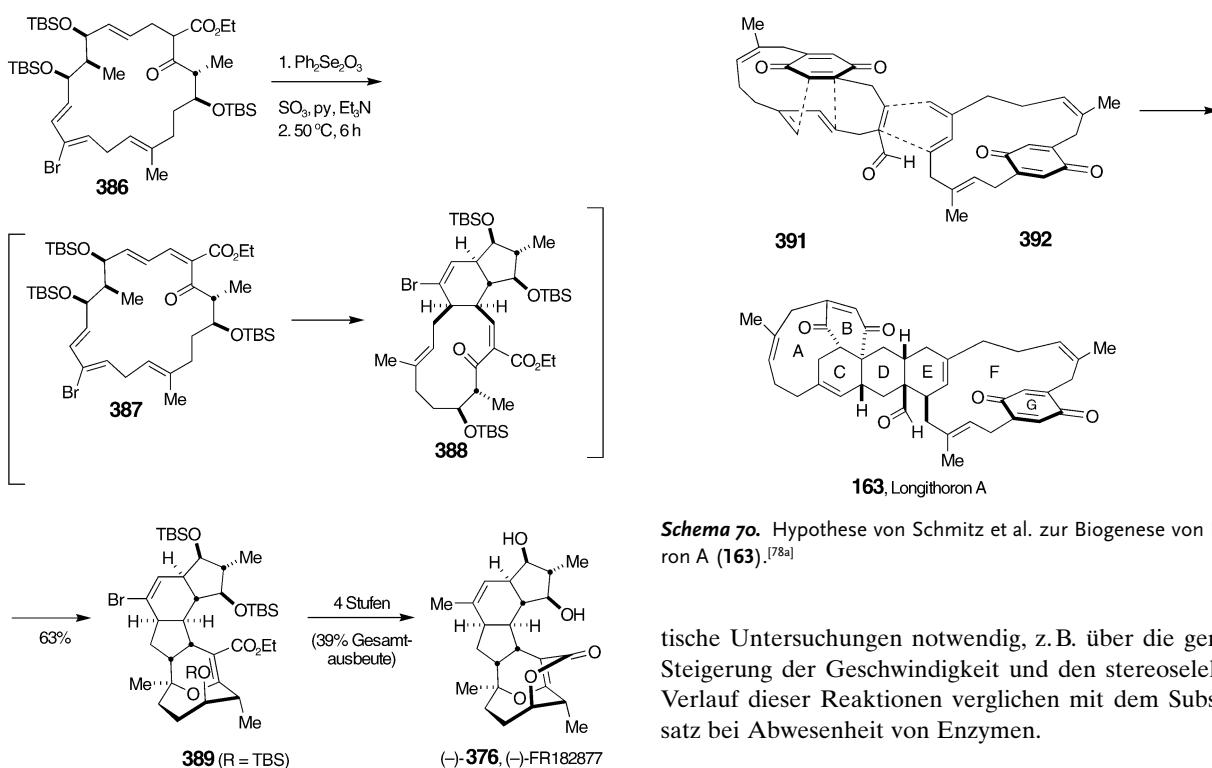
säure (390)^[153] könnte über das *exo*-Konformer eines verwandten Polyketid-Makrocyclus verlaufen.

Longithoron

Shair et al. vollendeten kürzlich eine elegante biomimetische Totalsynthese von Longithoron (163).^[78b] Sie nutzten eine interessante Strategie zum Chiralitätstransfer, bei der stereogene Zentren zur Kontrolle der Atropisomerie eingesetzt wurden und, nach Abspaltung der stereogenen Zentren, die Chiralität des Atropisomers zurück auf stereogene Zentren übertragen wurde. Schmitz et al. schlugen ferner eine Biogenese von 163 vor, bei der Ring E in einer intermolekularen Diels-Alder-Reaktion zwischen den [12]Paracyclophanen 391 und 392 und anschließend die Ringe A, C und D in einer transanularen intramolekularen Diels-Alder-Reaktion in 391 gebildet werden (Schema 70).^[78a] Shair et al. nutzten diese Hypothese zu einer sehr eleganten Totalsynthese von (−)-163 (Schema 71).^[78b]

7. Zusammenfassung

In diesem Aufsatz haben wir die rasch wachsende Zahl an Publikationen zu natürlichen Diels-Alder-Reaktionen zusammengefasst. In der Summe legen diese Beiträge den Schluss nahe, dass es natürliche Diels-Alder-Reaktionen gibt und diese von lebenden Systemen zum Aufbau einer Vielzahl unterschiedlicher Naturstoffe genutzt werden. In vielen Fällen, wie den Endiandrinsäuren,^[49] Luciden (191)^[92] und Asaton (238),^[110] lassen experimentelle Befunde vermuten, dass diese natürlichen Diels-Alder-Reaktionen nicht enzym-vermittelt sind, sondern spontan und nicht stereoselektiv im betreffenden Organismus ablaufen und zur Bildung racemischer Produkte führen. Für Naturstoffe, die enantiomerenrein vorkommen, mehren sich die Anzeichen für eine Mitwirkung von Enzymen bei Diels-Alder-Reaktionen. In nahezu allen derartigen Fällen liegen allerdings nur indirekte experimentelle Beweise für eine Enzymbeteiligung vor. Beispielsweise verliefen die biomimetischen Cyclisierungen zu



Schema 69. Biomimetische Totalsynthese von $(-)$ -376 durch Evans und Starr.^[150] TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl.

