

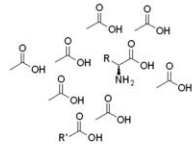
# Die biosynthetische Grundlage der Polyketid-Vielfalt

Christian Hertweck\*

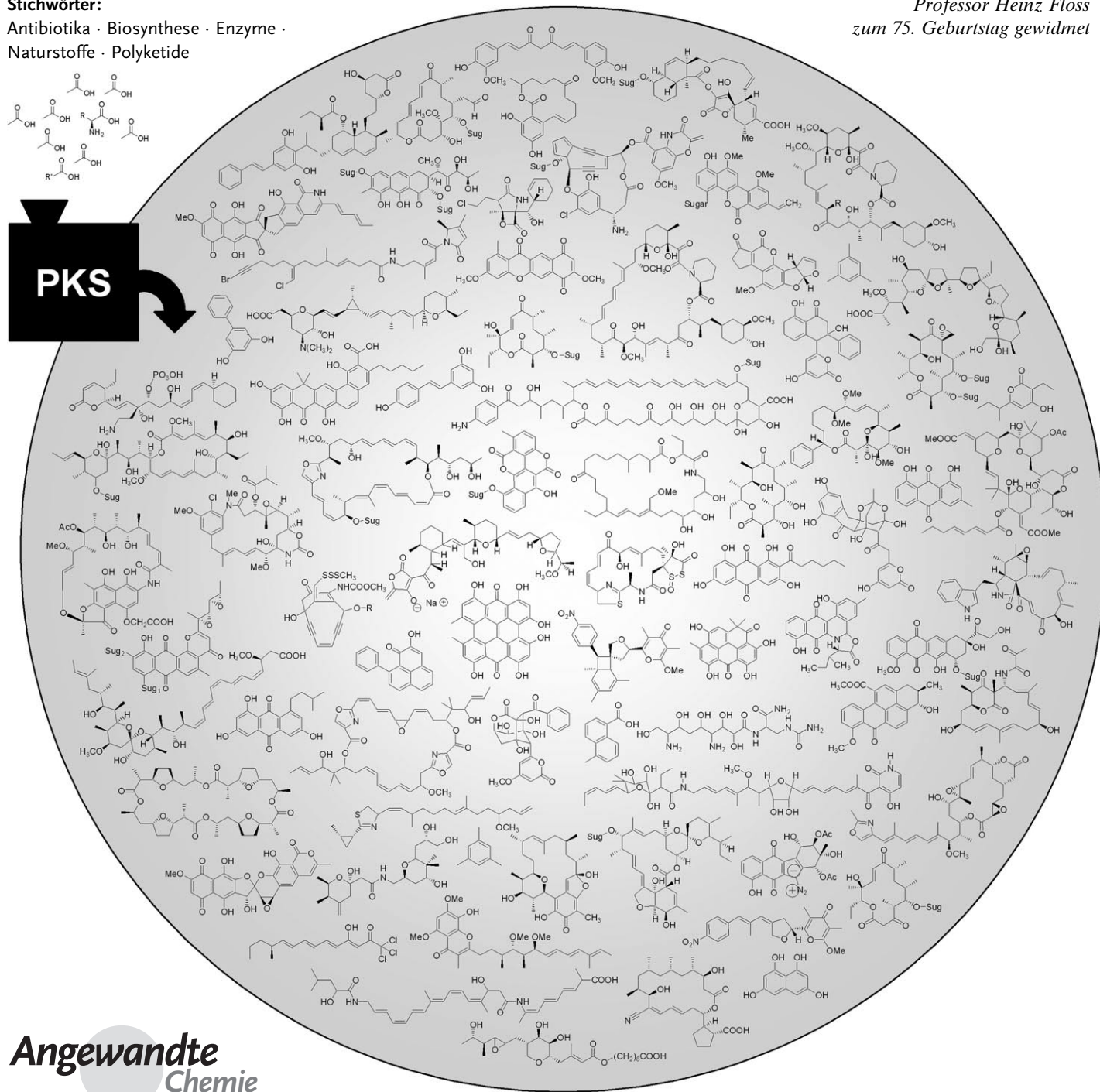
## Stichwörter:

Antibiotika · Biosynthese · Enzyme ·  
Naturstoffe · Polyketide

Professor Heinz Floss  
zum 75. Geburtstag gewidmet



PKS



Angewandte  
Chemie

**P**olyketide bilden eine der größten Naturstoffklassen. Viele dieser Verbindungen – oder Derivate davon – sind wichtige Therapeutika, aber viele sind auch berüchtigte, Lebensmittel verderbende Toxine oder Virulenzfaktoren. Besonders bemerkenswert ist, dass sich die Verbindungen dieser heterogenen Gruppe, zu denen Polyether, Polyene, Polyphenole, Makrolide und Endiine gehören, hauptsächlich von einem der einfachsten natürlichen Bausteine ableiten: Essigsäure. Chemische, genetische und biochemische Untersuchungen haben Aufschluss über die Biosyntheseprogramme gegeben, die zur enormen Strukturvielfalt von Polyketiden führen. Dieser Aufsatz behandelt kürzlich aufgeklärte Biosynthesemechanismen, nach denen höchst unterschiedliche und komplexe Moleküle synthetisiert werden.

### 1. Polyketide und das biosynthetische Basisprogramm

Polyketide bilden eine sehr vielfältige Gruppe von Naturstoffen mit faszinierenden Kohlenstoffgerüsten, darunter Polyphenole, Makrolide, Polyene, Endiine und Polyether. Zwar sind ihre genauen Funktionen in ihrem natürlichen Kontext nicht in allen Fällen bekannt, es wird aber angenommen, dass sie als Pigmente, Virulenzfaktoren, Boten- oder Abwehrstoffe fungieren. Vom pharmakologischen Standpunkt sind Polyketide eine hervorragende Quelle für neue Therapeutika. In der Medizin werden sie vor allem als Antibiotika, Immunsuppressiva, Antiparasitika sowie cholesterinsenkende und tumorhemmende Wirkstoffe eingesetzt.<sup>[1]</sup> Die hochkomplexen Strukturen und die große pharmakologische Bedeutung dieser Verbindungen haben intensive Untersuchungen zur Synthese dieser Naturstoffe und ihrer Derivate angeregt. Angesichts der äußerst anspruchsvollen Totalsynthese von Polyketiden ist es bemerkenswert, dass ihre riesige Struktur- und Funktionsvielfalt allein aus der kontrollierten Verknüpfung einfachster Biosynthesebausteine resultiert: Acetat und Propionat. Seit den ersten Überlegungen von Collie zur Polyketid-Biosynthese, der den Begriff Polyketid prägte, und der „Acetogenin“-Hypothese von Barton<sup>[2]</sup> ist die Verknüpfung und Umwandlung einfacher Carbonsäuremonomere in natürlichen Systemen ein faszinierendes, interdisziplinäres Forschungsgebiet geworden. Mit der Entwicklung molekularer Techniken<sup>[3]</sup> ist es nunmehr möglich geworden, die biosynthetische Grundlage besser zu verstehen, die der Polyketid-Vielfalt zugrunde liegt. Dank unserem immer tieferen Verständnis der Polyketid-Biosynthese können diese verändert oder redesigned werden, um so neuartige Wirkstoffkandidaten zu produzieren.<sup>[4–7]</sup>

#### 1.1. Mechanismen zum Kettenaufbau

Die Polyketid- und die Fettsäure-Biosynthese haben viel gemeinsam: Sie nutzen nicht nur ähnliche Mechanismen zur Kettenverlängerung, sondern bauen auch auf dem gleichen Repertoire einfacher Vorstufen wie Acetyl-Coenzym A

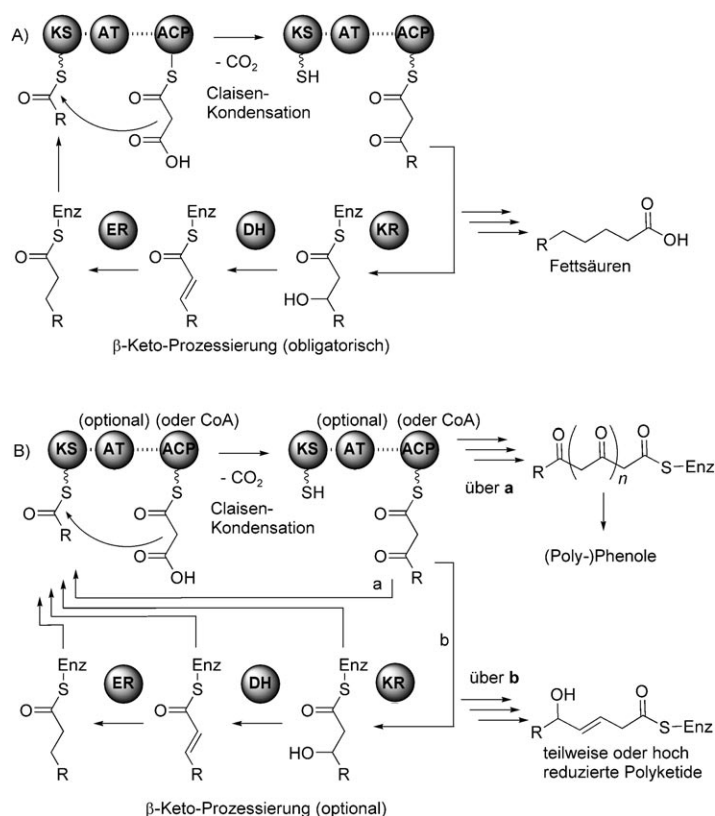
### Aus dem Inhalt

1. Polyketide und das biosynthetische Basisprogramm	4783
2. Vielfalt aromatischer Polyketide	4786
3. Diversität komplexer Polyketide	4795
4. Schlussbemerkungen	4807

(CoA) und Malonyl-CoA (MCoA) auf.<sup>[8]</sup> Im Allgemeinen werden sowohl Polyketide als auch Fettsäuren durch sich wiederholende decarboxylierende Claisen-Thioester-Kondensationen

einer aktivierten Acyl-Startereinheit mit von Malonyl-CoA abgeleiteten Verlängerungseinheiten aufgebaut (Schema 1).<sup>[9]</sup> An diesem Vorgang sind eine  $\beta$ -Ketoacylsynthase (KS), eine optionale (Malonyl-)Acyltransferase (MAT/AT) sowie ein phosphopantetheinliertes Acyl-Carrier-Protein (ACP) oder CoA als Anker für die wachsende Kette beteiligt. Nach jedem Kettenverlängerungsschritt wird die  $\beta$ -Oxo-Funktion durch eine Ketoreduktase (KR), eine Dehydratase (DH) und eine Enoylreduktase (ER) weiter umgesetzt, wodurch letztlich ein vollständig gesättigtes Acyl-Rückgrat entsteht. Dennoch weicht die Polyketid-Biosynthese in vielerlei Hinsicht von der Fettsäure-Biosynthese ab: Polyketid-Synthasen (PKS) unterscheiden sich deutlich von Fettsäure-Synthasen (FAS), nicht nur weil sie eine größere Auswahl an Biosynthesebausteinen nutzen können, sondern auch durch die Herstellung von Produkten unterschiedlicher Kettenlänge. Während FAS normalerweise nach jeder Verlängerung einen vollständigen reduktiven Zyklus katalysieren, sind die Reduktionsschritte bei der Polyketid-Synthese optional; sie können vor der nächsten Verlängerungsrunde teilweise oder vollständig ausgelassen werden, was ein komplexeres Funktionalisierungsmuster zur Folge hat (Schema 1). Gleichwohl werden bei beiden Reaktionswegen die Verlängerungs/Reduktions-Zyklen wiederholt, bis eine definierte Kettenlänge erhalten wird und die Thioester-gebundenen Substrate schließlich vom Enzymkomplex freigesetzt werden. Die Primärprodukte können im Anschluss weiter modifiziert werden. Trotz der auffallenden Ähnlichkeiten ihrer Kettenfortpflanzungsmechanismen unterscheiden sich die PKS und FAS<sup>[9]</sup> deutlich und repräsentieren einen metabolischen Verzweigungspunkt zwischen Primär- und Sekundärmetabolismus. Die beiden

[\*] Prof. Dr. C. Hertweck  
Abteilung Biomolekulare Chemie, Leibniz-Institut für Naturstoff-  
Forschung und Infektionsbiologie (HKI)  
Beutenbergstraße 11a, 07745 Jena (Deutschland)  
Fax: (+49) 3641-5321100  
E-Mail: christian.hertweck@hki-jena.de  
und  
Friedrich-Schiller-Universität, Jena (Deutschland)  
Homepage: <http://www.hki-jena.de>



**Schema 1.** Grundmechanismen der Fettsäure- (A) und Polyketid-Biosynthese (B). Enz = Enzym.

Reaktionswege können sich in einem frühen Stadium der Evolution getrennt haben. In diesem Zusammenhang ist interessant, dass PKS an der Biosynthese mikrobieller, mehrfach ungesättigter Fettsäuren<sup>[10,11]</sup> sowie mycobakterieller Zellwandlipide beteiligt sein könnten.<sup>[12]</sup>

### 1.2. Aufbau und Funktion von PKS

Je nach Struktur und Wirkungsweise werden Polyketid-Synthasen in unterschiedliche Typen unterteilt (Tabelle 1).<sup>[3,13]</sup> Wie bei der FAS-Nomenklatur bezeichnet Typ I linear angeordnete und kovalent verknüpfte katalytische Domänen innerhalb großer multifunktionaler Enzyme,

**Tabelle 1:** Polyketid-Synthase-Typen.

PKS-Typ	Bausteine	Organismen
modularer Typ I (nicht iterativ); Untertypen: <i>cis</i> -AT, <i>trans</i> -AT	ACP, verschiedene Verlängerungseinheiten; (In-situ-Methylierung möglich)	Bakterien (Protisten)
iterativer Typ I; Untertypen: NR-, PR-, HR-PKS	ACP, nur MCoA-Verlängerungseinheit (In-situ-Methylierung möglich)	hauptsächlich Pilze, einige Bakterien
(iterativer) Typ II	ACP, nur MCoA-Verlängerungseinheit	ausschließlich Bakterien
(iterativer) Typ III	Acyl-CoA, nur MCoA-Verlängerungseinheit <sup>[a]</sup>	hauptsächlich Pflanzen, einige Bakterien und Pilze
PKS-NRPS-Hybrid	ACP, MCoA, Aminosäuren	Bakterien (modular) Pilze (iterativ)

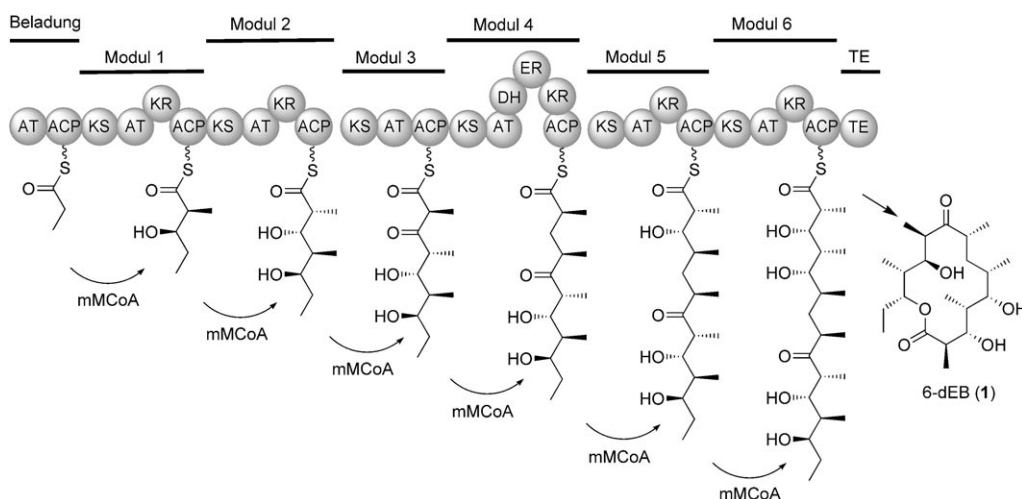
[a] Zwei Ausnahmen sind beschrieben (siehe Abschnitt 2.2.2).

während Typ II auf einen dissoziierbaren Komplex diskreter und gewöhnlich monofunktionaler Enzyme hinweist. Eine dritte Gruppe multifunktionaler Enzyme vom Chalconsynthase-Typ wird als Typ-III-PKS angegeben. Die PKS werden außer anhand ihrer Enzym(komplex)-Strukturen auch gemäß ihrer iterativen oder nichtiterativen Katalyseeigenschaften klassifiziert, d. h. danach, ob eine KS-Domäne mehr als eine Verlängerungsrunde katalysiert oder nicht. Nichtiterative Typ-I-PKS wie die archetypische Erythromycin-PKS (6-Desoxyerythronolide(6-dEB,1)-Synthase, DEBS)<sup>[14]</sup> sind riesige multimodulare Megasyntasen, die hauptsächlich in Prokaryoten vorkommen (Schema 2).<sup>[14]</sup> Erst in letzter Zeit sind nichtiterative PKS in Protozoen wie Dinoflagellaten gefunden worden.<sup>[15–17]</sup> Ein einzelnes Modul besteht aus einem Satz von KS-, AT- und ACP-Domänen sowie optionalen β-Keto-Umwandlungsdomänen und ist gewöhnlich nur für einen einzigen Elongationszyklus verantwortlich. Die Zahl der Module korreliert daher mit der Zahl der von der PKS ausgeführten Erweiterungszyklen, und das Vorhandensein von KR-, DH- und ER-Domänen bestimmt den Grad der β-Keto-Prozessierung.<sup>[18–20]</sup> Die Eins-zu-eins-Beziehung zwischen der PKS-Architektur und der Metabolitstruktur ist als Prinzip der Kollinearität bekannt. Diese Regel ermöglicht nicht nur die rationale Umprogrammierung der komplizierten Polyketid-Biosynthese durch genetische Manipulationen,<sup>[21]</sup> sondern auch die Vorhersage von Metabolitstrukturen aus dem Enzymaufbau und umgekehrt. Einige bakterielle modulare Typ-I-PKS fügen sich nicht in dieses Schema ein, da bei ihnen Module mehr als einmal verwendet oder übersprungen werden oder weil die Architektur des Moduls nicht mit der Struktur des entstehenden Metaboliten zusammenpasst. Der letzte Fall tritt vor allem in der Unterklasse der „*trans*-AT-PKS“ auf, wo den Modulen diskrete AT-Domänen fehlen. Im Unterschied zu den normalen „*cis*-AT-PKS“ werden in „*trans*-AT-PKS“ die ACP durch freistehende AT beladen.<sup>[22,23]</sup>



Christian Hertweck (geboren 1969) studierte Chemie an der Universität Bonn und fertigte seine Doktorarbeit bei Prof. Boland am Max-Planck-Institut für Chemische Ökologie (Jena) an. 1999 ging er als Feodor-Lynen-Stipendiat zu den Profs. Floss und Moore an die University of Washington, Seattle. Anschließend gründete er eine eigene Forschungsgruppe am HKI in Jena. Seit 2006 hat er den Lehrstuhl für Naturstoffchemie an der Friedrich-Schiller-Universität Jena inne und ist Leiter der Abteilung Biomolekulare Chemie am Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie (HKI).





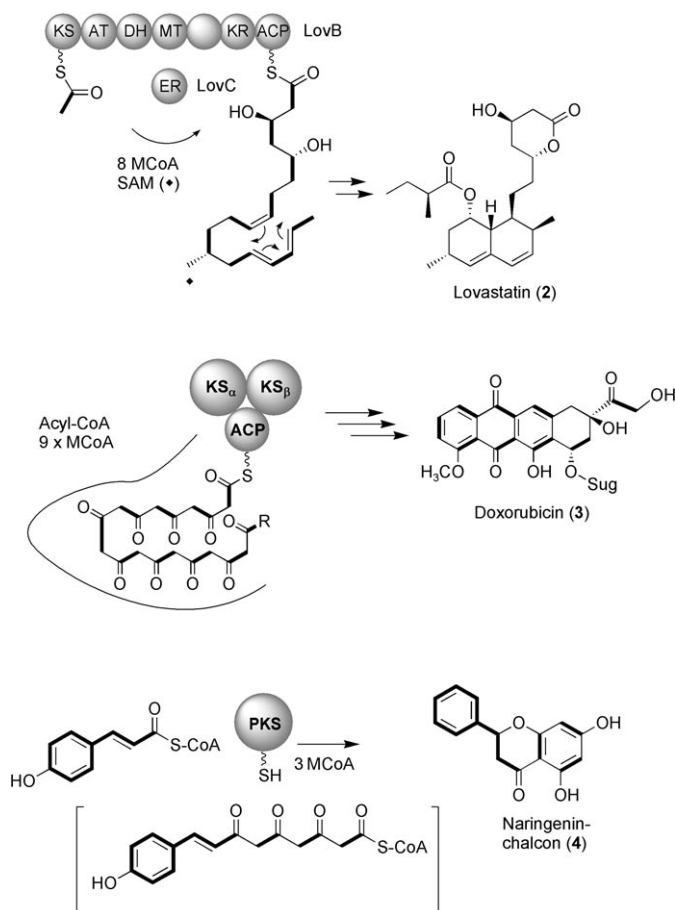
**Schema 2.** Die für die Erythromycin-Biosynthese erforderliche Desoxyerythronolid-B-Synthase (DEBS) als Beispiel für eine modulare Typ-I-PKS.

Iterative Typ-I-PKS wie die Lovastatin(2)-Synthase sind typisch für die Polyketid-Biosynthese in Pilzen (Schema 3).<sup>[24,25]</sup> Entsprechend dem Vorhandensein oder Fehlen von  $\beta$ -Keto-Prozessierungsdomänen werden Pilz-PKS

in nichtreduzierende (non-reducing, NR-), teilweise reduzierende (partially reducing, PR-) oder hoch reduzierende (highly reducing, HR-)PKS unterteilt. Obwohl die Multidomänenenzyme gewöhnlich iterativ wirken, kann der Reduktionsgrad in jeder verlängerten Einheit variieren. In jedem Verlängerungszyklus werden wahlweise KR-, DH-, ER- und sogar Methyltransferase(MT)-Domänen eingesetzt, wodurch das Substitutionsmuster festgelegt wird. Welche Faktoren diese Variabilität lenken, ist größtenteils unbekannt. Verwandte bakterielle (monomodulare) iterative Typ-I-PKS sind selten und ausschließlich an der Bildung kleiner aromatischer Verbindungen oder Polyene (einschließlich Endiinen; siehe Abschnitt 3.6.2) beteiligt.

Iterative Typ-II-PKS-Systeme sind auf Prokaryoten beschränkt, bei diesen aber üblicher. In diesen Systemen wird ein minimaler Satz iterativ eingesetzter Enzyme, die jeweils durch ein unterschiedliches Gen exprimiert werden, für den Polyketid-Aufbau (z. B. von Doxorubicin (3)) benötigt. Diese so genannte „minimale PKS“ besteht aus zwei Ketosynthase-Einheiten ( $KS_{\alpha}$  und  $KS_{\beta}$  oder „chain length factor“, CLF) und einem ACP, das zur Anbindung der wachsenden Polyketid-Kette dient. Zusätzliche PKS-Untereinheiten, einschließlich Ketoreduktasen, Cyclasen (CYC) und Aromatasen (ARO), bestimmen das Faltungsmuster der entstehenden Poly- $\beta$ -keto-Zwischenstufe.<sup>[26–28]</sup> Typ-II-PKS werden hauptsächlich in Actinomyceten gefunden, und bislang sind nur zwei Beispiele aus Gram-negativen Bakterien bekannt.<sup>[29,30]</sup>

Typ-III-PKS kennt man aus der gut untersuchten Familie der pflanzlichen Chalcon/Stilben-Synthasen (CHS/STS), die Verbindungen wie Naringenin-chalcon (4) produzieren. Diese Enzyme sind multifunktionell: Sie wählen die Startereinheit (z. B. *p*-Cumaroyl-CoA) aus, bauen die Kette auf und unterstützen deren Faltung. Nachdem die Typ-III-PKS lange als eine Besonderheit der Pflanzen gegolten hatten, wurden im letzten Jahrzehnt zahlreiche verwandte Enzyme in Bakterien<sup>[31,32]</sup> und vor kurzem auch in Pilzen gefunden.<sup>[33]</sup> Ganz anders als bei bakteriellen modularen Typ-I-PKS, aber in Analogie zu FAS wird die Länge des durch eine iterative PKS gebildeten Polypeptid-Rückgrats offenbar durch die Größe



**Schema 3.** Beispiele für iterative PKS aus der Biosynthese von Lovastatin (iterative Pilz-Typ-I-PKS), Doxorubicin (bakterielle Typ-II-PKS) und Naringenin-chalcon (pflanzliche Typ-III-PKS, Chalconsynthase). Sug = Zucker, SAM = S-Adenosylmethionin.

In manchen Fällen sind Module der Typ-I-PKS an nicht-ribosomale Peptidsynthetase(NRPS)-Module gebunden,<sup>[20]</sup> was zur Bildung von Polyketid-Peptid-Hybridmetaboliten führt. Überdies wurden verschiedene gemischte Polyketid-Biosynthesewege beobachtet, z.B. Typ-III/Typ-I-, Typ-I/Typ-II- und FAS/PKS-Hybride.

