



# Disciformycine A und B: zwölfgliedrige Macrolid-Glycosid-Antibiotika aus dem Myxobakterium *Pyxidicoccus fallax* mit Aktivität gegen multiresistente Staphylokokken\*\*

Frank Surup, Konrad Viehriig, Kathrin I. Mohr, Jennifer Herrmann, Rolf Jansen und Rolf Müller\*

**Abstract:** Zwei Macrolid-Glycoside mit einer einzigartigen Grundstruktur wurden aus Kulturen des Myxobakteriums *Pyxidicoccus fallax* isoliert. Die chemische Struktur mit der absoluten Konfiguration wurde anhand einer Kombination von NMR-Spektroskopie, MS, chemischem Abbau und Molecular Modeling aufgeklärt. Eine Analyse des mutmaßlichen Biosynthesegenclusters vermittelte Einblicke in die Biosynthese des Polyketids und bestätigte die Strukturanalyse. Die aktivere Komponente, Disciformycin B, wirkt sehr gut gegen methicillin- und vancomycinresistente *Staphylococcus aureus*-Stämme.

**S**taphylococcus aureus verursacht schwerwiegende Infektionen, besonders in Kliniken, wobei speziell das Auftreten multiresistenter und methicillinresistenter (MRSA-)Stämme ein ernstzunehmendes Problem für die öffentliche Gesundheit ist.<sup>[1]</sup> Entsprechend dringend werden neuartige Antibiotika zur Behandlung solcher Infektionen benötigt.<sup>[2]</sup>

Myxobakterien produzieren eine große Vielfalt neuer und teilweise einzigartiger Sekundärmetabolite, unter anderem das Zytostatikum Epothilon,<sup>[3]</sup> das Antibiotikum Sorangicin<sup>[4]</sup> oder das antimykotisch wirkende Soraphen.<sup>[5]</sup> Um das enorme genetische Potenzial noch unentdeckter Metaboliten

zu erschließen,<sup>[6]</sup> werden momentan ausgewählte Vertreter einer 8550 Stämme umfassenden Stammsammlung erneut kultiviert und auf Produktion neuer antibakterieller Substanzen hin geprüft.<sup>[7,8]</sup>

Der *Pyxidicoccus fallax*-Stamm AndGT8 fiel dabei durch eine Bioaktivität gegen Gram-positive Indikatorbakterien auf. Da keine der UV-MS-charakterisierten Substanzen in den biologisch aktiven Umkehrphasen(RP)-HPLC-Fraktion in unserer internen Substanzdatenbank „Myxobase“<sup>[9]</sup> und genauso wenig im „Dictionary of Natural Products“<sup>[10]</sup> verzeichnet war, wurde dieser Stamm für eine genauere Untersuchung ausgewählt.

Die durch die Bioaktivität gegen *N. flava* geleitete Fraktionierung des Extraktes aus einer ersten Fermentation im 10-L-Maßstab führte zur Isolierung von 1.0 mg Disciformycin A (**1**). Dessen Summenformel C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>O<sub>10</sub> wurde mit HR-ESI-MS bestimmt, woraus sich acht Doppelbindungsäquivalente ergaben. Die Zuordnung der Protonen zu ihren jeweiligen Kohlenstoffatomen erfolgte anhand des HMQC-Spektrums ([D<sub>4</sub>]Methanol), wonach drei austauschbare Protonen verblieben.