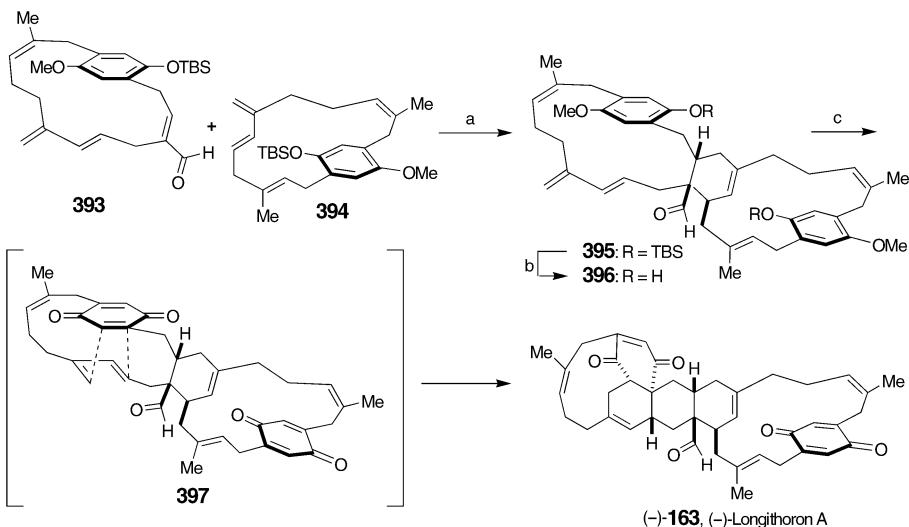
Epolon B (182)^[90] und VM55599 (344)^[146] im Labor nicht stereoselektiv, was auf eine mögliche Proteinorganisation der Prä-Übergangszustandskonformationen im lebenden System hindeutet.^[154] Die drei Systeme, bei denen die stärksten unmittelbaren experimentellen Belege für die Existenz einer Diels-Alderase vorliegen, sind: a) die enzymatische Aktivität zellfreier Extrakte von *Alternaria solani*,^[21] die zur Produktion von Solanapyron A (26) führt, b) die Lovastatinnonaketid-Synthase^[7] bei der Biosynthese von Lovastatin (11) und c) die Makrophomatsynthase^[8] zur Produktion von Makrophomsäure (113). Trotz der schwierigen und beeindruckenden experimentellen Untersuchungen, die an diesen Systemen auf der Suche nach Beweisen für eine Diels-Alderase durchgeführt wurden, steht ein eindeutiger Beweis für die katalytische Wirkung (also die Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit relativ zum nichtkatalysierten System) von in Reinform oder in teilweise gereinigter Form (bei den Solanapyronen) vorliegenden Proteinen für pericyclische Diels-Alder-Reaktionen noch aus. Hierzu sind weitere biophysikalische und kine-

Schema 70. Hypothese von Schmitz et al. zur Biogenese von Longithoron A (163).^[78a]

tische Untersuchungen notwendig, z.B. über die gemessene Steigerung der Geschwindigkeit und den stereoselektiveren Verlauf dieser Reaktionen verglichen mit dem Substratumsatz bei Abwesenheit von Enzymen.

Die Autoren danken den National Institutes of Health und der National Science Foundation für die Unterstützung von Teilen der hier beschriebenen Arbeiten. Ebenso danken wir Prof. John C. Vederas von der University of Alberta und Prof. Hideaki Oikawa von der Hokkaido University für die Zurverfügungstellung von Vorabdrucken ihrer Beiträge. Dr. Rhona J. Cox danken wir für das sorgfältige Korrekturlesen des Manuskripts.

