

Strukturaufklärung

DOI: 10.1002/ange.200504525

Siphonazol, ein ungewöhnlicher Naturstoff aus *Herpetosiphon* sp.Markus Nett, Özlem Erol, Stefan Kehraus,
Matthias Köck, Anja Krick, Ekaterina Eguereva,
Edith Neu und Gabriele M. König*

Bakterien sind eine beeindruckende Quelle von Sekundärstoffen mit biologischer Aktivität. Bislang haben jedoch nur wenige taxonomische Gruppen Eingang in die Naturstoffchemie gefunden, darunter vor allem Actinomyceten, Bacilli, Pseudomonaden und Myxobakterien.

Mittels phylogenetischer Studien konnte gezeigt werden, dass die Diversität mikrobieller Populationen in natürlichen Habitaten bei weitem größer ist, als in der Vergangenheit angenommen wurde. Viele bislang noch wenig untersuchte Gruppen haben eine eigenständige evolutionäre Entwicklung durchlaufen. Diese Organismen zeigen eine Reihe von phänotypischen Besonderheiten, und es ist anzunehmen, dass sie auch im Hinblick auf ihren Sekundärmetabolismus ungewöhnliche Wege beschreiten.

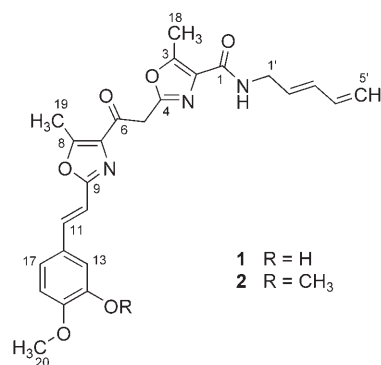
Unser Interesse richtet sich in diesem Zusammenhang auf das Phylum Chloroflexi, das früh von dem eubakteriellen Stamm abzweigte und dessen Vertreter neben ihrer gleiten-

den Fortbewegung durch einen für Gram-negative Bakterien ungewöhnlichen Zellwandaufbau gekennzeichnet sind.^[1]

Sequenzanalysen der diesem Phylum untergeordneten Gattung *Herpetosiphon* zeigten auffällige Anomalien in hochkonservierten Bereichen der ribosomalen RNA. Daraus wurde auf eine rasche evolutionäre Entwicklung geschlossen. Schon jetzt haben sich diese Organismen weit von ihren thermophilen Vorläufern entfernt.^[2] Obwohl *Herpetosiphon*-Stämme aus einer Vielzahl von Habitaten isoliert werden können, ist die Gattung hinsichtlich ihres Sekundärstoffwechsels nicht näher charakterisiert.

In einem NMR- und LC-MS-basierten Screening wurden nun zehn verschiedene *Herpetosiphon*-Stämme auf ihr Metabolitenspektrum hin untersucht. Dabei entdeckten wir eine ungewöhnliche Verbindung, die aus einer Styrol-Einheit, zwei über eine C₂-Brücke verknüpften Oxazolringen und einer bisher nicht beschriebenen Amid-gebundenen N-Penta-[2,4]dien-Seitenkette besteht. Obschon der Metabolit in bestimmten Bereichen Ähnlichkeit mit Naturstoffen aus Myxobakterien aufweist, ist die vorliegende Kombination der Strukturelemente einzigartig und macht diese Verbindung zum ersten Vertreter einer neuen Strukturklasse. Wir berichten hier über die Strukturaufklärung und Biosynthese dieses Naturstoffes, den wir als Siphonazol bezeichnet haben.

Zur Gewinnung der Substanz wurde der produzierende Stamm als Schüttelkultur bei 28°C in Peptonmedium unter Zusatz des Amberlite-Harzes XAD-16 angezogen. Nach Extraktion des Adsorberharzes mit Aceton wurden hydrophilere Nebenprodukte durch Verteilung zwischen 60-proz. Methanol und Dichlormethan entfernt. Chromatographie der Dichlormethanphase an Kieselgel und abschließende Aufreinigung mittels RP-HPLC lieferten 31 mg Siphonazol (**1**) und 1 mg des Dimethoxyderivates **2**.



