

Totalsynthese, Konfiguration und biologische Evaluierung von Anguinomycin C**

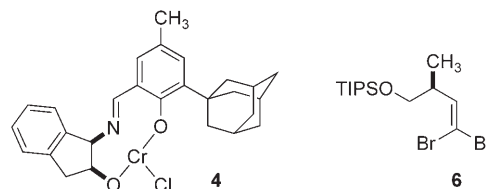
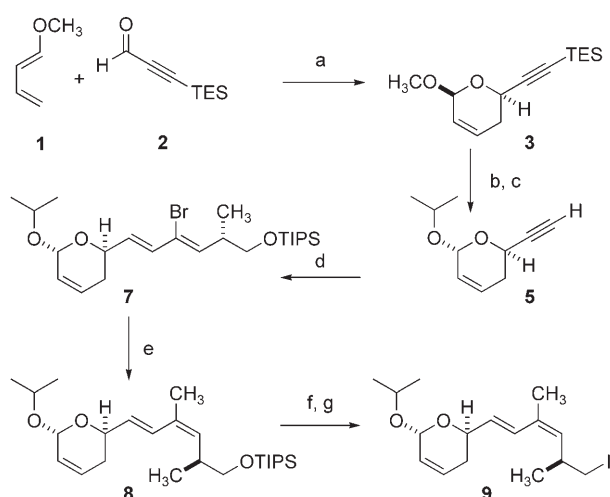
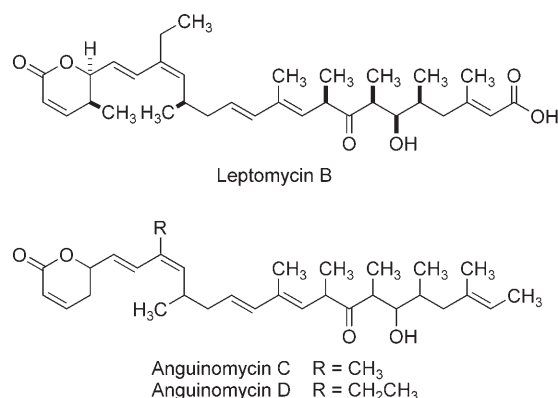
Simone Bonazzi, Stephan Güttinger, Ivo Zemp, Ulrike Kutay* und Karl Gademann*

Professor Dieter Seebach zum 70. Geburtstag gewidmet

Naturstoffe sind attraktive Leitstrukturen für die Entwicklung von Krebstherapeutika und ermöglichen oft vielversprechende chemische Ansätze.^[1] Die Naturstoffklasse der Leptomycine zeichnet sich durch eine außerordentlich starke antitumorale Wirkung auf Krebszelllinien aus, und etliche Verbindungen dieses Typs sind bereits synthetisiert worden.^[2] Prototypische Vertreter wie Leptomycin B oder Callystatin erwiesen sich aber als zu toxisch gegenüber normalen Zellen, was zu ihrem Misserfolg in der klinischen Erprobung führte.^[3] Für zwei ähnliche Verbindungen, die Anguinomycine C und D, wurde dagegen berichtet, dass diese eine selektive Wirkung gegen immortalisierte Zellen haben, bei denen der Tumorsuppressor pRB (Retinoblastomprotein) inaktiviert

wurde.^[4] Die Anguinomycine lösten bei den tumoralen Zelllinien in pikomolaren Konzentrationen Apoptose aus, während in normalen Zellen nur Wachstumsstillstand beobachtet wurde. Diese erstaunliche Selektivität muss in den (minimalen) Unterschieden zwischen den Molekülstrukturen von Anguinomycin C und Leptomycin B begründet sein, die genaue Ursache ist jedoch unbekannt. Des Weiteren konnte die relative und absolute Konfiguration an sechs stereogenen Zentren in Anguinomycin bislang nicht bestimmt werden. Hier beschreiben wir die Totalsynthese von Anguinomycin C, die Bestimmung der absoluten Konfiguration an sechs stereogenen Zentren und auch erste biologische Experimente zum Wirkmechanismus.