Eingegangen am 30. April 2002 [A534]
Übersetzt von Dr. Jürgen Eckwert, Seeheim-Jugenheim



Schema 71. Biomimetische Totalsynthese von $(-)$ -163 nach Shair et al.^[78b] a) Me_2AlCl , CH_2Cl_2 , -20°C (70%, Diastereomerenverhältnis 1:1.4); b) TBAF , THF 0°C ; c) PhI(O) , $\text{MeCN-H}_2\text{O}$, $0\text{--}25^\circ\text{C}$ (90%, zwei Schritte).

- [1] Für exzellente aktuelle Übersichten zu Diels-Alder-Reaktionen siehe: a) E. J. Corey, A. Guzman-Perez, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 402–415; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 388–401; b) E. J. Corey, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1724–1741; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1650–1667; c) K. C. Nicolaou, S. A. Snyder, T. Montagnon, G. Vassilikogiannakis, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1742–1773; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1668–1698.
- [2] a) S. Laschat, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 313–315; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 289–291; b) A. Ichihara, H. Oikawa, *Curr. Org. Chem.* **1998**, *2*, 365–394.
- [3] D. Hilvert, K. W. Hill, K. D. Nared, M.-T. M. Auditor, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 9261–9263.
- [4] A. C. Braisted, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7430–7431.
- [5] F. E. Romesberg, B. Spiller, P. G. Schultz, R. C. Stevens, *Science* **1998**, *279*, 1929–1933.
- [6] a) T. M. Tarasow, B. E. Eaton, *Cell. Mol. Life Sci.* **1999**, *55*, 1463–1472; b) B. Seelig, A. Jäschke, *Chem. Biol.* **1999**, *6*, 167–176; c) B. Seelig, S. Keiper, F. Stuhlmann, A. Jäschke, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4764–4768; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4576–4579.
- [7] K. Auclair, A. Sutherland, J. Kennedy, D. J. Witter, J. P. Van den Heever, C. R. Hutchinson, J. C. Vederas, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11519–11520.
- [8] K. Watanabe, T. Mie, A. Ichihara, H. Oikawa, M. Honma, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 38393–38401.
- [9] a) J. K. Chan, R. N. Moore, T. T. Nakashima, J. C. Vederas, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 3334–3336; b) R. N. Moore, G. Bigam, J. K. Chan, A. M. Hogg, T. T. Nakashima, J. C. Vederas, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3694–3701.
- [10] Y. Yoshizawa, D. J. Witter, Y. Liu, J. C. Vederas, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 2693–2694.
- [11] D. J. Witter, J. C. Vederas, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2613–2623.
- [12] a) L. R. Trieber, C. S. Reamer, H. G. Ramjit, *J. Antibiot.* **1989**, *42*, 30–36; b) T. Nakamura, D. Komagata, S. Murakawa, K. Sakai, A. Endo, *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 1597–1600.
- [13] J. Kennedy, K. Auclair, S. G. Kendrew, C. Park, J. C. Vederas, C. R. Hutchinson, *Science* **1999**, *284*, 1368–1372.
- [14] S. Colonna, A. Manfredi, R. Annunziata, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 3347–3350.
- [15] A. Ichihara, S. Tazaki, S. Sakamura, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 5373–5376.
- [16] H. Oikawa, T. Yokota, T. Abe, A. Ichihara, S. Sakamura, Y. Yoshizawa, J. C. Vederas, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1282–1284.
- [17] H. Oikawa, T. Yokota, A. Ichihara, S. Sakamura, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1284–1285.
- [18] A. Ichihara, M. Miki, H. Tazaki, S. Sakamura, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 1175–1178.
- [19] H. Oikawa, Y. Suzuki, A. Naya, K. Katayama, A. Ichihara, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3605–3606.
- [20] H. Oikawa, Y. Suzuki, K. Katayama, A. Naya, C. Sakano, A. Ichihara, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1999**, 1225–1232.
- [21] H. Oikawa, K. Katayama, Y. Suzuki, A. Ichihara, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 1321–1322.
- [22] D. E. Cane, C.-C. Yang, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 784–787.
- [23] D. E. Cane, C.-C. Yang, *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 423–426.