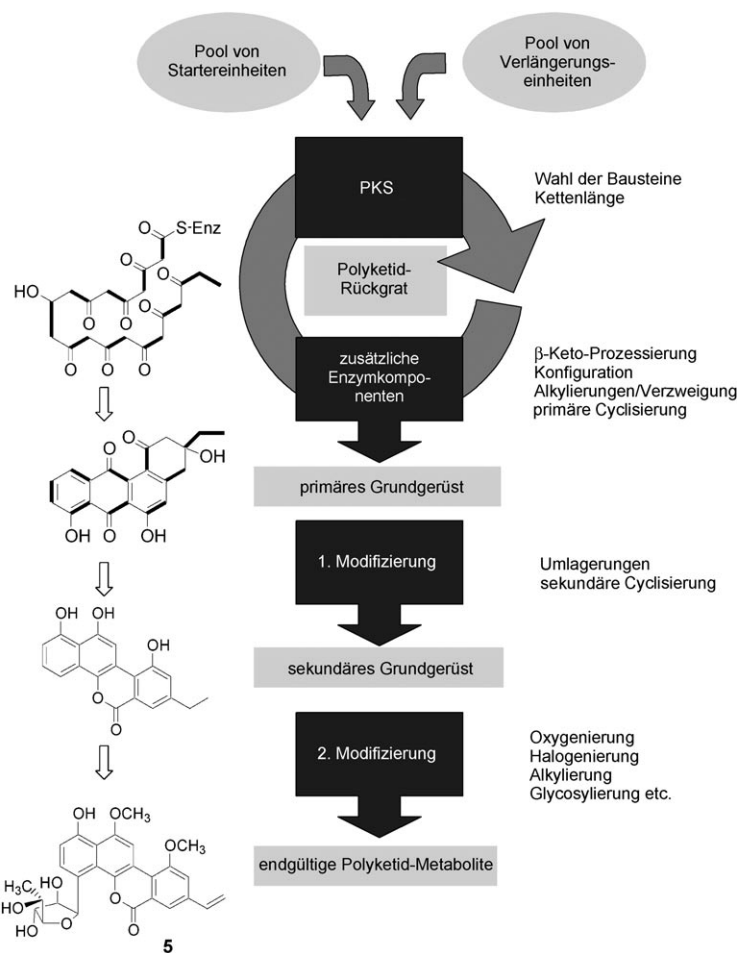
Die eindrucksvolle Vielfalt der Polyketid-Strukturen ergibt sich aus einer Serie programmierter Ereignisse vor, bei und nach dem Aufbau der Kette (Schema 4). In allen Fällen sind die Art und Zahl der verwendeten Biosynthesebausteine die ersten Determinanten.<sup>[34]</sup>  $\beta$ -Keto-prozessierende Reaktionen und die resultierende Konfiguration sowie andere In-situ-Reaktionen wie  $\alpha$ - und  $\beta$ -Alkylierungen bestimmen das grundlegende Substitutionsmuster. Sobald das Polyketid-Rückgrat zusammengebaut ist, wird die Kette durch Lactonisierung,<sup>[35]</sup> Hydrolyse, andere nucleophile Angriffe (siehe Abschnitt 3.5) oder reduktive Freisetzung<sup>[36]</sup> von der PKS abgelöst, wonach eine Cyclisierung des Grundgerüsts erfol-

## 2. Vielfalt aromatischer Polyketide

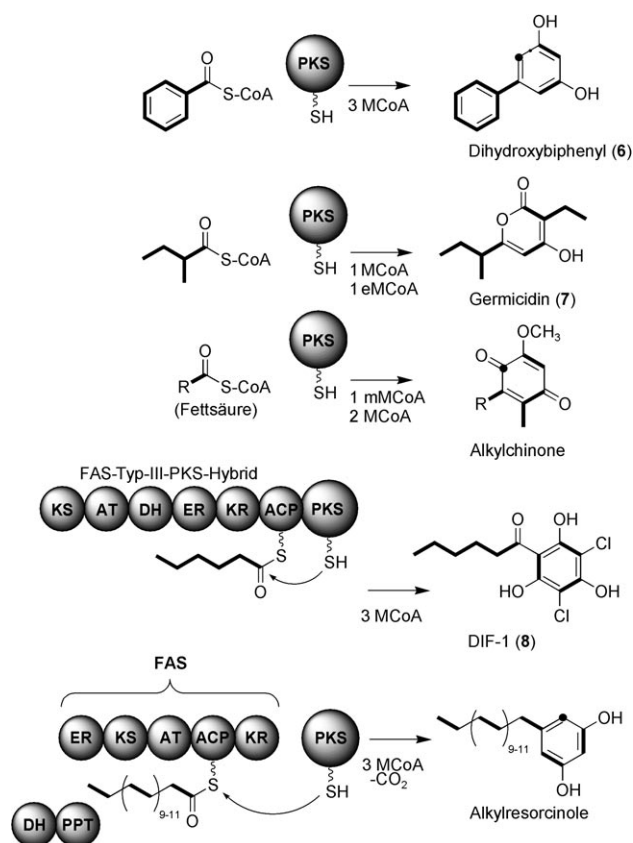
In den meisten Fällen entstehen Polyphenole aus einer Polyketid-Kette, die von einem Acetyl-Startermolekül ausgeht, das gewöhnlich durch Decarboxylierung einer aktivierten Malonyl-Einheit gebildet wird. Dennoch gibt es bei allen Typen iterativer PKS viele Beispiele, bei denen Nichtacetyl-Startereinheiten genutzt werden. Zwar können die Enzymmechanismen unterschiedlich sein, doch gibt es grundlegende Ähnlichkeiten darin, wie die primären Bausteine aktiviert und aufgeladen werden.

Typ-III-PKS nutzen unterschiedliche Startereinheiten wie hydroxysubstituiertes und nichtsubstituiertes Cinnamoyl (z. B. in CHS, STS), Benzoyl (z. B. in Biphenylsynthase<sup>[38]</sup>) und Fettsäuren, die meist als CoA-Thioester aktiviert werden (Schema 5). Die Auswahl der Startereinheit beruht auf den räumlichen Vorgaben durch den Substrat-Bindungstunnel des homodimeren Proteins.<sup>[39–41]</sup> Von besonderer Bedeutung ist die katalytische Triade Cys-His-Asn, die in dem mit dem CoA-Bindungstunnel verbundenen Hohlraum des aktiven Zentrums lokalisiert ist und das Startermolekül als Thioester an den Cys-Rest bindet.<sup>[40]</sup> In mehreren Fällen führte strukturgerichtete Mutagenese zu einer erweiterten Substratspezifität.<sup>[42]</sup>

Ein im Genom von *S. coelicolor* entdecktes, „verwaistes“ (oder kryptisches) Typ-III-PKS-Gen ist an der Biosynthese von Germicidin (**7**) beteiligt.<sup>[43]</sup> Die bakterielle Typ-III-PKS akzeptiert auch verzweigte Fettsäuren als Starter und ist das erste bekannte Mitglied dieser Enzymfamilie, das eine andere Einheit als Malonyl-CoA zur Verlängerung nutzt: In-vitro-Studien zeigten, dass Ethylmalonyl-CoA (eMCoA) für die Verlängerung akzeptiert wird.<sup>[43]</sup> Horinouchi et al. beschrieben ein zweites Beispiel für die Verwendung einer von Malonyl-CoA verschiedenen Typ-III-PKS-Verlängerungseinheit. SrsA aus *Streptomyces griseus* produziert alkylsubstituierte Resorcine, Pyrone und Chinone aus Acyl-CoA unterschiedlicher Kettenlänge, Malonyl-CoA und Methylmalonyl-CoA.<sup>[44]</sup> Welche Faktoren die Auswahl dieser ungewöhnlichen Bausteine regulieren, bleibt noch zu erforschen. Die Startereinheiten der Typ-III-PKS liegen gewöhnlich als CoA-Thioester vor, es gibt aber auch Berichte über einen direkten Transfer von Fettsäuren von der FAS zum aktiven Zentrum der Typ-III-PKS. Ein bemerkenswertes Beispiel ist eine Typ-I-FAS/Typ-III-PKS-Hybridsynthase, die im Schleimpilz *Dic-*



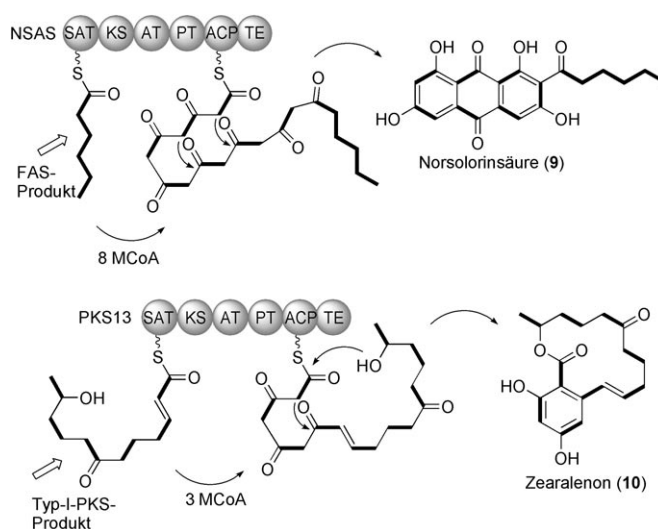
**Schema 4.** Diversifizierungsstufen innerhalb der Polyketid-Biosynthese am Modell des Biosynthesewegs von Gilvocarcin (5).



Schema 5. Verwendung alternativer Startereinheiten durch Typ-III-PKS.

*tyostelium discoideum* an der Biosynthese des differenzierungsinduzierenden Faktors DIF-1 (8) beteiligt ist.<sup>[45]</sup> Eine ähnliche Beobachtung machten Horinouchi et al. im Zusammenhang mit der Biosynthese phenolischer Lipide im Stickstoff fixierenden Bodenbakterium *Azotobacter vinelandii*. In-vitro-Experimente ergaben, dass die Fettsäure-Startermoleküle durch eine ungewöhnliche Typ-I-FAS gebildet und direkt an die Typ-III-Polyketid-Synthase weitergereicht werden.<sup>[46]</sup> Die resultierenden Alkylresorcine und verwandten Pyrone können Membranphospholipide ersetzen und werden für die Differenzierung der Bakterien zu metabolisch ruhenden Zysten unter ungünstigen Umgebungsbedingungen benötigt.<sup>[47]</sup> Eine Typ-III-PKS aus dem Pilz *Neurospora crassa* akzeptiert einige aliphatische CoA-Thioester mit Kettenlängen von 4–20 Kohlenstoffatomen als Starter und produziert verschiedene Resorcine und Pyrone in vitro.<sup>[46,48]</sup>

Die Beladung der iterativen Typ-I-PKS in Pilzen war ein Rätsel, bis Townsend et al. vor kurzem Pilz-PKS-Domänen systematisch analysierten und eine Starter-Acyltransferase-(SAT)-Domäne identifizierten.<sup>[49,50]</sup> Diese N-terminale Domäne ist substratspezifisch und führt das Startermolekül der PKS zu, wie für die Hexanoat-initiierte Norsolorinsäure(9)-Synthase (NSAS) gezeigt wurde (Schema 6). Ein alternativer Beladungsmechanismus wurde bei der Biosynthese von Zearalenon (10), einem Mycotoxin aus *Gibberella zeae*, das in Tieren das hyperöstrogene Syndrom hervorruft, beobachtet.<sup>[51,52]</sup> Hier interagieren Pilz-HR-PKS und -NR-PKS. Nach In-vitro-Arbeiten von Tang et al. wird die Resorcyl-

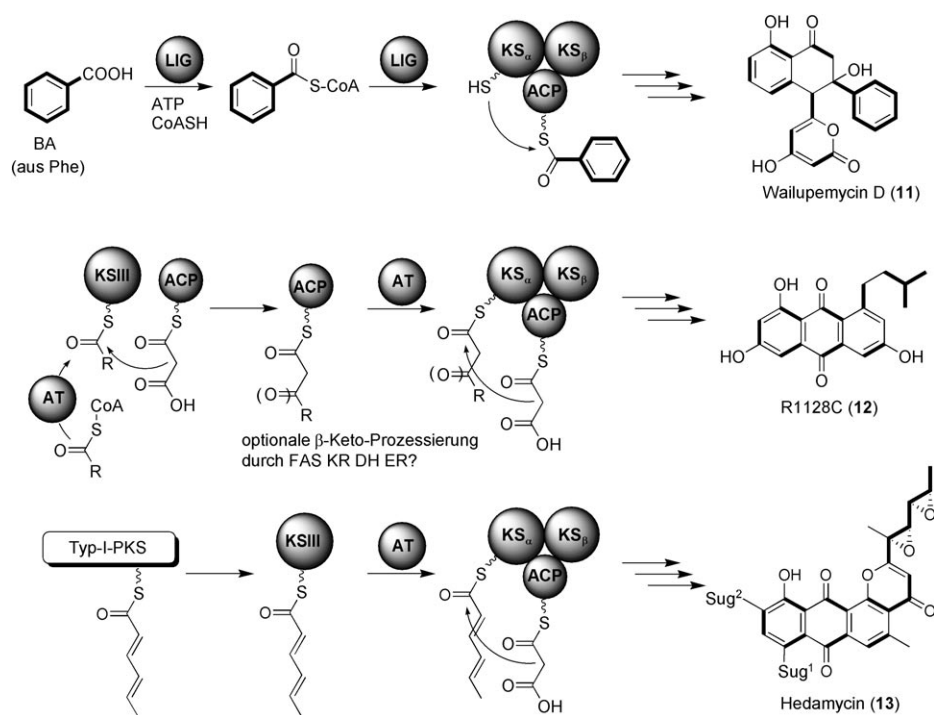


Schema 6. Die iterative Pilz-Typ-IPKS wird durch die Starter-Acyltransferase(SAT)-Domäne beladen.

säure synthetisierende NR-PKS (PKS13) mit einem reduzierten Polyketid, das durch eine HR-PKS (PKS4) produziert wird, beladen. Überraschenderweise kann PKS13 auch mit dem Fettsäure-Biosyntheseapparat von *Echerichia coli* wechselwirken und kann mit alternativen ACP-gebundenen Fettsäuren beladen werden.<sup>[53]</sup>

Bekannte Nichtacetyl-Startereinheiten für Typ-II-PKS sind die Propionyl- (Anthracycline) und die Malonamyl-Startereinheit (Tetracycline) sowie eine Reihe kurzer linearer und verzweigter Fettsäure-Einheiten, darunter Butyryl-, Valeryl- oder 4-Methylvaleryl-Startereinheiten (z.B. Frenolicin und der R1128-Komplex).<sup>[54]</sup> In vielen Fällen wurde die biosynthetische Basis für die Verwendung alternativer Startermoleküle untersucht und zur gezielten Modifizierung des Biosynthesewegs eingesetzt.<sup>[55–57]</sup> Die Arylseitenketten mehrerer biosynthetisch verwandter Antibiotika aus *Streptomyces maritimus*, Enterocin und die Wailupemycine, sind auf die Beladung mit einer seltenen, von Phenylalanin abgeleiteten Benzoyl-Startereinheit zurückzuführen (Schema 7).<sup>[58–60]</sup> Die Beladung der von Moore et al. untersuchten Typ-II-PKS erinnert an diejenige in NRPS-Biosynthesewegen: Die freie Säure wird zuerst adenyliert, anschließend als CoA-Thioester aktiviert und auf ACP übertragen. Alle Schritte werden von einer einzigen Ligase, EncN, katalysiert.<sup>[61]</sup> Die Hemmung der Biosynthese und Anbindung des natürlichen Startermoleküls ermöglichten zum ersten Mal eine Mutasynthese von Typ-II-PKS-Produkten.<sup>[62]</sup>

Die Beladung mit kurzen Fettsäuren erfordert normalerweise eine Ketoacylsynthase-Komponente (KS III). Homologe hierzu kennt man aus der bakteriellen Fettsäure-Synthese, z.B. FabH aus *E. coli*, das zur Auswahl des Starters und für den ersten Elongationsschritt erforderlich ist. KS III zeigen funktionelle Ähnlichkeit mit Typ-III-PKS, da sie die hoch konservierte katalytische Triade Cys-His-Asn enthalten, die für Beladung/Transacylierung, Decarboxylierung und Kondensation zuständig ist. Homologe dieser Enzyme sind charakteristisch für die meisten aromatischen Polyketid-Biosynthesewege, die durch Nichtacetyl-Startereinheiten



**Schema 7.** Strategien zum Beladen von Typ-II-PKS mit Nichtacetyl-Startereinheiten. LIG = Ligase.

eingeleitet werden, wie jene, die zu Anthracyclinen, R1128 und Frenolicin führen.<sup>[54]</sup> Neuere Beispiele für die Verwendung von kurzen Fettsäuren als Starter sind die Hedamycin (**13**),<sup>[63]</sup> Fredericamycin,<sup>[64]</sup> Benastatin<sup>[65]</sup> und Alnumycin-Biosynthesewege.<sup>[66]</sup> Zusätzliche ACP- und AT-Komponenten können beteiligt sein, um die Acyl-Einheiten anzubinden oder zu übertragen, werden aber nicht in allen Fällen gefunden. Die neu gebildete  $\beta$ -Keto-Gruppe kann vollständig reduziert werden (wahrscheinlich mithilfe von FAS-Enzymen).

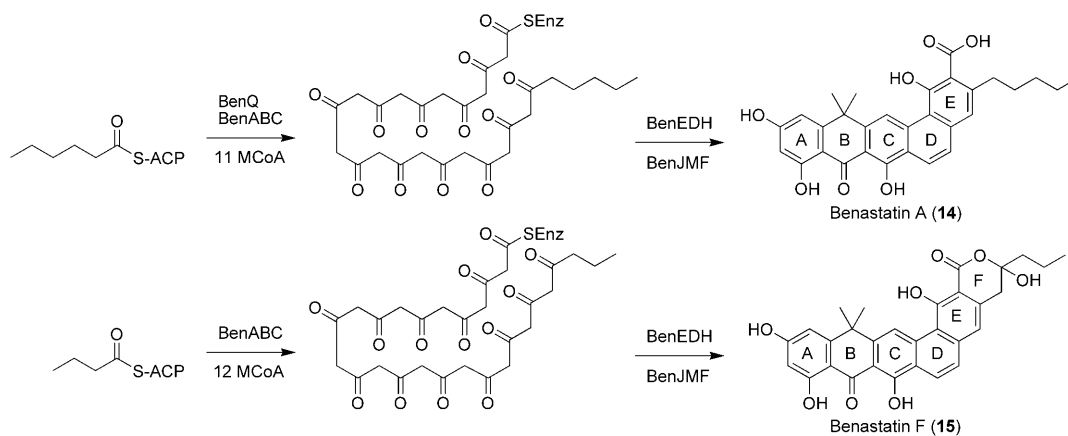
Thorson et al. haben einen zuvor unbekannten Startmechanismus für den Biosyntheseweg von Hedamycin (**13**) beschrieben. Eine Analyse des Biosynthese-Genclusters ließ darauf schließen, dass das Pluramycin-Antibiotikum ausgehend von einem Hexadienyl-Startermolekül aufgebaut wird, das von einer iterativen Typ-I-PKS bereitgestellt wird (Schema 7). Eine zusätzliche Ketosynthase (KS III, HedS)

und eine mutmaßliche Acyltransferase (HedF) können beim Startvorgang mitwirken.<sup>[63]</sup>

Die KS-III-Komponente übt auch eine gewisse Kontrolle über die Wahl des Startermoleküls aus, wie für den Reaktionsweg zu Benastatin (**14**) gezeigt wurde (Schema 8). Die Biosynthese dieses wirksamen Glutathion-S-Transferase-Inhibitors und Apoptoseinduktors beginnt mit einer Hexanoyl-Einheit. In Abwesenheit der KS III werden verschiedene Analoga mit modifizierten Seitenketten produziert. Wenn ein kürzerer Fettsäure-Starter (Butyryl) eingebaut wird, verlängert sich das Polyketid-Rückgrat und ergibt ein erweitertes, hexacyclisches Ringsystem (**15**), das an Intermediate in den Griseorhodin- und Fredericamycin-Biosynthesewegen erinnert.<sup>[65, 67]</sup>

## 2.2. Wie Polyphenole „in Form kommen“

Polyphenole entstehen durch gezielte Cyclokondensationen von Poly- $\beta$ -keto-Zwischenstufen oder nur teilweise reduzierten Polyketid-Ketten, die durch iterative PKS synthetisiert wurden. Trotz der sehr unterschiedlichen Strukturen der Produkte sind die für die Polyphenol-Biosynthese zuständigen Enzyme dazu in der Lage, sämtliche hoch reaktiven Zwischenstufen zu erzeugen und zu stabilisieren sowie ihre Faltungsmuster zu präorganisieren. Um spontane Aldolreaktionen zu verhindern und die Cyclisierungen auf festgelegte Reaktionswege zu lenken, sind spezielle Enzymfunktionen unerlässlich. Neue Einblicke lieferte die Entdeckung designierter Hohlräume für die Cyclisierung (in Typ-III-PKS; siehe Abschnitt 2.2.2), Produkttemplat(PT)-Domänen (in iterativen Pilz-PKS; siehe Abschnitt 2.2.3) oder separaten Zusatzkomponenten (Cyclasen und Aromatasen, in Typ-II-PKS; siehe Abschnitt 2.2.4), die „Chaperon-artig“ wirken und die wachsende Kette auf einen bestimmten Reaktionspfad lenken.

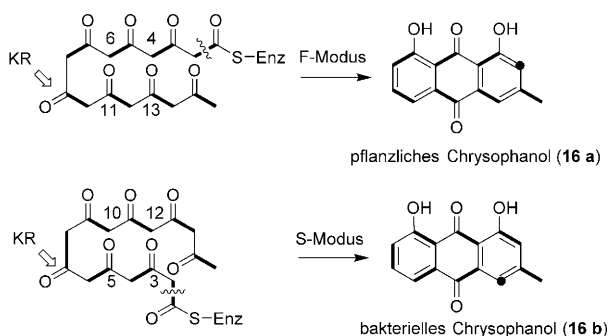


**Schema 8.** Erweiterung eines Polyphenol-Ringsystems durch Kettenverlängerung. BenQ = KS III, BenABC = minimale PKS (min PKS), BenEDHJMF = Zyklasten und modifizierende Enzyme.



### 2.2.1. Divergente Polyketid-Faltungsweisen in Pflanzen, Pilzen und Bakterien

Eines der großen Mysterien der Biosynthese aromatischer Polyketide ist die molekulare Grundlage für die abweichenden Cyclisierungsmuster in Pflanzen, Pilzen und Bakterien.<sup>[68]</sup> Markierungsexperimente mit stabilen Isotopen zeigten, dass Gram-positive Bakterien (wie *Streptomyces* spp.) gewöhnlich Polyphenole produzieren, bei denen die ersten Ringe (entstehend aus dem „Bogen“) aus drei intakten Acetat-Einheiten bestehen. Die meisten (aber nicht alle) Pilz-Polyphenole ergeben sich dagegen aus einer Faltung vom F-Typ, bei der analoge Ringe aus zwei vollständigen und zwei partiellen Acetat-Einheiten zusammengesetzt werden. Die abweichenden Faltungsarten wurden von Bringmann et al., die die Biosynthese des Pigments und chemischen Abwehrstoffs Chrysophanol (**16**) untersuchten, gut illustriert. In Eukaryoten (Pilzen, höheren Pflanzen und Insekten) wird Chrysophanol über den Faltungsmodus F (für „Fungi“) gebildet; in Actinomyceten verläuft die Cyclisierung dagegen nach dem Modus S (für *Streptomyces*; Schema 9).<sup>[69]</sup>



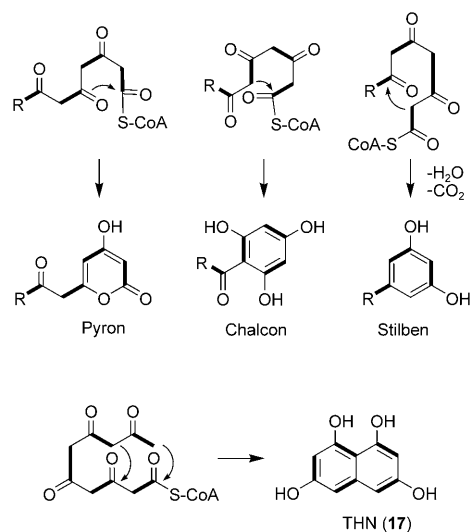
**Schema 9.** Unterschiedliche Faltungsarten im Anthrachinon-Biosyntheseweg.

Diese vergleichenden Biosynthesestudien belegen, dass bei der Polyketid-Bildung mehr als eine Faltungsweise eine Rolle spielen kann, die regulierenden Enzymfaktoren für die Cyclisierung nach dem F- oder S-Modus bleiben allerdings noch aufzuklären.

### 2.2.2. Aromatische Polyketide durch die Typ-III-PKS/Chalcon-synthase-Superfamilie

Die multifunktionellen Typ-III-PKS-Enzyme wählen die Startereinheit, steuern die Polyketid-Anordnung und katalysieren spezifische Cyclisierungsreaktionen. Gewöhnlich werden dabei nur kleine Benzol- oder Naphthalinringe gebildet. Die zuerst entdeckten Enzyme, die diese Familie begründen, sind die pflanzenspezifischen 2-Pyrone synthasen (2-PS), die aus einem Acetyl-CoA-Startermolekül und zwei Malonyl-CoAs das Triketid Methylpyron bilden, und die Chalcon synthasen (CHS), die das Tetraketid Chalcon aus *p*-Cumaroyl-CoA und drei Malonyl-CoA-Einheiten mit nachfolgender Claisen-Esterkondensation produzieren. Bemerkenswerterweise verwenden pflanzliche Stilbensynthasen (STS) die gleiche Vorstufe, katalysieren aber eine Aldolcy-

clisierung (Schema 10). Strukturstudien zeigten, dass die Kettenlänge und Cyclisierungsmodi durch Enzymhohlräume und die Struktur des aktiven Zentrums bestimmt werden.<sup>[70]</sup>



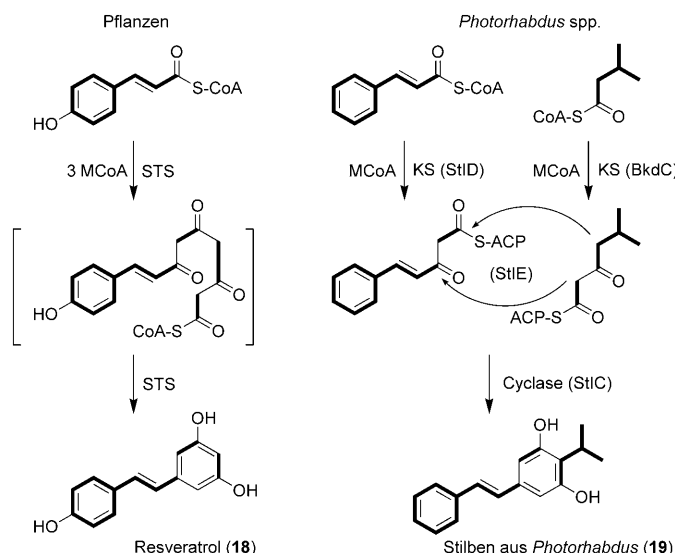
**Schema 10.** Cyclisierungsreaktionen, die in pflanzlichen Typ-III-PKS und bakteriellen Typ-III-PKS (THN) beobachtet wurden.

