



Produktion mariner Naturstoffe aus der Klasse der Bengamide in Myxobakterien: Biosynthese und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen

Silke C. Wenzel, Holger Hoffmann, Jidong Zhang, Laurent Debussche, Sabine Haag-Richter, Michael Kurz, Frederico Nardi, Peer Lukat, Irene Kochems, Heiko Tietgen, Dietmar Schummer, Jean-Paul Nicolas, Loreley Calvet, Valerie Czepczor, Patricia Vrignaud, Agnes Mühlenweg, Stefan Pelzer, Rolf Müller und Mark Brönstrup**

Abstract: Bengamide, aus marinen Schwämmen stammende und als Inhibitoren der Methionin-Aminopeptidase (MetAP) charakterisierte Naturstoffe, wurden intensiv als Wirkstoffe gegen Krebs erforscht. In einem multidisziplinären Forschungsprojekt haben wir die Bereitstellung von Bengamiden über Fermentation des terrestrischen Myxobakteriums *M. virescens*, die Aufklärung ihrer Biosynthese und die Optimierung ihrer Eigenschaften als Arzneistoff-Leitstrukturen untersucht. Die Charakterisierung des Biosyntheseweges zeigte auf, dass bakterielle Resistenz gegenüber Bengamiden durch *Leu154* des myxobakteriellen MetAP-Proteins vermittelt wird, und ermöglichte den Transfer des gesamten Biosynthesegen-clusters in den geeigneteren Produktionsstamm *M. xanthus* DK1622. Eine Kombination aus Semisynthese mikrobiell gewonnener Bengamide und Totalsynthese führte zum optimierten Derivat **8a**. Die nanomolare zelluläre Wirksamkeit und die hohe metabolische Stabilität waren mit einer verbesserten Halbwertszeit in Mäusen sowie mit Antitumor-Effizienz in einem Melanom-Mausmodell verbunden.

Naturstoffe aus Mikroorganismen, Pflanzen und Tieren spielen seit jeher eine wichtige Rolle in der biomedizinischen Forschung. Bei der Mehrzahl von Antibiotika und von zytotoxischen Krebsmedikamenten in klinischer Anwendung handelt es sich um solche Sekundärmetabolite oder deren Derivate.^[1] Die marine Biosphäre stellt ein enormes Reservoir für neue Sekundärstoffe dar.^[2] Allerdings wird die Entwicklung mariner Naturstoffe als Pharmazeutika durch Schwierigkeiten bei der Etablierung einer nachhaltigen und skalierbaren Versorgungsquelle erschwert. Diese Hürde kann über chemische Synthese, wie im Fall von Eribulin^[3] und

Trabectedin^[4] gezeigt, oder durch Erschließung eines kultivierbaren Mikroorganismus als Produktionsquelle überwunden werden. Letzteres begründet sich auf zunehmenden Belegen, dass die „wahren“ Produzenten vieler mariner Naturstoffe häufig symbiotische Mikroorganismen sind.^[5]

Eine prominente Klasse mariner Naturstoffe stellen die Bengamide dar, die 1986 erstmals aus dem marinen Schwamm *Jaspis cf. coracieae* isoliert wurden.^[6] Aufgrund ihrer Wirksamkeit im nanomolaren Bereich im Screening gegen das aus 60 humanen Tumor-Zelllinien bestehende NCI-Panel wurden Bengamid B (**1**) und andere Analoga intensiv als Leitstrukturen zur Entwicklung von Krebsmedikamenten erforscht (Abbildung 1). Eine effiziente Syntheseroute^[7] ermöglichte die Optimierung der Leitstruktur **1** zur Verbindung LAF389 (**2**),^[8] die in klinischen Phase-I-Studien untersucht, aber aufgrund kardiovaskulärer Nebenwirkungen nicht weiterentwickelt wurde.^[9] Da die molekularen Angriffspunkte der Bengamide, die humanen Methionin-Aminopeptidasen (MetAP),^[10] attraktive Zielstrukturen in der Krebstherapie darstellen,^[11] und zudem eine Anwendung zur Behandlung von Tuberkulose vorgeschlagen wurde,^[12] wird die Suche nach verbesserten Analoga intensiv fortgesetzt.^[6c,13]