- [24] a) D. E. Cane, W. R. Ott, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4840–4841; b) D. E. Cane, P. C. Prabhakaran, W. Tan, W. R. Ott, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 5457–5460; c) D. E. Cane, W. Tan, W. R. Ott, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 527–535; d) D. E. Cane, G. Luo, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6633–6634.
- [25] a) H. Oikawa, A. Ichihara, S. Sakamura, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 600–602; b) P. H. Harrison, D. E. Cane, *Chemtracts: Org. Chem.* **1988**, *1*, 369–371.
- [26] H. Oikawa, A. Ichihara, S. Sakamura, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 908–909.
- [27] S. Miki, Y. Sato, H. Tabuchi, H. Oikawa, A. Ichihara, S. Sakamura, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1990**, 1228–1229.
- [28] C. Tamm in *The Biosynthesis of Mycotoxins. A Study in Secondary Metabolism* (Hrsg.: P. Steyn), Academic Press, New York, **1980**, S. 269–299.
- [29] A. Hadener, G. Ritter, P. M. Schaeffer in *Bioorganic Chemistry: Highlights and New Aspects* (Hrsg.: U. Diederichsen, T. K. Lindhorst, B. Westermann, L. A. Wessjohann), Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, S. 89–94.
- [30] J. C. Vederas, W. Graf, L. David, C. Tamm, *Helv. Chim. Acta* **1975**, *58*, 1886–1898.
- [31] A. Probst, C. Tamm, *Helv. Chim. Acta* **1981**, *64*, 2065–2077.
- [32] R. Wyss, C. Tamm, *Croat. Chem. Acta* **1986**, *58*, 537–546.
- [33] a) J. C. Vederas, C. Tamm, *Helv. Chim. Acta* **1976**, *59*, 558–566; b) A. Haedener, P. Roth, C. Tamm, *Z. Naturforsch. C* **1989**, *44*, 19–32.
- [34] J.-L. Robert, C. Tamm, *Helv. Chim. Acta* **1975**, *58*, 2501–2504.
- [35] H. Oikawa, Y. Murakami, A. Ichihara, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1992**, 2955–2959.
- [36] H. Oikawa, Y. Murakami, A. Ichihara, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1992**, 2949–2953.
- [37] K. Shindo, M. Sakakibara, H. Kawai, *J. Antibiot.* **1996**, *49*, 249–252.
- [38] a) S. Ito, Y. Hirata, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 1181–1184; b) S. Ito, Y. Hirata, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 1185–1188; c) S. Ito, Y. Hirata, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 2557–2560; d) S. Ito, Y. Hirata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1977**, *50*, 1813–1820.
- [39] H. A. Kirst, K. H. Michel, J. W. Martin, L. C. Creemer, E. H. Cio, R. C. Yao, W. M. Nakatsukasa, L. D. Boeck, J. L. Occolowitz, J. W. Paschal, J. B. Deeter, N. D. Jones, G. D. Thompson, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 4839–4842.
- [40] S. Aizawa, H. Akatsu, T. Satomi, T. Nagatsu, R. Taguchi, A. Seino, *J. Antibiot.* **1979**, *32*, 193–196; zum verwandten Metaboliten Hexacyclinsäure siehe auch Lit. [153]; über die biomimetische Synthese des verwandten Metaboliten FR182877 (**376**) wurde vor kurzem berichtet, siehe Lit. [149–151].
- [41] W. R. Roush, A. B. Works, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8065–8068.
- [42] D. A. Evans, W. C. Black, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4497–4513.
- [43] J. W. Westley, R. H. Evans, Jr., C.-M. Liu, T. Hermann, J. F. Blount, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 6784–6786.
- [44] S. H. Larsen, L. D. Boeck, F. P. Mertz, J. W. Paschal, J. L. Occolowitz, *J. Antibiot.* **1988**, *41*, 1170–1177.
- [45] S. J. Coval, P. J. Scheuer, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 3024–3025.
- [46] S. Miao, M. R. Anstee, V. Baichwal, A. Park, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 5699–5702.
- [47] a) W. R. Roush, A. G. Myers, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 1509–1511; b) W. R. Roush, S. M. Peseckis, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 4879–4882; c) W. R. Roush, S. M. Peseckis, A. E. Walts, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3429–3432.
- [48] W. M. Bandaranayake, J. E. Banfield, D. St. C. Black, G. D. Fallon, B. M. Gatehouse, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1980**, 162–163.
- [49] W. M. Bandaranayake, J. E. Banfield, D. St. C. Black, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1980**, 902–903.