Die drei Hauptwege in Schema 10 führen zu der großen Familie der pflanzlichen Pyrone und Phenylpropanoide wie Naringenin-chalcon und Resveratrol.<sup>[71]</sup> Ein neueres Beispiel für pflanzliche Typ-III-PKS ist die Chromon-Pentaketid-PKS aus Aloe.<sup>[72]</sup> Die ortsgerichtete Mutagenese lieferte überraschenderweise eine Synthase, die längere Ketten (Octaketide) produziert, die spontan zu bekannten Polyketid-Shunt-Produkten (Shunt-Produkte: spontan gebildete Nebenprodukte aus Biosynthesevorstufen) cyclisieren.<sup>[73]</sup>

Die Kristallstrukturaufklärung der Tetrahydroxynaphthalin(THN, **17**)-Synthase – der ersten Typ-III-PKS aus einem Bakterium (*Streptomyces coelicolor*)<sup>[74]</sup> – ergab, dass der Hohlraum für die Kettenverlängerung und -cyclisierung deutlich größer als bei pflanzlichen Homologen ist (Schema 10).<sup>[40]</sup> Interessanterweise ist THN auch als Pilz-Metabolit bekannt, sein Bildungsmechanismus unterscheidet sich aber grundlegend, da eine iterative Typ-I-PKS beteiligt ist und die Hexaketid-Kette durch Abbau einer Heptaketid-Vorstufe entsteht.<sup>[74]</sup>

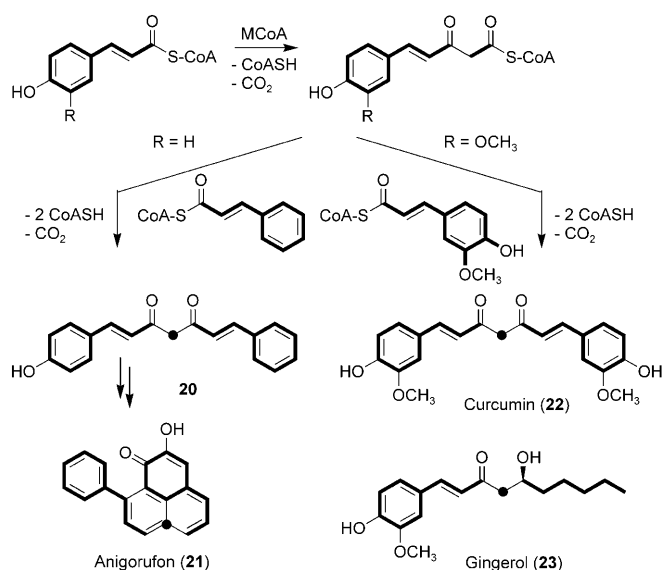
In Pflanzen und entomopathogenen Bakterien, die mit Nematoden in Symbiose leben, ist eine weitere biosynthetische Konvergenz von PKS-Metaboliten beobachtet worden. Bakterien der Gattung *Photorhabdus* können Stilbene grundlegend anders aufbauen als Pflanzen (Schema 11). In einer konvergenten Biosynthese verlängern zwei diskrete Ketosynthasen zuerst Cinnamoyl- und z. B. Isovaleryl-Einheiten, die anschließend eine „Cyclase“-katalysierte Kondensation eingehen. Die resultierenden Stilbene (z. B. **19**) sind multifunktionell, da sie nicht nur als Antibiotika und als Inhibitoren des Insektenimmunsystems wirken, sondern auch als Signal zwischen taxonomischen Reichen fungieren können, das für das normale Wachstum und die Entwicklung der Nematodenwirte benötigt wird.<sup>[75]</sup>





Schema 11. Biosynthese von Stilbenen in Pflanzen und Bakterien.

Die konvergente Biosynthese eines Phenol-Derivats aus einem Diketid und einer zweiten Thioesterkomponente erinnert an die kürzlich identifizierten Pflanzen-Typ-III-PKS, die Diketide produzieren und die Kopf-an-Kopf-Kondensation von CoA-Thioestern katalysieren (Schema 12). Ein



Schema 12. Modell zur Biosynthese von Diarylheptanoid (Curcumin) und Phenylphenalenon (Anigorufon) sowie die Struktur von Gingerol, das analog biosynthetisiert werden könnte.

wichtiges Beispiel ist die von Schneider et al. untersuchte Typ-III-PKS, die Diarylheptanoide (**20**) und Phenylphenalene (**21**) in *Wachendorfia thyrsiflora* bildet.<sup>[76]</sup> Unter Verwendung der Curcuminoidsynthese (Typ-III-Polyketid-Synthase) aus *Oryza sativa* konnte auch in vitro die Bildung eines Diarylheptanoids (**22**) aus zwei 4-Cumaroyl-CoA-Einheiten und einem Malonyl-CoA gezeigt werden.<sup>[77]</sup> Über die gleichen allgemeinen Mechanismen könnte analog Gingerol (**23**)

synthetisiert werden, wenngleich die entsprechende PKS bisher nicht identifiziert wurde.<sup>[78]</sup>

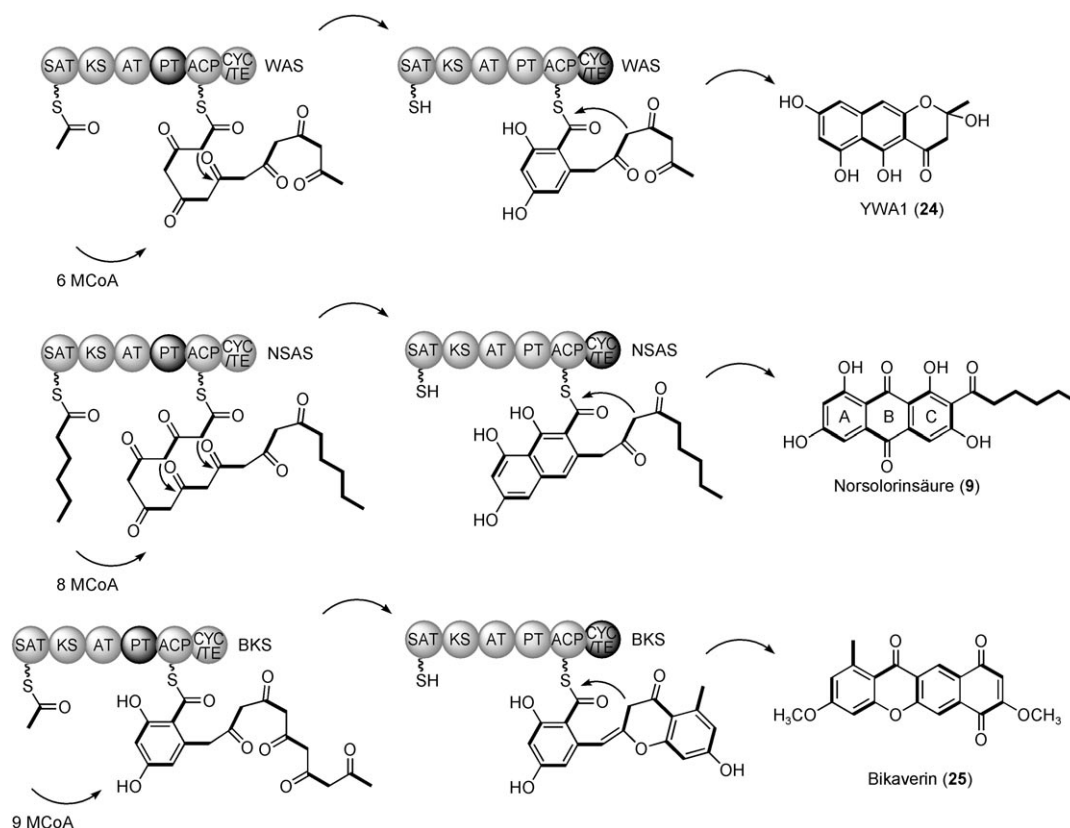
## 2.2.3. Kontrolle der Polyphenol-Biosynthese in Pilzen

Townsend et al. haben vor kurzem die Grundlage zum Verständnis der Polyketid-Cyclisierung in Pilzen erarbeitet. Bei der bioinformatischen Analyse der multifunktionellen Proteine identifizierten sie eine Produkttemplat(PT)-Domäne, die für die korrekte Cyclisierung ACP-gebundener Polyketid-Zwischenstufen wichtig ist.<sup>[79]</sup> Die Sequenzvariationen in PT-Domänen verschiedener PKS, z.B. der YWA1(**24**)- (WAS), Norsolorinsäure(**9**)- (NSAS) und Bikaverin(**25**)-Synthasen (BKS), korrelieren mit der Kettenlänge ihrer Produkte und lassen daher darauf schließen, dass Hohlräume unterschiedlicher Größe bereitgestellt werden (Schema 13). Die Funktion des Produkttemplats bei der Aflatoxin-Biosynthese wurde experimentell nachgewiesen: Es treibt die Aromatisierung voran, um irreversibel die Ringe A und B von **9** zu bilden (Schema 13) und den Fluss der Norsolorinsäure-Vorstufe weg vom PKS-Enzym zu verstärken.<sup>[79]</sup> Ebizuka et al. hatten früher gezeigt, dass die Endcyclisierung zu YWA1 (**24**) durch eine Claisen-Estercyclisierung erfolgt, die von einer Cyclase/Thioesterase(CYC/TE)-Domäne katalysiert wird.<sup>[80]</sup> Die essenzielle Rolle der C-terminalen CYC/TE-Domäne für die abschließende Cyclisierung wurde in vitro mit dem Wildtyp und einer mutierten Version der Bikaverin-Synthase aus *Gibberella fujikuroi* nachgewiesen.<sup>[81]</sup> Die Ergänzung der PKS4-Mutante mit einer eigenständigen CYC/TE-Domäne stellte den regioselektiven Cyclisierungsschritt wieder her.

## 2.2.4. Steuerung der Polyphenol-Biosynthese durch Typ-II-PKS-Multienzymkomplexe

Die Bandbreite der grundlegenden phenolischen Ringstrukturen, die durch Typ-III-PKS und iterative Typ-I-PKS gebildet werden, ist relativ klein (siehe Schema 15): Es werden ausschließlich lineare mono- bis tetracyclische aromatische Verbindungen erhalten, was wahrscheinlich auf räumliche Einschränkungen der Substratkanäle der Pflanzen-Typ-III-PKS oder der Hohlräume der PT-Domänen in Pilz-PKS zurückzuführen ist. Dagegen gibt es eine sehr viel höhere Vielfalt bei den Ringtopologien bakterieller Metaboliten. Mögliche Erklärungen sind: a) Die Polyketid-Ketten sind länger, und b) die Typ-II-PKS-Multienzymkomplexe mit bis zu drei Cyclasen sind flexibler bei der Gestaltung des Polyketid-Rückgrats.

Die Kettenlänge der durch Typ-II-PKS synthetisierten Polyketide reicht gewöhnlich von 16 (Octaketide wie Actinorhodin) über 20 (Decaketide wie Tetracenomycin) bis 24 Einheiten (Dodecaketide wie Pradimicin). Die längsten Ketten haben Griseorhodin (Tridecaketid), Benastatin (Tetradecaketid) und Fredericamycin (Pentadecaketid). In Typ-II-PKS-Komplexen wird die Kettenlänge größtenteils durch die KS<sub>P</sub>-Untereinheit kontrolliert, die auch als Kettenlängenfaktor (CLF) bezeichnet wird, aber es scheint, dass der gesamte Komplex die Größe des Metaboliten beeinflusst.<sup>[82,83]</sup> Die Bedeutung des CLF für die Steuerung der Kettenlänge<sup>[84]</sup>

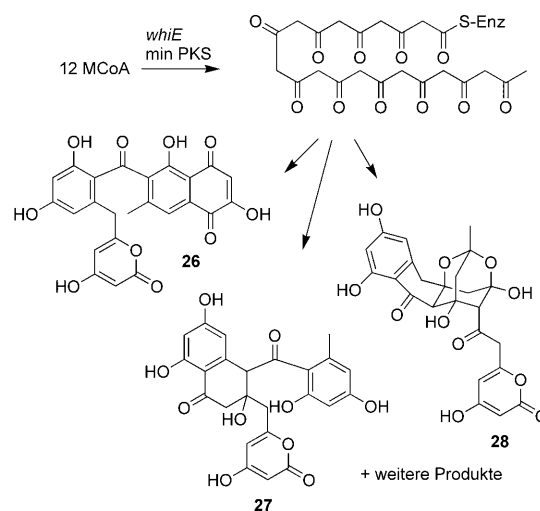


**Schema 13.** Kontrolle der Polyphenol-Biosynthese in Pilzen, vermittelt durch Produkttemplat(PT)- und Cyclase/Thioesterase(CYC/TE)-Domänen.

wurde durch In-vivo- und In-vitro-Experimente belegt. Zudem wird die Kettenlänge über „Messen“, d.h. die Größe der Enzymkavitäten, definiert, nicht durch das „Zählen“ der Kettenverlängerungen.<sup>[85]</sup> Strukturmodellierungen zufolge sind so genannte „Gate Keeper“-Aminosäure-Reste, die die Kettenlänge festlegen, an der Grenzfläche des  $KS_{\alpha}/KS_{\beta}$ -Heterodimers lokalisiert.<sup>[83,84]</sup>

Khosla et al. lösten die erste Kristallstruktur eines  $KS_{\alpha}/KS_{\beta}$ -Heterodimers und zeigten so, dass das entstehende, hoch reaktive Polyketid-Intermediat durch die PKS stabilisiert wird.<sup>[86]</sup> Für eine kontrollierte Cyclisierung der Poly- $\beta$ -keto-Ketten zu einer definierten Polyphenolstruktur werden jedoch Cyclasen und Aromatasen benötigt. Alle Cyclasen, obwohl relativ unterschiedlich in Sequenz und Struktur, funktionieren Chaperon-artig und katalysieren spezifische Aldolkondensationen; Aromatasen fördern die Cyclodehydratisierung. Systematische Gen-Inaktivierung, Rekombination und In-vitro-Enzymstudien lieferten vielzählige Erkenntnisse darüber, wie bakterielle PKS unter Einsatz von Cyclasen polyphenolische Ringtopologien erzeugen.<sup>[28]</sup> Ohne diese Enzyme oder bei Vorliegen eines unvollständigen oder nicht zueinander passenden Satzes von Enzymen erfolgt die Cyclisierung der Polyketid-Kette zufällig. Dies wurde eindrucksvoll für die *whiE*-Pigmentsynthese aus *Streptomyces coelicolor* gezeigt, die zahlreiche strukturell faszinierende Shunt-Produkte (26–28), z.B. ein substituiertes Dioxoamant (28), ergab (Schema 14).<sup>[87]</sup>

Mehrere Untersuchungen lassen darauf schließen, dass die erste Cyclisierung (d.h. C9-C14 oder C7-C12) – wenig-



**Schema 14.** Beispiele für Polyketide, die durch die spontane Cyclisierung von Poly- $\beta$ -keto-Zwischenstufen entstehen.

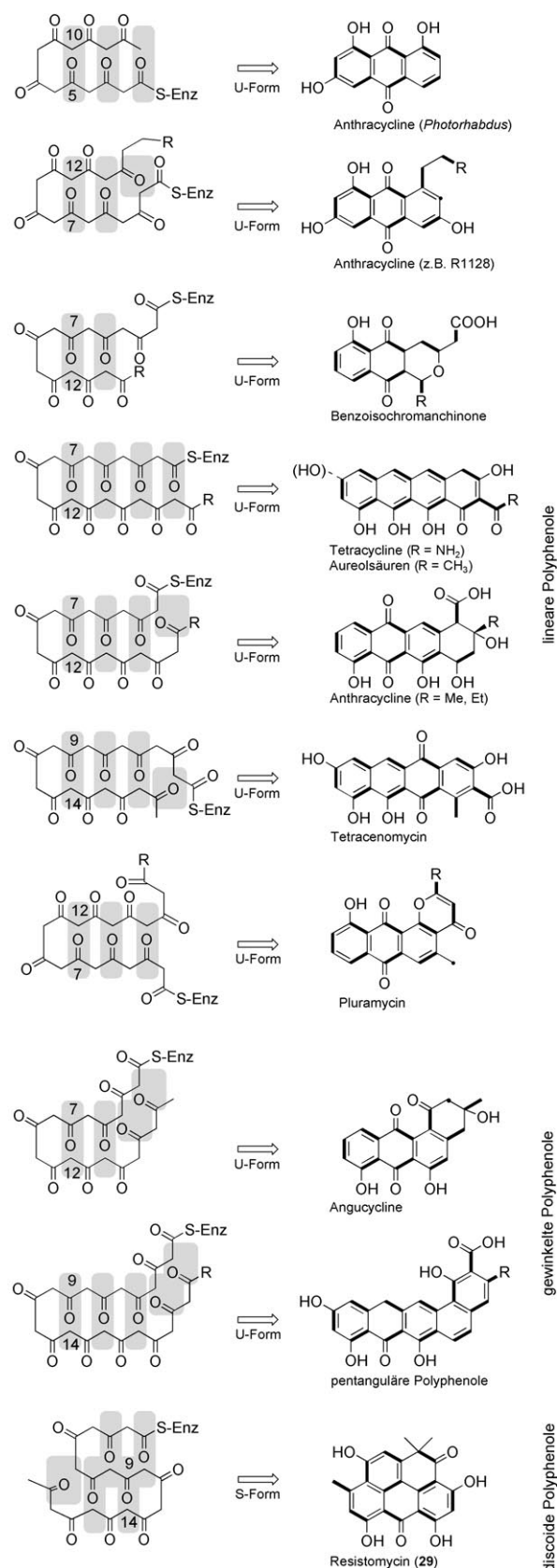
tens zum Teil – durch die PKS gesteuert wird.<sup>[26–28]</sup> Weiterhin hat das Vorhandensein oder Fehlen einer KR einigen Einfluss auf die vorherige Bildung eines „Bogens“ in der Kohlenstoffkette. Bemerkenswerterweise reduziert die primäre KR, die auf die entstehende Kette wirkt und die erste Cyclisierung beeinflusst, ausschließlich die Ketogruppe an der C9-Position. Durch gezielten Knockout und Coexpression konnten Cy-

clasefunktionen individuellen Cyclisierungsschritten, wie der zweiten und dritten Ringbildung, zugeordnet werden (Schema 15). Typische Primärprodukte der Typ-II-PKS aus der konzertierten Aktion von PKS, KR und Cyclasen sind Polyphenole, die in lineare Tetracycline, Anthracycline, Benzoisochromanchinone, Tetracenomycine, Aureolsäuren, Angucycline und pentanguläre Polyphenole untergliedert werden können. In manchen Fällen war es möglich, die Polyketid-Cyclisierung umzulenken,<sup>[88,89]</sup> es gibt allerdings anscheinend Designregeln oder spezielle Strukturbeschränkungen, die eine gewisse Inkompatibilität zwischen PKS- und Cyclase-Typen verursachen.<sup>[90]</sup> Es ist bemerkenswert, dass bakterielle Cyclasen sogar die Cyclisierung von Polyketiden, die durch (mutierte) Pilz-PKS produziert wurden, beeinflussen können. Die Zugabe der Aromatase/Cyclase für den ersten Ring aus der Griseusin-PKS und der Cyclase für den zweiten Ring vom Tetracyclin-Biosyntheseweg (OxyN) zur Bikaverin-PKS führte zur Bildung von Anthrachinonen. Diese Experimente zeigen eindrucksvoll, wie Pilz-PKS mit in *trans* wirkenden Domänen und Tailoring-Enzymen – sogar aus unterschiedlichen PKS-Familien – komplementiert werden können.<sup>[81]</sup>

In Bakterien werden die Ringgrundgerüste fast ausschließlich durch eine U-förmige Faltung der Poly- $\beta$ -keto-Intermediate gebildet. Folglich wird nur eine begrenzte Zahl an Cyclisierungsmöglichkeiten realisiert, und nahezu alle Polyphenole sind linear oder gewinkelt aufgebaut. Ausnahmen von diesem Biosyntheschema sind die pentacyclischen Polyphenole Resistomycin (**29**) und Resistoflavin. Deren mehrfach peri-kondensierte Ringe ergeben sich aus einer einzigartigen, S-förmigen Faltung, der Cyclisierung eines Decaketids<sup>[91]</sup> und einer Hydroxylierung.<sup>[92]</sup> Neuere biochemische Studien stützen ein Modell, nach dem das discoide Ringsystem durch einen käfigartigen Multienzymkomplex geformt wird und nicht durch sequenziell wirkende Cyclasen.<sup>[89]</sup> Obwohl denkbar, trägt die geminale Bismethylierung nicht zur Bildung des peri-kondensierten Polyphenols bei.<sup>[93]</sup> Unlängst wurde festgestellt, dass bei der Bildung des Naphthoyl-Restes von Azinomycin (**30**) eine S-förmige Faltung erfolgt (Schema 16).<sup>[94]</sup> Hier kann eine bakterielle iterative Typ-I-PKS seltene Cyclokondensationen katalysieren.

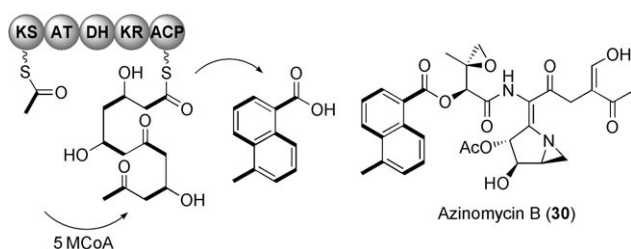
### 2.2.5. Aberrante Cyclisierung aromatischer Polyketide (Favorskiiase)

In fast allen Typ-II-Polyketid-Biosynthesewegen vermitteln Cyclasen die Polyketid-Cyclisierung unter Bildung aromatischer Ringsysteme, aber überraschenderweise ist keines dieser Enzyme an der Biosynthese des Antibiotikums Enterocin und verwandter, von Benzoyl-Startern ausgehender Polyketide im marinen Bakterium *Streptomyces maritimus* beteiligt.<sup>[58,95,96]</sup> Moore et al. demonstrierten mit In-vivo- und In-vitro-Experimenten, dass hier anstelle von Cyclasen eine seltene Oxygenase (EncM) entscheidend für die Strukturvielfalt ist,<sup>[97]</sup> die auch die Gesamtgestalt des Käfigmoleküls Enterocin kontrolliert.<sup>[98]</sup> EncM katalysiert eine außergewöhnliche Reaktionssequenz, die an eine Favorskii-Umlagerung erinnert. Das vermutete Substrat von EncM ist ein lineares, C9-reduziertes Octaketid, das an C12 oxidiert ist, um



**Schema 15.** Übersicht über die Polyketid-Cyclisierungsmuster der bakteriellen Typ-II-PKS-Produkte.



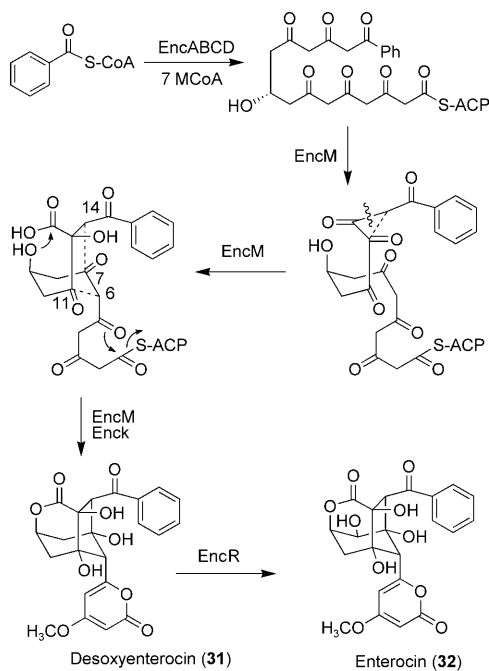


**Schema 16.** Cyclisierung eines S-förmigen Hexaketids durch eine bakterielle iterative Typ-I-PKS.

ein Trion-Intermediat zu bilden (Schema 17). Zudem begünstigt EncM zwei Aldolkondensationen zwischen C6 und C11 sowie C7 und C14 und bestimmt daher die absolute Konfiguration des Produkts. Des Weiteren ist EncM an zwei zu Heterocyclen führenden Reaktionen während der Bildung von Desmethyl-5-desoxyenterocin beteiligt.<sup>[98]</sup> Die abschließende Hydroxylierung von 5-Desoxyenterocin zu Enterocin wird durch die Cytochrom-P-450-Monooxygenase EncR katalysiert.<sup>[58]</sup> Der Enterocin-Biosyntheseweg wurde als erster vollständig in vitro als „enzymatische Totalsynthese“ durchgeführt.<sup>[99]</sup>

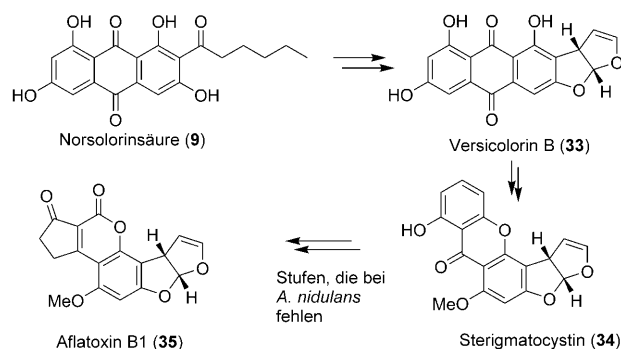
### 2.3. Ringerweiterungen, Umlagerungen und Heterocyclisierungen bei Polyphenolen

Basierend auf einem Satz von Carbocyclen, die durch Faltung und Kondensation von Polyketiden produziert wurden, können enzymatische Umwandlungen zu einer Vielfalt an modifizierten Ringstrukturen führen. Häufig beobachtete Strategien zur Biosynthese solcher sekundären



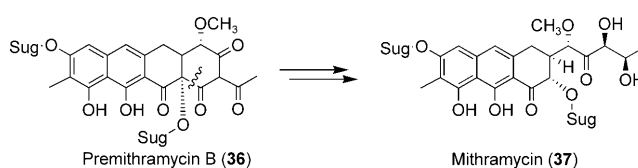
**Schema 17.** Biosyntheseweg zu Enterocin, an dem eine „Favorskiiase“, EncM, beteiligt ist. EncABCD = min PKS, EncD = KR, EncK = MT, EncR = Oxygenase.

Polyketid-Grundgerüste bestehen in Ringerweiterungen durch Kupplungen und/oder Kondensationen, zusätzlichen Cyclisierungen von Kohlenstoffseitenketten oder Substituenten, C-C-Spaltungen und nachfolgenden Umlagerungen des Grundgerüsts. Ein verblüffendes Beispiel für eine drastische Umlagerung eines primären Polyketid-Gerüsts ist die stufenweise Umwandlung des Pigments Norsolorinsäure in die Mycotoxine Sterigmatocystin (**34**) und Aflatoxin B1 (**35**) durch den Pilz *Aspergillus flavus* (Schema 18).<sup>[100]</sup> Zwar sind nicht alle Schritte im Detail aufgeklärt, doch demonstriert diese Sequenz den erheblichen Einfluss von Oxygenasen auf die endgültige Polyketid-Struktur.



