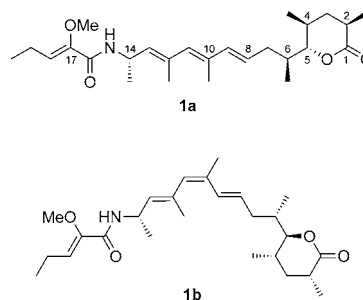


Pellasuren: Struktur, Biosynthese und Totalsynthese eines zytotoxischen Sekundärmetaboliten aus *Sorangium cellulosum***

Christine Jahns, Thomas Hoffmann, Stefan Müller, Klaus Gerth, Peter Washausen, Gerhard Höfle, Hans Reichenbach, Markus Kalesse* und Rolf Müller*

Auf der Suche nach neuen biologisch aktiven Wirkstoffen hat sich die Untersuchung myxobakterieller Sekundärmetabolite vielfach bewährt.^[1–3] Hier stellen wir Pellasuren vor, einen weiteren aus dem Myxobakterium *Sorangium cellulosum* So ce38 isolierten Naturstoff. Neben der kompletten Strukturauflösung konnten wir durch Identifizierung des *pel*-Genlocus ferner die Biosynthese des Moleküls erläutern und dabei die Beteiligung einer ungewöhnlichen Glycolat-Verlängerungseinheit postulieren. Die Arbeit umfasst außerdem die erste Totalsynthese von Pellasuren und ermöglicht somit die eindeutige Bestimmung der absoluten Konfiguration dieses Naturstoffs.

Pellasuren (**1**; Schema 1) wurde ursprünglich in einem aktivitätsbasierten Screening in *S. cellulosum* So ce35 gefunden.^[4] Erst kürzlich konnten wir mittels LC-MS-Analysen vergleichsweise große Mengen von **1** in Extrakten des verwandten Stammes *S. cellulosum* So ce38 nachweisen. Aktivitätstests zeigten mit einem IC₅₀-Wert von 155 nm eine nennenswerte zytotoxische Aktivität gegen Darmkrebszellen der Linie HCT-116. Parallel dazu erfolgte die Aufklärung der Struktur durch NMR- und hrESI-MS-Messungen, wobei die Identität des Pellasurens in beiden Stämmen zweifelsfrei nachgewiesen wurde (siehe Hintergrundinformationen, Abbildungen S.1–3 und Tabelle S.1).



Schema 1. Struktur von Pellasuren A (**1a**) und B (**1b**).

Die Struktur des Pellasurens weist eine für Naturstoffe seltene Enoether-Funktionalität auf, die nur für wenige Naturstoffe dokumentiert wurde. HMBC-Kopplungen zwischen einem Methoxysignal und einem sp²-hybridisierten Kohlenstoff geben hierfür eindeutige Hinweise (Abbildung S.1).^[5–7] Das δ -Lacton konnte ebenfalls anhand einer HMBC-Kopplung zwischen C1 und C5 sowie durch charakteristische Verschiebungen von 4.02 ppm für H-5 und 90.3 ppm für C5 identifiziert werden. Die Position der Amidbindung wurde durch Analyse der Fragmente in CID-MS²-Spektren untermauert, während die relative Konfiguration des Moleküls durch NOE-Spektroskopie und theoretische Studien postuliert wurde. Basierend darauf liegt eine *anti*-Konfiguration der C4- und C5-Substituenten sowie eine *syn*-Konfiguration der Methylgruppen an C2 und C4 vor (Abbildung S.2). Die Konfiguration an C14 wiederum beruht auf dem biosynthetischen Einbau eines L-Alanins und wird entsprechend beibehalten, insbesondere da keine Epimerisierungsdomäne im Modul vorliegt. Die Konfiguration des C6-Atoms konnte letztlich nur durch die Totalsynthese bestimmt werden. Es wurde außerdem ein weiteres Derivat des Pellasurens gefunden, das sich lediglich in der Konfiguration der C10-C11-Doppelbindung unterscheidet. Pellasuren A (**1a**) entspricht einer all-*E*-Konfiguration, während Pellasuren B (**1b**), höchstwahrscheinlich beruhend auf einer photochemisch induzierten Isomerisierung, eine (*Z*)-C10-C11-Konfiguration aufweist.