[*] M. Nett, Ö. Erol, Dr. S. Kehraus, Dr. A. Krick, E. Eguereva, E. Neu, Prof. Dr. G. M. König
Institut für Pharmazeutische Biologie
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
Nussallee 6, 53115 Bonn (Deutschland)
Fax: (+49) 228-73-3250
E-mail: g.koenig@uni-bonn.de
Priv.-Doz. Dr. M. Köck
Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung
Am Handelshafen 12, 27570 Bremerhaven (Deutschland)

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

Aus dem HR-EI-Massenspektrum von **1** ($m/z = 463.1743$) konnte die Summenformel eindeutig als C₂₅H₂₅N₃O₆ bestimmt werden. Dagegen zeigte ein 1D-¹³C-NMR-Spektrum in [D₄]MeOH nur 24 Signale. In [D₆]Aceton und [D₆]DMSO, wo keine Keto-Enol-Tautomerie auftritt, wurde das fehlende C-Atom (C-5) bei $\delta = 40.0$ ppm detektiert und mittels DEPT einer Methylengruppe zugeordnet.

Anhand von ¹H-¹H-COSY- und ¹H-¹³C-HMBC-Korrelationen lassen sich sowohl die C₆H₅-CH=CH-Partialstruktur wie auch die ungesättigte aliphatische Seitenkette ableiten (Tabelle 1). Die *para*-Stellung der Methoxygruppe an der

Tabelle 1: NMR-spektroskopische Daten von Siphonazol (1) in $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

C Nr.	δ_{C}	δ_{H} , mult., int., J [Hz]	COSY-Korrelationen	HMBC-Korrelationen ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$, $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$)
1	161.9			
2	130.5			
3	153.7			
4	156.7			
5	40.0	4.42, s, 2 H		C-4, 6, N-3
6	190.0			
7	135.2			
8	155.9			
9	159.9			
10	111.4	6.83, d, 1 H, 16.4	H-11	C-9, 11, 12, N-2
11	138.1	7.43, d, 1 H, 16.4	H-10	C-9, 10, 12, 13, 17, N-2
12	129.4			
13	113.9	7.21, d, 1 H, 2.2	H-17	C-11, 14, 15, 17
14	147.8			
15	150.0			
16	112.3	6.98, d, 1 H, 8.3	H-17	C-12, 14, 15
17	121.3	7.13, dd, 1 H, 8.3 ($J_{16,17}$), 2.2 ($J_{13,17}$)	H-13, H-16	C-11, 13, 15
18	11.5	2.58, s, 3 H		C-1, 2, 3, N-3
19	12.2	2.62, s, 3 H		C-6, 7, 8, N-2
20	56.2	3.88, s, 3 H		C-15
1'	40.6	4.00, d, 2 H, 5.9	H-2'	C-1, 2', 3', N-1
2'	131.8	5.79, dt, 1 H, 15.2 ($J_{2',3'}$), 5.9 ($J_{1',2'}$)	H-1', 3'	C-1', 4', N-1
3'	132.7	6.21, dd, 1 H, 15.2, 10.5 ($J_{3',4'}$)	H-2', 4'	C-1', 5'
4'	137.5	6.35, ddd, 1 H, 16.9 ($J_{4',5a}$), 10.5, 10.3 ($J_{4',5b}$)	H-3', 5'a, 5'b	C-2'
5'	116.9	a 5.15, dd, 1 H, 16.9, 2.0 ($J_{5a,5b}$); b 5.01, dd, 1 H, 10.3, 2.0	H-4', 5'b H-4', 5'a	C-3', 4' C-3'
N Nr.	δ_{N}	δ_{H} , mult., int., J [Hz]	HMBC-Korrelationen ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$)	
1	108	7.58, t, 1 H, 5.9	C-1, 1'	
2	249			
3	251			

Styrol-Einheit konnte durch ein selektives NOESY-Experiment bestätigt werden. Die Amidfunktion in der aliphatischen Seitenkette ergibt sich aus Schlüsselfragmenten im EI-Massenspektrum mit $m/z = 67$ und 396 bzw. $m/z = 82$ und 381, die auf eine allylische Spaltung bzw. α -Spaltung der Carbonylfunktion zurückzuführen sind (Abbildung 1, siehe HR-EI-MS-Daten von 1).