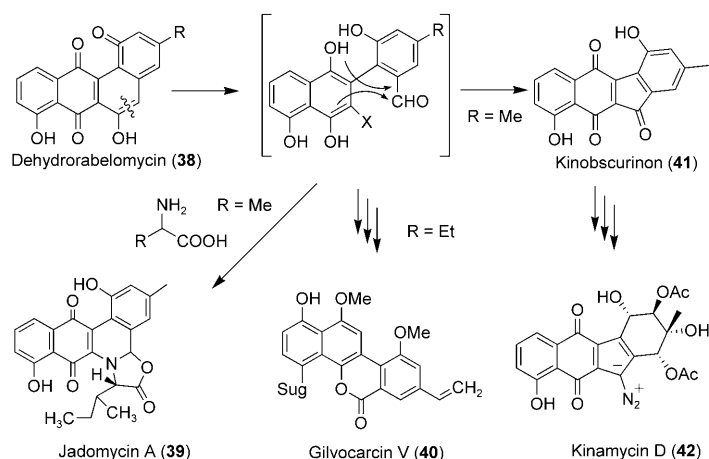
**Schema 18.** Oxidative Umlagerung von Norsolorinsäure zu den Pilztoxinen Sterigmatocystin und Aflatoxin B1 in *Aspergillus flavus*.

Die bakterielle Polyphenoldiversifizierung durch Umlagerungen wird gewöhnlich mit einer oxidativen C-C-Bindungsspaltung (häufig katalysiert durch Baeyer-Villiger-Oxygenasen (BVOs)) initiiert. Eine der bestuntersuchten BVOs katalysiert die Spaltung des D-Rings von Premithramycin B (**36**) bei der Biosynthese von Mithramycin (**37**; Schema 19).<sup>[101]</sup> Die Inaktivierung einer der frühen Oxygenasen ergab überraschend ein tetracyclisches Shunt-Produkt, das einen fünfgliedrigen D-Ring enthält.<sup>[102]</sup>



**Schema 19.** Oxidative Ringöffnung durch eine Baeyer-Villigerase bei der Mithramycin-Biosynthese.

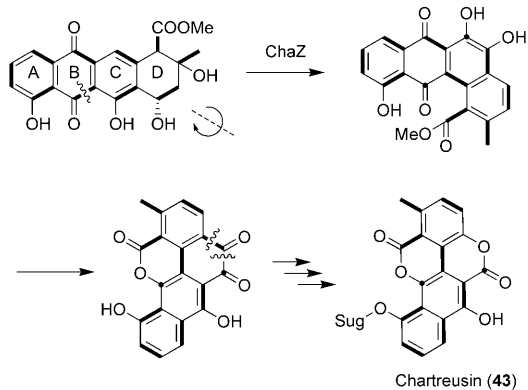
Zahlreiche unterschiedliche alicyclische und heterocyclische Metaboliten leiten sich von angucyclischen Polyphenolvorstufen ab (Schema 20). Die Spaltung des C-Rings im ersten Schritt ist auch ein Schlüsselschritt der Biosynthesewege, die zu antibakteriellen Jadomycinen und tumorhemmenden Gilvocarcinen in *Streptomyces venezuelae* oder *Streptomyces griseoflavus* führen. Rohr et al. haben solche mehrstufigen Angucyclin-Umlagerungen aufgeklärt und die Mitwirkung von Multi-Oxygenasekomplexen nachgewiesen.<sup>[103–105]</sup> Bei der Biosynthese von Gilvocarcin V (**40**) wird



**Schema 20.** Oxidative Umlagerung von Angucyclinen führt zu Strukturvielfalt. X = unbekannt.

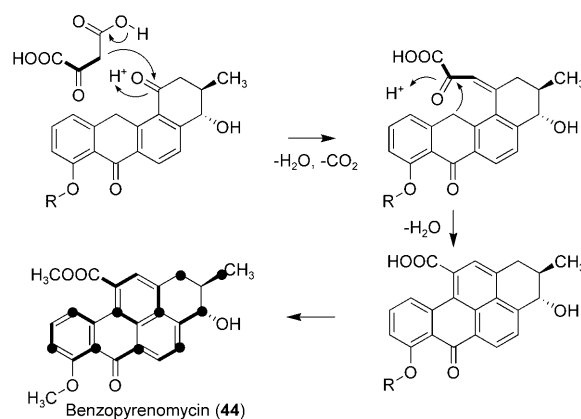
ein neuer Ring durch Lactonisierung gebildet, während bei der Biosynthese von Jadomycin A (39) Aminosäuren eingebaut werden, um den N-Heterocyclus zu erhalten.<sup>[106]</sup> Für die Biosynthese der Kinamycine – einer Gruppe ungewöhnlicher Diazonium-Antibiotika aus *Streptomyces murayamaensis* – wurde ein alternativer Weg vorgeschlagen: Aus Isotopenmarkierung und genetischen Studien wurde geschlossen, dass das angucyclische Dehydrorabelomycin (38) wahrscheinlich unter Beteiligung einer BVO in Kinobscurinon (41) umgewandelt wird.<sup>[107]</sup>

Das ungewöhnliche pentacyclische Aglycon von Chartreusin (43) aus *Streptomyces chartreusis* ist strukturverwandt mit Gilvocarcin und ein hochwirksamer DNA-Interkalator.<sup>[108]</sup> Die Chartreusin-Biosynthese verläuft über eine neuartige Umlagerung eines linearen Ringsystems, was durch genetische Inaktivierung und Identifizierung einer anthracyclischen Vorstufe nachgewiesen wurde. Nach dem gegenwärtigen Biosynthesemodell<sup>[109]</sup> wird eine Chinonkohlenstoffbindung durch eine BVO gespalten und eine neue C-C-Bindung zwischen dem Carbonylkohlenstoffatom und dem unsubstituierten Kohlenstoffatom des C-Rings geknüpft (Schema 21). Nach einer (hypothetischen) Umlagerungskas-



**Schema 21.** Oxidative Umlagerung eines Anthracyclins zum Dioxabenzo[a]pyren-Gerüst von Chartreusin. Chaz = Oxygenase.

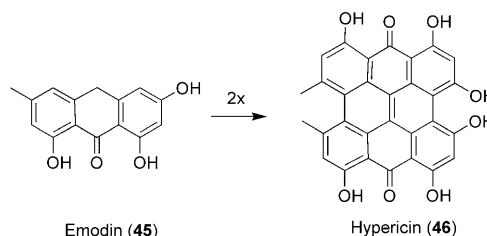
kade wird ein mutmaßliches Oxabenzo[a]pyrendion gebildet. Eine Dioxygenase spaltet das Dion und würde das Dioxabenzo[a]pyren-Ringsystem des Chartreusin-Aglycons liefern.<sup>[109]</sup> In diesem Zusammenhang ist interessant, dass erst kürzlich der erste Benzo[a]pyren-Naturstoff, Benzopyrenomycin (44), aus der Kultur eines *Streptomyces-lavendulae*-Stammes identifiziert wurde (Schema 22). Das Auftreten



**Schema 22.** Vorgeschlagene Bildung von Benzopyrenomycin aus einer angucyclischen Vorstufe (hypothetisches Markierungsmuster).

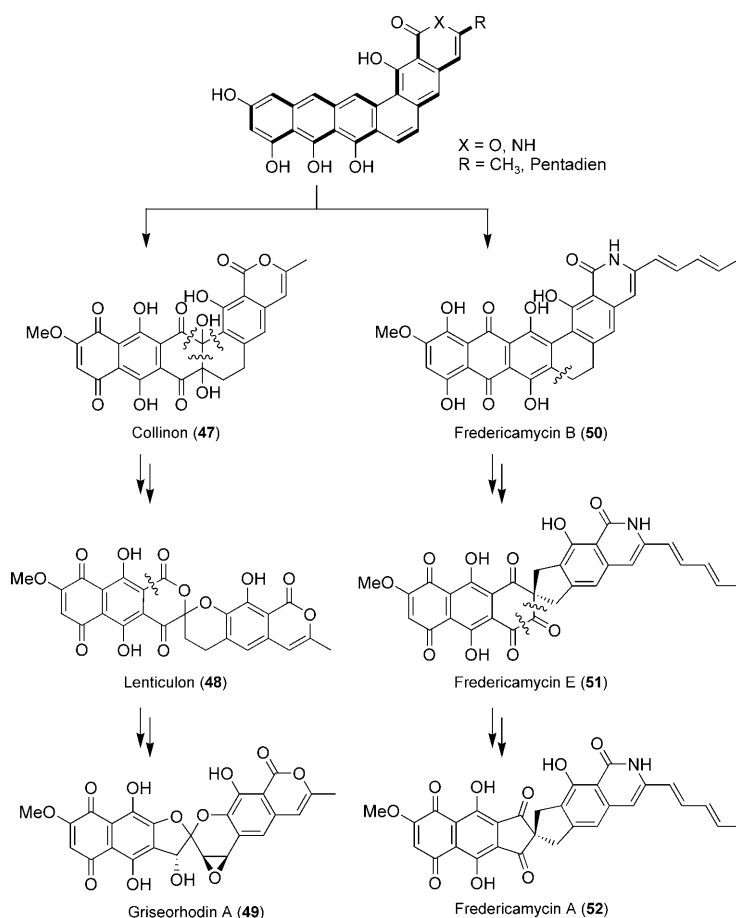
angucyclischer Nebenkomponenten und deren ähnliche Substitutionsmuster weisen darauf hin, dass das Benzopyren-Gerüst aus der Kondensation einer angucyclischen Anthron-Vorstufe mit einem C<sub>4</sub>-Baustein wie Oxalacetat entsteht.<sup>[110]</sup>

Bisher sind keine Polyketid-Faltungsmuster bekannt, die zu solchen mehrcyclischen peri-kondensierten Ringsystemen führen. Einzelne peri-kondensierte Polyphenole können jedoch über Arylkupplungen hergestellt werden. Diese Reaktionen werden wahrscheinlich durch Laccase-Enzyme katalysiert.<sup>[111]</sup> Ein bekanntes Beispiel für einen Reaktionsweg mit multiplen Arylkupplungen ist die Biosynthese des Photosensibilisators Hypericin (46; Schema 23). Sein Bildungsmechanismus ist noch nicht geklärt, trotz jüngster Fortschritte bei der Entdeckung möglicherweise beteiligter Enzyme im Johanniskraut.<sup>[112,113]</sup> Die hoch reaktive Benzylposition von Anthronen neigt zur spontanen radikalvermittelten Dimerisierung, wie für verwandte Polyphenole nachgewiesen wurde.<sup>[114]</sup>



**Schema 23.** Modell für die Bildung von Hypericin aus zwei Emodin-Einheiten als Beispiel für die Erweiterung von Ringsystemen durch Arylkupplungen.

Komplexe oxidative Umlagerungsprozesse sind an den Reaktionswegen beteiligt, die zu den strukturell faszinierenden Spiroverbindungen Griseorhodin A (**49**) und Fredericamycin A (**52**) führen. Diese haben identische frühe Biosynthesestufen, die zu einer pentangulären Grundstruktur führen (Schema 24).<sup>[115]</sup> Li und Piel haben den Gencluster identifiziert, der für die Griseorhodin-Biosynthese in einer marinen *Streptomyces* sp.<sup>[116]</sup> codiert. Auf der Basis von putativen Genfunktionen und einem Shunt-Produkt oder Intermediat, Collinon (**47**), das über die Expression des unvollständigen Rubromycin-Biosynthese-Genclusters<sup>[117]</sup> erhalten wurde, sowie der Bildung von Lenticulon (**48**) in einer gezielten Oxygenase-Mutante, wurde ein Biosynthesemodell vorgeschlagen.<sup>[118]</sup> Diesem Modell zufolge werden auf dem Weg zum Spiro-Endprodukt nacheinander vier Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungen gespalten. Der Carbaspino-Metabolit **52** aus *Streptomyces griseus* resultiert aus einem gleichermaßen anspruchsvollen, wenn auch anders ablaufenden Prozess, wie von Shen et al. auf der Basis von Genclusteranalysen vorgeschlagen wurde. Die Strukturaufklärung plausibler Biosynthesestufen wie Fredericamycin E (**51**) gab Aufschluss über die Umlagerung. Die letzten Stufen verlaufen vermutlich über eine Benzilsäure-Umlagerung.<sup>[119]</sup>



**Schema 24.** Modell für die Biosynthese der Spiropolyphenole Griseorhodin A (**49**) und Fredericamycin A (**52**).

### 3. Diversität komplexer Polyketide

#### 3.1. Lademechanismen und seltene Startereinheiten

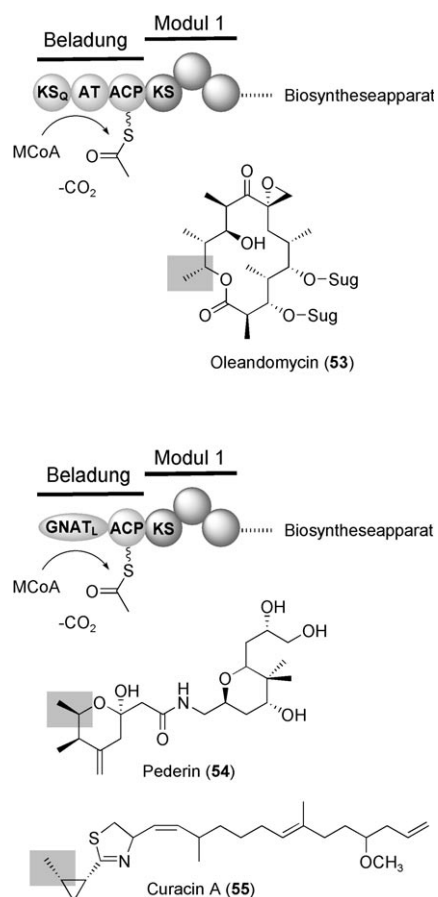
Laut Lehrbuch leiten sich komplexe Polyketide hauptsächlich aus Acetat/Malonat und Propionat/Methylmalonat ab, und die Polyketid-Biosynthese beginnt gewöhnlich durch Beladen der Synthase mit Acetyl-CoA. Es gibt jedoch zahlreiche alternative Startereinheiten und unterschiedliche Strategien für ihre Aktivierung und Übertragung.<sup>[54]</sup> Die Auswahl der Startereinheit wird durch die Substratspezifität eines gesonderten Beladungsmoduls gesteuert. Die meisten modularen PKS enthalten am N-Terminus eine so genannte KS<sub>Q</sub>-Domäne, in der das Cystein des aktiven Zentrums (VDTACSSS) zu einem Glutamin-Rest (Q) mutiert ist (Schema 25). Diese Ladedomänen binden Malonyl-Einheiten an die PKS und katalysieren ihre Decarboxylierung zu einem Acyl-ACP-Thioester.<sup>[120]</sup> Dieser Belademechanismus ist bei den modularen PKS, z.B. den Tylosin-, Pikromycin- und Oleandomycin(**53**)-PKS, weit verbreitet.<sup>[121]</sup>

Unlängst wurde eine alternative Strategie zum Start der Polyketid-Biosynthese mit einer Acetyl-Einheit beschrieben. Im Zusammenhang mit der Biosynthese von Pederin (**54**) beobachteten Piel et al. eine Domäne aus einer GCN5-verwandten *N*-Acetyltransferase (GNAT), die an der Initiierung der PKS beteiligt sein könnte.<sup>[122]</sup> Sherman et al. demonstrierten durch In-vitro-Studien und anhand der Röntgenkristallstruktur, dass eine homologe GNAT-Domäne der Curacin-PKS (**55**) eine difunktionelle Decarboxylase/*S*-Acetyltransferase-Aktivität zeigt und den Acetyltransfer auf ein benachbartes Lade-ACP (ACP<sub>L</sub>) steuert.<sup>[123]</sup> Dieses Szenario scheint unter den PKS der *trans*-AT-Familie weit verbreitet zu sein.

Die Übertragung von Propionyl-CoA wie beim Erythromycin-Biosyntheseweg benötigt eine N-terminale Lade-Domäne aus einer beladenden Acyltransferase (AT<sub>L</sub>) und einem ACP. In gleicher Weise werden alternative Startereinheiten, die als CoA-Thioester bereitgestellt werden, auf ihre jeweilige PKS übertragen. Zum Beispiel wird Isovaleryl-CoA durch die modulare Polyketid-Synthase, die an der Biosynthese des wichtigen, antiparasitär wirkenden Avermectins (**56**) in *Streptomyces avermitilis* beteiligt ist, gebunden (Schema 26).<sup>[124]</sup> Die Phoslactomycin(**57**)-PKS wird durch einen Cyclohexanoyl-CoA-Starter beladen,<sup>[125]</sup> und der Angiogenese-Inhibitor Borrelidin (**58**) leitet sich von *trans*-Cyclohexan-1,2-dicarboxylat ab.<sup>[126]</sup>

Die Architekturen der Lademodule können abweichen und deren Funktionen sind nicht immer entschlüsselbar. So sind in den myxobakteriellen Polyketid-Synthasen, die an der Biosynthese von Myxothiazol<sup>[127]</sup> und Soraphen (**59**)<sup>[128]</sup> beteiligt sind, zwei Acyltransferasen direkt benachbart, sodass zunächst nicht offensichtlich war, welche AT-Domäne die Übertragung der Startereinheit (Isovaleryl- oder Benzoyl-CoA) und welche die ACP-Malonylierung katalysiert. Leadlay et al. zeigten

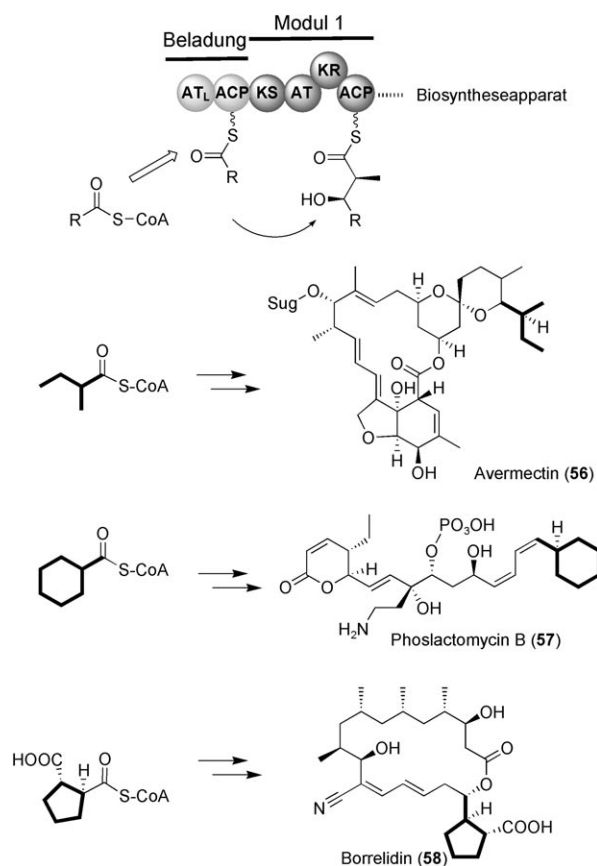




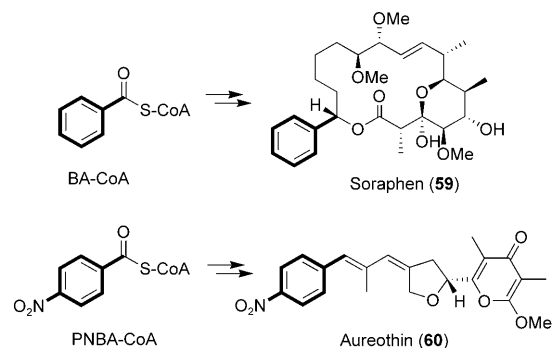
**Scheme 25.** PKS-Start mit Acetyl-Startermolekülen durch  $KS_Q$ - oder GNAT-Domänen.

durch Transplantation der AT in die Erythromycin-PKS, dass die erste AT eine  $AT_L$  ist.<sup>[128]</sup> Im Unterschied zu den obigen Beispielen fehlt der PKS für Aureothin (**60**) aus *Streptomyces thioluteus*, die mit einem seltenen *p*-Nitrobenzoyl(PNBA)-CoA-Starter (Schema 27) beladen wird,<sup>[129,130]</sup> eine eindeutige N-terminale AT-Domäne.

Wenn die Startereinheit als freie Säure vorliegt, kann sie aktiviert und wie bei nichtribosomalen Peptidsynthasen (NRPS) durch eine adenylierende und thiolierende A-ACP-Lade-Domäne übertragen werden (Schema 28). Die Prototypen für diese Beladestrategie sind die PKS für Rifamycin und Rapamycin (**61**). Polyketide, die zur Rapamycin(**61**)/FK506(**68**)-Familie der Immunsuppressiva gehören, leiten sich von der Dihydroxycyclohexencarbonsäure ab.<sup>[131]</sup> Floss, Staunton, Leadlay et al. stellten fest, dass die Lademodule zusätzliche ER-Domänen enthalten, die nach Bindung der Startereinheit die Doppelbindung reduzieren. Das Antibiotikum Rifamycin (**63**) aus dem Bakterium *Amiclatopsis mediterranei* entsteht aus der 3-Amino-5-hydroxybenzoesäure (AHBA), die zum Aminonaphthol-Rest umgesetzt wird.<sup>[132]</sup> Floss, Leistner et al. wiesen nach, dass AHBA bei der PKS-Biosynthese des Antitumorwirkstoffs Ansamitocin (**62**) im Bakterium *Actinosynnema pretiosum* in gleicher Weise verwendet und aktiviert wird.<sup>[133]</sup> Die Beladung eines A-ACP-Moduls mit einer *p*-Aminobenzoat(PABA)-Einheit wurde



**Scheme 26.** PKS-Start mit Nichtacetyl-CoA-Thioestern durch eine  $AT_L$ -ACP-Ladedidomäne.

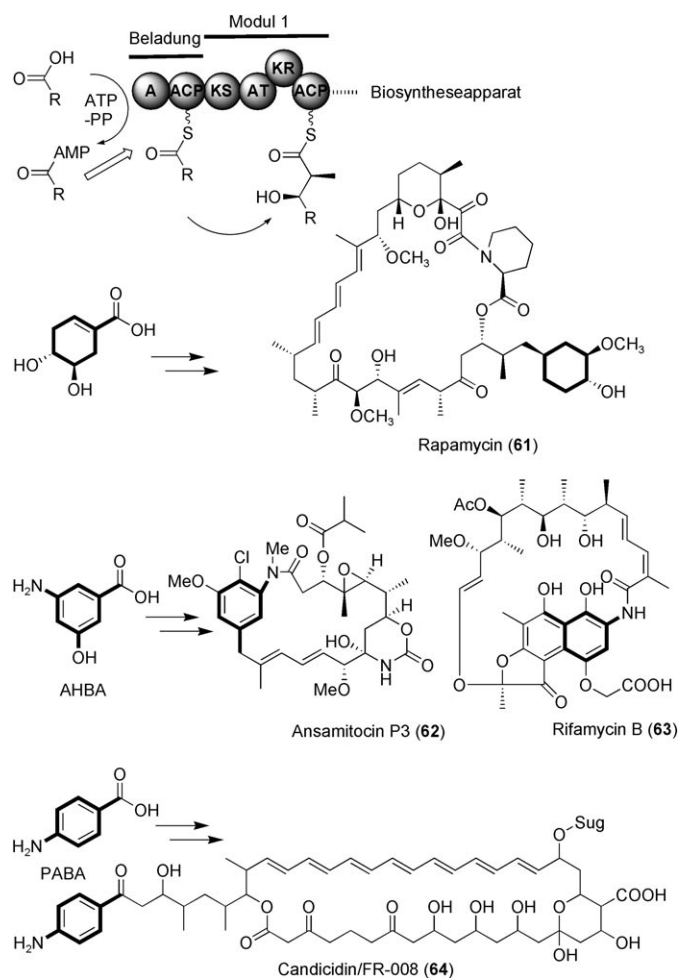


**Scheme 27.** Komplexe Polyketide, die sich aus dem Beladen modularer PKS mit Benzoyl-CoA-Thioestern ergeben.

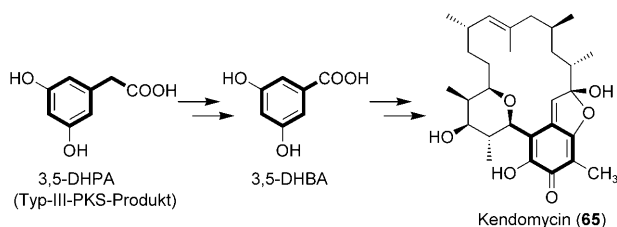
bei der Biosynthese der Polyen-Makrolid-Aglycone für die Fungizide Candicidin und FR-008 (**64**) beobachtet.<sup>[134,135]</sup>

Müller, Bode et al. haben vor kurzem die molekularen Grundlagen für die Biosynthese des Antibiotikums Kendomycin (**65**) aus *Streptomyces violaceoruber* identifiziert (Schema 29).<sup>[136]</sup> Die ungewöhnliche Ansa-Verbindung wird ausgehend von einer 3,5-Dihydroxybenzoat(3,5-DHBA)-Startereinheit aufgebaut, die sich vom Typ-III-PKS-Produkt (3,5-Dihydroxyphenyl)acetat (3,5-DHPA) ableitet und an die A-ACP-Domäne der modularen Typ-I-PKS gebunden wird.