Aufgrund der Struktur konnten wir annehmen, dass Pellasuren ein PKS-NRPS-Hybrid ist, mit Alanin als einzigem Aminosäurebaustein.^[8] Um die biochemische Grundlage der Pellasurenbiosynthese zu ermitteln, wurden zunächst alle potentiellen PKS/NRPS-Domänen im Genom des sequenzierten Stammes *S. cellulosum* So ce38 mithilfe bioinformatischer Methoden annotiert.^[9] Im Folgenden war es uns möglich, eine passende Anordnung von Domänen zu ermitteln, die neben der für Alanin spezifischen Adenylierungs-

[*] C. Jahns,^[†] Prof. Dr. M. Kalesse
Institut für Organische Chemie, Leibniz-Universität Hannover
Schneiderberg 1B, 30167 Hannover
und
Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI)
Inhoffenstraße 7, Braunschweig (Deutschland)
E-Mail: markus.kalesse@oci.uni-hannover.de

T. Hoffmann,^[‡] S. Müller, Prof. Dr. R. Müller
Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland
(HIPS), Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung und Pharmazeutische Biotechnologie, Universität des Saarlandes
Campus, Gebäude C2.3, 66123 Saarbrücken (Deutschland)
E-Mail: rom@helmholtz-hzi.de

Dr. K. Gerth, Dr. P. Washausen, Prof. Dr. G. Höfle,
Prof. Dr. H. Reichenbach
Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI)
Inhoffenstraße 7, Braunschweig (Deutschland)

[†] Diese Autoren trugen zu gleichen Teilen zu dieser Arbeit bei.

[**] Wir danken Daniel Krug für das Korrekturlesen, Jennifer Herrmann für Aktivitätstests und Susanne Schneiker-Bekel für Arbeiten zur Genomsequenzierung. Die Forschung im Labor von R.M. wird vom Bundesministerium für Bildung und Forschung und der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201200327> zu finden.

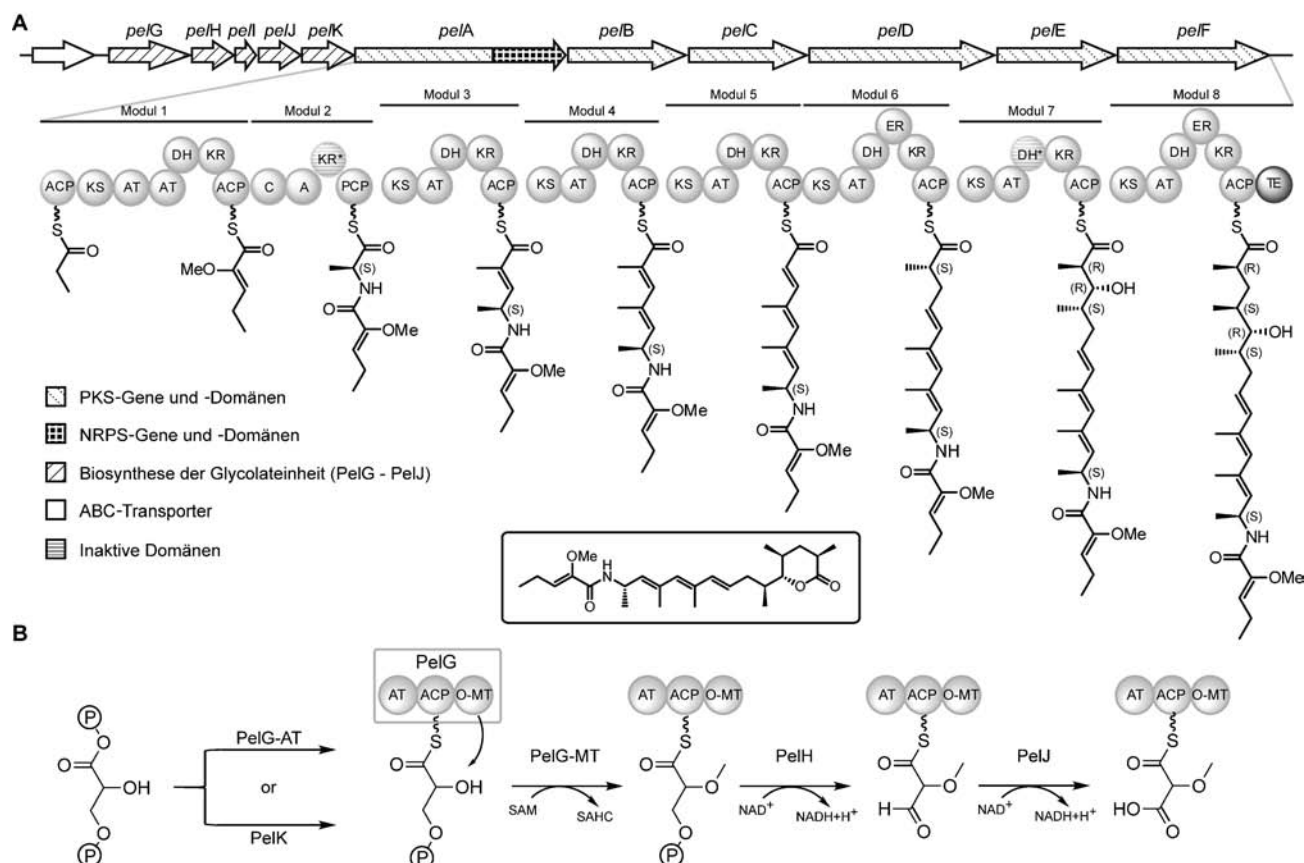
domäne alle erwarteten Enzyme zur Biosynthese beinhaltet. Dieser *pel*-Locus umfasst einen Bereich von ca. 57500 Basenpaaren (bp) und umfasst neben einer NRPS-Einheit sieben weitere, charakteristische PKS-Module (Schema 2a). Durch gezielte Unterbrechung mittels homologer Rekombination konnte das Gencluster eindeutig der Pellasorenbiosynthese zugeordnet werden. Dazu wurde ein Plasmid mit einer Hygromycinresistenz in Modul 7 integriert und infolgedessen die Produktion von Pellasoren vollständig unterbunden (Abbildung S.5)