Die Struktur des zentralen Teils des Moleküls, der aus zwei Methyloxazolringen besteht, ist dagegen erst nach Auswertung von ^1H - ^{15}N -Fernkopplungen zugänglich (Abbildung 2). Korrelationen von H-10 und H-11 zu einem Stickstoffatom mit Resonanz bei $\delta = 249$ ppm deuteten auf eine Verknüpfung der Styrol-Einheit mit einem Oxazolring hin.^[5] Über eine schwache Korrelation von $\text{H}_{(3)}-19$ zu demselben Stickstoffatom sowie anhand von ^1H - ^{13}C -HMBC-Daten konnten die beiden noch fehlenden Kohlenstoffatome des Oxazols als C-7 und C-8 identifiziert werden. Der zweite

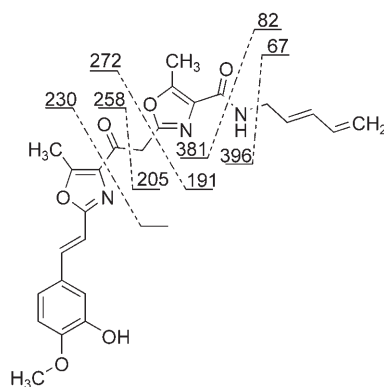


Abbildung 1. Schlüsselfragmente von 1 im EI-MS.

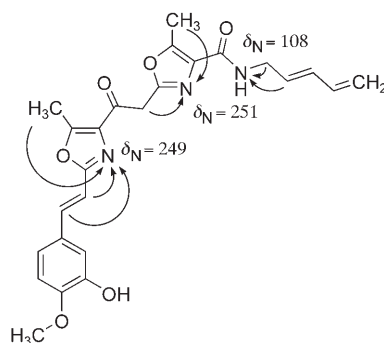


Abbildung 2. ^1H - ^{15}N -Weitbereichskopplungen in 1.

Methyloxazolring wurde über ^1H - ^{15}N -Weitbereichskopplungen von $\text{H}_{(2)}-5$ und $\text{H}_{(3)}-18$ zu einem Stickstoffatom mit Resonanz bei $\delta = 251$ ppm aufgeklärt. Aus ^1H - ^{13}C -Fernkopplungen von $\text{H}_{(3)}-19$ zu C-6 sowie von $\text{H}_{(2)}-5$ zu C-4 und C-6 ergab sich schließlich eine Verknüpfung der beiden Oxazolringe über eine C_2 -Brücke.

Die Positionierung der Methylgruppen an den Oxazolringen erfolgte auf der Grundlage von ^{13}C -chemischen Verschiebungen und wurde mit selektiven INEPT-Experimenten verifiziert.^[4] Bei einer C-H-Kopplungskonstante von 7 Hz ($^3J_{\text{C,H}}$) wurde die Polarisation von $\text{H}_{(3)}-19$ auf ein quartäres Kohlenstoffatom bei $\delta = 135.2$ ppm (C-7) übertragen. In gleicher Weise wurde nach Einstrahlung auf die Resonanzfrequenz von $\text{H}_{(3)}-18$ das Kohlenstoffatom in Position 2 angeregt. Die Konfiguration der Doppelbindungen ergab sich aus der Größe der vicinalen Protonen-Kopplungskonstanten (siehe Tabelle 1).