Nachfolgend stellen wir Ergebnisse eines multidisziplinären Forschungsprojektes zu Bengamiden vor, das durch die zufällige Entdeckung des terrestrischen Myxobakteriums *Myxococcus virescens* ST200611 (DSM 15898) als Bengamid-Produzenten angestoßen wurde.^[14] Mithilfe des fermentativen Zugangs zu dieser „marinen“ Substanzklasse im Gramm-Maßstab haben wir Studien zur Bengamid-Biosynthese, heterologen Expression und Selbstresistenz des Produzenten durchgeführt sowie die Eigenschaften als Leitstrukturen über

[*] Dr. S. C. Wenzel, Dr. P. Lukat, I. Kochems, Prof. Dr. R. Müller
Helmholtz Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland,
Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung und Universität des
Saarlandes, 66123 Saarbrücken (Deutschland)
E-Mail: Rolf.Mueller@helmholtz-hzi.de

Dr. H. Hoffmann, Dr. J. Zhang, Dr. L. Debussche, Dr. S. Haag-Richter,
Dr. M. Kurz, Dr. F. Nardi, Dr. H. Tietgen, J.-P. Nicolas, Dr. L. Calvet,
Dr. V. Czepczor, Dr. P. Vrignaud
Sanofi R&D, Industriepark Hoechst, 65926 Frankfurt (Deutschland)
und

13 Quai Jules Guesde, Vitry sur Seine 94403 (Frankreich)

Prof. Dr. D. Schummer
TH Mittelhessen, Wiesenstraße 14, 35390 Gießen (Deutschland)
Priv.-Doz. Dr. S. Pelzer
Evonik Nutrition & Care, Kantstr. 2, 33790 Halle (Deutschland)

Dr. A. Mühlenweg
Technische Universität Berlin
Str.d.17. Juni 124, 10623 Berlin (Deutschland)
Prof. Dr. M. Brönstrup
Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung
Inhoffenstraße 7, 38124 Braunschweig (Deutschland)
E-Mail: Mark.Broenstrup@helmholtz-hzi.de

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag (Daten zur mikrobiellen Produktion, Isolierung, Strukturaufklärung, biologischen Testung, Gencluster-Charakterisierung und -Manipulation sowie Synthesemethoden) sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201508277> zu finden.

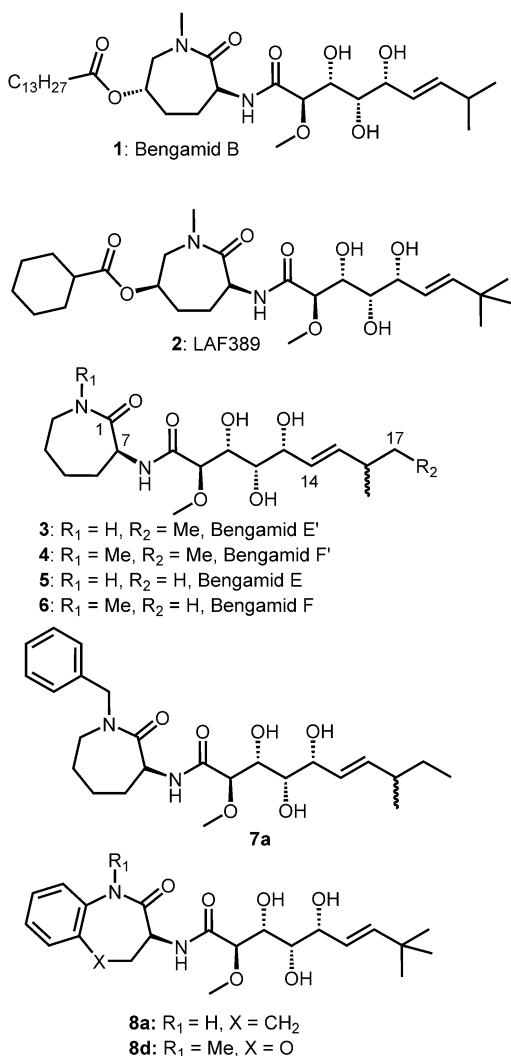


Abbildung 1. Chemische Strukturen der Bengamide. **1** und **3–6** wurden aus natürlichen Quellen isoliert, **2**, **7a**, **8a** und **8d** wurden aus Synthesen erhalten. Die Strukturen von **7b–e**, Derivaten mit substituierten N-Benzylresten, sind in den Hintergrundinformationen dargestellt.