Dank der Kenntnis der Mechanismen zur Bereitstellung, Aktivierung und Übertragung der Startereinheit konnte die



**Schema 28.** Aktivierung und Übertragung von Nichtacetyl-Carbonsäure-Startereinheiten. PP = Diphosphat.



**Schema 29.** Biosynthese von Kendomycin durch einen Typ-III-Typ-I-Hybrid-Reaktionsweg.

Auswahl an verfügbaren Startereinheiten vergrößert werden. Durch gentechnische Modifizierung der Reaktionswege (z. B. Tauschen von Ladedomänen) oder Supplementieren einer Mutante mit nichtnatürlichen Startereinheiten (Mutasyntese) wurden viele neue Polyketid-Derivate synthetisiert.<sup>[137]</sup> Eines der wichtigsten Beispiele ist die manipulierte Biosynthese zum Avermectin-Derivat Doramectin, das klinische Anwendung als sehr wirksames Wurmmittel findet.<sup>[138]</sup> Weitere erfolgreiche Mutasyntesen lieferten neue biologisch aktive Analoga von Aureothin,<sup>[139]</sup> Rapamycin,<sup>[140,141]</sup> Borrelidin,<sup>[142]</sup> Myxalamid<sup>[143]</sup> und Ansamitocin.<sup>[144]</sup>

### 3.2. Alternative Verlängerungseinheiten und andere Bausteine

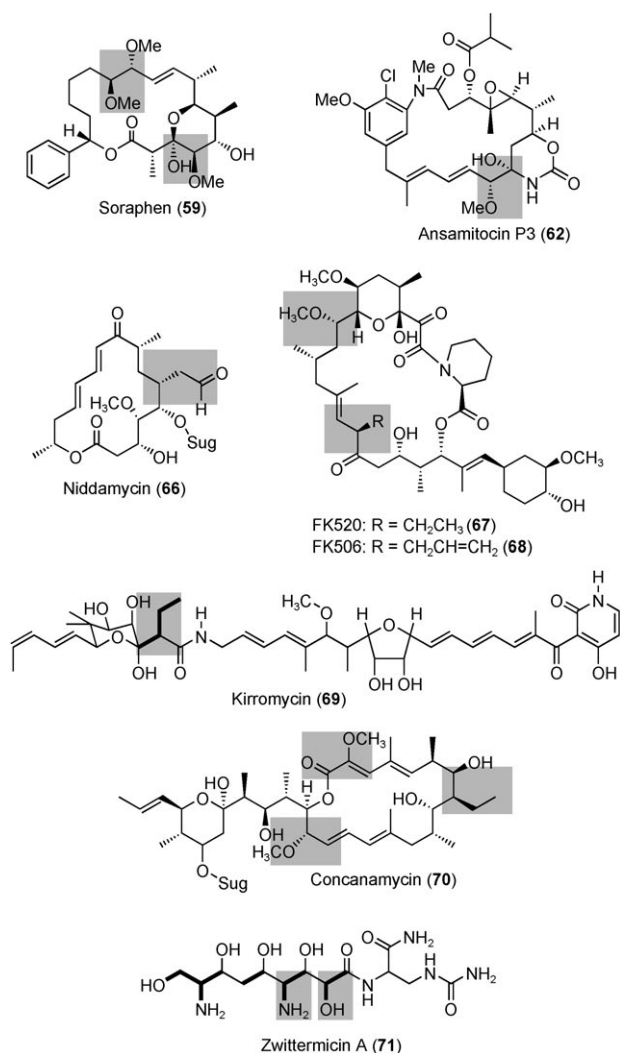
Bakterielle modulare PKS nutzen gewöhnlich Malonyl-CoA- (MCoA) oder Methylmalonyl-CoA (mMCoA) zur Kettenverlängerung. Die resultierenden Metaboliten sind entweder unsubstituiert bzw. haben einen Methyl-Rest in  $\alpha$ -Position. Die Wahl der Verlängerungseinheit wird durch spezifische Motive der AT-Domäne gesteuert, wie durch Mutagenese der Domäne und Austauschexperimente nachgewiesen wurde.<sup>[145]</sup>  $\alpha$ -Methyl-Verzweigungen können auch über  $\alpha$ -Methylierung durch eine bestimmte Methyltransferase-Domäne im PKS-Modul eingeführt werden. Dies wird häufig in bakteriellen *trans*-AT-Typ-I-PKS beobachtet, gilt aber auch für komplexe PKS in Pilzen.<sup>[25]</sup>

Bei der bakteriellen Polyketid-Biosynthese findet man nur selten andere Verlängerungseinheiten als MCoA oder mMCoA. Eine Ausnahme ist die 2-Ethylmalonyl-CoA-Einheit (eMCoA), die für die  $C_2$ -Seitenketten des Antibiotikums Niddamycin (**66**) aus *Streptomyces caelestis*<sup>[146]</sup> und des Immunsuppressivums FK520 (Ascomycin, **67**) aus *Streptomyces hygroscopicus* var. *ascomyceticus* verantwortlich ist.<sup>[147]</sup> Andere komplexe Polyketide, die (obwohl andere Verlängerungseinheiten vorhanden sind) aus eMCoA-Einheiten bestehen, sind Tylosin, Concanamycin (**70**) und Kirromycin (**69**). Das letzte Beispiel ist besonders interessant, da hier die MCoA-, mMCoA- und eMCoA-Verlängerungen durch eigenständige *trans*-AT-Einheiten ausgewählt werden, die mit den passenden Modulen der PKS wechselwirken müssen.<sup>[148]</sup>

Die Biosynthese von eMCoA und verwandten 2-Alkylmalonyl-Einheiten erfolgt ausgehend von substituierten Acryloyl-CoA-Vorstufen durch Crotonase-katalysierte Reduktion und Carboxylierung.<sup>[149]</sup> Analog könnte der Fettsäure-Pool eine Auswahl an alternativen Verlängerungseinheiten liefern, und tatsächlich deuten die Strukturen verschiedener bakterieller Metaboliten auf den Einbau von eMCoA-Homologen hin, was auch längere Seitenketten wie die Propenyl-Seitenkette im FK520-Homologen FK506 (**68**) erklärt (Abbildung 1).

Außer den alkylierten Malonyl-Bausteinen werden auch heterosubstituierte Malonyl-Derivate in komplexe Polyketid-Strukturen aufgenommen. Markierungsexperimente ergaben, dass von 1,3-Bisphosphoglycerat abstammende Verlängerungseinheiten Hydroxy- und Methoxy-Substitutionen in verschiedenen Antibiotika bewirken, darunter Ansamitocin P-3 (**62**), Soraphen A (**59**),<sup>[150]</sup> FK520 (**67**)<sup>[151]</sup> und Concanamycin (**70**).<sup>[152]</sup> Der seltene Methoxymalonyl(moM)-Baustein wurde in das Erythromycin-Rückgrat eingeführt, indem die DEBS-AT6-Domäne gegen die AT8-Domäne des FK520-Biosynthese-Genclusters aus *Streptomyces hygroscopicus* ausgetauscht und ein Subcluster coexprimiert wurde, der für die Methoxymalonyl-CoA-Biosynthese erforderlich ist.<sup>[153]</sup>

Hydroxymalonyl(hoM)- und Aminomalonyl(aM)-Einheiten sind zwei weitere Typ-I-Polyketid-Synthase-Verlängerungseinheiten, die von Handelsman et al. im Zusammenhang mit der Biosynthese von Zwittermicin A (**71**) entdeckt wurden.<sup>[154]</sup> Zwittermicin ist ein hoch funktionalisiertes Antibiotikum aus *Bacillus cereus*. Eine Analyse des Zwittermicin-Biosynthese-Genclusters in Kombination mit Protein-Massenspektrometrie ergab, dass Glycolyl- und Ethanol-



**Abbildung 1.** Strukturen komplexer Polyketide, die sich durch Einbau ungewöhnlicher Malonyl-abgeleiteter Verlängerungseinheiten ergeben (obgleich andere Verlängerungseinheiten vorhanden sind). Die entsprechenden Positionen sind grau hinterlegt.

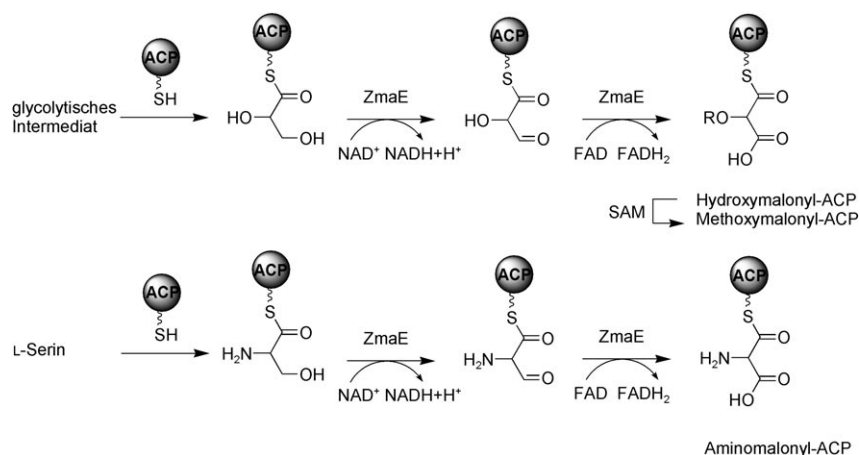
amin-Reste als Hydroxymalonyl- bzw. Aminomalonyl-ACP eingeführt werden. Während hoM-ACP analog zu moM-ACP gebildet wird, wird aM-ACP aus Serin erhalten (Schema 30).<sup>[155]</sup>

Das Repertoire an Verlängerungseinheiten vergrößerte sich noch durch die Entdeckung eines Chlorethylmalonyl-Bausteins bei der Biosynthese von Salinosporamid A (**73**; Schema 31), einem chlorierten Naturstoff aus dem marinen Bakterium *Salinispora tropica*. Moore et al. stellten fest, dass der starke Proteasominhibitor und Antitumorwirkstoff durch ein PKS/NRPS-Hybrid aufgebaut wird und dass der Chlorbutyryl-Rest auf den Pentoseteil von SAM zurückgeht.<sup>[156,157]</sup> Die Erkenntnis, dass die

Chlorinase SalL bei der Halogenierung von SAM unter Bildung von 5-Chlor-desoxyadenosin (5-CIDA, **72**) eine entscheidende Funktion innehat, führte zur ersten rationalen Mutasynthese mit einer alternativen Verlängerungseinheit. Eine Mutante ohne *salL* kann kein Salinosporamid A (**73**) produzieren, kann aber mit synthetischem 5-Fluor-5-desoxyadenosin (5-FDA, **74**) supplementiert werden und so ein fluorsubstituiertes Analogon (**75**) mit starker Antitumoraktivität herstellen.<sup>[157]</sup> Bisher wurden die Biosynthese und der Einbau von sieben verschiedenen Malonyl-abgeleiteten Verlängerungseinheiten beschrieben (Abbildung 2). Diese bieten einzigartige Möglichkeiten für die gentechnische Modifizierung von Biosynthesewegen, da sie den Einbau von Heterofunktionen in Polyketid-Strukturen ermöglichen.

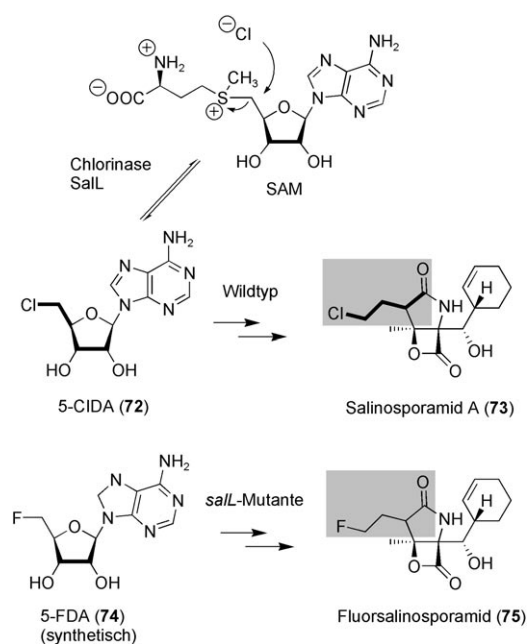
In Biosynthesewegen, die bei verschiedenen *Streptomyces*-Spezies zu Polyketiden der (Spiro-)Tetronat-Familie wie dem Antibiotikum Tetronomycin (**76**)<sup>[158]</sup> und dem Antitumorwirkstoff Chlorothricin (**77**)<sup>[159,160]</sup> führen, wurden eine neuartige Polyketid-Verlängerungseinheit und ein neuer Mechanismus zum Ablösen der Polyketid-Kette identifiziert. Leadlay et al. belegten durch In-vitro-Enzymassays und massenspektrometrische Untersuchungen, dass ein FkbH-artiges Protein eine Phosphoglyceryl-Einheit auf bestimmte ACP der Tetronomycin-Synthase überträgt (Schema 32).<sup>[161]</sup> Gemäß unabhängigen Biosynthese-Vorschlägen der Arbeitsgruppen von Leadlay, Tang und Liu fungiert Glyceryl-S-ACP als terminale C<sub>3</sub>-Einheit, die an die Polyketid-Kette geknüpft wird, wobei gleichzeitig der Metabolit von der modularen PKS freigesetzt wird.<sup>[158–160]</sup>

Zusätzlich zu den Malonyl- und Glyceryl-Verlängerungseinheiten kann (hauptsächlich durch NRPS-Biosyntheseprozesse) eine Reihe weiterer Bausteine in Polyketide eingeführt werden. Bedeutende Beispiele für Produkte aus solchen PKS-NRPS-abgeleiteten Substrukturen sind die von Serin oder Cystein stammenden Oxazolyl- bzw. Thiazolyl-Gruppen wie in Rhizoxin<sup>[162]</sup> bzw. Epothilon<sup>[163]</sup> oder der Pipecolyl-Rest in FK506.<sup>[164]</sup> Befindet sich der NRPS-Teil am N-Terminus, wird die PKS normalerweise mit einer Aminosäure beladen.<sup>[54]</sup> Umgekehrt ist er am C-Terminus lokalisiert, um das Polyketid

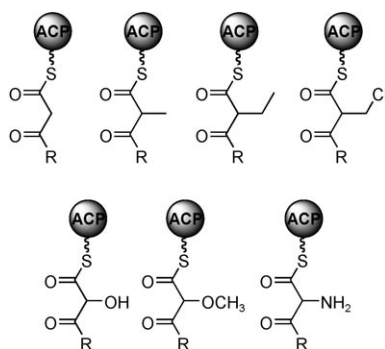


**Schema 30.** Biosynthese der Hydroxy-, Methoxy- und Aminomalonyl-ACP-Verlängerungseinheiten. ZmaE = Oxygenase.





**Schema 31.** Biosynthetischer Ursprung der Chlorethylmalonyl-Verlängerungseinheit im Salinosporamid-Biosyntheseweg und Mutagenese von Fluorsalinosporamid. Graue Kästen: Molekülteile, die mithilfe von halogenierten Verlängerungseinheiten erhalten wurden.

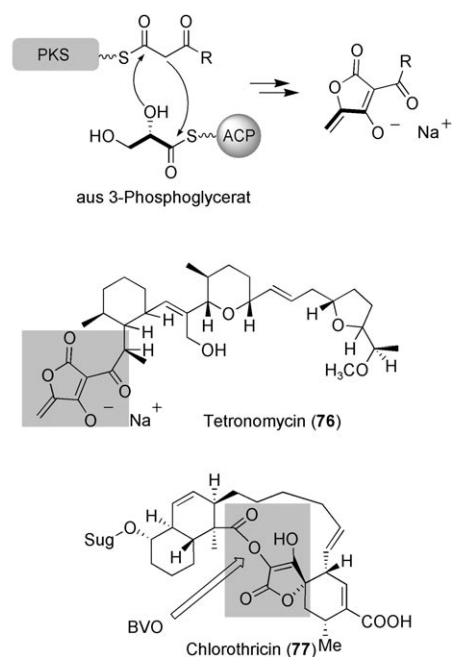


**Abbildung 2.** Satz an Verlängerungseinheiten, die bekanntermaßen von modularen Polyketid-Synthasen verwendet werden.

freizusetzen und z.B. in Tetramsäuren<sup>[165]</sup> und Pyridone umzuwandeln.<sup>[148, 166, 167]</sup>

### 3.3. Konfigurationskontrolle in komplexen Polyketiden

Trotz der enormen Zahl möglicher Produkte, die sich aus den Permutationen über alle Konfigurationen und Substitutionsmuster komplexer Polyketid-Ketten ergeben, weisen alle natürlichen Polyketide ähnliche Konfigurationsmuster auf. Diese Beobachtung wird als „Celmer-Regel“ bezeichnet und lässt darauf schließen, dass sich die erforderlichen Polyketid-Synthasen aus demselben Vorläufer entwickelt haben und die gleichen Mechanismen nutzen. In den letzten Jahren wurden wesentliche Erkenntnisse über die grundlegenden Prinzipien der Polyketid-Konfiguration gewonnen.



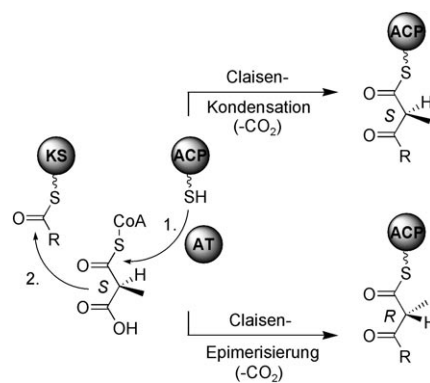
**Schema 32.** Einbau einer terminalen Glycerat-abgeleiteten C<sub>3</sub>-Einheit in die Strukturen von Tetronomycin und Chlorothricin (die Tetronat-Einheit wird durch eine BVO gespalten). Graue Kästen: eingebautes Glycerat.

#### 3.3.1. Konfiguration der Substituenten mit $\alpha$ -Verzweigung

Die Acyltransferase überträgt das Substrat (2S)-mMCoA auf das ACP in DEBS,<sup>[168]</sup> wie man in gleicher Weise auch für andere modulare PKS vermutet. Nach der Kondensation kann der 2-Methylketoacylthioester jedoch zum 2R-Isomer epimerisiert werden (Schema 33). Nach den Arbeiten von Weissman et al. ist die KS das Zentrum der Epimerisierung,<sup>[169]</sup> doch seither wurden auch andere Vorschläge (z.B. die KR oder DH) gemacht. Khosla et al. belegten, dass die DEBS-AT-Domänen keinen Einfluss auf die Epimerisierung der (2S)-mMCoA-Verlängerungseinheiten haben.<sup>[170]</sup>

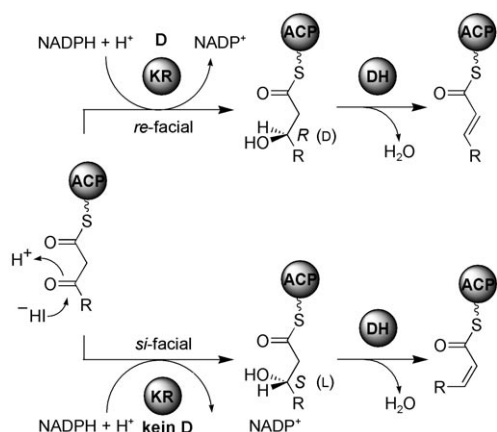
#### 3.3.2. Stereochemischer Verlauf der Ketroreduktion

Auf Grundlage von Caffreys bioinformatischen Analysen wurden einige Designregeln für  $\beta$ -Keto-Prozessierungen



**Schema 33.** Retention oder Inversion der (2S)-Methylmalonyl-CoA während der Polyketid-Kettenverlängerung.

aufgestellt. Die KR-Spezifität kann aus dem Vorhandensein oder Fehlen eines LDD-Motivs oberhalb (upstream) des konservierten GVxHxA-Motivs und zusätzlicher indikativer Reste vorhergesagt werden.<sup>[171]</sup> Reid et al. konzentrierten sich auf den Asparaginsäure(D)-Rest.<sup>[172]</sup> Dass konservierte Aminosäure-Reste mit der Stereospezifität der Ketoreduktase korrelieren, wurde experimentell durch Mutagenese und Engineering-Experimente mit KR-Domänen aus Erythromycin<sup>[173, 174]</sup> und Tylosin-Polyketid-Synthasen<sup>[175, 176]</sup> bewiesen. Leadlay et al. konnten durch Hochdurchsatz-Mutagenese auch Modelle für die stereochemische Kontrolle in KR-Domänen evaluieren.<sup>[177]</sup> Als Faustregel gilt: Ein D im KR-Motiv führt zu D-3-Hydroxy-Verbindungen (Schema 34).

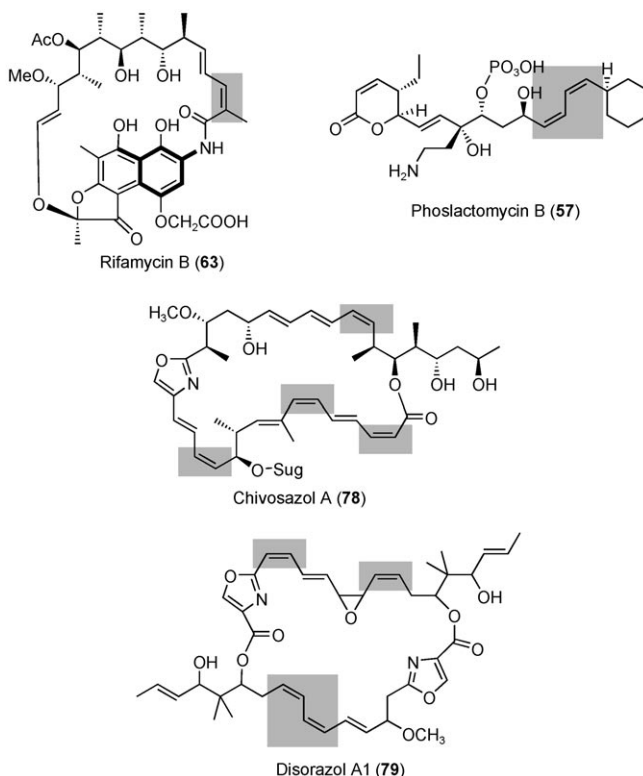


**Schema 34.** Stereochemischer Verlauf der Ketoreduktion und Doppelbindungsbildung.

### 3.3.3. Bildung von E- und Z-Doppelbindungen

Im nachfolgenden  $\beta$ -Keto-Prozessierungsschritt führt die Dehydratase-katalysierte *anti*-Eliminierung von Wasser gewöhnlich zur Bildung einer *trans*-Doppelbindung. Eine *cis*-Doppelbindung wie in Rifamycin ist sehr selten und könnte prinzipiell durch verschiedene Mechanismen entstehen.<sup>[178]</sup> Cane et al. haben gezeigt, dass die Inaktivierung einer DH-Domäne von Modul 2 der Pikromycin-PKS einen D-3-Hydroxy-Rest anstelle der *trans*-Doppelbindung liefert.<sup>[179]</sup> Umgekehrt ist der L-3-Hydroxy-substituierte Thioester das vermutliche Intermediat in KR-DH-Domänen bei der Bildung von *cis*-Doppelbindungen.<sup>[171]</sup> Reynolds et al. untersuchten diesen Sachverhalt bei der Biosynthese der Phoslactomycine. Kennzeichnend für diese tumorhemmenden Phosphatase-Inhibitoren ist eine konjugierte *cis*-Dien-Einheit. Fütterungsexperimente zeigten, dass nur *cis*-konfigurierte Ersatzintermediate akzeptiert werden, was eine Isomerisierungsdomäne in späteren Modulen ausschließt.<sup>[180]</sup> Insgesamt deuten diese Befunde darauf hin, dass die enzymatische Dehydratisierung von D-3-Hydroxyacyl-Verbindungen *trans*-Doppelbindungen ergibt, während L-Isomere *cis*-Doppelbindungen liefern. Die *cis*-konfigurierte  $\alpha,\beta$ -Doppelbindung im Lacton-Rest von Phoslactomycin (**57**) wird durch eine Post-PKS-Reaktion eingeführt.<sup>[181]</sup> Weitere Beispiele, in denen modulare Polyketid-Synthasen mehrfache *cis*-Doppelbin-

dungen erzeugen, sind die Biosynthesewege, die zu den mykobakteriellen Metaboliten Chivosazol A (**78**)<sup>[182]</sup> und Disorazol A1 (**79**) führen (Abbildung 3).<sup>[183]</sup> Es sollte jedoch er-

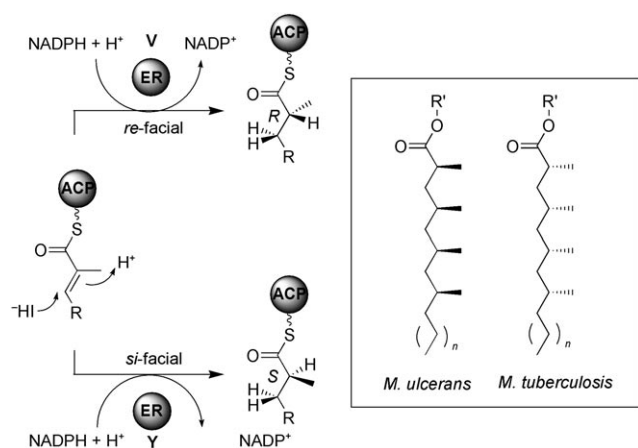


**Abbildung 3.** Beispiele für komplexe Polyketide mit *cis*-Doppelbindungen (graue Kästen).

wähnt werden, dass der vorhergesagte stereochemische Verlauf der Reduktion in vielen Fällen nicht in Einklang mit der endgültigen Konfiguration der Doppelbindung ist, weshalb sich die Frage stellt, wie die Konfigurationen der Doppelbindungen bestimmt werden oder ob der Aminosäurecode wirklich in allen Fällen zur Vorhersage geeignet sind.