Die Strukturelemente von Siphonazol lassen vermuten, dass an der Biosynthese unterschiedliche Stoffwechselwege beteiligt sind. Als Ausgangsverbindung in der Biosynthese wurde zunächst eine von Phenylalanin abgeleitete Zimtsäure postuliert. Durch Kondensation mit Threonin und nachfolgenden Ringschluss könnte dann der erste Methyloxazolring gebildet werden. Der nächste Schritt wäre eine eher ungewöhnliche Erweiterung des Heterocyclus mit Acetat, gefolgt von einer weiteren durch nichtribosomale Peptidsynthetase (NRPS) katalysierten Kondensation und Cyclisierung mit Threonin. Für die Bildung der aliphatischen Seitenkette sind

prinzipiell zwei Wege denkbar: Zum einen kann eine C₅N-Einheit ausgehend von Lysin gebildet werden. Infolge einer anschließenden intramolekularen Mannich-Reaktion liegt diese jedoch meist als Piperidin-Ring vor.^[5] Ein Aufbau der Seitenkette aus Glycin und Propionat erschien uns demzufolge wahrscheinlicher.

Zur Untersuchung der Biosynthese wurden Fütterungsexperimente mit ¹³C-markierten Vorstufen durchgeführt (Tabelle 2). Die Fütterung von [1-¹³C]Acetat resultierte in

Tabelle 2: ¹³C-Anreicherung in Siphonazol (**1**) nach Fütterung von [1-¹³C]Acetat (A), [1,2-¹³C₂]Acetat (B), [1-¹³C]Glycin (C), [1,2-¹³C₂, ¹⁵N]Glycin (D) und [Methyl-¹³C]Methionin (E).^[a]

Nr.	A	B	C	D	E
1	1.2	1.2	1.2	1.1	1.0
2	1.0	1.1	1.1	1.2	1.2
3	1.1	1.0	1.2	1.1	1.0
4	6.1	5.8(64)	1.0	1.2	1.2
5	0.6	4.0(64)	0.8	0.9	1.0
6	1.0	1.1	1.1	1.2	1.2
7	1.0	0.9	1.1	1.0	1.3
8	0.9	1.0	1.2	1.2	1.2
9	6.4	6.0(81)	1.1	1.4	1.1
10	0.8	4.3(81)	0.9	1.0	1.2
11	3.0	2.3	0.9	1.0	1.1
12	0.8	1.2	1.1	1.1	1.2
13	0.7	1.1	0.8	0.9	1.0
14	0.8	1.0	0.9	1.0	1.1
15	1.3	1.2	1.1	1.2	1.0
16	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
17	0.9	1.3	0.8	1.0	1.0
18	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
19	1.0	1.2	1.1	1.0	1.0
20	0.9	0.8	1.0	2.9	18.4
1'	0.9	1.0	0.9	8.8(46)	1.2
2'	2.2	2.2	17.4	10.9(46)	1.2
3'	1.1	9.6(54)	1.0	1.2	1.3
4'	10.1	8.8(54)	1.7	1.7	1.8
5'	1.2	9.7	1.3	1.4	1.5

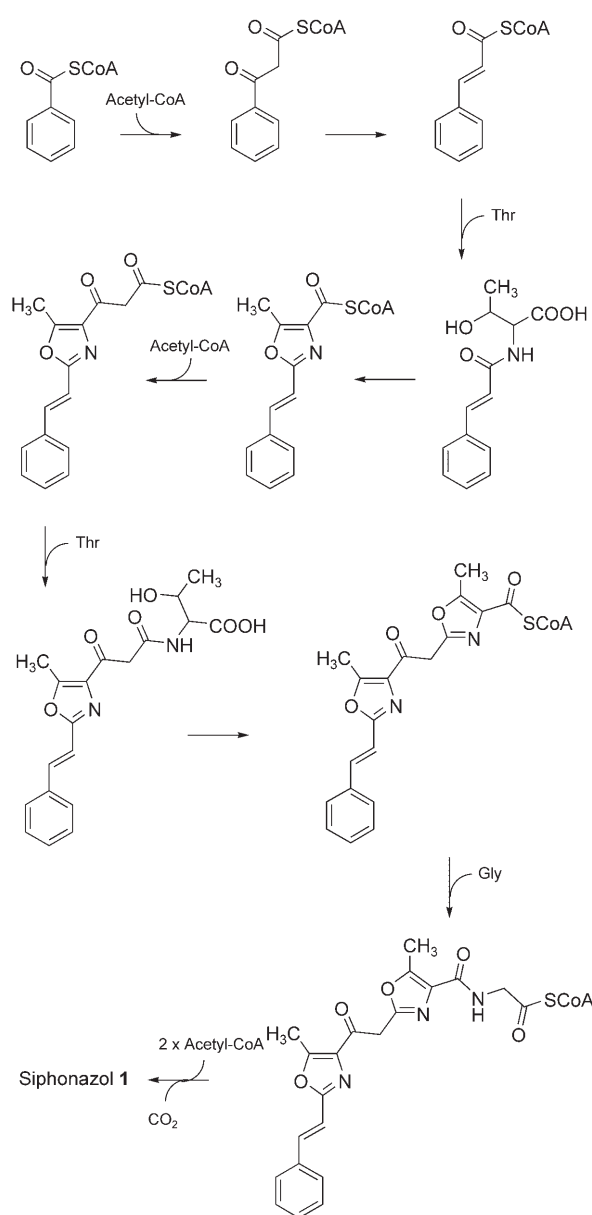
[a] Die Signalintensitäten wurden auf das ¹³C-Signal von C-16 normiert. Kopplungskonstanten (in Hz) sind in Klammern angegeben. Die fettgedruckten Zahlen zeigen einen eindeutigen Einbau der entsprechenden Vorstufe an.