Entsprechend der üblichen Biosynthesemechanismen von PKS- bzw. NRPS-basierten Naturstoffen können wir davon ausgehen, dass die Biosynthese mit einem ACP-gebundenen Propionat beginnt. Modul 1 katalysiert die Kondensation des gebundenen Propionats mit einer vergleichsweise seltenen Glycolateinheit, gefolgt von der Erweiterung um ein L-Alanin in Modul 2. Das Molekül wird daraufhin sukzessive durch PKS-Module verschiedener Spezifität erweitert. Nach zwei Verlängerungsschritten mit Methylmalonyl-CoA (mM-CoA, Modul 3 und 4) folgt einmal Malonyl-CoA (M-CoA, Modul 5) sowie drei Erweiterungen mit mM-CoA (Module 6 bis 8). Das ACP-gebundene Produkt wird schließlich durch eine terminale TE-Domäne über Lactonisierung vom Biosyntheseapparat abgespalten (Schema 2a). Die Reihenfolge und auch die Funktion der von *pelA* bis *pelF* beschriebenen

Gene entsprechen nahezu vollständig dieser vorgeschlagenen Biosyntheseroute.

So sind die bioinformatisch ermittelten Spezifitäten der AT-Domänen und der A-Domäne im Einklang mit der Struktur (Tabelle S.5 und Abbildung S.4). Ebenso entspricht die Reihenfolge der KR-, DH- und ER-Domänen der im Pellasoren vorliegenden Abfolge von vollständig reduzierten Verlängerungseinheiten. Nur die Module 2 und 7 umfassen zwei, anscheinend überflüssige Domänen: Eine Ketoreduktase (*PelA-KR₂*) und eine Dehydratase (*PelE-DH*). Durch vergleichende Sequenzanalysen konnten wir in beiden Fällen Abweichungen im hoch konservierten Aminosäuremotiv feststellen und daraus eine Funktionsstörung des resultierenden Enzyms ableiten (Tabelle S.4 und S.6).