<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY und -TOCSY-Korrelationen zeigten sechs <sup>1</sup>H-Spinsysteme (Abbildung S1, Tabelle S1, S: Hintergrundinformationen). Diese Partialstrukturen wurden nachfolgend durch <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-HMBC-Korrelationen zusammengefügt: Die Korrelation der Methylgruppe H<sub>3</sub>-15 zu C-1, der Methylen-Gruppe H<sub>2</sub>-4 und der Methingruppe H-6 zu C-5, der Methin-Gruppe H-7 und der Methylgruppe H<sub>3</sub>-16 zu C-8 sowie von H-11 und H<sub>3</sub>-17 zu C-12 führte zum Kohlenstoffgerüst des Aglycons. Die Tieffeldverschiebung von H-11 ( $\delta_{\text{H}}$  = 5.61 ppm) ließ auf eine Esterbindung für diese Position schließen, die durch HMBC-Korrelation zwischen H-11 und C-1 bestätigt wurde und so den Ringschluss des Makrolactons an dieser Position anzeigte. Die Konfiguration der methyl-substituierten Doppelbindungen wurde aus den ROESY-Korrelationen abgeleitet. Eine starke ROESY-Korrelation zwischen H<sub>3</sub>-15 und H-3 zeigte die Z-Konfiguration der  $\Delta^{2,3}$ -Doppelbindung an, während die ROESY-Korrelation zwischen H<sub>3</sub>-16 und H<sub>a</sub>-10 die E-Konfiguration der  $\Delta^{8,9}$ -Doppelbindung belegte. Anhand der ROESY-Korrelation zwischen H-13 und H<sub>3</sub>-17 wurde schließlich die  $\Delta^{12,13}$ -Z-Konfiguration in der Seitenkette des Aglycons erkannt. Eine <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-HMBC-Korrelation von H-6 mit C-1' bestätigte die Esterbindung der 3-Methylbuttersäure an C-6 und erklärt gleichzeitig die Tieffeldverschiebung von H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  = 5.05 ppm).

[\*] Dr. F. Surup, Dr. K. I. Mohr, Dr. R. Jansen, Prof. Dr. R. Müller  
Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI)  
Forschungsgruppe Mikrobielle Naturstoffe  
Inhoffenstraße 7, 38124 Braunschweig (Deutschland)  
K. Viehriig, Dr. J. Herrmann, Prof. Dr. R. Müller  
Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS), Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung und Institut für Pharmazeutische Biotechnologie, Universität des Saarlandes Campus, Gebäude C2.3, 66123 Saarbrücken (Deutschland)  
E-Mail: rom@helmholtz-hzi.de

Dr. F. Surup, K. Viehriig, Dr. K. I. Mohr, Dr. J. Herrmann,  
Dr. R. Jansen, Prof. Dr. R. Müller  
Deutsches Zentrum für Infektionsforschung (DZIF)  
Standort Braunschweig (Deutschland)

[\*\*] Wir danken Dr. Manfred Nimtz für die Bestimmung der Konfiguration des Zuckerrests, Christel Karkoschke für die NMR-spektroskopischen Messungen, Wera Collisi für technische Assistenz, Aileen Teichmann für HR-ESI-MS-Messungen, Bettina Hinkelmann für Bioassays, Wolfgang Kessler und seinem Team für die Fermentation sowie Heinrich Steinmetz und Dr. Klaus Gerth für das anfängliche Screening.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag (vollständige experimentelle Details einschließlich der Strukturaufklärung, der bioinformatischen Analyse und der NMR-Spektren) sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201406973> zu finden.

Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten von **1** waren charakteristisch für eine  $\alpha$ -Arabinofuranose-Konfiguration (gemessen:  $\delta_{\text{C}} = 110.6, 83.8, 79.1, 86.3, 63.0$  ppm; Methylfuranosid:  $\delta_{\text{C}} = 109.3, 81.9, 77.5, 84.9, 62.4$  ppm).<sup>[11]</sup> Deren absolute D-(–)-Konfiguration wurde durch GC-MS-Vergleich mit den (–)-2-Butylglycosid-Derivaten authentischer Standards bestimmt.<sup>[12]</sup>

Die relative Konfiguration des Aglycons von **1** konnte aus vicinalen Kopplungskonstanten und ROESY-Korrelationen abgeleitet werden (Abbildung S2). Die große Kopplungskonstante von  $J = 9.5$  Hz zwischen H-6 und H-7 und die fehlende ROESY-Korrelation zeigten deren *E*-Konfiguration an. Starke NOEs wurden für H-6 und H<sub>b</sub>-10 mit der Methylgruppe H<sub>3</sub>-16 ermittelt, aber nicht mit H-11. Andererseits zeigte H-7 einen starken NOE mit H-9, das wiederum selbst mit H-11 und H<sub>a</sub>-10 korrelierte und damit ein cisoidales Verhältnis zwischen H-7 und H-11 belegt.