Semi- und Totalsynthese optimiert.^[15] Johnston et al. haben kürzlich die Produktion von Bengamiden durch denselben *M. virescens*-Stamm beschrieben sowie die potenzen entzündungshemmenden Eigenschaften dieser Substanzklasse charakterisiert.^[16]

Im Zuge der Erschließung von Myxobakterien als Quelle für bioaktive Substanzen^[17] wurde *M. virescens* ST200611 aus einer Bodenprobe isoliert und kultiviert (Abbildung S1 in den Hintergrundinformationen). Ausgehend von einem Extrakt aus einer 30 L Fermentation wurden die Verbindungen **3–6** im präparativen Maßstab mit > 95 % Reinheit in Mengen von 145 mg, 35 mg, 86 mg und < 1 mg aufgereinigt.^[14] Multidimensionale NMR- und Massenspektrometrie-Experimente zeigten, dass **3–6** der Substanzfamilie der Bengamide – ursprünglich als marine Naturstoffe beschrieben – angehören (Abbildung 1, Abbildung S2, Abbildung S3 und Tabelle S1). Während **5** und **6** auch aus marinen Quellen isoliert wurden, tragen **3** und **4** eine zusätzliche Methylgruppe an C17. Eine

Analyse der antiproliferativen Aktivitäten von **3–5** gegenüber 8 Zelllinien zeigte, dass die meisten IC₅₀-Werte im niedrigen mikromolaren Bereich liegen (Tabelle S2), also 2–3 Zehnerpotenzen größer sind als diejenigen der marinen Substanz **1** oder des optimierten Analogons **2**. Dies zeigte deutlich, dass Verbesserungen durch Strukturmodifikationen erforderlich waren.

Unsere nächsten Arbeiten zielten auf die Entschlüsselung des genetischen Bauplans zur Bengamid-Biosynthese ab, um diese Informationen für die Optimierung der Struktur und der Produktionsausbeute zu nutzen. Es wurde ein Hybridsystem aus Polyketidsynthase (PKS)^[18] und nichtribosomal Peptidsynthetase (NRPS)^[19] identifiziert, dessen Beteiligung an der Bengamid-Produktion über gerichtete Mutagenese bestätigt werden konnte (siehe Hintergrundinformationen). Die Genclustergrenzen wurden über einen Vergleich mit Genomdaten für *Myxococcus xanthus* abgeleitet und wiesen darauf hin, dass der Biosyntheseweg 25 kbp umfasst und aus den 9 Genen *benA–I* besteht (Abbildung 2 sowie Abbildung S4, Tabelle S3).

Die Bengamid-Biosynthese wird von einer modularen Megasynthetase (BenA–D) katalysiert, die von BenE-H mit Glycerol-abgeleiteten Hydroxymalonyl-Carrierprotein(CP)-Verlängerungseinheiten^[20] beliefert wird. Ergebnisse aus Fütterungsexperimenten mit [2-¹³C]-Glycerol bestätigen den Einbau zweier solcher Einheiten durch Modul 2 und 3 (Abbildung S5). Hierauf basierend wird folgendes Biosyntheseschema postuliert: Isobutyryl-CoA- oder 2-Methylbutyryl-CoA-Startereinheiten werden mit Malonyl-CoA, zwei „Glykolat-Einheiten“ und schließlich L-Lysin verlängert. Über begleitende reduktive Polyketidchemie, O-Methylierung und schlussendliche Abspaltung der PK/NRP-Kette vom Enzymkomplex über Lactamisierung werden **3** und **5** gebildet. Das resultierende Caprolactam wird optional über N-Methylierung modifiziert, woraus **4** und **6** hervorgehen. Da kein putativer N-Methyltransferase-Gen in der Genclusterregion identifiziert werden konnte, wird die erforderliche Enzymaktivität vermutlich anderswo im Genom kodiert.