### 3.3.4. Stereochemischer Verlauf der Enoyl-Reduktion

Die genauen biochemischen Gründe für den stereochemischen Verlauf der Enoyl-Reduktion blieben lange unklar. Erst vor kurzem wurden konservierte Motive identifiziert, die eine Beziehung zwischen der Aminosäure-Sequenz der ER und dem stereochemischen Verlauf der durch dieses Enzym vermittelten Reaktion herstellen.<sup>[184]</sup> Leadlay et al. verglichen ER-Sequenzen aus unterschiedlichen Quellen (einschließlich Makrolid produzierender PKS wie DEBS oder OLEA), die an der Bildung enantiomerer Methyl-verzweigter Polyketide – der Komponenten mykobakterieller Zellwandlipide<sup>[12, 185]</sup> – beteiligt sind (Schema 35). Dabei registrierten sie das Vorkommen eines konservierten Tyrosin(Y)-Restes nahe des NADPH-Bindungsmotivs (Konsensussequenz: HAAAGGVGMA) der ER-Domänen, die eine (2S)-Methyl-Verzweigung produzieren. Umgekehrt weisen ER-Domänen, die eine (2R)-Methyl-Verzweigung liefern, an



**Schema 35.** Links: Stereospezifität der Enoylreduktion; rechts: Substrukturen enantiomerer Methyl-verzweigter Polyketid-Komponenten der Zellwandlipide in *Mycobacterium* spp.

dieser Position andere Aminosäuren auf, meistens Valin (V). Mit dieser Kenntnis wurde die ER einer Modell-PKS, die aus der Erythromycin-Megasyntase erhalten wurde, mutiert (Tyrosin zu Valin), was tatsächlich eine Umkehr der Konfiguration an der Methyl-Verzweigung im Produkt von *S* zu *R* zur Folge hatte. Die umgekehrte Mutation (Valin zu Tyrosin) an dieser Position in einer *R*-spezifischen ER der Rapamycin-PKS war jedoch nicht ausreichend, um eine Umschaltung zu *S* zu erzielen. Anscheinend sind weitere Reste an der Stereokontrolle der nucleophilen 1,4-Hydridaddition beteiligt.<sup>[184]</sup>

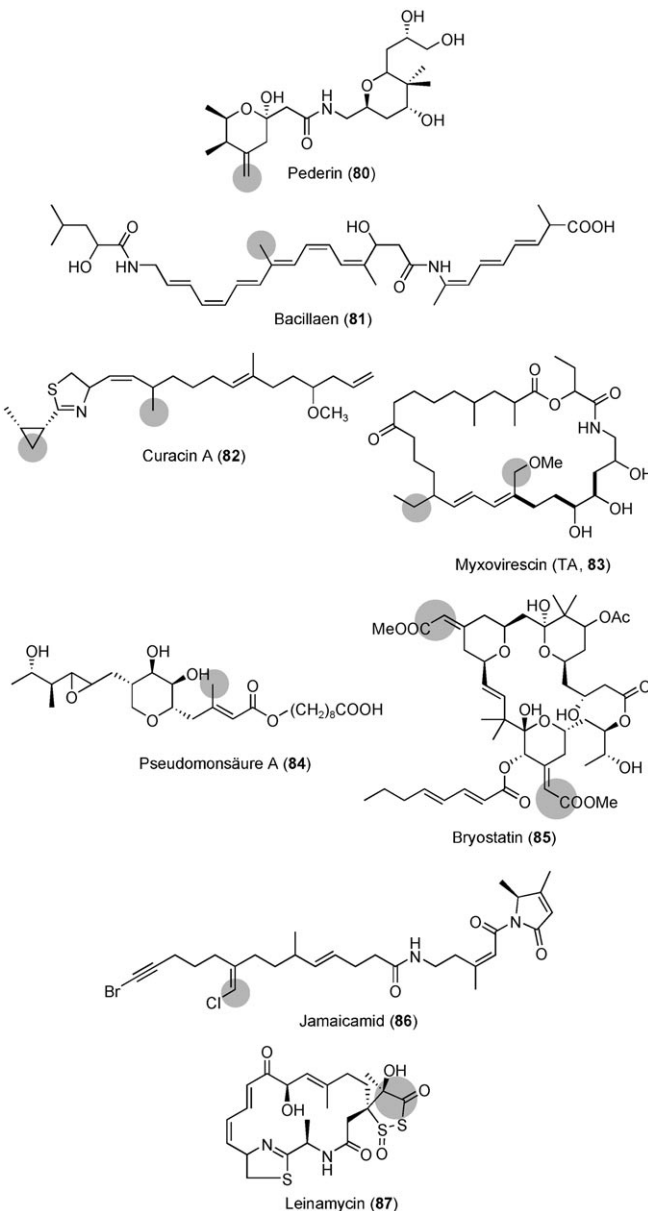
Das zunehmende Wissen über den stereochemischen Verlauf des Polyketid-Aufbaus und der  $\beta$ -Keto-Umwandlung in bakteriellen PKS trägt sehr zur rationalen gentechnischen Modifizierung komplexer Polyketid-Biosynthesewege bei.<sup>[5, 186]</sup> Ferner helfen diese Designregeln bei der computer-gestützten Vorhersage der absoluten Konfiguration bakterieller Polyketid-Metaboliten.<sup>[187]</sup> Es sollte jedoch betont werden, dass das Wissen über die kryptische Programmierung der hoch reduzierenden iterativen PKS aus Pilzen noch weit dahinter zurückbleibt.<sup>[25]</sup>

### 3.4. $\beta$ -Verzweigungsmechanismen

Wie in Abschnitt 2 geschildert, führen substituierte Malonyl-Verlängerungseinheiten oder SAM- $\alpha$ -Methylierungen an Positionen vormaliger Methylen-Gruppen (C2) zu Alkylverzweigungen. Bei mehreren Polyketid-Biosynthesewegen wurden jedoch Alkylverzweigungen mit einem oder zwei aus Acetat erhaltenen Kohlenstoffatomen an Positionen beobachtet, die vormaligen Acetylcarboxyl-Kohlenstoffatomen (C1) entsprechen. Offensichtlich können diese Substituenten nicht vom Einbau nichtkanonischer Verlängerungseinheiten oder von der Alkylierung mit Elektrophilen herrühren. Genetische und biochemische Untersuchungen haben vielmehr ergeben, dass solche  $\beta$ -Verzweigungen normalerweise nach einem Prozess ähnlich der Mevalonat-Biosynthese eingeführt werden.<sup>[188]</sup>

#### 3.4.1. Isoprenoid-artige $\beta$ -Verzweigungen

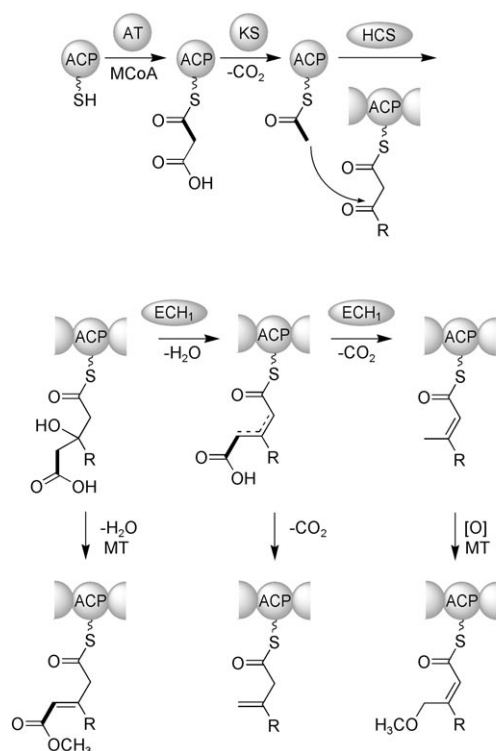
In nahezu allen Genclustern, die für Enzyme zur Biosynthese von Polyketiden mit  $\beta$ -Alkylseitenketten codieren, wird ein Satz von Genen gefunden, der für Homologe der 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA(HMG)-Synthase (HCS) und Enoyl-CoA-Hydratase (ECH oder Crotonase) sowie freistehende KS- und ACP-Domänen codiert. Diese Domänen wurden zuerst im Zusammenhang mit Genanalysen zur Biosynthese von Pederin (**80**; Abbildung 4) entdeckt.<sup>[122]</sup> In-vitro-



**Abbildung 4.** Ungewöhnlich substituierte Polyketidstrukturen mit  $\beta$ -Verzweigungen, die über eine Isoprenoid-artige Biosynthese entstehen (grau hinterlegt).

Studien mit verschiedenen Acyl-ACP der Polyketid-Synthasen für Bacillaen (**81**)<sup>[189]</sup> und Curacin (**82**)<sup>[190]</sup> belegten, dass die  $\beta$ -Substituenten aus einer HCS-vermittelten Aldoladditi-

on von freistehendem Acetyl-ACP mit  $\beta$ -Ketoacyl-ACP und anschließender ECH-katalysierter Grob-Fragmentierung resultieren (Schema 36).



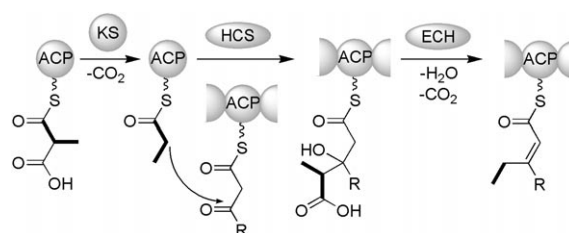
**Schema 36.**  $\beta$ -Verzweigung einer Polyketid-Kette über einen Isoprenoid-artigen Mechanismus. HCS: HMG-CoA-Synthase; ECH: Enoyl-CoA-Hydratase.

Es gibt eine Reihe von Hinweisen, dass die  $\beta$ -Verzweigungsprozesse während und nicht nach der Kettenverlängerung ablaufen. Die Deletion der Gene für die  $\beta$ -Seitenkette in den Biosynthesewegen von Myxovirescin (**83**)<sup>[191–193]</sup> und Mupirocin (Pseudomonsäure, **84**)<sup>[194–196]</sup> führte zu keinen oder aberranten Produkten. Piel et al. konnten die genauen Massen der Zwischenstufen von Bacillaen (**81**), die aus einer blockierten TE-Mutante erhalten wurden, bestimmen und so auf den genauen Zeitpunkt der  $\beta$ -Verzweigung schließen.<sup>[197]</sup> Ebenso ermöglicht die bioinformatische Analyse der *trans*-AT-KS-Spezifitäten die Vorhersage von  $\beta$ -Verzweigungen.<sup>[198]</sup>

Durch nachfolgende Modifizierungen (Downstream-Prozessierung) der Acetyl-Einheit kann die Seitenkette in vielfältige Funktionalitäten umgewandelt werden (Schema 36). Genanalysen lassen vermuten, dass viele interessante Struktureinheiten aus einer  $\beta$ -Verzweigung und nachfolgenden Modifizierungen resultieren. Eine Sequenz aus  $\beta,\gamma$ -Dehydratisierung und Methylierung ergäbe die Acrylester-Seitenkette im Tumortherapeutikum Bryostatin (**85**) aus dem marinen Moostierchen (Bryozoa) *Bugula neritina*.<sup>[199,200]</sup> Die  $\beta$ -Methyl-Seitenkette kann weiter hydroxyliert und methyliert werden, um die in Myxovirescin A (TA, **83**)<sup>[192,193]</sup> beobachtete Methoxymethyl-Gruppe zu bilden, während die *exo*-Methylen-Gruppe von Pederin (**80**) oder Onnamid<sup>[22,122,201]</sup> durch Dehydratisierung/Decarboxylierung

oder Wanderung der Doppelbindung entstehen könnte. Sherman et al. zeigten, dass im Biosyntheseweg von Curacin (**82**) die aufeinanderfolgende Dehydratisierung und Decarboxylierung von (*S*)-HMG-ACP eine 3-Methylcrotonyl-ACP-Zwischenstufe ergeben. Die Bildung des Cyclopropanrings in Curacin A ausgehend von dieser Zwischenstufe muss jedoch noch aufgeklärt werden.<sup>[190,202]</sup> Ebensovienig sind bisher die Mechanismen der Entstehung des seltenen Vinylchlorid-Restes von Jamaicamid (**86**)<sup>[203]</sup> und der Dithiolacton-Seitenkette in Leinamycin (**87**)<sup>[204]</sup> erforscht.

Die Isoprenoid-Verzweigung ist nicht auf Acetat-Einheiten beschränkt. Die Arbeitsgruppen von Müller und Walsh haben unabhängig durch In-vivo- und In-vitro-Experimente gezeigt, dass die  $\beta$ -Ethyl-Seitenkette in Myxovirescin aus dem HCS-vermittelten Einbau eines Propionat-Bausteins resultiert, der aus einer Methylmalonyl-Verlängerungseinheit abgeleitet ist (Schema 37).<sup>[192,205]</sup>



**Schema 37.** Einführung einer  $\beta$ -Ethyl-Verzweigung im Myxovirescin-Biosyntheseweg.

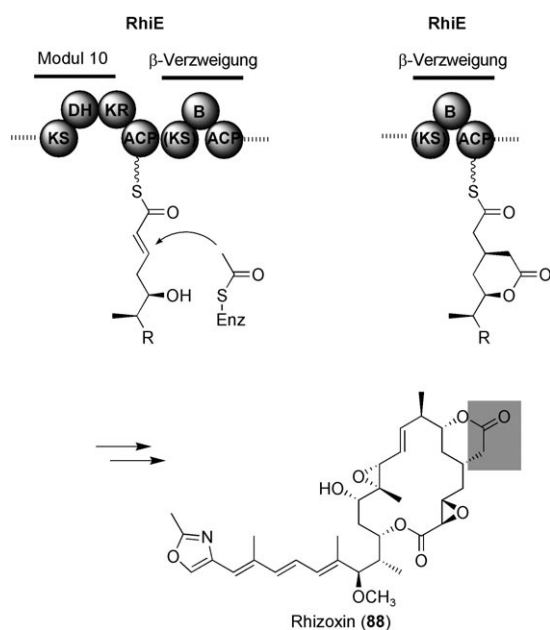
### 3.4.2. $\beta$ -Verzweigung durch Michael-Addition

Die  $\delta$ -Lacton- $\beta$ -Verzweigung in Rhizoxin (**88**), einem antimetabolischen Wirkstoff und Phytotoxin, das durch bakterielle Endosymbionten des Pilzes *Rhizopus microsporus*<sup>[206,207]</sup> und durch *Pseudomonas fluorescens*<sup>[208]</sup> produziert wird, verläuft nach einem völlig anderen Mechanismus. Erstens wird die typische Isoprenoid-Verzweigungs-Genkassette im Rhizoxin-Biosynthesegencluster nicht gefunden,<sup>[162]</sup> und zweitens führt die Architektur des PKS-Moduls 10 zu einer Doppelbindung der Zwischenstufe und nicht zu einer Keto-Gruppe.<sup>[162,198]</sup> Neuere Mutagenese-Experimente und die Isolierung von Zwischenstufen zeigten, dass die  $\beta$ -Seitenkette durch einen neuartigen Mechanismus eingeführt wird, der auf der konjugierten Addition einer Acetyl-Gruppe an den enzymgebundenen Enoyl-Rest beruht und möglicherweise durch eine Verzweigungsdomäne (B) katalysiert wird (Schema 38).<sup>[209]</sup>

### 3.5. Freisetzung der Kette und primäre (Makro-)Cyclisierungen

Nachdem die Polyketid-Kette ihre endgültige Länge erreicht hat, wird sie von der PKS gelöst, um einen linearen oder cyclisierten Metaboliten zu liefern. Oxidative und reduktive Abspaltungsmechanismen kommen dabei selten vor; normalerweise wird der Thioester durch Hydrolyse oder nucleophilen Angriff freigesetzt. Sowohl die Hydrolyse als





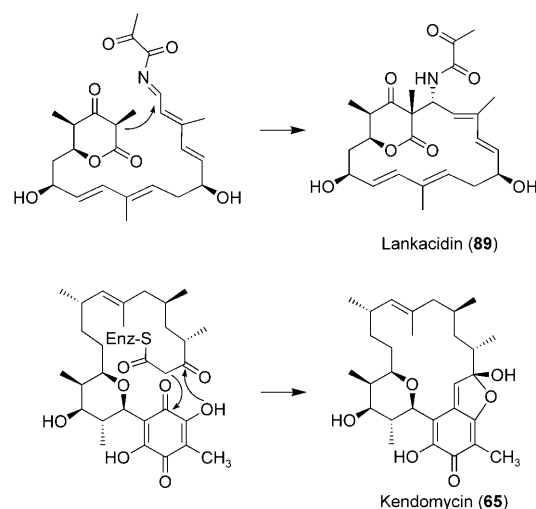
**Schema 38.** Modell für einen  $\beta$ -Verzweigungsmechanismus vom Michael-Typ im Rhizoxin-Biosyntheseweg.

auch die Makrocyclisierung werden gewöhnlich durch eine Thioesterase-Domäne katalysiert.<sup>[35,210]</sup> Genauer untersuchte Cyclisierungsvorgänge sind die Lactonisierungen in den Biosynthesewegen von Erythromycin<sup>[211]</sup> und Picromycin/Methymycin.<sup>[212,213]</sup> Stroud et al. entdeckten einen Substratkanal in der DEBS-TE, der sich durch das gesamte Protein zieht, und eine Asp-His-Ser-Triade im aktiven Zentrum, die von der wässrigen Umgebung abgeschirmt ist, was die Makrolacton-Bildung gegenüber der Hydrolyse begünstigt.<sup>[211]</sup> Auf Grundlage von TE-Proteinstrukturen schlugen Boddy et al. vor, dass hydrophobe Wechselwirkungen zwischen dem Bindungshohlraum und dem Substrat die Substratspezifität lenken und damit die Größe des Makrolactons bestimmen.<sup>[214]</sup>

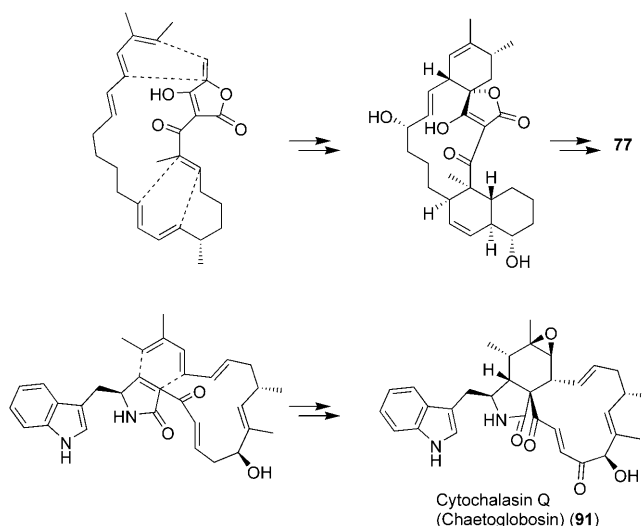
In den Biosyntheseapparaten der Polyether Nanchangmycin<sup>[215,216]</sup> und Monensin<sup>[217]</sup> wurden ungewöhnliche Thioesterasen, die zu linearen Produkten führen, identifiziert. Für die Synthese des makrocyclischen Antibiotikums Lankacidin (**89**) in *Streptomyces rochei* wurde ein alternativer Cyclisierungsmechanismus vorgeschlagen (Schema 39).<sup>[218]</sup> Ersten Daten aus Mutationsanalysen zufolge wird das ungewöhnliche Gerüst durch einen Knoevenagel-Angriff auf das Imin gebildet. Ähnlich könnte eine  $\beta$ -Ketothioester-Zwischenstufe die Carbonyl-Gruppe einer Chinon-Einheit angreifen, um das Kendomycin-Gerüst (**65**) aufzubauen.<sup>[136]</sup> Makrocyclisierungen über Diels-Alder-Reaktionen wurden für die Biosynthesewege von Chlorothricin (**77**)<sup>[159]</sup> und Cytochalasin Q (**91**)<sup>[219]</sup> vorgeschlagen (Schema 40).

### 3.6. Ali- und Heterocyclisierungen des Polyketid-Rückgrats

Viele komplexe Polyketid-Strukturen werden mit zusätzlichen kleinen oder mittelgroßen Ali- und Heterocyclen ausgestattet, die dem Polyketid-Grundgerüst Rigidität verleihen. Während Oxiran-Ringe normalerweise durch die



**Schema 39.** Hypothetische alternative Makrocyclisierungen in den Biosynthesewegen von Lankacidin und Kendomycin.



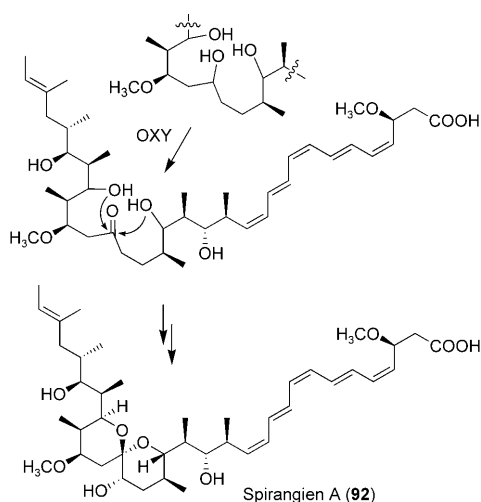
**Schema 40.** Polyketid-Makrocyclisierungen durch Diels-Alder-Reaktionen.

Cytochrom-P450-Monooxygenase-katalysierte Epoxidierung von *cis*- oder *trans*-Doppelbindungen entstehen, gibt es ausgefeiltere Biosynthesestrategien, um größere O-Heterocyclen oder carbacyclische Unterstrukturen zu erzeugen.

#### 3.6.1. O-Heterocyclen

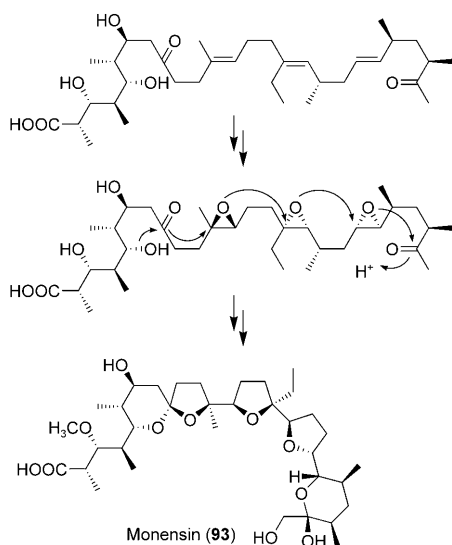
Pyran- oder Tetrahydrofuran-Ringe in Makroliden können sich wie in Candicidin (**64**) und Concanamycin (**70**) durch spontane Monoacetal-Bildung (die reversibel sein kann) ergeben. Müller et al. stellten fest, dass die Bildung der stabilen Spiroketal-Gruppe in Spirangien (**92**), einem cytotoxischen Metaboliten von *Sorangium cellulosum*, eine Cytochrom-P450-Monooxygenase-vermittelte Oxygenierung erfordert (Schema 41).<sup>[220]</sup>

Eine alternative Strategie zum Aufbau mittelgroßer O-Heterocyclen ist die nucleophile Ringöffnung von Epoxiden, wie sie bei der Biosynthese von Polyethern wie Monensin



**Schema 41.** Beispiel für die Bildung eines Spiroketal in komplexen Polyketiden.

(93),<sup>[221–223]</sup> Nigericin,<sup>[224]</sup> Nanchangmycin<sup>[225]</sup> und Tetrnomycin (76) in Betracht gezogen wurde.<sup>[158]</sup> Aus Analysen des Monensin-Biosynthesecusters und der Charakterisierung von aus Blockmutanten erhaltenen Biosynthesezwischenstufen schlossen Spencer, Leadlay et al., dass ein Polyepoxid-Intermediat eine konzertierte, reißverschlussartige Cyclisierung eingeht (Schema 42).<sup>[221–223]</sup> Die Sequenz wird durch den

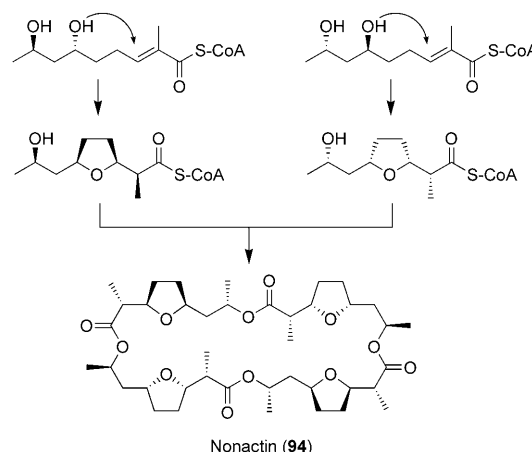


**Schema 42.** Biosynthese des Polyethers Monensin durch eine Reißverschlussreaktion.

nucleophilen Angriff einer Hydroxy-Gruppe eines Halbacetals auf eine Carbonyleinheit eingeleitet, die anschließend die benachbarte Epoxy-Gruppe angreift, und Elektronen werden durch die präorganisierte Polyketid-Kette weitergegeben. Die gleiche Route wird wahrscheinlich bei der Biosynthese der Polyether-Leitern, die in marinen Toxinen wie Maitotoxin<sup>[226]</sup> gefunden werden, verfolgt. Anscheinend ist der stereochemische Verlauf der Epoxidierung einheitlich und bestimmt die absolute Konfiguration der Moleküle. Obwohl

man erwartet, dass diese Prozesse den Baldwin-Regeln gehorchen, wurde bei der Biosynthese von Lasalocid ein ungünstiger Polyether-Ringschluss beobachtet.<sup>[227]</sup>

Die THF-Ringe in Nonactin (94), dem *meso*-Makrotetrolid aus *Streptomyces griseus*, werden nach einem anderen Mechanismus gebildet. Unabhängige Studien der Arbeitsgruppen von Priestley und Shen zeigten, dass der Ionophor durch eine ungewöhnliche Typ-II-PKS<sup>[228,229]</sup> angeordnet wird und dass die THF-Ringe der Bausteine durch eine PKS-(NonS)-katalysierte konjugierte Addition der Hydroxygruppen an die Acryloyl-Einheiten entstehen (Schema 43).<sup>[230,231]</sup> Ein ähnlicher Mechanismus ist für die Bildung der Pyran-Ringe in Tetronomycin und Ambruticin postuliert worden (siehe Abschnitt 3.6.2).



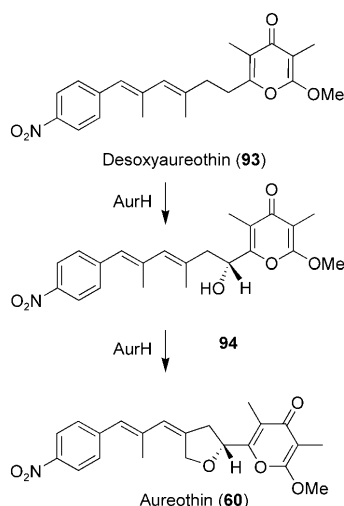
**Schema 43.** Bildung von THF-Ringen bei der Biosynthese von Makrotetroliden (Nonactin).

Die Bildung der THF-Einheit von Aureothin weicht von diesen Beispielen ab, da eine einzige Cytochrom-P450-Monooxygenase (AurH) für die Heterocyclisierung von Desoxyaureothin ausreicht. In-vivo- und In-vitro-Studien zeigten, dass AurH nacheinander beide C-O-Bindungen einführt und den stereochemischen Verlauf der ersten Hydroxylierung bestimmt (Schema 44).<sup>[232,233]</sup> Dieser seltene difunktionelle Biokatalysator kann auch verwendet werden, um synthetische Polyketid-Analoga umzuwandeln.<sup>[234]</sup>

Die Mechanismen anderer Heterocyclisierungen bleiben noch aufzuklären, z.B. die Bildung von Tetrahydropyran, die bei der Biosynthese von Pederin (80) und Bryostatine (85) durch ungewöhnliche Zwillings-DH-Domänen katalysiert werden könnte.<sup>[122,200]</sup>

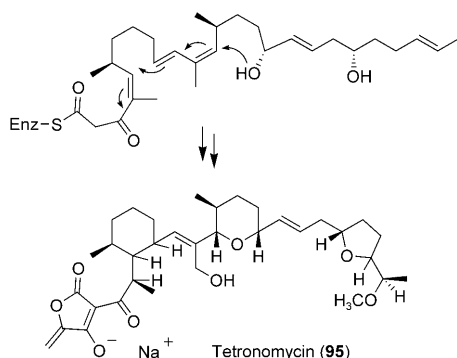
### 3.6.2. Kleine und mittlere Carbacyklen

Mehrere komplexe Polyketide haben Alicyclen in ihre Grundstrukturen integriert. Diese können durch elektrocyclische Umlagerungen<sup>[235]</sup> oder – wie in Abschnitt 3.5 gezeigt – durch Diels-Alder-Cycloadditionen<sup>[236]</sup> (z.B. bei Chlorothricin) entstehen. Andere Möglichkeiten bestehen in Radi-



**Schema 44.** Sequenzielle THF-Ringbildung bei der Biosynthese von Aureothin, katalysiert durch eine einzelne Cytochrom-P450-Monooxygenase.