Die absolute Konfiguration des Aglycons wurde aus der vorher bestimmten absoluten Konfiguration des D-(–)-Arabinosylrests abgeleitet: Eine starke ROESY-Korrelation zwischen H-1'' und H-7 bestätigte die typische Konformation des Glycosids in Lösung. Danach ermöglichte eine schwache, aber eindeutige Korrelation zwischen H-4'' und H<sub>3</sub>-16 die Zuordnung der Konfiguration des Stereozentrums C-7 (Abbildung 1). Damit wurde die absolute Konfiguration des Aglycons von Disciformycin A (**1**) als 6*S*,7*R*,11*R* bestimmt.

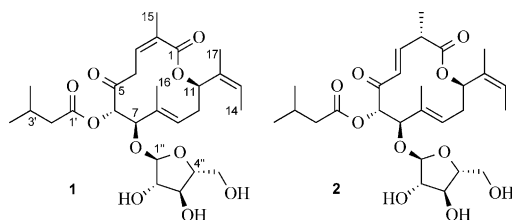


Abbildung 1. Strukturen von Disciformycin A (**1**) und B (**2**)

Nach Optimierung des Stammes AndGT8 und seiner Kulturbedingungen wurden aus einer 70-L-Fermentation 25.4 mg **1** und zusätzlich 7.6 mg eines Isomers **2** isoliert. Gemäß den 1D- und 2D-NMR-Daten des Isomers besteht der einzige Unterschied zu **1** in einer Verschiebung der  $\Delta^{2,3}$ -Doppelbindung zur Position  $\Delta^{3,4}$  mit *E*-Konfiguration, erkennbar an der großen Kopplungskonstanten  $J_{3,4} = 15.3$  Hz. Die NMR-Daten des C-6–C-11-Teils blieben gegenüber jenen von **1** weitgehend unverändert (Tabelle S2). Folglich kann auch für **2** von der 6*S*,7*R*,11*R*-Konfiguration ausgegangen werden.

Für die Aufklärung der Konfiguration von C-2 wurde ein Strukturmodell des Isomers **2** mit HyperChem (Abbildung 2) durch PM3 errechnet. Aufgrund der starren Strukturelemente, d. h. der Doppelbindung, des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ketons und des Esters ist der Kern des Moleküls in einer verdrehten Konfiguration fixiert, wobei die Protonen H-2, H-4, H-6 und die Methylgruppe H<sub>3</sub>-16 oberhalb der Hauptebene lokalisiert sind. Starke ROESY-Korrelationen zwischen H-4 und H-2 einerseits und von H-3 zur Methylgruppe H<sub>3</sub>-15 andererseits zeigen eine 2*S*-Konfiguration an.

Zur weiteren Bestätigung der ermittelten Struktur wurde das AndGT8-Genom sequenziert und mithilfe von anti-