einer ¹³C-Anreicherung in den Positionen 4, 9, 11, 2' und 4' von **1**. Unmarkiert blieben dagegen die aromatischen C-Atome der C₆H₃-CH=CH-Einheit. Da schon das Hydroxymarkierungsmuster des Styrolteils für eine von Shikimat abgeleitete Struktur sprach, konnte ein Aufbau des Phenylringes aus Acetateinheiten nun definitiv ausgeschlossen werden.

Das beobachtete Markierungsmuster lässt sich auch nicht mit dem Einbau einer von Phenylalanin abgeleiteten Zimtsäure in Einklang bringen. Nach Metabolisierung über den Citronensäurezyklus und Gluconeogenese gelangt [1-¹³C]Acetat als [1-¹³C]Phosphoenolpyruvat in den Shikimatstoffwechsel. Obwohl an der Biosynthese von Phenylalanin insgesamt zwei Phosphoenolpyruvat-Einheiten beteiligt sind, würde ein Einbau von Phenylalanin-abgeleiteter Zimtsäure nur zu einer Anreicherung im C-9-Atom von **1** führen. Grund

hierfür ist der Verlust eines markierten C-Atoms durch Decarboxylierung im Zuge der Aromatisierung von Prephen-säure, die nach Claisen-Umlagerung aus Chorisminsäure gebildet wird. Aufgrund des Markierungsmusters und der unterschiedlichen Anreicherungs-raten in C-9 und C-11 postulieren wir Benzoesäure (oder ein hydroxyliertes/methoxyliertes Derivat) als Ausgangsverbindung für die Biosynthese von **1**.^[6] Selbige wird dann durch Kondensation mit Acetyl-CoA zu einer Phenylpropan-Einheit erweitert (Schema 1).

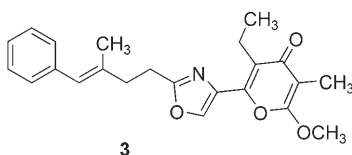
Für unsere Hypothese zum Aufbau der Seitenkette sprach die Markierung in C-2' durch [1-¹³C]Acetat. Sie ist Folge einer intensiven Metabolisierung über [1-¹³C]Oxalacetat (Citronensäurezyklus) und [1-¹³C]-3-Phosphoglycerat (Gluconeogenese) zu [1-¹³C]Glycin. Der deutliche Einbau von [1-¹³C]-Glycin in C-2' sowie von intaktem [¹³C₂, ¹⁵N]Glycin in die Seitenkette räumte schließlich die letzten Zweifel aus.^[7,8]



Schema 1. Postulierte Biosynthese der Siphonazol-Grundstruktur.