Die Totalsynthese von Anguinomycin C begann mit der Herstellung des Dihydropyranfragments **3** (Schema 1). Wir



Scheme 1. a) Cr-Katalysator **4** (2.3 Mol-%), 4-Å-Molekularsieb, 86%, 96% ee; b) *para*-Toluolsulfonsäure, *i*PrOH, 86%; c) TBAF, THF, 95%; d) 1. [Cp₂ZrHCl], THF, 2. ZnCl₂, THF, 3. [Pd(PPh₃)₄] (5 Mol-%), DIBAH (10 Mol-%), **6**, 81%, d.r. > 97:3; e) [Pd(PPh₃)₄], (CH₃)₂Zn, THF, 68%, d.r. > 97:3; f) TBAF, THF, 99%; g) PPh₃, Imidazol, I₂, Toluol/Diethylether, 75%. TBAF: Tetrabutylammoniumfluorid, TES: Triethylsilyl, THF: Tetrahydrofuran, DIBAH: Diisobutylaluminiumhydrid, TIPS: Triisopropylsilyl.

[*] MSc S. Bonazzi, Prof. Dr. K. Gademann
Chemical Synthesis Laboratory
Swiss Federal Institute of Technology (EPFL)
1015 Lausanne (Schweiz)
Fax: (+41) 21-693-9700
E-Mail: karl.gademann@epfl.ch
Homepage: <http://isic.epfl.ch/sync>
Dr. S. Güttinger, Dipl.-Natw. I. Zemp, Prof. Dr. U. Kutay
Institut für Biochemie, ETH Zürich
8093 Zürich (Schweiz)
E-Mail: ulrike.kutay@bc.biol.ethz.ch

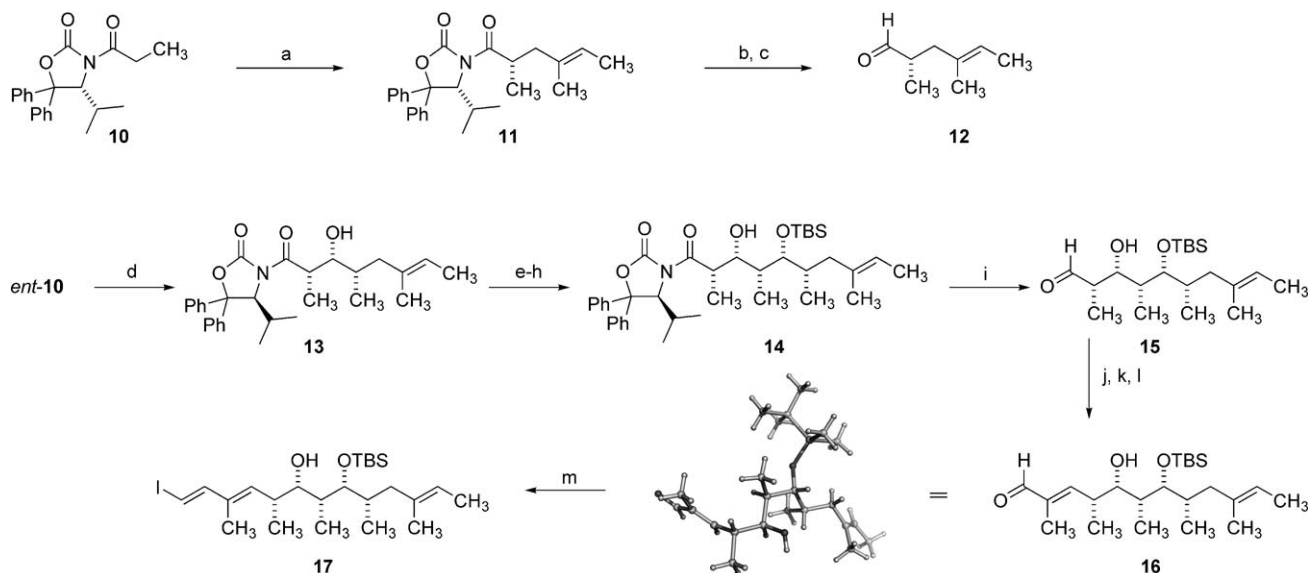
[**] Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds für die Unterstützung dieser Arbeiten (Projektnr. 200021-115918/1 (K.G.) und 3100A0-101712 (U.K.)), wie auch der Latsis-Stiftung. Diese Arbeit ist Teil der geplanten Dissertation von S.B. an der ETH Zürich. Wir danken Dr. B. Schweizer und Dr. R. Scopelliti für jeweils eine Kristallstrukturanalyse.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