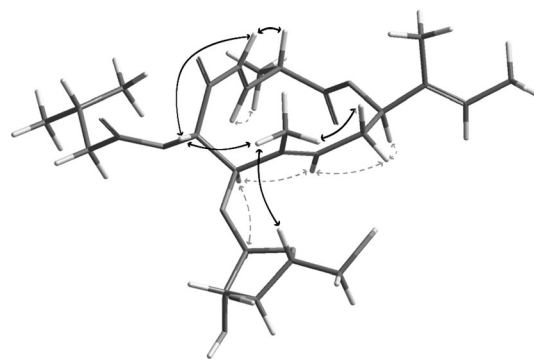


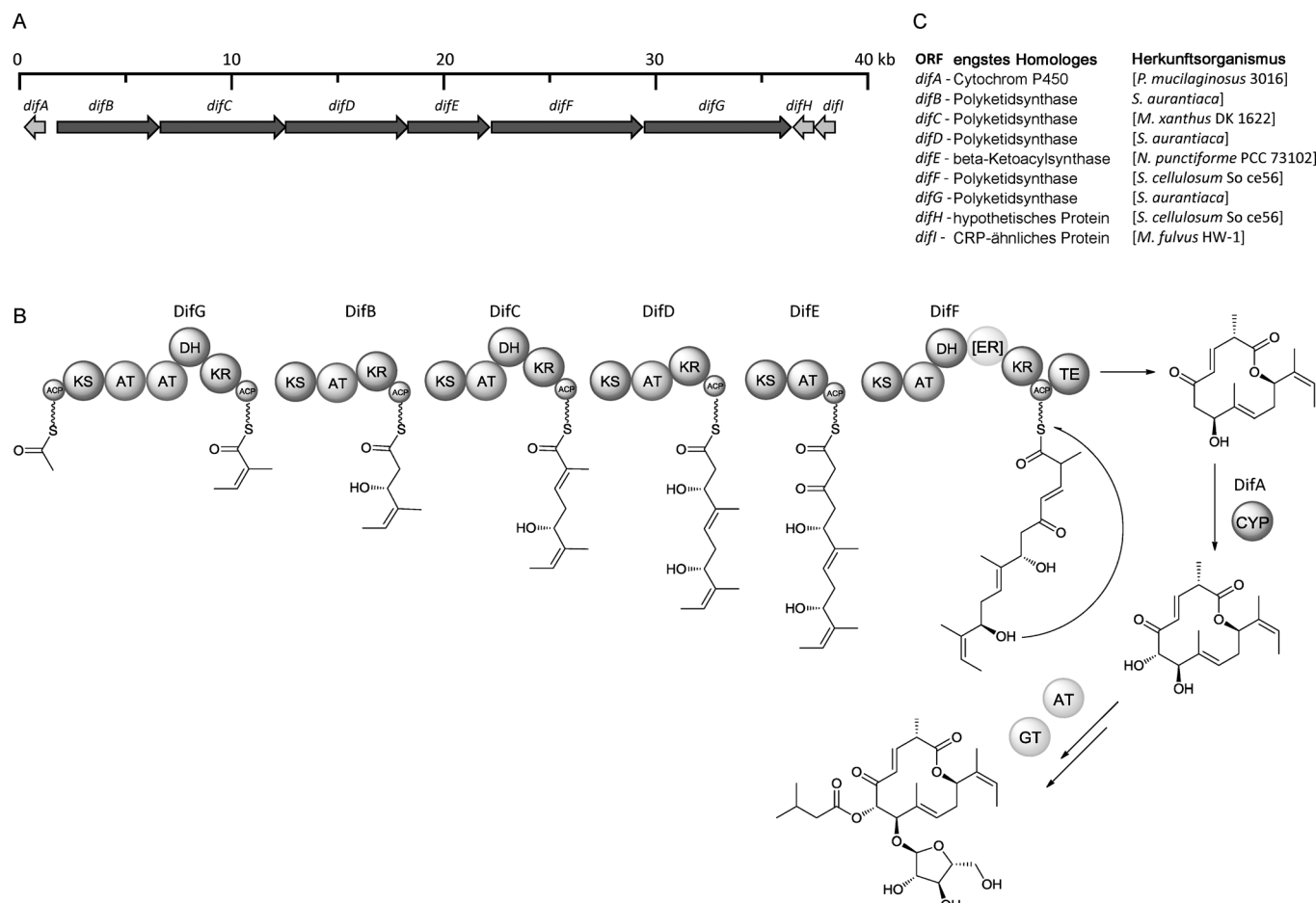
Abbildung 2. Modellstruktur von **2**, erstellt durch PM3-Berechnung mit HyperChem. Pfeile: ausgewählte ROESY-Korrelationen.