Neben der BenA-H-Biosynthesemaschinerie wird eine putative Methionin-Aminopeptidase (BenI) im Bengamid-Gencluster kodiert (Tabelle S3). Myxobakterielle Genome kodieren gewöhnlich zwei Kopien von MetAPs (MetAP1a und MetAP1b; Abbildung S9). BenI in *M. virescens* ST20011 stellt eine zusätzliche Kopie von MetAP1b dar, was in Anbetracht der Wirkweise der Bengamide als MetAP-Inhibitoren^[10] auf eine resistenzvermittelnde Funktion hindeutet. In Sequenzanalysen wurde ein Leucinrest in Position 154 identifiziert; an dieser Stelle enthalten andere prokaryotische und eukaryotische MetAPs gewöhnlich ein konserviertes Cystein oder Alanin (Abbildung S9). Ein Homologiemodell wies auf eine sterische Kollision zwischen dem sperrigeren Leucin-Rest und der Bengamid-Methoxygruppe hin, wodurch die Resistenzvermittlung erklärt werden könnte (Abbildung 3). Um diese Hypothese zu verifizieren, wurden Wachstumsinhibitionstudien mit Bengamid-sensitiven *Escherichia coli*-Stämmen durchgeführt, die BenI oder eine Leu154Cys-mutierte Version exprimieren (Abbildung S9). Der Befund, dass Zugabe von **3** zu einer Kultur mit mutiertem BenI (Leu154Cys) zu einer signifikanten Wachstumsinhibition

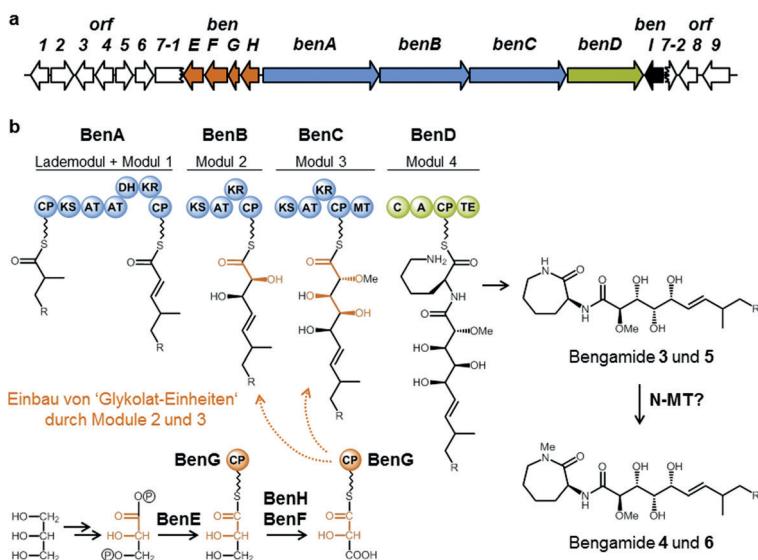


Abbildung 2. Bengamid-Biosynthese in *M. virescens* ST200611. a) Bengamid-Biosynthesegencluster (*benA*-I) mit flankierenden Regionen. b) Modell zur Bengamid-Assemblierung durch eine hybride Megasynthetase aus Polyketid und nichtribosomalem Peptid (PKS-Anteil blau, NRPS-Anteil grün). Siehe auch Tabelle S3.

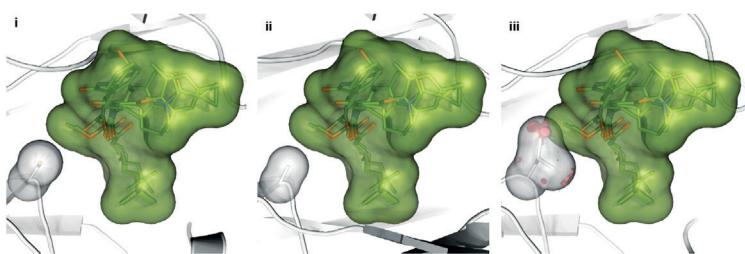


Abbildung 3. In-silico-Analyse von BenI verglichen mit Kristallstrukturen anderer Methionin-Aminopeptidasen (MetAPs). Überlagert sind fünf Bengamid-Inhibitoren (grün) aus in der PDB hinterlegten MetAP-Costrukturen. i) *Mycobacterium tuberculosis* MetAP (PDB: 3PKA).^[12] ii) Humane MetAP (PDB: 1QZY).^[10] iii) Homologiemodell von BenI. Das wahrscheinlichste Rotamer für L154 ist als Stab- und Oberflächenmodell dargestellt und befindet sich an der äquivalenten Position zu A230 in der humanen MetAP und zu C113 im *M. tuberculosis*-Protein. Sterische Kollisionen zwischen der L154-Seitenkette und der Methoxygruppe der Bengamid-Inhibitoren sind durch Scheiben symbolisiert und scheinen für alle möglichen Rotamere aufzutreten. Für Details siehe Abbildung S10.