wendeten eine katalytische asymmetrische Hetero-Diels-Alder-Reaktion an, die einen direkten Zugang zu diesem Heterocyclen ermöglichte. Die Umsetzung von Methoxybutadien (**1**) mit dem geschützten Propargylaldehyd **2**^[5] in Gegenwart des von Jacobsen und Mitarbeitern^[6] entwickelten Cr^{III}-Katalysators **4** ergab das Produkt **3** in hoher Ausbeute (86 %) und Enantioselektivität (96 % *ee*). Die beobachtete Diastereoselektivität von nur ca. 5:1 resultiert aus einer Epimerisierung, die unter den Reaktionsbedingungen auftritt. Diese niedrige Selektivität bereitete jedoch im weiteren Verlauf keine Probleme, da das Acetal **3** in Isopropylalkohol unter sauren Bedingungen^[20] auch in Form des Diastereomergemischs in das thermodynamisch stabilere, konfigurativer einheitliche Produkt **5**^[21] (nach Entschützen) überführt werden konnte. Dieses Alkin wurde unter Verwendung des Schwartz-Reagens hydrozirconiert und in situ zur Vinylzinkspezies transmetalliert. Eine Negishi-Kreuzkupplung mit dem leicht erhältlichen Dibromid **6**^[7] ergab das trisubstituierte Vinylbromid **7** in 81 % Ausbeute. Interessanterweise führte der Zusatz von wenig DIBAH zu generell höheren Ausbeuten. Die Verbindung **7** wies jedoch die „falsche“ Konfiguration am trisubstituierten Olefin auf, die nun in einem Schlüsselschritt dieser Synthese invertiert werden musste. Negishi und Mitarbeiter hatten berichtet, dass ähnlich substituierte Halogenalkene Kreuzkupplungen unter Inversion (und nicht wie vermutet unter Retention) durchlaufen.^[8] Demgemäß setzten wir das Vinylbromid **7** unter Palladiumkatalyse mit Dimethylzink um und beobachteten im NMR-Spektrum eine saubere Inversion an der Doppelbindung zur *cis*-Verbindung **8** (68 % Ausbeute, d.r. > 97:3). Dies ist umso erstaunlicher, als eine umgekehrte Abfolge, d.h. zuerst Reaktion des Dibromids **6** mit Dimethylzink und dann mit der Dihydropyranerivat ausgehend von **5**, zu sehr niedrigen Ausbeuten und einem Isomergemisch führte. Der Mechanismus dieser Stereo-inversion in der Negishi-Kreuzkupplung

bleibt unbekannt; in der Literatur wurden σ -Pd-Allenylspezies als Intermediate postuliert.^[8] Die Synthese von **9** wurde durch Abspaltung der terminalen Schutzgruppe und Substitution der Hydroxygruppe durch Iodid (Standardmethoden) in guten Ausbeuten abgeschlossen.

Für die Synthese des zweiten Fragments wählten wir eine Aldolstrategie nach Evans,^[9] jedoch unter Verwendung des von Seebach und Hintermann entwickelten DIOZ-Auxiliars (4-Isopropyl-5,5-diphenyloxazolidin-2-on).^[10] Die Wirksamkeit dieses Verfahrens ist bei der Synthese von Discodermolide bereits unter Beweis gestellt worden,^[11] und die Vorteile von höherer Selektivität und Kristallinität der Intermediate (bei jedoch höherem Molekulargewicht) waren auch in den hier beschriebenen Reaktionen von großem Nutzen. Enantioselektive Alkylierung des Li-Enolats von **10**^[10] durch Tigloylbromid^[12] ergab **11** in hoher Ausbeute (92 %) und sehr guter Selektivität (d.r. > 97:3, Schema 2). Abspaltung (und Regenerierung) des chiralen Auxiliars durch LiAlH₄ und anschließende Swern-Oxidation ergaben den Aldehyd **12**^[13] in 98 % Ausbeute über zwei Stufen. Der chirale Aldehyd wurde dann in einer Bor-vermittelten Aldolreaktion mit *ent*-**10** zum *syn*-Aldol **13** umgesetzt. Die Selektivität der Reaktion ist mit einem Wert von 87:13 (trennbar durch Flashchromatographie) nicht herausragend, was aber mit ähnlichen, literaturbekannten Substraten^[2c] im Einklang ist. Die Umsetzung von **13** zum Weinreb-Amid unter Verwendung von Al(CH₃)₃ verlief glatt, ebenso wie die nachfolgende Schützung mit TBS und die Reduktion mit DIBAH zum Aldehyd (85 % über drei Stufen). Eine erneute Bor-vermittelte Aldolreaktion ergab das Hydroxyamid **14** mit einer all-*syn*-Konfiguration mit sehr guter Stereoselektivität (d.r. > 97:3). Das auxiliargebundene Imid **14** konnte mit Lithiumaluminiumhydrid in Toluol direkt zum Aldehyd **15** reduziert werden. Eine Wittig-Reaktion ergab den α,β -ungesättigten Ester, der durch Reduktion und anschließende allylische Oxidation mit MnO₂ in den α,β -un-