SMASH<sup>[13]</sup> nach einem zugehörigen Biosynthesegencluster durchsucht. Als geeigneter Genclusterkandidat wurde eine Teilgenomsequenz aus sechs linearen Typ-I-Polyketidsynthase(PKS)-Modulen identifiziert, deren Domänenanordnung den Reduktionsstufen des Polyketids entspricht. Der Kerncluster ist in Abbildung 3A gezeigt, zusammen mit weiteren annotierten offenen Leserastern (ORFs) und ihren vermutlichen Biosynthesefunktionen in Abbildung 3C. Die Gene *difB* bis *difG* codieren für die PKS-Gene, während *difA* für eine Cytochrom-P450-Monooxygenase codiert, die vermutlich an der Biosynthese beteiligt ist. Die Funktionen von *difH* und *difI* sind noch ungeklärt. Die modulare Anordnung der PKS wurde mit dem NRPS/PKS-Predictor<sup>[14]</sup> ermittelt und ist in Abbildung 3B zusammen mit dem vermutlichen Biosynthesevorschlag gezeigt.

Der Aufbau des Polyketids startet an DifG, das einem fusionierten Start- und Verlängerungsmodul ähnelt, wie es bereits in der Stigmatellinsynthese beobachtet wurde.<sup>[15]</sup> Das Polyketid wird anschließend an den Modulen DifB bis DifF verlängert und durch Makrolactonisierung freigesetzt. Das Modul DifF enthält eine Domäne mit unbekannter Funktion, lokalisiert zwischen der DH- und der KR-Domäne. Normalerweise nimmt diese Position bei vollständig reduzierenden Modulen die Enoylreduktase(ER)-Domäne ein. Tatsächlich konnte durch Analyse der Teilsequenz der für die NADPH-Bindung benötigte Rossmann-Fold nachgewiesen werden. Für ER-Domänen typische Sequenzmotive fehlen jedoch, weshalb es sich wahrscheinlich um eine katalytisch inaktive ER-Domäne handelt.

Die Substratspezifität der AT-Domänen wurde mithilfe vergleichender Sequenzanalyse<sup>[16]</sup> untersucht. Entsprechend ihren Sequenzmotiven sollten die ATs von DifB, DifD, DifE und DifG1 spezifisch für Malonyl-CoA sein, während die ATs der Module DifC, DifF und DifG2 ihre Spezifität für Methylmalonyl-CoA zeigen, was zur Struktur des Disciformycins passt. Die genaue Analyse der ATs ist in den Hintergrundinformationen aufgeführt.

Des Weiteren wurden die Sequenzen der *dif*-KR-Domänen nach Motiven untersucht, die eine Konfigurationsvorhersage für die Hydroxygruppen und Doppelbindungen im Molekül ermöglichen.<sup>[17,18]</sup> Anhand konservierter Sequenzmotive können die meisten KR-Domänen in A- oder B-Typen eingeteilt werden, die ihr jeweiliges Ketoacylsubstrat



**Abbildung 3.** A) Disciformycin-Biosynthesegencluster. PKS-Gene sind als dunkelgraue Pfeile dargestellt, andere ORFs als hellgraue Pfeile. B) Biosynthesehypothese für Disciformycin B. Die Hydroxygruppe an C-6 wird durch das Cytochrom-P450-Enzym DifA eingefügt. Die Gene für die Glycosyl- und die Acyltransferase der letzten beiden Biosyntheseschritte liegen außerhalb des Genclusters und sind noch nicht identifiziert. ACP=Acyl-carrierprotein-Domäne; AT=Acyltransferase(-Domäne); CYP=Cytochrom P450; DH=Dehydratase-Domäne; ER=Enoylreduktase-Domäne; GT=Glycosyltransferase; KS=Ketosynthetase-Domäne; KR=Ketoreduktase-Domäne; TE=Thioesterase-Domäne. C) Annotierte ORFs im *dif*-Gencluster und nächsthomologe Sequenz, ermittelt mit BLAST.