führte, während der Stamm mit nativem BenI kaum beeinträchtigt wuchs, deutet stark darauf hin, dass BenI Resistenz gegenüber Bengamiden vermittelt und dass in der Tat Leu154 eine wichtige Rolle bei der Eigenresistenz des Produzenten spielt.

Um den identifizierten Biosyntheseweg weiter nutzbar zu machen, sollte ein heterologes Expressionssystem etabliert werden, da der native Bengamid-Produzent genetisch schwer zugänglich ist. Nachdem erste Ansätze zur Expression des Biosyntheseweges in Streptomyzeten fehlschlugen, wurde das genetische Konstrukt für den Transfer in den myxobakteriellen Modellstamm *M. xanthus* DK1622 modifiziert (pBen32; Abbildung S6). Eine Expression unter Kontrolle der nativen Promotoren resultierte

in der Produktion der vier aus *M. virescens* ST200611 beschriebenen Bengamid-Derivate mit einer Gesamtausbeute von 5–10 mg L⁻¹ (Abbildung S8), also einem mit dem nativen Produzenten vergleichbaren Produktionstiter. Wir sehen das als ein vielversprechendes Ergebnis für eine erste Expressionsstudie an, das die Voraussetzung für flexible Gencluster-Modifikationen schafft. Obwohl erste Ansätze zur Manipulation der Biosynthese (Deletion des *benE-H* Operons, siehe Hintergrundinformationen) bislang nicht zur Produktion neuer Bengamid-Derivate führten, stellt das etablierte heterologe Expressionssystem eine nützliche Plattform für zukünftige Struktur- und Ausbeuteoptimierungen dar, denn es ermöglicht beispielsweise Modifikationen in der 731 kDa Bengamid-Megasynthetase, die im nativen Produzenten derzeit nicht durchführbar sind.

Um die antiproliferative Wirkung der Bengamide zu steigern, wurde **3** über Fermentation in Gramm-Mengen hergestellt und semisynthetisch modifiziert. Den ersten Ansatzpunkt lieferten frühere Studien, die eine deutliche Erhöhung der Wirkstärke durch Hinzufügen eines lipophilen Rests am Heterocyclus beschrieben.^[8b, 21] Durch Einführung von *N*-Benzylresten mit unterschiedlichen Ringsubstituenten wurden **7a–e** generiert (Abbildung 1 sowie Schema S1), die in der Tat 50- bis 230-fach niedrigere IC₅₀-Werte verglichen mit **3** aufwiesen (Tabelle S5). Allerdings erschien eine mögliche Anwendung von **7a–e** als Arzneistoff durch deren geringe mikrosomale Stabilität limitiert, wie beispielhaft für **7a** gezeigt ist (Tabelle 1). Die hohe metabolische Labilität in vitro (z. B. 88–99 % für **7a**) führte, nicht unerwartet, zu unvorteilhaften pharmakokinetischen Eigenschaften in vivo: **7a** zeigte eine ausgeprägte Clearance (7.1 L h⁻¹ kg⁻¹), ein limitiertes Verteilungsvolumen (0.9 L kg⁻¹) und eine kurze terminale Halbwertszeit von 0.1 h (Tabelle 1).

Durch Migration des aromatischen Restes von der Benzylposition zum Caprolactam-Ring sollte die Stabilität der resultierenden benzanellierten Bengamide erhöht werden. Ein semisynthetischer Zugang zu solchen Analoga ist über Kombination einer mikrobiell produzierten Polyketidkette mit einem synthetischen

Zugang zu solchen Analoga ist über Kombination einer mikrobiell produzierten Polyketidkette mit einem synthetischen

Tabelle 1: Metabolische Labilitäten in Lebermikrosomen und pharmakokinetische Parameter in C57BL Mäusen von **7a**, **8a** und **8d**.