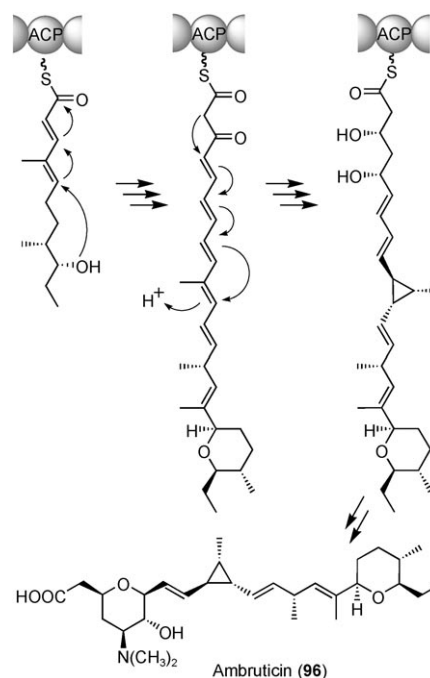
kalreaktionen oder, wie für die Tetronomycin-Biosynthese vorgeschlagen, in einer konjugierten Addition, die eine Reißverschluss-Reaktion auslösen könnte (Schema 45).



**Schema 45.** Bildung eines Cyclohexan-Rings als Teil einer Reißverschlussreaktion.

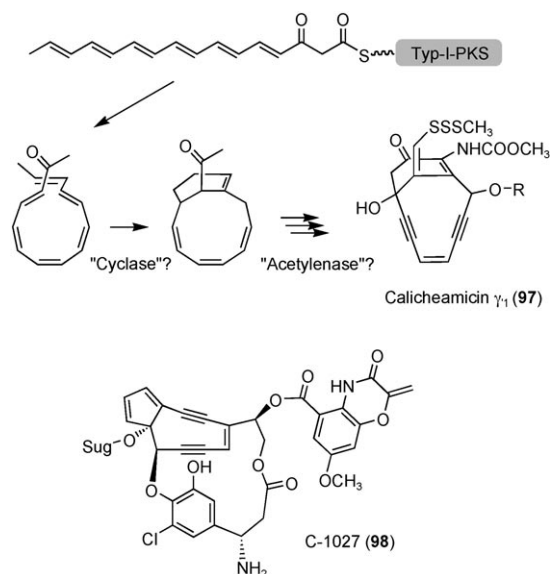
Eine Analyse der Biosyntheseroute zum Antimykotikum Ambruticin (**96**) in *Sorangium cellulosum* veranlasste Reeves et al., eine ungewöhnliche Reaktionssequenz vorzuschlagen: Nach Bildung der Polyen-Kette findet eine Wanderung von Doppelbindungen statt, bei der sich auch ein Cyclopropanring bildet (Schema 46). In einem der nachgelagerten Schritte, der an eine Favorskii-Umlagerung erinnert, wird das C1-Kohlenstoffatom eines mutmaßlichen intermediären Cyclopropanons aus der Kette herausgeschnitten.<sup>[237]</sup>

Die Antitumor-Metaboliten Calicheamicin (**97**) und C-1027 (**98**) aus Bodenbakterien weisen bicyclische Endiin-Pharmakophore von einzigartiger Struktur auf (Schema 47). Die Aufklärung der Biosynthese-Gencluster durch die Arbeitsgruppen von Shen und Thorson ergab, dass die Biosynthese dieser Verbindungen über die bakterielle iterative Typ-I-PKS erfolgt.<sup>[238,239]</sup> Diese genetische Information konnte genutzt werden, um andere bakterielle Genome nach verwandten Biosyntheseapparaten und Metaboliten zu durch-



**Schema 46.** Schlüsselschritte im hypothetischen Biosyntheseweg zu Ambruticin.

mustern<sup>[240]</sup> und um die verwandten Neocarcinostatin-<sup>[241]</sup> und Dynemicin-Gencluster<sup>[242]</sup> zu klonieren; der detaillierte Mechanismus der Endiin-Bildung blieb jedoch unklar. Erst kürzlich beschrieben die Arbeitsgruppen von Shen und Liang unabhängig voneinander, dass die Endiine von Polyen-Vorstufen abstammen.<sup>[243,244]</sup> Das Polyen wird dabei wahrscheinlich durch eine Cyclase in einen Makrocyclen überführt. Im Anschluss würde eine noch näher zu bestimmende Acetylenase die weitere Desaturierung katalysieren und die Alkin-Gruppen liefern. Die resultierenden Endiine interkalieren in



**Schema 47.** Biosynthese von Endiin-Carbacyclen aus einer linearen Polyen-Vorstufe.

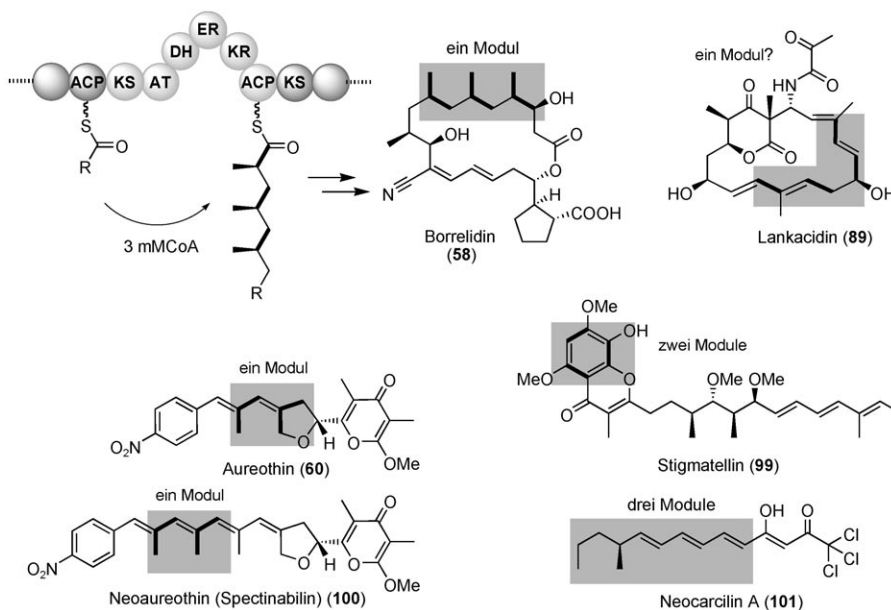
chromosomale DNA und führen über eine Bergman-Cyclisierung zur Spaltung des Doppelstrangs in Aryl-Diradikale.<sup>[245]</sup> Dies ist ein alternativer Reaktionsweg zu den Typ-III/Typ-II-PKS-Biosynthesewegen für die Synthese aromatischer Polyketid-Strukturen.

### 3.7. Diversifizierung durch nichtkollineare modulare PKS: Iteration, Skipping und Polyspleißen

Im Unterschied zu iterativen Polyketid-Synthasen – wie den Typ-I-PKS aus Pilzen, die Typ-II-PKS aus Bakterien und die Typ-III-PKS aus Pflanzen, Bakterien und Pilzen – sind modulare Polyketid-Synthasen typischerweise kollinear zu den produzierten Metaboliten – es werden jedoch immer mehr Ausnahmen gefunden.<sup>[246]</sup> So wurden modulare PKS identifiziert, in denen Module übersprungen oder wiederholt verwendet werden, d.h. einzelne Domänen nicht funktionsfähig sind bzw. Reaktionen in nach- oder vorgelagerten Modulen zu katalysieren scheinen. Bei verschiedenen Biosynthesewegen (z.B. dem von Mupirocin) gibt es keine klare Korrelation zwischen PKS-Architektur und Produkt. Die *trans*-AT-PKS können als die größte Klasse nichtkanonischer PKS-Varianten betrachtet werden.

#### 3.7.1. „Stottern“ und programmierte Iteration

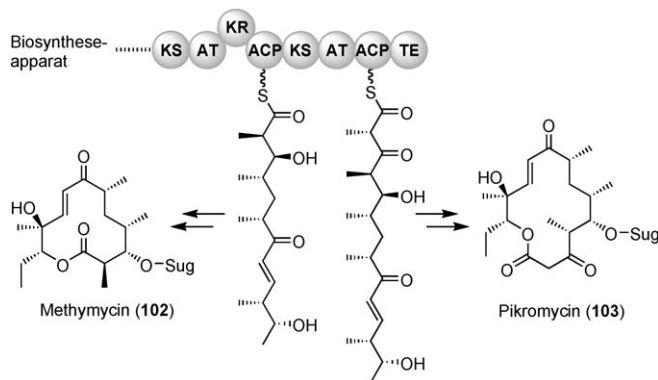
Nach der erstmaligen Entdeckung, dass eine modulare PKS aberrant längere Ketten produzieren kann, indem sie einzelne Module mehrfach verwendet („Stottern“),<sup>[247]</sup> wurden mehrere modulare Systeme gefunden, die für einen iterativen Gebrauch programmiert zu sein scheinen (Schema 48).<sup>[246]</sup> Ein Vergleich der Architektur der abgeleiteten PKS mit der Metabolitstruktur deutete darauf hin, dass im Biosyntheseweg zu Stigmatellin (**99**) eines der letzten Module offensichtlich zweimal verwendet wird.<sup>[248]</sup> Funktionsanalysen der Biosynthesewege von Borrelidin (**58**)<sup>[126]</sup> und Aureothin (**60**)<sup>[129]</sup> lieferten den ersten direkten Hinweis auf einen programmierten iterativen Einsatz modularer Typ-I-PKS in Bakterien. *AurA* vom Aureothin-Biosyntheseweg katalysiert zwei Elongations- und  $\beta$ -Ketoprozessierungsrunden,<sup>[249]</sup> während *BorA5* vom Borrelidin-Biosyntheseweg sogar drei Verlängerungszyklen katalysiert.<sup>[250]</sup> Weitere Beispiele sind die iterativen modularen Polyketid-Synthasen für Neoareothin (**100**), Neocarcilin (**101**),<sup>[251]</sup> Lankacidin (**89**)<sup>[252,253]</sup> und DKxanthin.<sup>[254]</sup> Interessanterweise kann ein Pikromycin-PKS-Modul iterativ wirken, wenn es aus seiner natürlichen Umgebung herausgenommen wird.<sup>[255]</sup>



**Schema 48.** Komplexe Polyketide, die sich aus der programmierten Wiederholung in bakteriellen modularen PKS ergeben. Graue Kästen: Molekülteile, die aus einer Iteration resultieren.

#### 3.7.2. Skipping und Flexibilität bei der Ketten-Freisetzung

Im Gegensatz zur iterativen Verwendung eines oder mehrerer Module führt das Auslassen („Skipping“) eines Moduls zu verkürzten Polypeptidketten. Ein wichtiges Beispiel ist die Pikromycin(**103**)-Polyketid-Synthase aus *Streptomyces venezuelae*, die durch vorzeitiges Entladen und Cyclisieren der Polyketid-Kette 12- und 14-gliedrige Makrolactone produzieren kann (Schema 49).<sup>[256]</sup> Sherman et al. stellen fest, dass das ringverengte Produkt Methymycin (**102**) gebildet wird, indem das Hexaketid-ACP-Intermediat vom vorletzten Modul zum ACP des letzten Moduls vor der Freigabe und Cyclisierung durch die terminale Thioesterase-Domäne transferiert wird.<sup>[257,258]</sup> Dieser Befund ist in Einklang mit Untersuchungen von Leadlay et al. zu einem Skipping-Prozess in einer Hybrid-PKS, die den Nachweis für einen ACP-zu-ACP-Kettentransfer erbrachten.<sup>[259]</sup>

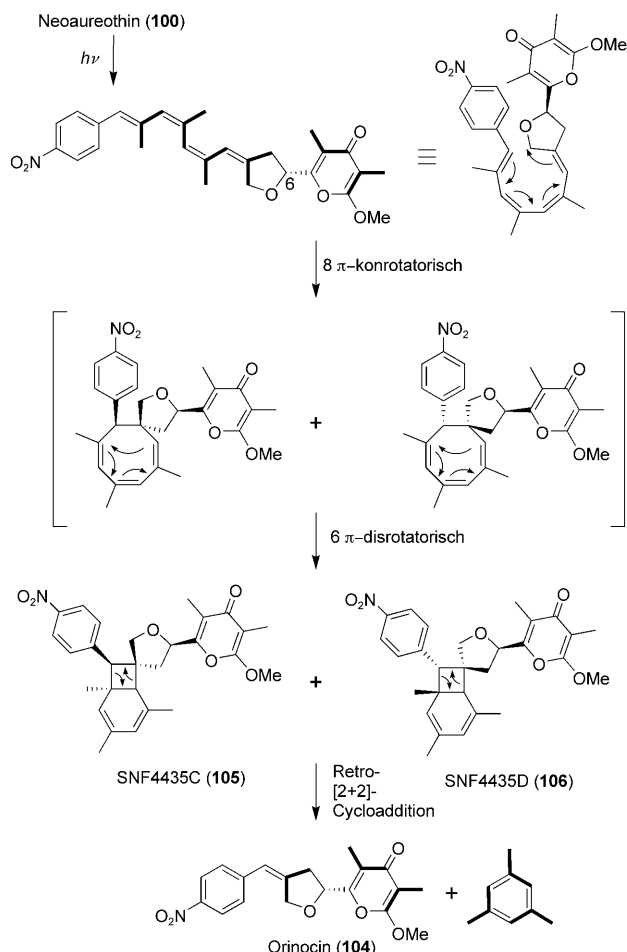


**Schema 49.** Bildung alternativer Makrolacton-Ringgrößen durch Modul-Skippping im Pikromycin/Methymycin-Biosyntheseweg.



3.7.3. **Polyen-Spleißen**

Es liegt nahe, dass viele Polyketide, die sich nur in der Länge des Rückgrats unterscheiden, einen gemeinsamen Ursprung haben und dass nur die programmierte Zahl der Verlängerungsschritte variiert. Davon wurde auch bei den Pyron-Metaboliten Neoareothin (**100**), Aureothin (**60**) und Orinocin (**104**) ausgegangen (Schema 50). Während sich



**Schema 50.** Bildung von Orinocin und Mesitylen durch photoinduziertes Spleißen von Polyenen.

diese Annahme für die Aureothin- und Neoareothin-Biosynthesewege in der Tat als prinzipiell richtig erwies, ergaben genetische und chemische Analysen, dass die Struktur von Orinocin unerwarteterweise nicht von einem verkürzten Thiotemplatsystem oder vom Auslassen eines Moduls herrührt. Tatsächlich wird Orinocin nur unter Lichteinfluss gebildet, und es ist möglich, diese Verbindung durch Bestrahlen der polycyclischen Immunsuppressiva SNF4435C/D (**105/106**) zu erhalten (Schema 50). Diese werden durch eine lichtinduzierte elektrocyclische Umlagerungskaskade gebildet, die mit einer *E-Z*-Isomerisierung des Triens beginnt. In der letzten Stufe gehen SNF4435C/D eine lichtvermittelte Retro-[2+2]-Cycloaddition ein und liefern Orinocin und Mesitylen.<sup>[260]</sup> Obwohl dieser Mechanismus keine enzymatische

Katalyse erfordert, bietet der Neoareothin-Biosyntheseweg eine „eingebaute Diversität“. Man kann sich vorstellen, dass auch andere Polyketide zu solchem „Polyen-Spleißen“ neigen, um kürzere Kohlenstoffgerüste und aromatische Verbindungen wie Xylol oder Toluol zu produzieren.

4. **Schlussbemerkungen**

Die hier vorgestellten Biosyntheserouten illustrieren die eindrucksvollen Strategien der Natur zur Synthese strukturell anspruchsvoller Verbindungen aus einem Repertoire an Biokatalysatoren und einfachen Bausteinen. Es ist beeindruckend, wie fein abgestimmt und gleichzeitig flexibel diese Biosyntheseapparate im Laufe der Evolution geworden sind. Mit den gewonnenen Erkenntnissen ist es möglich geworden, Polyketid-Biosynthesewege gezielt zu manipulieren, und es ist gut denkbar, dass neue Einblicke und Techniken es ermöglichen, solche Reaktionswege de novo im Labor zu entwerfen. In präparativer Hinsicht gibt es vieles, was Chemiker aus dem Zusammenwirken der einzelnen Module der vorgestellten Biosyntheseapparate lernen können. Die Laborsynthese komplexer Moleküle könnte von der Implementierung enzymähnlicher Prozessierungsstrategien erheblich profitieren. Aufregende Zeiten stehen bevor, wenn dieses Wissen routinemäßig auf chemoenzymatische Synthesen und zur rationalen gentechnischen Herstellung neuartiger biologisch aktiver Verbindungen angewendet wird.

Eingegangen am 16. Dezember 2008

- [1] D. O'Hagan, *The Polyketide Metabolites*, Ellis Horwood, Chichester, **1991**.
- [2] J. Staunton, K. J. Weissman, *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 380–416.
- [3] D. A. Hopwood, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2465–2497.
- [4] B. Wilkinson, J. Micklefield, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, 379–386.
- [5] K. J. Weissman, P. F. Leadlay, *Nat. Rev. Microbiol.* **2005**, *3*, 925–936.
- [6] W. Zhang, Y. Tang, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2629–2633.
- [7] S. Horinouchi, *J. Antibiot.* **2008**, *61*, 709–728.
- [8] S. Smith, S. C. Tsai, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 1041–1072.
- [9] B. J. Rawlings, *Nat. Prod. Rep.* **1998**, *15*, 275–308.
- [10] J. G. Metz, P. Roessler, D. Facciotti, C. Levering, F. Dittrich, M. Lassner, R. Valentine, K. Lardizabal, F. Domergue, A. Yamada, K. Yazawa, V. Knauf, J. Browse, *Science* **2002**, *293*, 290–293.
- [11] U. Kaulmann, C. Hertweck, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1947–1950; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1866–1869.
- [12] R. S. Gokhale, P. Saxena, T. Chopra, D. Mohanty, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 267–277.
- [13] Wie Lit. [2].
- [14] B. J. Rawlings, *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 190–227.
- [15] G. Zhu, M. J. LaGier, F. Stjkal, J. J. Millership, X. Cai, J. S. Keithly, *Gene* **2002**, *298*, 79–89.
- [16] R. V. Snyder, P. D. Gibbs, A. Palacios, L. Abiy, R. Dickey, J. V. Lopez, K. S. Rein, *Mar. Biotechnol.* **2003**, *5*, 1–12.
- [17] E. A. Monroe, F. M. Van Dolah, *Protist* **2008**, *159*, 471–482.
- [18] D. E. Cane, C. T. Walsh, *Chem. Biol.* **1999**, *6*, R319–R325.
- [19] C. T. Walsh, *Science* **2004**, *303*, 1805–1810.
- [20] M. A. Fischbach, C. T. Walsh, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3468–3496.
- [21] D. E. Cane, C. T. Walsh, C. Khosla, *Science* **1998**, *282*, 63–68.
- [22] J. Piel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 14002–14007.

- [23] Y.-Q. Cheng, G.-L. Tang, B. Shen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 3149–3154.
- [24] J. Schümann, C. Hertweck, *J. Biotechnol.* **2006**, *124*, 690–703.
- [25] R. J. Cox, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2010–2026.
- [26] B. Shen, *Top. Curr. Chem.* **2000**, *209*, 1–51.
- [27] B. J. Rawlings, *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 425–484.
- [28] C. Hertweck, A. Luzhetskyy, Y. Rebets, A. Bechthold, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 162–190.
- [29] A. Sandmann, J. Dikschat, H. Jenke-Kodama, B. Kunze, E. Dittmann, R. Müller, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 2768–2772; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2712–2716.
- [30] A. O. Brachmann, S. A. Joyce, H. Jenke-Kodama, G. Schwär, D. J. Clarke, H. B. Bode, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 1721–1728.
- [31] B. S. Moore, J. N. Hopke, *ChemBioChem* **2001**, *2*, 35–38.
- [32] V. Pfeifer, G. J. Nicholson, J. Ries, J. Recktenwald, A. B. Schefer, R. M. Shawky, J. Schröder, W. Wohlleben, S. Pelzer, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 38370–38377.
- [33] Y. Seshime, P. R. Juvvadi, I. Fujii, K. Kitamoto, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2005**, *331*, 253–260.
- [34] C. Khosla, R. S. Gokhale, J. R. Jacobsen, D. E. Cane, *Annu. Rev. Biochem.* **1999**, *68*, 219–253.
- [35] R. M. Kohli, C. T. Walsh, *Chem. Commun.* **2003**, 297–307.
- [36] A. M. Bailey, R. J. Cox, K. Harley, C. M. Lazarus, T. J. Simpson, E. Skellam, *Chem. Commun.* **2007**, 4053–4055.
- [37] U. Rix, C. Fischer, L. L. Remsing, J. Rohr, *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 542–580.
- [38] B. Liu, T. Raeth, T. Beuerle, L. Beerhues, *Planta* **2007**, *225*, 1495–1503.
- [39] J. L. Ferrer, J. M. Jez, M. E. Bowman, R. A. Dixon, J. P. Noel, *Nat. Struct. Biol.* **1999**, *6*, 775–784.
- [40] M. B. Austin, M. Izumikawa, M. E. Bowman, D. W. Udway, J. L. Ferrer, B. S. Moore, J. P. Noel, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 45162–45174.
- [41] J. M. Jez, M. E. Bowman, J. P. Noel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 5319–5324.
- [42] K. Watanabe, A. P. Praseuth, C. C. Wang, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2007**, *11*, 279–286.
- [43] L. Song, F. Barona-Gomez, C. Corre, L. Xiang, D. W. Udway, M. B. Austin, J. P. Noel, B. S. Moore, G. L. Challis, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14754–14755.
- [44] M. Funabashi, N. Funa, S. Horinouchi, *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 13983–13991.
- [45] M. B. Austin, T. Saito, M. E. Bowman, S. Haydock, A. Kato, B. S. Moore, R. R. Kay, J. P. Noel, *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 494–502.
- [46] A. Miyana, N. Funa, T. Awakawa, S. Horinouchi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 871–876.
- [47] N. Funa, H. Ozawa, A. Hirata, S. Horinouchi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 6356–6361.
- [48] N. Funa, T. Awakawa, S. Horinouchi, *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 14476–14481.
- [49] J. M. Crawford, B. C. R. Dancy, E. A. Hill, D. W. Udway, C. A. Townsend, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 16728–16733.
- [50] J. M. Crawford, A. L. Vagstad, K. P. Whitworth, K. C. Ehrlich, C. A. Townsend, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1019–1023.
- [51] Y. T. Kim, Y. R. Lee, J. Jin, K. H. Han, H. Kim, J. C. Kim, T. Lee, S. H. Yun, Y. W. Lee, *Mol. Microbiol.* **2005**, *58*, 1102–1113.
- [52] I. Gaffoor, F. Trail, *Appl. Environ. Microbiol.* **2006**, *72*, 1793–1799.
- [53] H. Zhou, J. Zhan, K. Watanabe, X. Xie, Y. Tang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 6249–6254.
- [54] B. S. Moore, C. Hertweck, *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 70–99.
- [55] Y. Tang, T. S. Lee, C. Khosla, *PLoS Biol.* **2004**, *2*, e31.
- [56] T. S. Lee, C. Khosla, Y. Tang, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12254–12262.
- [57] W. Zhang, B. D. Ames, S. C. Tsai, Y. Tang, *Appl. Environ. Microbiol.* **2006**, *72*, 2573–2580.
- [58] J. Piel, C. Hertweck, P. Shipley, D. S. Hunt, M. S. Newman, B. S. Moore, *Chem. Biol.* **2000**, *7*, 943–955.
- [59] C. Hertweck, A. P. Jarvis, L. Xiang, B. S. Moore, N. J. Oldham, *ChemBioChem* **2001**, *2*, 784–786.
- [60] C. Hertweck, B. S. Moore, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 9115–9120.
- [61] W. Izumikawa, Q. Cheng, B. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1428–1429.
- [62] J. A. Kalaitzis, M. Izumikawa, L. Xiang, C. Hertweck, B. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9290–9291.
- [63] T. Billign, C.-G. Hyun, J. S. Williams, A. M. Csisny, J. S. Thorson, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 959–969.
- [64] E. Wendt-Pienkowski, Y. Huang, J. Zhang, B. Li, H. Jiang, H. Kwon, C. R. Hutchinson, B. Shen, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 16442–16452.
- [65] Z. Xu, A. Magyar, C. Hertweck, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6022–6030.
- [66] T. Oja, K. Palmu, H. Lehmussola, O. Leppäranta, K. Hännikäinen, J. Niemi, P. Mäntsälä, M. Metsä-Ketelä, *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 1046–1057.
- [67] Z. Xu, M. Metsä-Ketelä, C. Hertweck, *J. Biotechnol.* **2009**, *140*, 107–113.
- [68] R. Thomas, *ChemBioChem* **2001**, *2*, 612–627.
- [69] G. Bringmann, T. F. Noll, T. A. M. Gulder, M. Grüne, M. Dreyer, C. Wilde, F. Pankewitz, M. Hilker, G. D. Payne, A. L. Jones, M. Goodfellow, H.-P. Fiedler, *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 429–433.
- [70] M. B. Austin, J. P. Noel, *Nat. Prod. Rep.* **2003**, *20*, 79–110.
- [71] O. Yu, J. M. Jez, *Plant J.* **2008**, *54*, 750–762.
- [72] I. Abe, Y. Utsumi, S. Oguro, H. Morita, Y. Sano, H. Noguchi, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1362–1363.
- [73] H. Morita, S. Kondo, S. Oguro, H. Noguchi, S. Sugio, I. Abe, T. Kohno, *Chem. Biol.* **2007**, *14*, 359–369.
- [74] N. Funa, Y. Ohnishi, I. Fujii, M. Shibuya, Y. Ebizuka, S. Horinouchi, *Nature* **1999**, *400*, 897–899.
- [75] S. A. Joyce, A. O. Brachmann, I. Glazer, L. Lango, G. Schwär, D. J. Clarke, H. B. Bode, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 1968–1971; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1942–1945.
- [76] S. Brand, D. Hölscher, A. Schierhorn, A. Svatos, J. Schröder, B. Schneider, *Planta* **2006**, *224*, 413–428.
- [77] Y. Katsuyama, M. Matsuzawa, N. Funa, S. Horinouchi, *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 37702–37709.
- [78] M. C. Ramirez-Ahumada, B. N. Timmermann, D. R. Gang, *Phytochemistry* **2006**, *67*, 2017–2029.
- [79] I. P. Crawford, P. M. Thomas, J. R. Scheerer, A. L. Vagstad, N. L. Kelleher, C. A. Townsend, *Science* **2008**, *320*, 243–246.
- [80] I. Fujii, A. Watanabe, U. Sankawa, Y. Ebizuka, *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 189–197.
- [81] S. M. Ma, J. Zhan, X. Xie, K. Watanabe, Y. Tang, W. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 38–39.
- [82] J. Dreier, C. Khosla, *Biochemistry* **2000**, *39*, 2088–2095.
- [83] Y. Tang, S.-C. Tsai, C. Khosla, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12708–12709.
- [84] K. K. Burson, C. Khosla, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 9401–9408.
- [85] T. P. Nicholson, C. Winfield, J. Westcott, J. Crosby, T. J. Simpson, R. J. Cox, *Chem. Commun.* **2003**, 686–687.
- [86] A. T. Keatinge-Clay, D. A. Maltby, K. F. Medzihradszky, C. Khosla, R. M. Stroud, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2004**, *11*, 888–893.
- [87] Y. Shen, P. Yoon, T.-W. Yu, H. G. Floss, D. Hopwood, B. S. Moore, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 3622–3627.
- [88] M. Metsä-Ketelä, K. Palmu, T. Kunnari, K. Ylihönko, P. Mäntsälä, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 1291–1296.
- [89] K. Fritzsche, K. Ishida, C. Hertweck, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8307–8316.
- [90] S.-E. Wohler, E. Wendt-Pienkowski, W. Bao, C. R. Hutchinson, *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 1077–1080.