entweder zu einem *S*- oder zu einem *R*-konfigurierten sekundären Alkohol reduzieren. In einigen Fällen, in denen keine Aufklärung der absoluten Konfiguration eines Moleküls mit chemischen Methoden möglich ist, konnten auf diese Weise bereits Aussagen über die Konfiguration eines Moleküls gemacht werden.<sup>[19,20]</sup>

Im Disciformycinmolekül resultiert die *R*-konfigurierte Hydroxygruppe an C-7 aus einer Ketoreduktion durch die KR des Moduls DifD, die eine B-Typ-Sequenz aufweist. Die KR von DifB, welche die Ketofunktion an C-11 reduziert, kann weder dem A- noch dem B-Typ zugeordnet werden. Die *Z*- $\Delta^{12,13}$ -Doppelbindung resultiert aus Eliminierung nach Reduktion durch eine A-Typ-KR an Modul DifG, und die *E*- $\Delta^{8,9}$ -Doppelbindung entsteht durch Eliminierung nach Reduktion durch eine B-Typ-KR an Modul DifC. Die KR von DifF hat eine B-Typ-Sequenz, daher ist von einem *R*-konfigurierten Hydroxyacylintermediat auszugehen, das anschließend entweder zur *Z*- $\Delta^{2,3}$ -Doppelbindung in **1** oder zur *E*- $\Delta^{3,4}$ -Doppelbindung in **2** eliminiert wird. In **2** muss daher eine Verschiebung der Doppelbindung stattfinden, wie bereits für die Biosynthesen von Rhizoxin,<sup>[21]</sup> Ansamitocin,<sup>[22]</sup> Coral-

lopyronin<sup>[23]</sup> und Bacillaen<sup>[28]</sup> beschrieben. Diese Verschiebung der Doppelbindung findet normalerweise während der Biosynthese am kovalent mit der PKS verbundenen Substrat statt. In einigen Fällen, z.B. bei der Corallopyroninbiosynthese, findet die Verschiebung an einem separaten Modul statt, in anderen Fällen, z.B. Ansamitocin, wird die Verschiebung durch die eliminierende DH erwirkt. Da die *dif*-PKS kein separates Modul für die Verschiebung aufweist, ist für die Biosynthese von **2** von letzterem Fall auszugehen. Sequenzmerkmale, welche die Vorhersage solcher Verschiebungen in einer DH-Domäne anzeigen, sind noch nicht bekannt.

Die intermediäre Hydroxygruppe an C-6, die mit der 2-Methylbuttersäure verestert wird, wird von einem externen Enzym eingefügt, vermutlich von der durch *difA* codierten P450-Monooxygenase. Passende Gene für die nachfolgende Acylierung sowie die Glycosylierung an der Hydroxygruppe von C-7 konnten in der Nähe der PKS-Gene nicht gefunden werden. Das AndGT8-Genom weist jedoch eine Vielzahl potenzieller Acyl- und Glycosyl-Transferasene auf. Die Zuordnung dieser Gene wird dadurch erschwert, dass

AndGT8 trotz intensiver Versuche bislang noch nicht genetisch manipuliert werden konnte.<sup>[24,25]</sup>

Die Bestimmung der Bioaktivität von **1** und **2** zeigte eine starke antimikrobielle Aktivität (Tabellen 1 und S3) gegen Gram-positive Bakterien, speziell gegen Staphylokokken wie *S. carnosus* DSM-20501 und *S. aureus* Newman.<sup>[26]</sup> Zusätzlich

**Tabelle 1:** Minimale Hemmkonzentrationen (MICs) ausgewählter Bakterienstämme (in  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) und Halbhemmkonzentrationen für Zelllinien (IC<sub>50</sub> in  $\mu\text{M}$ ) von Disciformycin A (**1**) und Disciformycin B (**2**). VAN = Vancomycin.