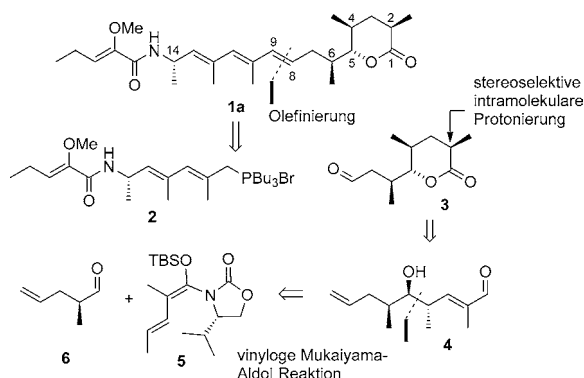
Pellasoren hat mehrere Stereozentren (C2, C4, C5, C6, C14), deren Konfiguration im Laufe der Biosynthese festgelegt wird. Da im NRPS-Teil keine Epimerisierungsdomäne vorliegt, kann bei C14 von einer *S*-Konfiguration ausgegangen werden, entsprechend eines L-Alanins, welches hier als Verlängerungseinheit diente. Die Stellung der Methylgruppen an C4 und C5 wird durch die Spezifität der *PelE-KR*-Domäne in Modul 7 bedingt. Alle aktiven KR-Domänen sind vom B-Typ,^[10] womit die 4*R*,5*R*-Konfiguration bestätigt ist. Die zwei verbleibenden Stereozentren an C2 und C6 werden im Zuge der Reduktion durch *PelD-ER* (Modul 6) bzw. *PelF*-



Schema 2. A) Der *pel*-Genlocus in *Sorangium cellulosum* So ce38 und die darauf aufbauende Biosynthese des Pellasorens. B) Möglicher biosynthetischer Ursprung der Glycolateinheit, wobei das Phosphoglycerat theoretisch sowohl von *PelK* als auch von *PelG-AT* auf *PelG-ACP* geladen werden kann. A: Adenylierungsdomäne, ACP: Acyl-Carrier-Protein, AT: Acyltransferase, C: Kondensationsdomäne, DH: Dehydratase, ER: Enoylreduktase, KR: Ketoreduktase, KS: Ketosynthase, TE: Thioesterase.

ER (Modul 8) gebildet (Schema 2a). Im Hinblick auf die Produktspezifität von ER-Domänen haben Kwan et al. einige für die Reaktion wichtige, konservierte Aminosäurereste beschrieben.^[11] Dabei wurde die Anwesenheit eines Tryptophanrestes an Position 52 mit der Bildung eines 2*S*-konfigurierten Intermediates korreliert, während die Abwesenheit des Trp52 bevorzugt zu einem 2*R*-Produkt führte. Da in der Pellasorenbiosynthese die entsprechenden ER-Domänen an Position 52 ein Leu aufweisen, würde man für beide Fälle eine 2*R*-Konfiguration erwarten. Interessanterweise entsteht im Zuge der Biosynthese sowohl ein Stereozentrum mit 2*S* (PelD-ER) als auch eines mit 2*R* (PelF-ER). Dieser Konflikt zwischen bioinformatischer Prognose und NMR-Daten war letztlich nur durch eine Totalsynthese des Pellasorens (**1a**) aufzuklären, wobei die NMR-basierte Struktur als Vorbild diente.

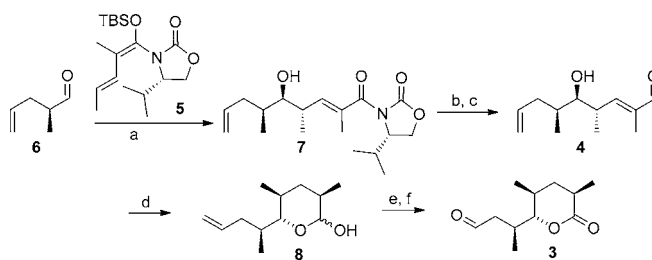
Unsere retrosynthetische Analyse unterteilt Pellasoren in zwei Fragmente (**2** und **3**), die im letzten Schritt der Synthese durch eine Wittig-Olefinierung miteinander gekuppelt werden können. Der Vorteil dieser Route besteht im Aufbau des labilen Doppelbindungssystems am Ende der Synthese (Schema 3). Das benötigte Westfragment **2** kann durch eine Sequenz von acht Stufen ausgehend von L-Alanin (**9**) herge-