- [50] a) K. C. Nicolaou, N. A. Petasis, R. E. Zipkin, J. Uenishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5555–5557; b) K. C. Nicolaou, N. A. Petasis, J. Uenishi, R. E. Zipkin, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5557–5558.
- [51] a) K. C. Nicolaou, R. E. Zipkin, N. A. Petasis, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5558–5560; b) K. C. Nicolaou, N. A. Petasis, R. E. Zipkin, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5560–5562.
- [52] a) L. S. Trifonov, A. S. Dreiding, L. Hoesch, D. M. Rast, *Helv. Chim. Acta* **1981**, *64*, 1843–1846; b) L. S. Trifonov, J. H. Bieri,

- R. Prewo, A. S. Dreiding, L. Hoesch, D. M. Rast, *Tetrahedron* **1983**, *39*, 4243–4256.
- [53] a) N. Abe, T. Murata, A. Hirota, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1998**, *62*, 661–666; b) N. Abe, T. Murata, A. Hirota, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1998**, *62*, 2120–2126.
- [54] R. Andrade, W. A. Ayer, L. S. Trifonov, *Can. J. Chem.* **1996**, *74*, 371–379.
- [55] a) K. C. Nicolaou, K. B. Simonsen, G. Vassilikogiannakis, P. S. Baran, V. P. Vidali, E. N. Pitsinos, E. A. Couladouros, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3762–3766; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 3555–3559; b) K. C. Nicolaou, G. Vassilikogiannakis, K. B. Simonsen, P. S. Baran, Y.-L. Zhong, V. P. Vidali, E. N. Pitsinos, E. A. Couladouros, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3071–3079; c) D. Barnes-Seeman, E. J. Corey, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1503–1504.
- [56] N. Abe, O. Sugimoto, K. Tanji, A. Hirota, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12606–12607.
- [57] a) I. Sakurai, H. Suzuki, K. Miyajima, S. Akiyama, S. Simizu, Y. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33*, 5141–5143; b) I. Sakurai, H. Suzuki, S. Simizu, Y. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36*, 2003–2011.
- [58] H. Oikawa, K. Yagi, K. Watanabe, M. Honma, A. Ichihara, *Chem. Commun.* **1997**, 97–98.
- [59] H. Oikawa, K. Watanabe, K. Yagi, S. Ohashi, T. Mie, A. Ichihara, M. Honma, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 6983–6986.
- [60] K. Watanabe, H. Oikawa, K. Yagi, S. Ohashi, T. Mie, A. Ichihara, M. Honma, *J. Biochem.* **2000**, *127*, 467–473.
- [61] K. Watanabe, T. Mie, A. Ichihara, H. Oikawa, M. Honma, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1443–1446.
- [62] K. Afarinkia, V. Vinader, T. D. Nelson, G. H. Posner, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 9111–9171.
- [63] A. Parvez, M. I. Choudhary, F. Akhter, M. Noorwala, F. V. Mohammad, N. M. Hasan, T. Zamir, V. U. Ahmad, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 4339–4340.
- [64] G. Majetich, Y. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4979–4980.
- [65] A. A. Bell, R. D. Stipanovic, D. H. O'Brien, P. A. Fryxell, *Phytochemistry* **1978**, *17*, 1297–1305.
- [66] J. A. Marco, J. F. Sanz, E. Falcó, J. Jakupovic, J. Lex, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 7941–7950.
- [67] J. Spörle, H. Becker, M. P. Gupta, M. Veith, V. Huch, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 5003–5014.
- [68] J. Spörle, H. Becker, N. S. Allen, M. P. Gupta, *Phytochemistry* **1991**, *30*, 3043–3047.
- [69] R. Matusch, H. Haberlein, *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 455–457.
- [70] A. A. Ahmed, J. Jakupovic, F. Bohlmann, H. A. Regaila, A. M. Ahmed, *Phytochemistry* **1990**, *29*, 2211–2215.
- [71] A. R. de Vivar, G. Delgado, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 579–582.
- [72] J. Beauhaire, J. L. Fourrey, M. Vuilhorgne, J. Y. Lallemand, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 3191–3194.
- [73] F. Gao, H. Wang, T. J. Mabry, *Phytochemistry* **1990**, *29*, 3875–3880.
- [74] C. Zdero, F. Bohlmann, *Phytochemistry* **1989**, *28*, 3105–3120.
- [75] J. Jakupovic, A. Schuster, F. Bohlmann, M. O. Dillon, *Phytochemistry* **1988**, *27*, 1113–1120.