Schema 2. a) LDA, THF, dann Tigloylbromid, 92 %, d.r. > 97:3; b) LAH, Diethylether, quant.; c) Swern-Oxidation, 99%; d) Bu₂BOTf, Et₃N, CH₂Cl₂, dann **12**, 77 %, d.r. = 87:13; e) CH₃ONHCH₃·HCl, Al(CH₃)₃, CH₂Cl₂, 86%; f) TBSOTf, 2,6-Lutidin, 99%; g) DIBAH, quant.; h) *ent*-**10**, Bu₂BOTf, Et₃N, CH₂Cl₂, dann Aldehyd, 61 %, d.r. > 97:3; i) LiAlH₄, Toluol, 83%; j) (Carbethoxyethyliden)triphenylphosphoran, Toluol, 99%; k) DIBAH, THF, 93%; l) MnO₂, CH₂Cl₂, 86%; m) CrCl₂, CHI₃, THF, quant., d.r. > 97:3. LDA: Lithiumdiisopropylamid, LAH: Lithiumaluminiumhydrid, TBS: *tert*-Butyldimethylsilyl.

gesättigten Aldehyd **16** überführt wurde. Eine Kristallstrukturanalyse von **16** (Schmp. 75–77°C) ermöglichte die eindeutige Zuordnung der Konfiguration der neu gebildeten stereogenen Zentren. Die Transformation zum Vinyljodid **17** nach Takai^[14] gelang in sehr guter Ausbeute und Stereoselektivität.

Die beiden Fragmente **9** (Schema 1) und **17** (Schema 2) wurden nach einem Verfahren von Marshall verknüpft (Schema 3).^[2g,s] Das primäre Alkyljodid **9** wurde zunächst mit 9-Methoxy-BBN und *t*BuLi umgesetzt und dann mit **17** in Gegenwart von [Pd(dppf)Cl₂] als Katalysator (5 Mol-%) in DMF/Wasser unter basischen Bedingungen gekuppelt. Die Reaktion verlief trotz der strukturellen Komplexität der Substrate erstaunlich gut,^[15] und das Produkt **19**, das nun das gesamte Kohlenstoffgerüst des Anguinomycins C enthielt, wurde in 80 % Ausbeute isoliert. Eine säurekatalysierte Spaltung des Acetals (PPTS, Aceton/Wasser, 95 %) und eine zweistufige Oxidation (DMP, dann MnO₂, 47 % über zwei Stufen) schlossen die Synthese ab. Die letzte Schutzgruppe wurde durch HF in gepuffertem Pyridin entfernt (86 %), und synthetisches Anguinomycin C wurde nach Reinigung durch halbpräparative HPLC isoliert. Die spektroskopischen Daten des synthetisierten Produkts (IR-, MS-, ¹H- und ¹³C-NMR-, HSQC-Spektrum) sind identisch mit den publizierten Werten für den Naturstoff;^[16] auch der Drehwert ($[\alpha]_D = -101$; $c = 6.4 \times 10^{-5}$, CH₃OH) ist mit dem Literaturwert in Einklang ($[\alpha]_D = -128$; $c = 0.5$, CH₃OH). Aus diesen spektroskopischen Daten folgt, dass die absolute Konfiguration des Anguinomycins C (**20**) der in Schema 3 gezeigten Strukturformel entspricht (5*R*,10*R*,16*R*,18*S*,19*R*,20*S*).