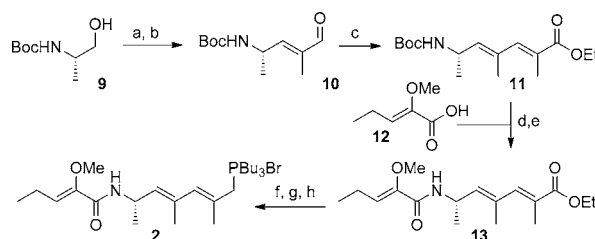
Schema 3. Retrosynthetische Analyse von Pellasoren A.

stellt werden. Das Ostfragment **3**, das die Lacton-Untereinheit enthält, kann über eine intramolekulare, stereoselektive Protonierung eines Aldehydenolats aufgebaut werden. Dazu wird der ungesättigte Aldehyd **4** mit Strykers Reagens^[12] umgesetzt und das dabei entstandene Enolat intramolekular durch den sekundären Alkohol protoniert.^[13] Der Aufbau von **4** soll durch eine *anti*-selektive vinyloge Mukaiyama-Aldolreaktion (VMAR)^[14] des Vinylketensilyl-*N,O*-acetals **5** mit Aldehyd **6** erfolgen (Schema 4).

Das Westfragment **2** wurde ausgehend vom Bocgeschützten Aminoalkohol **9** synthetisiert (Schema 5). Durch eine Swern-Oxidation^[16] wurde der entsprechende Aldehyd erhalten. Dieser wurde schließlich durch zwei aufeinanderfolgende Olefinierungen zuerst zu Aldehyd **10** und anschließend zu Ester **11** umgesetzt. Speziell der durch die Oxidation von **9** erhaltene Aminoaldehyd wurde dabei zügig in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt, um unerwünschte Racemisierung zu vermeiden. Die Bestimmung des Enantiomerenüberschusses auf der Stufe des Esters **11** ergab einen



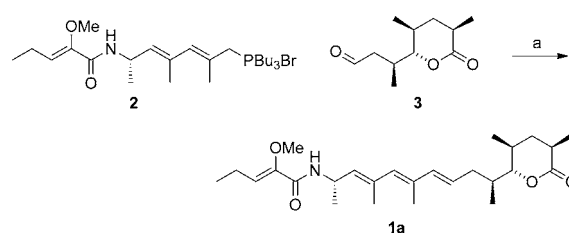
Schema 4. Synthese des Aldehyds **4** über eine stereoselektive, intramolekulare Protonierung. a) TiCl_4 , CH_2Cl_2 , -78°C bis -30°C , 18 h, 61 % (über zwei Stufen), d.r. 17:1; b) LiBH_4 , THF, MeOH, 0°C , 3 h, 90%; c) MnO_2 , CH_2Cl_2 , RT, 2 h, quant.; d) Strykers Reagens, Benzol, RT, 15 h, 65%, d.r. 20:1; e) TPAP, NMO, MS 4 Å, CH_2Cl_2 , RT, 14 h, 90%; f) O_3 , CH_2Cl_2 , -78°C , 10 min, dann PPH₃, RT, 1 h, quant. Strykers Reagens = $[(\text{PPH}_3)\text{CuH}]_6$, TPAP^[15] = Tetrapropylammoniumperperruthenat, NMO = *N*-Methylmorpholin-*N*-oxid, MS = Molekularsieb.



Schema 5. Synthese des Westfragments **2**. a) $(\text{COCl})_2$, DMSO, Et_3N , CH_2Cl_2 , -78°C bis 0°C , 2 h; b) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CHO}$, Toluol, 90°C , 14 h, 65 % (über zwei Stufen); c) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{Et}$, CH_2Cl_2 , RT, 16 h, 85%, 80%*ee* (durch GC an chiraler Säule ermittelt); d) TFA, CH_2Cl_2 , 0°C , 30 min; e) **12**, EDC, HOBT, CH_2Cl_2 , 0°C , RT, 14 h, 82 % (über zwei Stufen); f) DiBAL-H, CH_2Cl_2 , -78°C , 2 h, 87%; g) CBr_4 , PPH₃, CH_2Cl_2 , RT, 5 min, 76%; h) PBr_3 , MeCN, RT, 3 h, quant. TFA = Trifluoressigsäure, EDC = 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-Hydrochlorid, HOBT = 1-Hydroxybenzotriazol, DiBAL-H = Diisobutylaluminiumhydrid.