Überraschenderweise führte die Fütterung mit $[1-^{13}\text{C}]$ -Propionat nicht zu einer Markierung des C-5'-Atoms. Dagegen waren im ^{13}C -NMR-Spektrum der $[1,2-^{13}\text{C}_2]$ Acetat-markierten Verbindung alle drei verbleibenden C-Atome in der Seitenkette (C-3', C-4' und C-5') angereichert, wobei zwischen C-3' und C-4' eine deutliche homonucleare Kopplung auftrat. Da C-5' im vorhergehenden Versuch mit $[1-^{13}\text{C}]$ -Acetat nicht markiert worden war, muss die letzte Acetat-Einheit nach ihrem Einbau decarboxyliert worden sein. Die Fütterung mit $[\text{Methyl-}^{13}\text{C}]$ Methionin führte wie erwartet zu einer Anreicherung in C-20.

Die Struktur und die Biosynthese von Siphonazol sind in mehrerlei Hinsicht bemerkenswert. Die Bildung von Naturstoffen über kombinierte Polyketidsynthase(PKS)/NRPS-Systeme scheint im eubakteriellen Reich weit verbreitet zu sein, bislang sind jedoch nur wenige von Zimtsäure abgeleitete Verbindungen beschrieben. Dies wurde vor allem darauf zurückgeführt, dass viele Bakterien Phenylalanin nicht direkt zu Zimtsäure metabolisieren können. Im Unterschied zu Pflanzen fehlt den meisten Prokaryoten die dafür erforderliche Phenylalaninammonium-Lyase.^[9] Auch wenn einige Bakterien vermutlich alternative Stoffwechselwege zur Produktion von Zimtsäure entwickelt haben (unter anderem über Benzoessäure), kann man davon ausgehen, dass die Mehrzahl der Bakterien nicht dazu befähigt ist. Aus diesem Grund gibt es nur wenige Berichte über Naturstoffe, die sowohl eine Zimtsäure-Partialstruktur wie auch ein Polyketidgerüst mit eingebetteten Aminosäuren enthalten. Eine Ausnahme sind Verbindungen, die aus Myxobakterien isoliert wurden, darunter die Crocaine, die Phenalamide und das Phenoxan (3).^[10,11]



Im Hinblick auf die Biosynthese weist nur 3 größere Gemeinsamkeiten mit 1 auf. Zwar sind keine Daten zu Biosyntheseuntersuchungen von 3 verfügbar, man kann aber anhand der Anordnung der Strukturelemente vermuten, dass die Bildung von 3 ebenfalls über den alternierenden Einbau von Substraten aus dem Shikimat-, dem Polyketid- und dem Aminosäurestoffwechsel erfolgt.

Die vorgestellten Befunde lassen auf das Vorhandensein einer ausgeklügelten Biosynthesemaschinerie in einem tief wurzelnden Bakterium schließen. Selbiges steht phylogenetisch (16S-rDNA) weit entfernt von Myxobakterien und damit den Produzenten vergleichbar komplexer Naturstoffe.^[12]

Gegenwärtig werden in unserer Arbeitsgruppe die für die Produktion von Siphonazol (1) verantwortlichen Biosynthesegene identifiziert. Deren Analyse ist die Voraussetzung für eine spätere Anwendung in der kombinatorischen Biosynthese.

Experimentelles

Der produzierende Stamm (Nr. 060) wurde aus einer Schlickprobe der Gezeitenzone isoliert. Mittels 16S-rDNA-Sequenzierung wurde er als *Herpetosiphon* sp. identifiziert. Stammkulturen werden bei -80°C aufbewahrt.