Verb.	Pharmakokinetik in vivo ^[a]				Mikrosomale Labilität in vitro		
	AUC [h ng mL ⁻¹]	Cl [L h ⁻¹ kg ⁻¹]	V _{dis} [L kg ⁻¹]	t _{1/2} [h]	Maus	Rate	Mensch
7a^[b]	140	7.1	0.9	0.1	88	99	94
8a^[c]	26 254	1.1	1.6	3.4	5	5	0
8d^[c]	25 600	1.2	0.5	3.5	0	5	15

[a] AUC = Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve, Cl = Clearance, V_{dis} = limitiertes Verteilungsvolumen, t_{1/2} = terminale Halbwertszeit. [b] 1 mg kg⁻¹ Einzeldosis, intravenöse Gabe. [c] 30 mg kg⁻¹ Einzeldosis, intravenöse Gabe.

Caprolactam denkbar. Um in dieser explorativen Phase jedoch einen schnellen Zugang zu den Analoga **8a-f** (Abbildung 1, Schema S2) zu erhalten, wurde einer effizienten Totalsyntheseroute^[7] gefolgt (Schema S2). Von dieser kleinen Serie wurden **8a** und **8d** aufgrund ihrer überlegenen Wirksamkeit ausgewählt und gegen ein Spektrum von 14 Zelllinien und nicht-proliferierenden peripheren Blutzymphozyten (PBL) im Vergleich zu **2** analysiert (Tabelle 2 und Tabelle S6).

Tabelle 2: Zellulär antiproliferative Aktivitäten der Bengamid-Analoga **8a**, **8d** und **2** (angegeben als IC₅₀-Werte in nm).^[b]

Zelllinie	8a		8d		2	
	IC ₅₀	s.d. ^[a]	IC ₅₀	s.d.	IC ₅₀	s.d.
A549	9	7	39	23	13	10
B16-F10	33	22	47	24	29	8
H460	59	24	42	26	9	6
HCT116	44	29	51	24	23	27
HCT15	550	510	45	9	1300	1500
MDA-A1	4800	2200	1100	500	>10000	
PBL	>5900	4400			>7900	3800

[a] s.d. = Standardabweichung; die Inkubationszeit war in allen Fällen 96 h.

Alle drei Verbindungen inhibierten die Zellproliferation im nanomolaren Bereich, wobei **2** die beste Wirkung zeigte. Während **8a** und **8d** gegen Zelllinien HCT116, B16-F10, H460 und A549 besonders aktiv waren (IC₅₀-Werte \leq 59 nm), deutet die geringere Wirkung gegen MDA-A1 oder HCT15 darauf hin, dass **2**, **8a** und zu einem geringeren Ausmaß **8d** von PgP-Effluxpumpen erkannt wurden. Die Tatsache, dass die Viabilität von metabolisch ruhenden PBL von Bengamiden nahezu nicht beeinflusst wurde, verdeutlicht das Potential zur selektiven Wirkung auf sich teilende Tumorzellen.

Die Analoga **8a** und **8d** waren plasmastabil und zeigten eine geringe metabolische Labilität von 5%/0%/0% und 0%/5%/15% nach Inkubation mit Maus-, Ratten- bzw. Human-Mikrosomen (Tabelle 1). Dies übersetzte sich in verbesserte pharmakokinetische Eigenschaften *in vivo*: **8a** zeigte eine moderate Clearance (1.1 L h⁻¹ kg⁻¹), ein moderates Verteilungsvolumen (1.6 L kg⁻¹) und eine terminale Halbwertszeit von 3.4 h. Im Vergleich hierzu konnten von **2**, dem Gold-Standard unter den Bengamiden, nach dem ersten Zeitpunkt (ca. 6 min) keine Plasmaspiegel mehr detektiert werden, da **2** als Ester-Prodrug rasch gespalten wird.

In einem Enzymassay mit Mangan als Cofaktor wurde das molekulare Target MetAP2 von **8a** mit einem IC₅₀ von 42 nm inhibiert. Die äquilibrierte Löslichkeit von **8a** bei pH 7.4 betrug 370 μ M. Bei einer Konzentration von 10 μ M wurde weder eine Hemmung von hErg noch von Cyp-Isoformen beobachtet. Bei dieser Konzentration wurde auch kein AMES-Signal detektiert.