ee-Wert von 80%. Nach Entfernen der Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure (TFA) in CH_2Cl_2 bei 0°C und Peptidkupplung mit Säure **12**, welche über zwei Stufen aus 2-Oxovaleriansäure erhältlich ist,^[17] wurde Verbindung **13** erhalten. Im weiteren Verlauf der Synthese wurde Ester **13** reduziert und der erhaltene Alkohol in einer Appel-Reaktion^[18] zum Bromid umgesetzt. Die Reaktion mit PBr_3 ergab schließlich das Westfragment **2** als Phosphoniumbromid.

Mit den beiden Schlüsselfragmenten **2** und **3** konnte die Synthese von Pellasoren A (**1a**) abgeschlossen werden (Schema 6). Dazu wurden die beiden Fragmente zwischen C8



Schema 6. Abschluss der Totalsynthese von Pellasoren A (**1a**). a) KOtBu , THF, -78°C bis RT, 15 h, 46%.

und C9 mithilfe einer *E*-selektiven Olefinierung verknüpft. Durch den Vergleich der ¹H-NMR-Daten von synthetischem und authentischem Pellasoren konnte schließlich die relative Konfiguration von Pellasoren bestätigt werden (siehe Hintergrundinformationen). Da beide chromophoren Gruppen des Moleküls an C14 miteinander verbunden sind, sollte die Aufklärung der absoluten Konfiguration zusätzlich durch den Vergleich der Circular dichroismus (CD)-Spektren erfolgen. Für eine eindeutige Zuordnung wurde das entsprechende (14*R*)-Pellasoren unter Nutzung der oben beschriebenen Synthesestrategie synthetisiert. Der anschließende Vergleich der NMR- und CD-Daten von Pellasoren (**1a**), (14*R*)-Pellasoren und einer authentischen Probe verifizierte schließlich die absolute und relative Konfiguration des Pellasorens (**1a**) entsprechend der Darstellung von **1a** in Schema 1.

Die Totalsynthese bestätigt also die aus den NMR-Daten abgeleitete Struktur und hebt dabei die Grenzen hervor, denen die rein bioinformatische Analyse derzeit noch unterliegt. Umso hilfreicher erscheinen die zwei ER-Domänen des Pellasorens, um bestehende Vorhersagemodelle weiter zu optimieren. Immerhin zeigen beide Domänen eine Identität von 92.4 % bei einer Länge von 315 Aminosäuren. Innerhalb der Konsensussequenz weicht nur die Aminosäure an Position 43 ab, entspricht sie doch in einem Falle einem Arg43 und im anderen einem Leu43. Die Annahme, dass diese Position an der Produktstereospesifität von ER-Domänen beteiligt ist, liegt daher nahe.

Die Biosynthese der eher seltenen „Glycolateinheit“ wird durch fünf zusätzliche Gene ermöglicht, die strangaufwärts von *pelA*–*F* codiert sind. PelG bis PelK zeigen hohe Ähnlichkeit zu Proteinen, die bei der Biosynthese von Soraphen, Ansamitocin und FK-520 ebenfalls für die Herstellung von Glycolateinheiten zuständig sind (Tabelle 1). Leider konnten