- [91] K. Jakobi, C. Hertweck, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2298–2299.
- [92] K. Ishida, K. Maksimenka, K. Fritzsche, K. Scherlach, G. Bringmann, C. Hertweck, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14619–14624.
- [93] K. Ishida, K. Fritzsche, C. Hertweck, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12648–12649.
- [94] Q. Zhao, Q. He, W. Ding, M. Tang, M. Kang, Y. Yu, W. Deng, Q. Zhang, J. Fang, G. Tang, W. Liu, *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 693–705.
- [95] J. Piel, K. Hoang, B. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5415–5416.
- [96] C. Hertweck, L. Xiang, J. A. Kalaitzis, Q. Cheng, M. Palzer, B. S. Moore, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 461–468.
- [97] J. Piel, K. Hoang, B. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5415–5416.
- [98] L. Xiang, J. A. Kalaitzis, B. S. Moore, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 15609–15614.
- [99] Q. Cheng, L. Xiang, M. Izumikawa, D. Meluzzi, B. S. Moore, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, 557–558.
- [100] K. Yabe, H. Nakajima, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2004**, *64*, 745–755.
- [101] M. Gibson, M. Nur-e-alam, F. Lipata, M. A. Oliveira, J. Rohr, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17594–17595.
- [102] M. S. Abdelfattah, J. Rohr, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5813–5818; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5685–5689.
- [103] Y. H. Chen, C. C. Wang, L. Greenwell, U. Rix, D. Hoffmeister, L. C. Vining, J. Rohr, K. Q. Yang, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 22508–22514.
- [104] M. K. Kharel, L. Zhu, T. Liu, J. Rohr, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3780–3781.
- [105] U. Rix, C. Wang, Y. Chen, F. M. Lipata, L. L. Remsing Rix, L. M. Greenwell, L. C. Vining, K. Yang, J. Rohr, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 838–845.
- [106] U. Rix, J. Zheng, L. L. Remsing-Rix, L. Greenwell, K. Yang, J. Rohr, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4496–4497.
- [107] S. J. Gould, S.-T. Hong, J. R. Carney, *J. Antibiot.* **1998**, *51*, 50–57.
- [108] J. Portugal, *Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents* **2003**, *3*, 411–420.
- [109] Z. Xu, K. Jakobi, K. Welzel, C. Hertweck, *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 579–588.
- [110] X. Huang, J. He, X. Niu, K. D. Menzel, H. M. Dahse, S. Grabley, H. P. Fiedler, I. Sattler, C. Hertweck, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 4059–4062; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3995–3998.
- [111] S. E. Bode, D. Drochner, M. Müller, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 6020–6024; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5916–5920.
- [112] H. P. Bais, R. Vepachedu, C. B. Lawrence, F. R. Stermitz, J. M. Vivanco, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 32413–32422.
- [113] K. Karppinen, J. Hokkanen, S. Mattila, P. Neubauer, A. Hottola, *FEBS J.* **2008**, *275*, 4329–4342.
- [114] A. Schenk, Z. Xu, C. Pfeiffer, C. Steinbeck, C. Hertweck, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 7165–7168; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7035–7038.
- [115] G. Lackner, A. Schenk, Z. Xu, K. Reinhardt, Z. S. Yunt, J. Piel, C. Hertweck, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 9306–9312.
- [116] A. Li, J. Piel, *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 1017–1026.
- [117] R. Martin, O. Sterner, M. A. Alvarez, E. De Clercq, J. E. Bailey, W. Minas, *J. Antibiot.* **2001**, *54*, 239–249.
- [118] Z. Yunt, K. Reinhardt, A. Li, M. Engeser, H. M. Dahse, M. Gütschow, G. Bringmann, J. Piel, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2297–2305.
- [119] Y. Chen, Y. Luo, J. Ju, E. Wendt-Pienkowski, S. R. Rajski, B. Shen, *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 431–437.
- [120] C. Bisang, P. F. Long, J. Cortes, J. Westcott, J. Crosby, A. L. Matharu, R. Cox, T. J. Simpson, J. Staunton, P. F. Leadlay, *Nature* **1999**, *401*, 502–505.
- [121] P. F. Long, C. J. Wilkinson, C. P. Bisang, J. Cortés, N. Dunster, M. Oliynyk, E. McCormick, H. McArthur, C. Mendez, J. A. Salas, J. Staunton, P. F. Leadlay, *Mol. Microbiol.* **2002**, *43*, 1215–1225.
- [122] J. Piel, G. Wen, M. Platzer, D. Hui, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 93–98.
- [123] L. Gu, T. W. Geders, B. Wang, W. H. Gerwick, K. Hakansson, J. L. Smith, D. H. Sherman, *Science* **2008**, *319*, 970–974.
- [124] H. Ikeda, T. Nonomiya, M. Usami, T. Ohta, S. Omura, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 9509–9514.
- [125] N. Palaniappan, B. S. Kim, Y. Sekiyama, H. Osada, K. A. Reynolds, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 35552–35557.
- [126] C. Olano, B. Wilkinson, C. Sánchez, S. J. Moss, R. Sheridan, V. Math, A. J. Weston, A. F. Brana, C. J. Martin, M. Oliynyk, C. Mendez, P. F. Leadlay, J. A. Salas, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 87–97.
- [127] B. Silakowski, H. U. Schairer, H. Ehret, B. Kunze, S. Weinig, G. Nordsiek, P. Brandt, H. Blocker, G. Hofle, S. Beyer, R. Müller, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 37391–37399.
- [128] C. J. Wilkinson, E. J. Frost, J. Staunton, P. F. Leadlay, *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 1197–1208.
- [129] J. He, C. Hertweck, *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 1225–1232.
- [130] J. He, C. Hertweck, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3694–3695.
- [131] P. A. S. Lowden, B. Wilkinson, G. A. Böhm, S. Handa, H. G. Floss, P. F. Leadlay, J. Staunton, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 799–801; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 777–779.
- [132] H. G. Floss, T. W. Yu, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 621–632.
- [133] T. W. Yu, L. Bai, D. Clade, D. Hoffmann, S. Toelzer, K. Q. Trinh, J. Xu, S. J. Moss, E. Leistner, H. G. Floss, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 7968–7973.
- [134] A. B. Campelo, J. A. Gil, *Microbiology* **2002**, *148*, 51–59.
- [135] S. Chen, X. Huang, X. Zhou, L. Bai, J. He, K. J. Jeong, S. Y. Lee, Z. Deng, *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 1065–1076.
- [136] S. C. Wenzel, H. B. Bode, I. Kochems, R. Müller, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 2711–2721.
- [137] W. Wohlleben, S. Pelzer, *Chem. Biol.* **2003**, *9*, 1163–1166.
- [138] T. A. Cropp, D. J. Wilson, K. A. Reynolds, *Nat. Biotechnol.* **2000**, *18*, 980–983.
- [139] M. Ziehl, J. He, H.-M. Dahse, C. Hertweck, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 1226–1230; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1202–1205.
- [140] P. Lowden, G. Böhm, S. Metcalfe, J. Staunton, P. Leadlay, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 535–538.
- [141] M. A. Gregory, H. Petkovic, R. E. Lill, S. J. Moss, B. Wilkinson, S. Gaisser, P. F. Leadlay, R. M. Sheridan, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 4835–4838; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4757–4760.
- [142] S. J. Moss, I. Carletti, C. Olano, R. M. Sheridan, M. Ward, V. Math, M. Nur-E-Alam, A. F. Brana, M. Q. Zhang, P. F. Leadlay, C. Mendez, J. A. Salas, B. Wilkinson, *Chem. Commun.* **2006**, 2341–2343.
- [143] H. B. Bode, P. Meiser, T. Klefisch, N. S. Cortina, D. Krug, A. Göhring, G. Schwär, T. Mahmud, Y. A. Elnakady, R. Müller, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 2139–2144.
- [144] F. Taft, M. Brünjes, H. G. Floss, N. Czempinski, S. Grond, F. Sasse, A. Kirschning, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1057–1060.
- [145] G. F. Liou, C. Khosla, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2003**, *7*, 279–284.
- [146] D. L. Stassi, S. Kakavas, K. A. Reynolds, G. Gunawardana, S. Swanson, D. Zeidner, M. Jackson, H. Liu, A. Buko, L. Katz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 7305–7309.
- [147] K. Wu, L. Chung, W. P. Revill, L. Katz, C. D. Reeves, *Gene* **2000**, *251*, 81–90.
- [148] T. Weber, K. J. Laiple, E. K. Pross, A. Textor, S. Grond, K. Welzel, S. Pelzer, A. Vente, W. Wohlleben, *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 175–188.
- [149] R. B. Hamed, E. T. Batchelar, I. J. Clifton, C. J. Schofield, *Cell. Mol. Life Sci.* **2008**, *65*, 2507–2527.



- [150] S. C. Wenzel, R. M. Williamson, C. Grünanger, J. Xu, K. Gerth, R. A. Martinez, S. J. Moss, B. J. Carroll, S. Grond, C. J. Unkefer, R. Müller, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14325–14336.
- [151] C. D. Reeves, L. M. Chung, Y. Liu, Q. Xue, J. R. Carney, W. P. Revill, L. Katz, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 9155–9159.
- [152] S. F. Haydock, A. N. Appleyard, T. Mironenko, J. Lester, N. Scott, P. F. Leadlay, *Microbiology* **2005**, *151*, 3161–3169.
- [153] Y. Kato, L. Bai, Q. Xue, W. P. Revill, T. W. Yu, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 5268–5269.
- [154] E. A. B. Emmert, A. K. Klimowicz, M. G. Thomas, J. Handelsman, *Appl. Environ. Microbiol.* **2004**, *70*, 104–113.
- [155] Y. A. Chan, M. T. Boyne II, A. M. Podevels, A. K. Klimowicz, J. Handelsman, N. L. Kelleher, M. G. Thomas, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 14349–14354.
- [156] L. L. Beer, B. S. Moore, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 845–848.
- [157] A. S. Eustáquio, B. S. Moore, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 4000–4002; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3936–3938.
- [158] Y. Demydchuk, Y. Sun, H. Hong, J. Staunton, J. B. Spencer, P. F. Leadlay, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1136–1145.
- [159] X.-Y. Jia, Z.-H. Tian, L. Shao, X.-D. Qu, Q.-F. Zhao, J. Tang, G.-L. Tang, W. Liu, *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 575–585.
- [160] H. Zhang, J. A. White-Phillip, C. E. Melancon III, H.-J. Kwon, W.-L. Yu, H.-W. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14670–14683.
- [161] Y. Sun, H. Hong, F. Gillies, J. B. Spencer, P. F. Leadlay, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 150–156.
- [162] L. P. Partida-Martinez, C. Hertweck, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 41–45.
- [163] B. Julien, S. Shah, R. Ziermann, R. Goldman, L. Katz, C. Khosla, *Gene* **2000**, *249*, 153–160.
- [164] G. J. J. Gatto, S. M. McLoughlin, N. L. Kelleher, C. T. Walsh, *Biochemistry* **2005**, *44*, 5993–6002.
- [165] J. W. Sims, J. P. Fillmore, D. D. Warner, E. W. Schmidt, *Chem. Commun.* **2005**, 186–188.
- [166] K. L. Eley, L. M. Halo, Z. Song, H. Powles, R. J. Cox, A. M. Bailey, C. M. Lazarus, T. J. Simpson, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 289–297.
- [167] S. Bergmann, J. Schümann, K. Scherlach, C. Lange, A. A. Brakhage, C. Hertweck, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, 213–217.
- [168] A. F. Marsden, P. Caffrey, J. F. Aparicio, M. S. Loughran, J. Staunton, P. F. Leadlay, *Science* **1994**, *263*, 378–380.
- [169] K. J. Weissman, M. Timoney, M. Bycroft, P. Grice, U. Hanefeld, J. Staunton, P. F. Leadlay, *Biochemistry* **1997**, *36*, 13849–13855.
- [170] J. Lau, H. Fu, D. E. Cane, C. Khosla, *Biochemistry* **1999**, *38*, 1643–1651.
- [171] P. Caffrey, *ChemBioChem* **2003**, *4*, 654–657.
- [172] R. Reid, M. Piagentini, E. Rodriguez, G. V. Ashley, N. J. Carney, D. V. Santi, C. R. Hutchinson, R. McDaniel, *Biochemistry* **2003**, *42*, 72–79.
- [173] A. Baerga-Ortiz, B. Popovic, A. P. Siskos, H. M. O'Hare, D. Spittler, M. G. Williams, N. Campillo, J. B. Spencer, P. F. Leadlay, *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 277–285.
- [174] R. Castonguay, W. He, C. A. Y., C. Khosla, D. E. Cane, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13758–13769.
- [175] A. T. Keatinge-Clay, *Chem. Biol.* **2007**, *14*, 898–908.
- [176] R. Castonguay, C. R. Valenzano, A. Y. Chen, A. Keatinge-Clay, C. Khosla, D. E. Cane, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11598–11599.
- [177] H. M. O'Hare, A. Baerga-Ortiz, B. Popovic, J. B. Spencer, P. F. Leadlay, *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 287–296.
- [178] P. R. August, L. Tang, Y. J. Yoon, S. Ning, R. Müller, T.-W. Yu, M. Taylor, D. Hoffman, C.-G. Kim, X. Zhang, C. R. Hutchinson, H. G. Floss, *Chem. Biol.* **1998**, *5*, 69–79.
- [179] J. Wu, T. J. Zaleski, C. Valenzano, C. Khosla, D. E. Cane, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17393–17404.
- [180] M. M. Alhamadsheh, N. Palaniappan, S. Daschoudhuri, K. A. Reynolds, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1910–1911.
- [181] N. Palaniappan, M. M. Alhamadsheh, K. A. Reynolds, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12236–12237.
- [182] O. Perlova, K. Gerth, O. Kaiser, A. Hans, R. Müller, *J. Biotechnol.* **2006**, *121*, 174–191.
- [183] M. Kopp, H. Irschik, S. Pradella, R. Müller, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 1277–1286.
- [184] D. H. Kwan, Y. Sun, F. Schulz, H. Hong, B. Popovic, J. C. C. Sim-Stark, S. F. Haydock, P. F. Leadlay, *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 1231–1240.
- [185] I. Chopra, S. Banerjee, S. Gupta, G. Yadav, S. Anand, A. Suroliya, R. P. Roy, D. Mohanty, R. S. Gokhale, *PLoS Biol.* **2008**, *6*, e163.
- [186] C. T. Walsh, *ChemBioChem* **2002**, *3*, 124–134.
- [187] D. Menche, *Nat. Prod. Rep.* **2008**, *25*, 905–918.
- [188] C. T. Calderone, *Nat. Prod. Rep.* **2008**, *25*, 845–853.
- [189] C. T. Calderone, W. E. Kowtoniuk, N. L. Kelleher, C. T. Walsh, P. C. Dorrestein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 8977–8982.
- [190] L. Gu, J. Jia, H. Lu, K. Hakansson, W. H. Gerwick, D. H. Sherman, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 9014–9015.
- [191] V. Simunovic, J. Zapp, S. Rachid, D. S. Krug, P. Meiser, R. Müller, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1206–1220.
- [192] V. Simunovic, R. Müller, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 497–500.
- [193] V. Simunovic, R. Müller, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 1273–1280.
- [194] A. K. El-Sayed, J. Hotherhall, S. M. Cooper, E. Stephens, T. J. Simpson, C. M. Thomas, *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 419–430.
- [195] J. Hotherhall, J. Wu, A. S. Rahman, J. A. Shields, J. Haddock, N. Johnson, S. M. Cooper, E. R. Stephens, R. J. Cox, J. Crosby, C. L. Willis, T. J. Simpson, C. M. Thomas, *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 15451–15461.
- [196] J. Wu, S. M. Cooper, R. J. Cox, J. Crosby, M. P. Crump, J. Hotherhall, T. J. Simpson, C. M. Thomas, C. L. Willis, *Chem. Commun.* **2007**, 2040–2042.
- [197] J. Moldenhauer, X.-H. Chen, R. Borriss, J. Piel, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 8343–8345; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 8195–8197.
- [198] T. Nguyen, K. Ishida, H. Jenke-Kodama, E. Dittmann, C. Gurgui, T. Hochmuth, S. Taudien, M. Platzer, C. Hertweck, J. Piel, *Nat. Biotechnol.* **2008**, *26*, 225–233.
- [199] M. Hildebrand, L. E. Waggoner, H. Liu, S. Sudek, S. Allen, C. Anderson, D. H. Sherman, M. G. Haygood, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 1543–1552.
- [200] S. Sudek, N. B. Lopanik, L. E. Waggoner, M. Hildebrand, C. Anderson, H. Liu, A. Patel, D. H. Sherman, M. G. Haygood, *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 67–74.
- [201] J. Piel, D. Hui, G. Wen, D. Butzke, M. Platzer, N. Fusetani, S. Matsunaga, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 16222–16227.
- [202] Z. Chang, N. Sitachitta, J. V. Rossi, M. A. Roberts, P. M. Flatt, J. Jia, D. H. Sherman, W. H. Gerwick, *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1356–1367.
- [203] D. J. Edwards, B. L. Marquez, L. M. Nogle, K. McPhail, D. E. Goeger, M. A. Roberts, W. H. Gerwick, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 817–833.
- [204] G.-L. Tang, Y.-Q. Cheng, B. Shen, *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 33–45.
- [205] C. T. Calderone, D. F. Iwig, P. C. Dorrestein, N. L. Kelleher, C. T. Walsh, *Chem. Biol.* **2007**, *14*, 835–846.
- [206] L. P. Partida-Martinez, C. Hertweck, *Nature* **2005**, *437*, 884–888.
- [207] K. Scherlach, L. P. Partida-Martinez, H.-M. Dahse, C. Hertweck, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11529–11536.
- [208] N. Brendel, L. P. Partida-Martinez, K. Scherlach, C. Hertweck, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2211–2213.



- [209] B. Kusebauch, B. Busch, K. Scherlach, M. Roth, C. Hertweck, *Angew. Chem.* **2009**, DOI: 10.1002/ange.200900277; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, DOI: 10.1002/anie.200900277.
- [210] M. Kopp, M. A. Marahiel, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 735–749.
- [211] S. C. Tsai, L. J. Miercke, J. Krucinski, R. Gokhale, J. C. Chen, P. G. Foster, D. E. Cane, C. Khosla, R. M. Stroud, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 14808–14813.
- [212] J. Wu, W. He, C. Khosla, D. E. Cane, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 7729–7732; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7557–7560.
- [213] D. L. Akey, J. D. Kittendorf, J. W. Giraldez, R. A. Fecik, D. H. Sherman, J. L. Smith, *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 537–542.
- [214] M. Wang, C. N. Boddy, *Biochemistry* **2008**, *47*, 11793–11803.
- [215] T. Liu, D. You, C. Valenzano, Y. Sun, J. Li, Q. Yu, X. Zhou, D. E. Cane, Z. Deng, *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 945–955.
- [216] T. Liu, X. Lin, X. Zhou, Z. Deng, D. E. Cane, *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 449–458.
- [217] B. M. Harvey, H. Hong, M. A. Jones, Z. A. Hughes-Thomas, G. R. M., M. L. Heathcote, V. M. Bolanos-Garcia, W. Kroutil, J. Staunton, P. F. Leadlay, J. B. Spencer, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1435–1442.
- [218] K. Arakawa, F. Sugino, K. Kodama, T. Ishii, H. Kinashi, *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 249–256.
- [219] J. Schümann, C. Hertweck, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 9564–9565.
- [220] B. Frank, J. Knauber, H. Steinmetz, M. Scharfe, H. Blöcker, S. Beyer, R. Müller, *Chem. Biol.* **2007**, *14*, 221–233.
- [221] M. Oliynyk, C. B. Stark, A. Bhatt, M. A. Jones, Z. A. Hughes-Thomas, C. Wilkinson, Z. Oliynyk, Y. Demydchuk, J. Staunton, P. F. Leadlay, *Mol. Microbiol.* **2003**, *49*, 1179–1190.
- [222] A. Bhatt, C. B. Stark, B. M. Harvey, A. R. Gallimore, Y. A. Demydchuk, J. B. Spencer, J. Staunton, P. F. Leadlay, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 7237–7240; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7075–7078.
- [223] A. R. Gallimore, C. B. Stark, A. Bhatt, B. M. Harvey, Y. Demydchuk, V. Bolanos-Garcia, D. J. Fowler, J. Staunton, P. F. Leadlay, J. B. Spencer, *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 453–460.
- [224] B. M. Harvey, T. Mironenko, Y. Sun, H. Hong, Z. Deng, P. F. Leadlay, K. J. Weissman, S. F. Haydock, *Chem. Biol.* **2007**, *14*, 703–714.
- [225] Y. Sun, X. Zhou, H. Dong, G. Tu, M. Wang, B. Wang, Z. Deng, *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 431–441.
- [226] A. R. Gallimore, J. B. Spencer, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 4514–4521; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4406–4413.
- [227] L. Smith, H. Hong, J. B. Spencer, P. F. Leadlay, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 2967–2975.
- [228] R. J. Walczak, A. J. Woo, W. R. Strohl, N. D. Priestley, *FEMS Microbiol. Lett.* **2000**, *183*, 171–175.
- [229] H. J. Kwon, W. C. Smith, L. Xiang, B. Shen, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3385–3386.
- [230] A. J. Woo, W. R. Strohl, N. D. Priestley, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, *43*, 1662–1668.
- [231] H. J. Kwon, W. C. Smith, A. J. Sharon, S. H. Hwang, M. J. Kurth, B. Shen, *Science* **2002**, *297*, 1327–1330.
- [232] J. He, M. Müller, C. Hertweck, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16742–16743.
- [233] M. E. A. Richter, N. Traitcheva, U. Knüpfer, C. Hertweck, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 9004–9007; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8872–8875.
- [234] M. Werneburg, C. Hertweck, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 2064–2066.
- [235] C. M. Beaudry, J. P. Malerich, D. Trauner, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 4757–4778.
- [236] W. L. Kelly, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 4483–4493.
- [237] B. Julien, Z.-Q. Tian, R. Reid, C. D. Reeves, *Chem. Biol.* **2006**, *13*, 1277–1286.
- [238] W. Liu, S. D. Christenson, S. Standage, B. Shen, *Science* **2002**, *297*, 1170–1173.
- [239] J. Ahlert, E. Shepard, N. Lomovskaya, E. Zazopoulos, A. Staffa, B. O. Bachmann, K. Huang, L. Fonstein, A. Czisny, R. E. Whitwam, C. M. Farnet, J. S. Thorson, *Science* **2002**, *297*, 1173–1176.
- [240] E. Zazopoulos, K. Huang, A. Staffa, W. Liu, B. O. Bachmann, K. Nonaka, J. Ahlert, J. S. Thorson, B. Shen, C. M. Farnet, *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 187–190.
- [241] W. Liu, K. Nonaka, L. Nie, J. Zhang, S. D. Christenson, J. Bae, S. G. Van Lanen, E. Zazopoulos, C. M. Farnet, C. F. Yang, B. Shen, *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 293–302.
- [242] Q. Gao, J. S. Thorson, *FEMS Microbiol. Lett.* **2008**, *282*, 105–114.
- [243] J. Zhang, S. G. V. Lanen, J. Ju, W. Liu, P. C. Dorrestein, W. Li, N. L. Kelleher, B. Shen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 1461–1465.
- [244] R. Kong, L. P. Goh, C. W. Liew, Q. S. Ho, E. Murugan, B. Li, K. Tang, Z.-X. Liang, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8142–8143.
- [245] S. G. Van Lanen, B. Shen, *Curr. Top. Med. Chem.* **2008**, *8*, 448–459.
- [246] S. J. Moss, C. J. Martin, B. Wilkinson, *Nat. Prod. Rep.* **2004**, *21*, 575–593.
- [247] B. Wilkinson, G. Foster, B. A. M. Rudd, N. L. Taylor, A. P. Blackaby, P. J. Sidebottom, D. J. Cooper, M. J. Dawson, A. D. Buss, S. Gaisser, I. U. Böhm, C. J. Rowe, J. Cortés, P. F. Leadlay, J. Staunton, *Chem. Biol.* **2000**, *7*, 111–117.
- [248] N. Gaitatzis, B. Silakowski, B. Kunze, G. Nordsiek, H. Blöcker, G. Höfle, R. Müller, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 13082–13090.
- [249] J. He, C. Hertweck, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 908–912.
- [250] C. Olano, B. Wilkinson, S. J. Moss, A. F. Brana, C. Mendez, P. F. Leadlay, J. A. Salas, *Chem. Commun.* **2003**, 2780–2782.
- [251] M. Otsuka, K. Ichinose, I. Fujii, Y. Ebizuka, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 3468–3476.
- [252] S. Mochizuki, K. Hiratsu, M. Suwa, T. Ishii, F. Sugino, K. Yamada, H. Kinashi, *Mol. Microbiol.* **2003**, *48*, 1501–1510.
- [253] S. Tatsuno, K. Arakawa, H. Kinashi, *J. Antibiot.* **2007**, *60*, 700–708.
- [254] P. Meiser, K. J. Weissman, H. B. Bode, D. Krug, J. Dikschat, A. Sandmann, R. Müller, *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 771–781.
- [255] B. J. Beck, C. C. Aldrich, R. A. Fecik, K. A. Reynolds, D. H. Sherman, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4682–4683.
- [256] Y. Xue, D. H. Sherman, *Nature* **2000**, *403*, 571–575.
- [257] B. J. Beck, Y. J. Yoon, K. A. Reynolds, D. H. Sherman, *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 575–583.
- [258] J. D. Kittendorf, B. J. Beck, T. J. Buchholz, W. Seufert, D. H. Sherman, *Chem. Biol.* **2007**, *14*, 944–954.
- [259] I. Thomas, C. J. Martin, C. J. Wilkinson, J. Staunton, P. F. Leadlay, *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 781–787.
- [260] M. Müller, B. Kusebauch, G. Liang, C. M. Beaudry, D. Trauner, C. Hertweck, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 7999–8002; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7835–7838.