Abschließend wurde die Wirksamkeit von **8a** in weiblichen C57BL/6-Mäusen mit einem B16-Melanom im Frühstadium evaluiert. Die höchste nicht-toxische Dosis (60 mg kg⁻¹ pro Injektion, Gesamtdosis 480 mg kg⁻¹) hatte eine Antitumoraktivität mit einem Tumor/Kontroll(T/K)-Wert von 31 % (Tabelle S7, Abbildung S12), was die In-vivo-Antitumoraktivität von Caprolactam-modifizierten Beng-

amiden demonstriert. Allerdings war die Aktivität im Vergleich zum Referenz-Arzneistoff Docetaxel (T/K von 1%) nur moderat, und das therapeutische Fenster zwischen Toxizität und Antitumorwirkung erwies sich als schmal.

Im Hinblick auf die pharmazeutische Anwendung der Bengamide zielten die meisten Studien bislang auf deren antitumorales und antimycobakterielles Potential. Kürzlich erschienene präklinische und klinische Studien mit einem kovalent bindenden Fumagillin-Analog zeigten, dass MetAP2-Inhibition zu erhöhtem Fettabbau und einer starker Reduzierung des Körpergewichts führt.^[22] Die Untersuchung von MetAP2-selektiven Bengamiden^[23] als nichtkovalent bindende Wirkstoffe gegen Fettleibigkeit könnte daher interessante weitere Indikationen erschließen.

Zusammenfassend haben wir hier detaillierte Studien zur Bengamid-Biosynthese durchgeführt und hierauf basierend die heterologe Expression des Biosynthesegenclusters in geeigneteren Wirtstämmen sowie die Aufklärung des bakteriellen Selbstresistenzmechanismus des Produzenten ermöglicht. Die pharmazeutischen Eigenschaften der Verbindungen wurden über Semi- und Totalsynthese optimiert, woraus Bengamide mit verbessertem pharmakokinetischen Profil und höherer Wirksamkeit in einem Antitumormodell ohne ein Prodrug-Prinzip (wie bei **2**) resultierten. Basierend auf den nun verfügbaren Methoden könnten zukünftig Gen-technik- und Synthese-Ansätze zur kostengünstigen Produktion optimierter Bengamide kombiniert werden, z. B. durch Kopplung einer biotechnologisch hergestellten Polyketidketete mit einem synthetisch modifizierten Caprolactam.

Danksagung

Wir danken Dr. Heinrich Decker, Dr. Claus Lattemann und Dr. Ulrike Jannsen für die Produktion von Bengamiden im Gramm-Maßstab, Valerie Vin für die Durchführung des MetAP-Inhibitionssassays, Benoît Pasquier für die Versuche mit PBL-Zellen und Bryan Julien für die Bereitstellung des Plasmides pKOS375-151.1. Die Arbeit wurde durch eine Zuwendung des Bundesministeriums für Bildung und Forschung an die Universität des Saarlandes sowie Sanofi Aventis großzügig gefördert (FKZ: 0315198).

Stichwörter: Bengamide · Biosynthese · Naturstoffe · Resistenz · Wirkstoffentwicklung

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 15560–15564
Angew. Chem. **2015**, *127*, 15781–15785

- [1] a) D. J. Newman, G. M. Cragg, *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 311–335;
b) A. Bauer, M. Brönstrup, *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31*, 35–60;
c) M. S. Butler, A. A. Robertson, M. A. Cooper, *Nat. Prod. Rep.* **2014**, *31*, 1612–1661.
- [2] a) J. W. Blunt, B. R. Copp, R. A. Keyzers, M. H. Munro, M. R. Prinsep, *Nat. Prod. Rep.* **2015**, *32*, 116–211; b) T. F. Molinski, D. S. Dalisay, S. L. Lievens, J. P. Saludes, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2009**, *8*, 69–85.
- [3] K. L. Jackson, J. A. Henderson, A. J. Phillips, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 3044–3079.
- [4] C. Cuevas, A. Francesch, *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 322–337.