Wir nehmen an, dass 1,3-Bisphosphoglycerat in Analogie zur Soraphenbiosynthese prozessiert und mittels PelG-AT auf PelG-ACP geladen wird. Dort wird das gebundene Substrat durch die zum PelG-Komplex gehörende SAM-abhängige Methyltransferase methyliert. Für gewöhnlich werden diese Schritte durch gesonderte Proteine realisiert, nicht jedoch beim Soraphen und Pellasoren. Vielmehr liegt hier ein trifunktionelles Enzym vor (Schema 2b). Es ist zudem erwähnenswert, dass die Präsenz von *pelK* nicht zu erwarten war, hatten wir doch die gleiche Funktion dem AT-Teil von PelG zugeschrieben. PelK zeigt Homologie zu FkbH, seinerseits ein Protein aus der FK-520-Synthese, das 1,3-Bisphosphoglycerat auf FkbJ belädt.^[5] Die Soraphenbiosynthese kennt kein FkbH-Analogon, benutzt jedoch stattdessen ein Homolog des PelG. Unter diesen Aspekten erscheint die Gegenwart von *pelK* als redundant. Der *pel*-Locus ist das erste Beispiel mit solch einer Anordnung, wobei man jedoch bei aller Diskussion darauf hinweisen muss, dass für keine der in Frage kommenden Naturstoffe die Biosynthese der Glycolateinheit eindeutig bewiesen ist. So wirft die hier gemachte Entdeckung weitere Fragen über die genauen Abläufe auf und wird infolgedessen ein Thema weiterer Studien sein, ebenso wie die gezielte Unterbrechung von *pelK*, welche bedingt durch die Operonstruktur aber leider nicht trivial ist.

In Bezug auf biologische Aktivität zeigt Pellasoren A mit einem IC₅₀-Wert von 155 nM eine gute Zytotoxizität gegen Darmkrebszellen der Linie HCT-116. Interessant ist die verminderte Aktivität des Pellasorens B mit einem IC₅₀-Wert von nur 2.35 μM. Hier scheint die lineare Grundstruktur des Pellasorens A für die Wirkung von Vorteil zu sein. Des Weiteren zeigen beide Derivate einen nennenswerten Effekt auf Lysosomen von Osteosarkoma-Zellen (U-2 OS). Im Acridinorange-Test konnte eine deutliche pH-Änderung der Lysosomen festgestellt werden (Abbildung S.10), ein Effekt, der in einem derzeit unbekannten apoptotischen Mechanismus begründet liegt.^[19]

Zusammenfassend beschreiben wir hier einen neuen zytotoxischen Naturstoff aus *Sorangium cellulosum*, dessen absolute Konfiguration wir nur durch Realisierung der ersten Totalsynthese zweifelsfrei nachweisen konnten. Dabei diente eine Wittig-Reaktion im letzten Schritt dazu, das empfindliche Polyen-System ins Molekül einzubringen. Weitere Schlüsselschritte sind die vinyloge Mukaiyama-Aldolreaktion eines chiralen Vinylketensilyl-*N,O*-acetals und die stereoselektive, intramolekulare Protonierung. Beide Methoden wurden hier erstmals in der Naturstoffsynthese erfolgreich eingesetzt. Mit Entdeckung der biosynthetischen Grundlage des Pellasorens konnten wir außerdem einen weiteren Weg zur seltenen Glycolateinheit liefern und zudem deutlich machen, dass bioinformatische und chemische Analysen stets Hand in Hand gehen sollten.

Tabelle 1: Vergleich von Proteinen, die an der Biosynthese der Glycolateinheit in verschiedenen Naturstoffen beteiligt sind.

An der Pellasorenbiosynthese beteiligte Proteine aus *So ce38*

Protein	aa ^[a]	Erwartete Funktion des homologen Proteins	Übereinstimmung/Ähnlichkeit	
			Gene der Soraphen-Biosynthese	Gene der FK-520-Biosynthese
PelG	794	Acyltransferase (28–355)	57/65 % (SorC, AT-Teil)	18/26 % (FkbH)
		Pant-tragender Bereich (427–480)	22/28 % (SorC, ACP-Teil)	21/29 % (FkbJ)
		FkbM-Methyltransferase (589–744)	39/48 % (SorC, OMT-Teil)	8/15 % (FkbG)
PelH	283	Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase	74/82 % (SorD)	36/51 % (FkbK)
PelI	93	Acyl-Carrier-Protein	57/67 % (SorX)	27/44 % (FkbJ)
PelJ	384	Acyl-CoA-Dehydrogenase	49/60 % (SorE)	33/48 % (FkbI)
PelK	376	HAD-Phosphatase	nicht vorhanden	41/57 % (FkbH)

[a] Zahl der Aminosäuren.

wir trotz diverser Fütterungsversuche keinen gezielten Einbau von Glycerin ins Molekül nachweisen. Die starke Verstoffwechselung der isotoptenmarkierten Vorläuferverbindungen verhinderte eindeutige auf MS/MS-Analysen basierende Rückschlüsse (Abbildung S.7).^[7] Nichtsdestotrotz ist angesichts der Genanordnung und deren Ähnlichkeit zu bekannten Vertretern aus unserer Sicht die in Schema 2 geschilderte Biosynthese zu postulieren.