- [76] J. C. Lee, G. A. Strobel, E. Lobkovsky, J. Clardy, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3232–3233.
- [77] C. Li, E. Lobkovsky, J. A. Porco, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 10484–10485.
- [78] a) X. Fu, M. B. Hossain, D. van der Helm, F. J. Schmitz, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 12125–12126; b) über die biomimetische Totalsynthese von Longithorone wurde jüngst berichtet (siehe Addendum): M. E. Layton, C. A. Morales, M. D. Shair, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 773–775.
- [79] J. Kawabata, Y. Fukushi, S. Tahara, J. Mizutani, *Phytochemistry* **1990**, *29*, 2332–2334.
- [80] P. Tane, K.-E. Bergquist, M. Téné, B. T. Ngadjui, J. F. Ayafor, O. Sterner, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 11595–11600.
- [81] C. P. Falshaw, T. J. King, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1983**, 1749–1752.
- [82] D. R. Schroeder, F. R. Stermitz, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 4309–4320.
- [83] W. Hofheinz, P. Schönholzer, *Helv. Chim. Acta* **1977**, *60*, 1367–1370.
- [84] a) K. Takeda, M. Sato, E. Yoshii, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3903–3906; b) J. Uenishi, R. Kawahama, O. Yonemitsu, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 1691–1701.
- [85] A. Fontana, I. Fakhr, E. Mollo, G. Cimino, *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 3869–3872.
- [86] E. J. Corey, L. I. Wu, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9327–9328.
- [87] G. H. Harris, K. Hoogsteen, K. C. Silverman, S. L. Raghoobar, G. F. Bills, R. B. Lingham, J. L. Smith, H. W. Dougherty, C. Cascales, F. Paláez, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 2139–2144.
- [88] F. Mayerl, Q. Gao, S. Huang, S. E. Klohr, J. A. Matson, D. R. Gustavson, D. M. Pirnik, R. L. Berry, C. Fairchild, W. C. Rose, *J. Antibiot.* **1993**, *46*, 1082–1088.
- [89] P. Cai, D. Smith, B. Cunningham, S. Brown-Shimer, B. Katz, C. Pearce, D. Venables, D. Houck, *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 791–795.
- [90] J. E. Baldwin, A. V. W. Mayweg, K. Neumann, G. J. Pritchard, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1933–1935.
- [91] H. Weenen, M. H. H. Nkunya, A. A. El-Fadl, S. Harkema, B. Zwanenburg, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5107–5109.
- [92] R. M. Adlington, J. E. Baldwin, G. J. Pritchard, A. J. Williams, D. J. Watkin, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1937–1939.
- [93] R. Thomas, *Biochem. J.* **1961**, *78*, 807–813.
- [94] A. D. Harmon, J. M. Edwards, R. J. Hight, *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 4471–4474.
- [95] a) B. Schmitt, B. Schneider, *Phytochemistry* **1999**, *52*, 45–53; b) B. Schmitt, D. Höschler, B. Schneider, *Phytochemistry* **2000**, *53*, 331–337.
- [96] D. Höschler, B. Schnieder, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 525–526.
- [97] a) A. C. Bazan, J. M. Edwards, U. Weiss, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 3005–3015; b) U. Weiss, *Proc. Indian Acad. Sci. Chem. Sci.* **1984**, *93*, 1159–1169.
- [98] I. C. Parsons, A. I. Gray, T. G. Hartley, P. G. Waterman, *Phytochemistry* **1993**, *33*, 479–482.
- [99] J. P. Kutney, T. Inaba, O. L. Dreyer, *Tetrahedron* **1970**, *26*, 3171–3184.
- [100] P. N. Sharma, A. Shoeb, R. S. Kapil, S. P. Popli, *Phytochemistry* **1980**, *19*, 1258–1260.
- [101] D. P. Chakraborty, S. Roy, A. Chakraborty, A. K. Mandal, B. K. Chowdhury, *Tetrahedron* **1980**, *36*, 3563–3564.
- [102] H. Ishii, J.-I. Kobayashi, T. Ishikawa, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6907–6910.
- [103] Y. Hano, T. Nomura, S. Ueda, *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 554–556.
- [104] a) T. Nomura, Y. Hano, *Nat. Prod. Rep.* **1994**, 205–218; b) T. Nomura, *Pure Appl. Chem.* **1999**, *71*, 1115–1118.
- [105] Y. Hano, T. Nomura, S. Ueda, *Can. J. Chem.* **1994**, *72*, 12–14.