	<b>1</b>	<b>2</b>	VAN
<i>Bacillus subtilis</i> DSM-10	4.2	0.8	0.25
<i>Staphylococcus carnosus</i> DSM-20501	7.8	2.4	0.25
<i>Staphylococcus aureus</i> Newman	8.0	1.2	0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> DSM-11822 (MRSA)	4.0	0.6	1.0
<i>Staphylococcus aureus</i> N315 (MRSA)	8.0	1.2	1.0
<i>Staphylococcus aureus</i> Mu50 (MRSA/VRSA)	2.0	0.6	16.0
Dickdarmkrebszellen HCT-116	> 10	> 10	–
Mausfibroblasten L929	> 10	> 10	–
Hamsteroovazellen CHO-K1	> 10	> 10	–

wurden zwei MRSA-Stämme inhibiert, *S. aureus* DSM-11822 und *S. aureus* N315.<sup>[27]</sup> Diese zeigen verminderte Empfindlichkeit gegen andere Antibiotikaklassen wie Macrolide und Chinolone, was ein möglicher Hinweis auf einen alternativen Wirkmechanismus von **1** und **2** ist. Die MICs der Disciformycine liegen im Bereich des Reserveantibiotikums Vancomycin (Tabelle S3). Insbesondere trat keine Kreuzresistenz zu Vancomycin auf, das in der Humanmedizin als Reserveantibiotikum eingesetzt wird. Dies zeigte sich durch die ausgeprägte Aktivität gegen methicillin- und vancomycinresistente *S. aureus* (MRSA/VRSA) Mu50 (ATCC 700699). Ebenfalls bedeutend ist, dass für Konzentrationen bis zu 10  $\mu\text{M}$  keine cytotoxischen Effekte gegen humane HCT-116-Dickdarmkrebszellen, Mausfibroblasten L929 und Hamsteroovazellen CHO-K1 festgestellt wurden.

Hier wurde die Strukturaufklärung zweier neuartiger Antibiotika aus *Pyxidicoccus fallax* AndGT8 vorgestellt. Die Identifikation und Analyse des zugrunde liegenden Biosynthesegenclusters bestätigten die durch die Strukturaufklärung ermittelte Konfiguration des potenteren Metaboliten **2**, der vermutlich das primäre Produkt der Biosynthese ist. Die Disciformycine A (**1**) und B (**2**) haben das Potenzial, Ausgangspunkt für die Entwicklung eines Arzneistoffes zu sein. Momentan konzentriert sich die weitere Arbeit in unserem Labor auf die Identifizierung des vermutlich neuartigen zellulären Angriffspunktes der Disciformycine. Auf jeden Fall bieten diese Verbindungen interessante neue Grundstrukturen für zukünftige Totalsyntheseansätze, die unter anderem weitere Einblicke in ihre Struktur-Aktivitäts-Beziehung geben werden.