- [5] a) T. L. Simmons, R. C. Coates, B. R. Clark, N. Engene, D. Gonzalez, E. Esquenazi, P. C. Dorresteijn, W. H. Gerwick, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 4587–4594; b) T. Hoffmann, S. Müller, S. Nadmid, R. Garcia, R. Müller, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 16904–16911.
- [6] a) E. Quiñóa, M. Adamczeski, P. Crews, G. J. Bakus, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4494–4497; b) M. Adamczeski, E. Quiñóa, P. Crews, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 240–242; c) C. García-Ruiz, F. Sarabia, *Mar. Drugs* **2014**, *12*, 1580–1622.
- [7] D. D. Xu, O. Repič, T. J. Blacklock, L. Waykole, J. V. Calienni, L. Ciszewski, G. T. Lee, W. Liu, J. Szewczyk, K. Vargas, K. Prasad, *Org. Process Res. Dev.* **2003**, *7*, 856–865.
- [8] a) F. R. Kinder Jr., et al., *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3692–3699; b) Z. Thale, F. R. Kinder, K. W. Bair, J. Bontempo, A. M. Czuchta, R. W. Versace, P. E. Phillips, M. L. Sanders, S. Wattanasin, P. Crews, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 1733–1741.
- [9] H. Dumez, H. Gall, R. Capdeville, C. Dutreix, A. T. Van Oosterom, G. Giaccone, *Anticancer Drugs* **2007**, *18*, 219–225.
- [10] H. Towbin, et al., *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 52964–52971.
- [11] J. L. Mauriz, J. Martin-Renedo, A. García-Palomo, M. J. Tunon, J. Gonzalez-Gallego, *Curr. Drug Targets* **2010**, *11*, 1439–1457.
- [12] J. P. Lu, X. H. Yuan, H. Yuan, W. L. Wang, B. Wan, S. G. Franzblau, Q. Z. Ye, *ChemMedChem* **2011**, *6*, 1041–1048.
- [13] a) F. Sarabia, F. Martín-Galvez, C. García-Ruiz, A. Sanchez-Ruiz, C. Vivar-Garcia, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 5239–5253; b) P. K. Metri, R. Schiess, K. R. Prasad, *Chem. Asian J.* **2013**, *8*, 488–493; c) W. Zhang, Q. Liang, H. Li, X. Meng, Z. Li, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 664–672.
- [14] H. Hoffmann, S. Haag-Richter, M. Kurz, H. Tietgen, **2005**, WO 2005/044803.
- [15] a) J. Zhang, Y. Benedetti, A. Commercon, WO2007/135295; b) J. Zhang, N. Bhatnagar, WO2006/056695.
- [16] T. A. Johnson, J. Sohn, Y. M. Vaske, K. N. White, T. L. Cohen, H. C. Vervoort, K. Tenney, F. A. Valeriote, L. F. Bjeldanes, P. Crews, *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 4348–4355.
- [17] S. C. Wenzel, R. Müller, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2009**, *12*, 220–230.
- [18] C. Hertweck, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4688–4716; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4782–4811.
- [19] M. A. Marahiel, *J. Pept. Sci.* **2009**, *15*, 799–807.
- [20] Y. A. Chan, A. M. Podevels, B. M. Kevany, M. G. Thomas, *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 90.
- [21] G. Liu, Y. M. Ma, W. Y. Tai, C. M. Xie, Y. L. Li, J. Li, F. J. Nan, *ChemMedChem* **2008**, *3*, 74–78.
- [22] a) D. D. Kim, J. Krishnarajah, S. Lillioja, F. de Looze, J. Marjason, J. Proietto, S. Shakib, B. G. Stuckey, J. E. Vath, T. E. Hughes, *Diabetes Obes. Metab.* **2015**, *17*, 566–572; b) A. A. Joharapurkar, N. A. Dhanesha, M. R. Jain, *Diabetes Metab. Syndr. Obes.* **2014**, *7*, 73–84.
- [23] S. Kim, K. LaMontagne, M. Sabio, S. Sharma, R. W. Versace, N. Yusuff, P. E. Phillips, *Cancer Res.* **2004**, *64*, 2984–2987.

Eingegangen am 4. September 2015

Online veröffentlicht am 30. Oktober 2015