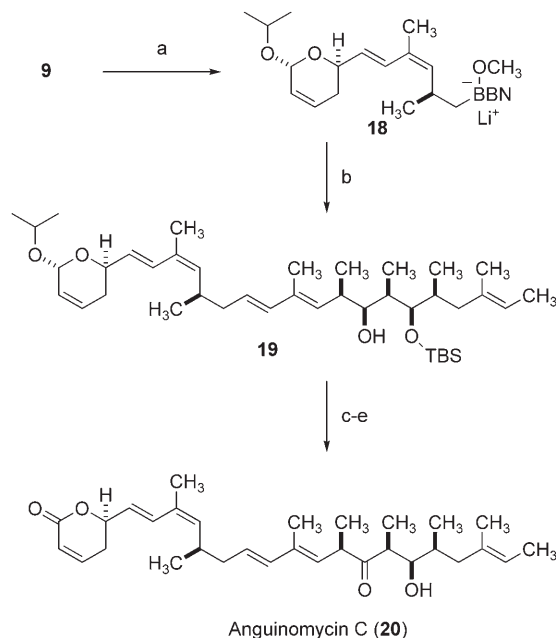
Obwohl Anguinomycin C eine sehr ähnliche Molekülstruktur hat wie Leptomycin B, unterscheiden sich die biolo-

gischen Wirkungen dieser Verbindungen stark. Während Anguinomycin C in pikomolaren Konzentrationen für pRB-inaktivierte, immortalisierte Zellen toxisch ist, scheint es bei normalen Zellen nur einen Wachstumsstopp zu bewirken.^[4] Leptomycin B hingegen zeigt keine derartige Selektivität und ist stark toxisch für alle Zelltypen.

Leptomycin B ist ein spezifischer Inhibitor des Proteins CRM1,^[17,18] das zur Proteinfamilie der Karyopherine gehört, die den Großteil des Proteintransports zwischen Zellkern und Zytoplasma vermitteln (siehe z.B. Lit. [19]). CRM1 ist das wichtigste Exportin beim Proteinexport aus dem Zellkern. Die Substrate von CRM1 enthalten eine kurze Signalsequenz (nuclear export signal, NES), die ihnen die spezifische Bindung an CRM1 ermöglicht. Die Exportaktivität von CRM1 kann durch Leptomycin B mit hoher Selektivität inhibiert werden. Leptomycin B wirkt durch seine kovalente Anheftung an ein Cystein in der Substratbindungsstelle von CRM1, wodurch die Bindung der Exportsignale der Substrate verhindert wird.^[20]

Um zu testen, ob Anguinomycin C ebenfalls den CRM1-abhängigen Export von Proteinen aus dem Zellkern inhibiert, untersuchten wir die Wirkung dieser Verbindung auf die intrazelluläre Lokalisation des humanen Rio2-Proteins. Rio2 ist eine im Zytoplasma lokalisierte Proteinkinase, die CRM1-abhängig aus dem Zellkern exportiert wird;^[21] wird der CRM1-abhängige Export blockiert, akkumuliert Rio2 im Zellkern. Für die Tests wurden HeLa-Zellen 90 Minuten mit unterschiedlichen Konzentrationen von Leptomycin B oder Anguinomycin C inkubiert. Danach wurden die Zellen fixiert und die Lokalisation von Rio2 mithilfe spezifischer Antikörper durch indirekte Immunfluoreszenz bestimmt. Sowohl für Anguinomycin C als auch für Leptomycin B wurde eine starke Akkumulation von Rio2 im Zellkern beobachtet, während unbehandelte Kontrollzellen die erwartete zytoplasmatische Lokalisation des Proteins aufwiesen (Abbildung 1). Dies beweist, dass nicht nur Leptomycin B, sondern auch Anguinomycin C den CRM1-abhängigen Kernexport inhibiert. Die Wirkung von Anguinomycin C war nur geringfügig schwächer: Während Leptomycin B bei einer Konzentration von 5 nM in allen Zellen eine Kernakkumulation von Rio2 bewirkte, wurden 10 nM Anguinomycin C benötigt, um denselben Effekt zu sehen. Zusammengefasst belegen die Daten, dass Anguinomycin C ein effizienter Inhibitor des CRM1-abhängigen Exportweges ist.