Eingegangen am 7. Juli 2014

Online veröffentlicht am 7. Oktober 2014

**Stichwörter:** Antibiotika · Biosynthese · Myxobakterien · Polyketide · Sekundärmetaboliten

- [1] R. C. Moellering, *J. Antimicrob. Chemother.* **2012**, 67, 4–11.
- [2] M. A. Fischbach, C. T. Walsh, *Science* **2009**, 325, 1089–1093.
- [3] G. Höfle, N. Bedorf, H. Steinmetz, D. Schornburg, K. Gerth, H. Reichenbach, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 1567–1569; *Angew. Chem.* **1996**, 108, 1671–1673.
- [4] H. Irschik, R. Jansen, K. Gerth, G. Höfle, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* **1987**, 40, 7–13.
- [5] H. F. Vahlensieck, L. Pridzun, H. Reichenbach, A. Hinnen, *Curr. Genet.* **1994**, 25, 95–100.
- [6] S. C. Wenzel, R. Müller, *Nat. Prod. Rep.* **2009**, 26, 1385–1407.
- [7] A. Plaza, R. Müller in *Natural Products: Discourse, Diversity, and Design* (Hrsg.: A. Osbourn, R. Goss, G. T. Carter), Wiley, Oxford, **2014**, S. 103–124.
- [8] R. Müller, J. Wink, *Int. J. Med. Microbiol.* **2014**, 1, 3–13.
- [9] D. Krug, R. Müller, *Nat. Prod. Rep.* **2014**, 31, 768–783.
- [10] *Dictionary of Natural Products on DVD*, Chapman & Hall, CRC, Boca Raton, **2014**.
- [11] a) P. K. Agrawal, *Phytochemistry* **1992**, 31, 3307–3330; b) W. A. Bubb, *Concepts Magn. Reson. Part A* **2003**, 19, 1–19.
- [12] G. J. Gerwig, J. P. Kamerling, J. F. G. Vliegthart, *Carbohydr. Res.* **1978**, 62, 349–357.
- [13] K. Blin, M. H. Medema, D. Kazempour, M. A. Fischbach, R. Breitling, E. Takano, T. Weber, *Nucleic Acids Res.* **2013**, 41, W204–212.
- [14] B. O. Bachmann, J. Ravel, *Methods Enzymol.* **2009**, 458, 181–217.
- [15] S. Beyer, B. Kunze, B. Silakowski, R. Müller, *Biochim. Biophys. Acta Gene Struct. Expression* **1999**, 1445, 185–195.
- [16] G. Yadav, R. S. Gokhale, D. Mohanty, *J. Mol. Biol.* **2003**, 328, 335–363.
- [17] P. Caffrey, *ChemBioChem* **2003**, 4, 654–657.
- [18] A. T. Keatinge-Clay, *Chem. Biol.* **2007**, 14, 898–908.
- [19] S. Essig, S. Bretzke, R. Müller, D. Menche, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 19362–19365.
- [20] D. Janssen, D. Albert, R. Jansen, R. Müller, M. Kalesse, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 4898–4901; *Angew. Chem.* **2007**, 119, 4985–4988.
- [21] B. Kusebauch, B. Busch, K. Scherlach, M. Roth, C. Hertweck, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 1460–1464; *Angew. Chem.* **2010**, 122, 1502–1506.
- [22] F. Taft, M. Brunjes, T. Knobloch, H. G. Floss, A. Kirschning, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 3812–3813.
- [23] F. Lohr, I. Jenniches, M. Frizler, M. J. Meehan, M. Sylvester, A. Schmitz, M. Gutschow, P. C. Dorrestein, G. M. König, T. F. Schäberle, *Chem. Sci.* **2013**, 4, 4175–4180.
- [24] M. Kopp, H. Irschik, F. Gross, O. Perlova, A. Sandmann, K. Gerth, R. Müller, *J. Biotechnol.* **2004**, 107, 29–40.
- [25] Y. Chai, D. Pistorius, A. Ullrich, K. J. Weissman, U. Kazmaier, R. Müller, *Chem. Biol.* **2010**, 17, 296–309.
- [26] E. S. Duthie, *J. Gen. Microbiol.* **1952**, 7, 320–326.
- [27] K. Okonogi, Y. Noji, M. Kondo, A. Imada, T. Yokota, *J. Antimicrob. Chemother.* **1989**, 24, 637–645.
- [28] J. Moldenhauer, D. C. Gotz, C. R. Albert, S. K. Bischof, K. Schneider, R. D. Süssmuth, M. Engeser, H. Gross, G. Bringmann, J. Piel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 1465–1467; *Angew. Chem.* **2010**, 122, 1507–1509.