- [106] Y. Hano, T. Nomura, S. Ueda, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 610–613.
- [107] Y. Hano, T. Nomura, S. Ueda, *Heterocycles* **1999**, *51*, 231–235.
- [108] Y. Hano, M. Aida, T. Nomura, S. Ueda, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 1177–1178.
- [109] S. Yamamura, Y. Terada, Y.-P. Chen, M. Hong, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1976**, *49*, 1940–1948.
- [110] a) M. Iguchi, A. Nishiyama, Y. Terada, S. Yamamura, *Tetrahedron Lett.* **1977**, *18*, 4511–4514; b) A. Nishiyama, H. Eto, Y. Terada, M. Iguchi, S. Yamamura, *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, *13*, 2820–2833.
- [111] M. Niwa, Y. Terada, M. Nonoyama, S. Yamamura, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 813–816.

- [112] a) K. T. Suzuki, S. Okuda, H. Niwa, M. Toda, Y. Hirata, S. Yamamura, *Tetrahedron Lett.* **1973**, *14*, 799–802; b) H. Niwa, Y. Hirata, K. T. Suzuki, S. Yamamura, *Tetrahedron Lett.* **1973**, *14*, 2129–2132.
- [113] R. B. Ruggeri, C. H. Heathcock, *Pure Appl. Chem.* **1989**, *61*, 289–292.
- [114] C. H. Heathcock, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 14323–14327.
- [115] C. H. Heathcock, S. Piettre, R. B. Ruggeri, J. A. Ragan, J. C. Kath, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2554–2566.
- [116] a) C. H. Heathcock, J. A. Stafford, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2566–2574; b) C. H. Heathcock, R. B. Ruggeri, K. F. McClure, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2585–2594.
- [117] A. I. Scott, *Acc. Chem. Res.* **1970**, *3*, 151–157.
- [118] Siehe z. B.: a) W. Carroll, P. A. Grieco, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 1164–1165; b) M. E. Kuehne, W. G. Bornmann, W. G. Earley, I. Marko, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2913–2927; c) W. G. Bornmann, M. E. Kuehne, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 1752–1760; d) R. T. Brow, M. Kandasamy, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 3547–3550.
- [119] a) R. Sakai, T. Higa, C. W. Jefford, G. Bernardinelli, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 6404–6405; b) H. Nakamura, S. Deng, J. Kobayashi, Y. Ohizumi, Y. Tomotake, T. Matsuzaki, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 621–624; c) R. Sakai, S. Kohmoto, T. Higa, C. W. Jefford, G. Bernardinelli, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 5493–5496; d) T. Ichiba, R. Sakai, S. Komoto, G. Saucy, T. Higa, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 3083–3086.
- [120] K. Kondo, H. Shigemori, Y. Kikuchi, M. Ishibashi, T. Sasaki, J. Kobayashi, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2480–2483.
- [121] M. Tsuda, N. Kawasaki, J. Kobayashi, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 7957–7960.
- [122] J. Kobayashi, M. Tsuda, N. Kawasaki, K. Matsumoto, T. Adachi, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 4383–4386.
- [123] J. Rodriguez, P. Crews, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 4719–4722.
- [124] F. Kong, R. J. Andersen, T. M. Allen, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1643–1646.
- [125] J. E. Baldwin, R. C. Whitehead, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2059–2062.
- [126] N. Fusetani, N. Asai, S. Matsunaga, K. Honda, K. Yasumoro, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3967–3970.
- [127] J. E. Baldwin, T. D. W. Claridge, A. J. Culshaw, F. A. Heupel, V. Lee, D. R. Spring, R. C. Whitehead, R. J. Boughtflower, I. M. Mutton, R. J. Upton, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2806–2808; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2661–2663.
- [128] a) J. E. Baldwin, T. D. W. Claridge, A. J. Culshaw, F. A. Heupel, S. Smrková, R. C. Whitehead, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6919–6922; b) J. E. Baldwin, T. D. W. Claridge, A. J. Culshaw, F. A. Heupel, V. Lee, D. R. Spring, R. C. Whitehead, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 3154–3161.
- [129] a) A. Kaiser, X. Billot, A. Gateau-Olesker, C. Marazano, B. C. Das, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8026–8034; b) K. Jakubowicz, K. Ben Abdeljelil, M. Herdemann, M.-T. Martin, A. Gateau-Olesker, A. Al Mourabit, C. Marazano, B. C. Das, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7381–7387.