Wir haben hier über die erste Totalsynthese des antitumoralen Polyketids Anguinomycin C berichtet. Bemerkenswerte Syntheseschritte waren: 1) eine Cr-katalysierte enantioselektive Hetero-Diels-Alder-Reaktion zum raschen Aufbau des Dihydropyrans, 2) eine Negishi-Reaktion unter Stereoinversion zur Synthese der trisubstituierten Doppelbindung und 3) die Anwendung des chiralen DIOZ-Auxiliars, das z. B. die einfache Umwandlung des Imids **14** zum Aldehyd **15** ermöglichte. Diese konvergente Route ermöglichte auch die Zuordnung der absoluten Konfiguration des Anguinomycins C (**20**). Weiter konnten wir zeigen, dass Anguinomycin C (**20**), wie das strukturverwandte Leptomycin B, den CRM1-vermittelten Export von Proteinen aus dem Zellkern inhibiert. Die Folgerungen aus diesen experimentellen Befunden für die beschriebene Selektivität von Anguinomy-



Schema 3. a) 9-Methoxy-BBN, *t*BuLi, Diethylether, THF; b) **17**, [Pd(dppf)Cl₂] (5 Mol-%), AsPh₃ (15 Mol-%), Cs₂CO₃, DMF/H₂O, 80%; c) Pyridinium-*para*-toluolsulfonsäure, Aceton/H₂O, 95%; d) 1. DMP, CH₂Cl₂, 2. MnO₂, CH₂Cl₂, 47%; e) HF-Pyridin, Pyridin, THF, 86%. BBN: Borabicyclononan, dppf: Ph₂PC₃H₄FeC₅H₄PPh₂, DMP: Dess-Martin-Periodinan.

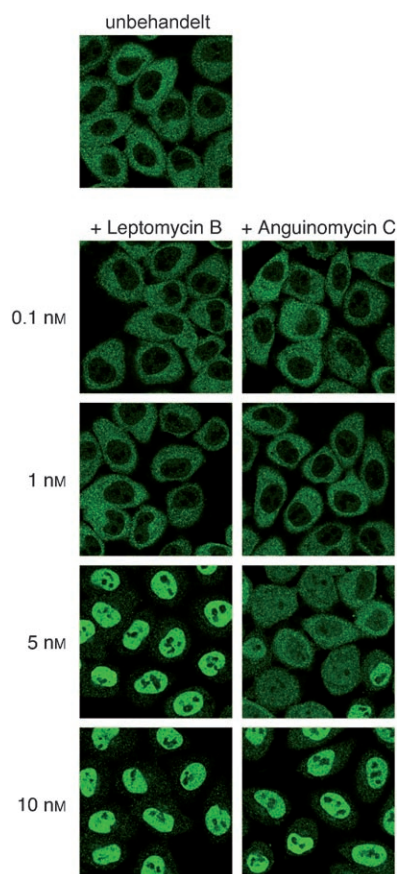


Abbildung 1. Anguinomycin C inhibiert den CRM1-abhängigen Export von Rio2 aus dem Kern von HeLa-Zellen. CRM1: Chromosome Maintenance Region 1.

cin C für pRB-inaktivierte Zellen^[4] sind Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Eingegangen am 13. Juli 2007

Online veröffentlicht am 4. Oktober 2007

Stichwörter: Kernexport · Leptomycine · Polyketide · Totalsynthesen · Tumortherapeutika

- [1] D. J. Newman, G. M. Cragg, *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 461–477.
- [2] a) Übersicht: M. Kalesse, M. Christmann, *Synthesis* **2002**, 981–1003; Totalsynthesen von Leptomycin: b) M. Kobayashi, W. Wang, Y. Tsutsui, M. Sugimoto, N. Murakami, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8291–8294; Callystatin: c) N. Murakami, W. Wang, M. Aoki, Y. Tsutsui, M. Sugimoto, M. Kobayashi, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2349–2352; d) M. T. Crimmins, B. W. King, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9084–9085; e) M. Kalesse, M. Quitschalle, K. P. Chary, A. Saeed, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3107–3109; f) A. B. Smith III, B. M. Brandt, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1685–1688; g) J. A. Marshall, M. P. Bourbeau, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2751–2754; h) J. L. Vicario, A. Job, M. Wolberg, M. Müller, D. Enders, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1023–1026; i) D. Enders, J. L. Vicario, A. Job, M. Wolberg, M. Müller, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4272–4284; j) M. Kalesse, K. P. Chary, M. Quitschalle, A. Burzlaff, C. Kasper, T. Scheper, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 1129–1136; k) N. F. Langille, J. S. Panek, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3203–3206; l) L. C. Diaz, P. R. R. Meira, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4762–4773; Ratjadone: m) M.