Experimentelles

Der *pel*-Locus wurde in der EMBL-Datenbank unter der Identifikationsnummer HE616533 hinterlegt. Alle experimentellen Details sowie die Auswertung der Spektrendaten und die bioinformatischen Ergebnisse befinden sich in den Hintergrundinformationen.

Eingegangen am 12. Januar 2012,
veränderte Fassung am 16. Februar 2012
Online veröffentlicht am 5. April 2012

Stichwörter: Biosynthese · Myxobakterien · Naturstoffe ·
Sorangium cellulosum · Totalsynthese

- [1] K. Gerth, H. Steinmetz, G. Höfle, R. Jansen, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 610–613; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 600–602.
- [2] S. C. Wenzel, R. Müller, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2009**, *12*, 220–230.
- [3] H. Irschik, H. Reichenbach, G. Höfle, R. Jansen, *J. Antibiot.* **2007**, *60*, 733–738.
- [4] H. Reichenbach, G. Höfle in *Drug Discovery from Nature* (Hrsg.: S. Grabley, R. Thiericke), Springer, Berlin, **1999**, S. 173.
- [5] B. J. Carroll, S. J. Moss, L. Q. Bai, Y. Kato, S. Toelzer, T. W. Yu, H. G. Floss, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4176–4177.
- [6] K. Wu, L. Chung, W. P. Revill, L. Katz, C. D. Reeves, *Gene* **2000**, *251*, 81–90.
- [7] 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.
- [8] S. C. Wenzel, R. Müller, *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 1385–1407.
- [9] B. O. Bachmann, J. Ravel, *Methods Enzymol.* **2009**, *458*, 181–217.
- [10] a) P. Caffrey, *ChemBioChem* **2003**, *4*, 654–657; b) R. Reid, M. Piagentini, E. Rodriguez, G. Ashley, N. Viswanathan, J. Carney, D. V. Santi, C. R. Hutchinson, R. McDaniel, *Biochemistry* **2003**, *42*, 72–79.
- [11] D. H. Kwan, Y. Sun, F. Schulz, H. Hong, B. Popovic, J. C. Sim-Stark, S. F. Haydock, P. F. Leadlay, *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 1231–1240; Lit. [1].
- [12] a) W. S. Mahoney, D. M. Brestensky, J. M. Stryker, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 291–293; b) B. H. Lipshutz, J. M. Serevesko, B. R. Taft, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8352–8353.
- [13] A. Kena Diba, C. Noll, M. Richter, M. T. Gieseler, M. Kalesse, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 8545–8547; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 8367–8369.
- [14] a) S. Shirokawa, M. Kamiyama, T. Nakamura, M. Okada, A. Nakazaki, S. Hosokawa, S. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13604–13605; b) eine allgemeine Übersicht hierzu: G. Casiraghi, L. Battistini, C. Curti, G. Rassu, F. Zanardi, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 3076–3154; c) S. Shirokawa, M. Shinoyama, I. Ooi, S. Hosokawa, A. Nakazaki, S. Kobayashi, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 849–852; d) S. Hosokawa, K. Matsushita, S. Tokimatsu, T. Toriumi, Y. Suzuki, K. Tatsuta, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 5532–5536.
- [15] S. V. Ley, J. Norman, W. P. Griffith, S. P. Marsden, *Synthesis* **1994**, 639–666.
- [16] K. Omura, D. Swern, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1651–1660.
- [17] A. Fürstner, M. M. Domostoj, B. Scheiper, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 11620–11621.
- [18] R. Appel, *Angew. Chem.* **1975**, *87*, 863–874; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1975**, *14*, 801–811.
- [19] a) K. Kågedal, M. Zhao, I. Svensson, U. T. Brunk, *Biochem. J.* **2001**, *359*, 335–343; b) A. C. Johansson, H. Appelqvist, C. Nilsson, K. Kågedal, K. Roberg, K. Ollinger, *Apoptosis* **2010**, *15*, 527–540.