- [130] I. Ohtani, T. Ichiba, M. Isobe, M. Kelly-Borges, P. J. Scheuer, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10743–10744.
- [131] a) A. J. Birch, J. J. Wright, *Chem. Commun.* **1969**, 644–645; b) A. J. Birch, J. J. Wright, *Tetrahedron* **1970**, *26*, 2329–2344; c) A. J. Birch, R. A. Russel, *Tetrahedron* **1972**, *28*, 2999–3008.
- [132] A. E. A. Porter, P. G. Sammes, *Chem. Commun.* **1970**, 1103.
- [133] J. Baldas, A. J. Birch, R. A. Russel, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1974**, 50–52.
- [134] J. F. Sanz-Cervera, T. Glinka, R. M. Williams, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 8471–8482.
- [135] a) R. M. Williams, E. Kwast, H. Coffman, T. Glinka, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3064–3065; b) R. M. Williams, T. Glinka, E. E. Kwast, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5927–5929.
- [136] L. R. Domingo, J. F. Sanz-Cervera, R. M. Williams, M. T. Picher, J. A. Marco, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 1662–1667.
- [137] J. F. Sanz-Cervera, R. M. Williams, J. A. Marco, J. M. López-Sánchez, F. González, M. E. Martínez, F. Sancenón, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 6345–6358.
- [138] a) R. M. Williams, J. F. Sanz-Cervera, F. Sancenón, J. A. Marco, K. Halligan, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1090–1091; b) R. M. Williams, J. F. Sanz-Cervera, F. Sancenón, J. A. Marco, K. M. Halligan, *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 1233–1241.
- [139] M. Yamazaki, E. Okuyama, M. Kobayashi, H. Inoue, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 135–136.
- [140] J. G. Ondeyka, R. T. Goegelman, J. M. Schaeffer, L. Kelemen, L. Zitano, *J. Antibiot.* **1990**, *43*, 1375–1379.
- [141] a) S. E. Blanchflower, R. M. Banks, J. R. Everett, B. R. Manger, C. Reading, *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 492–497; b) S. E. Blanchflower, R. M. Banks, J. R. Everett, C. Reading, *J. Antibiot.* **1993**, *46*, 1355–1363.
- [142] R. M. Banks, S. E. Blanchflower, J. R. Everett, B. R. Manger, C. Reading, *J. Antibiot.* **1998**, *50*, 840–846.
- [143] E. M. Stocking, J. F. Sanz-Cervera, R. M. Williams, C. J. Unkefer, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7008–7009.
- [144] E. M. Stocking, R. A. Martinez, L. A. Silks, J. F. Sanz-Cervera, R. M. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3391–3392.
- [145] a) E. M. Stocking, J. F. Sanz-Cervera, R. M. Williams, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 880–883; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 786–789; b) E. M. Stocking, R. M. Williams, J. F. Sanz-Cervera, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9089–9098.
- [146] E. M. Stocking, J. F. Sanz-Cervera, R. M. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1675–1683.
- [147] E. M. Stocking, J. F. Sanz-Cervera, R. M. Williams, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1336–1338; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1296–1298.
- [148] J. F. Sanz-Cervera, R. M. Williams, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2556–2559.
- [149] D. A. Vosburg, C. D. Vanderwal, E. J. Sorensen, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4552–4553.
- [150] D. A. Evans, J. T. Starr, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1865–1868; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1787–1790.
- [151] a) C. D. Vanderwal, D. A. Vosburg, S. Weiler, E. J. Sorensen, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 645–648; b) C. D. Vanderwal, D. A. Vosburg, E. J. Sorensen, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 4307–4310.
- [152] Zur Isolierung und Strukturbestimmung von FR182877 (376) siehe: a) B. Sato, H. Muramatsu, M. Miyauchi, Y. Hori, S. Takase, M. Hino, S. Hashimoto, H. Terano, *J. Antibiot.* **2000**, *53*, 123–130; b) B. Sato, H. Nakajima, Y. Hori, M. Hino, S. Hashimoto, H. Terano, *J. Antibiot.* **2000**, *53*, 615–622.
- [153] R. Höfs, M. Walker, A. Zeeck, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3400–3403; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3258–3261.
- [154] Für einen jüngst erschienenen Beitrag zu Diels-Alder-Reaktionen mit inversem Elektronenbedarf bei der Biosynthese des Polyketids (+)-Desoxygalialacton im Pilz *Galiella rufa* siehe: M. Johansson, B. Kopcke, H. Anke, O. Sterner, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2261–2264; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2158–2160.