Christmann, U. Bhatt, M. Quitschalle, E. Claus, M. Kalesse, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4535–4538; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4364–4366; n) D. R. Williams, D. C. Ihle, S. V. Plummer, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1383–1386; o) U. Bhatt, M. Christmann, M. Quitschalle, E. Claus, M. Kalesse, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 1885–1893; Kazusamycin: p) N. Arai, N. Chikaraishi, S. Omura, I. Kuwajima, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2845–2848; q) S. Zhou, H. Chen, W. Liao, S.-H. Chen, G. Li, R. Ando, I. Kuwajima, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 6341–6344; Leptofuranin D: r) J. A. Marshall, G. M. Schaaf, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7428–7432; Leptostatin: s) J. A. Marshall, A. M. Mikowski, M. P. Bourbeau, G. M. Schaaf, F. Valeriote, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 320–323; Delactomycin: t) I. R. Corrêa, Jr., R. A. Pilli, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 3125–3128; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3017–3020.

- [3] E. S. Newlands, G. J. Rustin, M. H. Brampton, *Br. J. Cancer* **1996**, *74*, 648–649.
- [4] Y. Hayakawa, K. Sohda, K. Shinya, T. Hidaki, H. Seto, *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 954–961.
- [5] M. J. Plater, S. Aiken, G. Bourhill, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 2415–2422.
- [6] a) A. G. Dossetter, T. F. Jamison, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2549–2552; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2398–2400; b) D. E. Chavez, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3779–3782; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3667–3670.
- [7] K. Komatsu, K. Tanino, M. Miyashita, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 4441–4445; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4341–4345.
- [8] a) X. Z. Zeng, Q. Hu, M. X. Qian, E. Negishi, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13636–13637; b) X. Z. Zeng, M. X. Qian, Q. Hu, E. Negishi, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 2309–2313; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2259–2263; c) N. Yin, G. Wand. M. Qian. E. Negishi, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2982–2986; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2916–2920.
- [9] D. A. Evans, J. Bartoli, T. L. Shih, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2127–2129.
- [10] T. Hintermann, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 2093–2126. DIOZ ist in beiden enantiomeren Formen kommerziell erhältlich.
- [11] Baustein: O. Loiseleur, G. Koch, T. Wagner, *Org. Process Res. Dev.* **2004**, *8*, 597–602; Synthese: O. Loiseleur, G. Koch, J. Cercus, F. Schürch, *Org. Process Res. Dev.* **2005**, *9*, 259–271.
- [12] J. A. Katzenellenbogen, A. L. Crumrine, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 4925–4935.
- [13] *ent-12*: J. D. White, A. T. Johnson, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3347–3358.
- [14] a) K. Takai, K. Nitta, K. Utimoto, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 7408–7410; b) J. D. White, P. R. Blakemore, N. J. Green, E. B. Hauser, M. A. Holoboski, L. E. Keown, C. S. Nylund Kolz, B. W. Phillips, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7750–7760.
- [15] Chakraborty und Mitarbeiter berichteten, dass ähnliche Substrate in dieser Reaktion unreaktiv waren, wobei jedoch K_3PO_4 anstatt Cs_2CO_3 und $AsPh_3$ eingesetzt wurde: K. Chakraborty, R. K. Goswami, M. Sreekanth, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 4075–4078. Eine weitere Diskussion findet sich in Lit. [2g].
- [16] Zusätzlich zu den publizierten Werten in Lit. [4] beobachteten wir das Dublett der Hydroxygruppe bei $\delta = 2.40$ ppm ($J = 4.0$ Hz, $CDCl_3$, 600 MHz).
- [17] K. Nishi, M. Yoshida, D. Fujiwara, M. Nishikawa, S. Horinouchi, T. Beppu, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 6320–6324.
- [18] M. Fornerod, M. Ohno, M. Yoshida, I. W. Mattaj, *Cell* **1997**, *90*, 1051–1060.
- [19] H. Fried, U. Kutay, *Cell. Mol. Life Sci.* **2003**, *60*, 1659–1688.
- [20] N. Kudo, N. Matsumori, H. Taoka, D. Fujiwara, E. P. Schreiner, B. Wolff, M. Yoshida, S. Horinouchi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 9112–9117.
- [21] J. Rouquette, V. Choesmel, P. E. Gleizes, *EMBO J.* **2005**, *24*, 2862–2872.