Isolierung von 1 und 2: Die Kultivierung wurde in zehn 5-L-Erlenmeyerkolben mit 1.5 L Peptonmedium (MD1-Medium + 0.2% Glucose) und 2% XAD-16 (Fluka, Deutschland) durchgeführt. Die Kolben wurden mit 100 mL einer Vorkultur (MD1-Medium) inokuliert und bei 28°C sieben Tage auf einem Schütteltisch (140 rpm) geschüttelt. Am Ende der Kultivierung wurden die Bakterienzellen und das Adsorberharz mittels Zentrifugation von der Kulturbrühe abgetrennt und zehnmal mit 300 mL Aceton extrahiert. Nach Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand (7.08 g) in 250 mL 60-proz. Methanol suspendiert und dreimal mit 100 mL Dichlormethan ausgeschüttelt. Die Dichlormethan-Phasen wurden vereinigt und eingeeengt (1.87 g). Eine Vortrennung an 30 g Kieselgel (Merck, 63–200 μm) mittels Säulenchromatographie unter Verwendung von Dichlormethan, Ethylacetat, Aceton und Methanol als Elutionsmittel ergab vier 200-mL-Fractionen. Aufgrund ihres ^1H -NMR-Spektrums wurde die Ethylacetat-Fraktion zur weiteren Bearbeitung ausgewählt. Nach Evaporation des Lösungsmittels wurde die Fraktion (257 mg) durch semipräparative RP-HPLC aufgetrennt (Säule: Eurospher-100 C_{18} , 5 μm , $250 \times 8 \text{ mm}$ (Knauer); Laufmittel: Methanol/Wasser 75:25; Flussgeschwindigkeit: 2.5 mL min^{-1} ; Detektion: UV-Absorption). Die Retentionszeit beträgt dabei für 1 14.6 und für 2 20.3 min.

Biosyntheseuntersuchungen: Markierte Substanzen (500 mg $[1-^{13}\text{C}]$ Acetat, 500 mg $[1,2-^{13}\text{C}_2]$ Acetat, 500 mg $[1-^{13}\text{C}]$ Glycin, 250 mg $[1,2-^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}]$ Glycin, 500 mg $[\text{Methyl-}^{13}\text{C}]$ Methionin, jeweils in 10 mL H_2O gelöst) wurden von Cambridge Isotope Laboratories oder ISOTEC bezogen. Alle Fütterungsexperimente wurden in 5-L-Erlenmeyerkolben mit 1.5 L Peptonmedium und 2% XAD-16 durchgeführt, die markierten Vorstufen wurden zu Beginn der Kultivierung zugesetzt.

NMR-Spektren wurden bei 300 K an einem Bruker-Avance-300-DPX- oder einem Bruker-Avance-500-DRX-Spektrometer mit $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, CD_3OD oder $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ als Lösungsmittel und internem Standard aufgenommen. ^1H - ^{15}N -HMBC-Spektren wurden extern auf Harnstoff referenziert.

Für die Bestimmung der Einbauraten der markierten Vorstufen wurden die ^{13}C -Spektren mit einer inversen Entkopplungs-Pulssequenz unter Verwendung von 0.05 M $[\text{Cr}(\text{acac})_3]$ (acac = Acetylacetonat) als Relaxierungsreagens aufgenommen.^[13]

1: weißer Feststoff; UV/Vis (MeOH): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 225 (4.54), 334 nm (4.11); IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2925, 1724, 1688, 1650, 1590, 1511, 1441, 1272, 1132, 1025, 762 cm^{-1} ; ^1H -NMR: siehe Tabelle 1; ^{13}C -NMR: siehe Tabelle 1; EI-MS: m/z (%) = 463 (100), 448 (4), 422 (6), 396 (14), 381 (12), 354 (6), 339 (6), 309 (13), 300 (17), 272 (4), 258 (14), 230 (10), 205 (4), 191 (32), 188 (19), 177 (11), 161 (11), 146 (6), 82 (32), 67 (12); HR-EI-MS (m/z): gef.: 463.1743, ber.: 463.1743 für $[\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_6]$; gef.: 396.1199, ber.: 396.1196 für $[\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_6]$; gef.: 381.1087 ber.: 381.1087 für $[\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_6]$; gef.: 272.0927, ber.: 272.0923 für $[\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{NO}_4]$; gef.: 258.0763, ber.: 258.0766 für $[\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{NO}_4]$; gef.: 230.0817, ber.: 230.0817 für $[\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{NO}_3]$; gef.: 205.0981, ber.: 205.0977 für $[\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2]$; gef.: 191.0814, ber.: 191.0821 für $[\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2]$; gef.: 82.0680, ber.: 82.0657 für $[\text{C}_5\text{H}_8\text{N}]$; gef.: 67.0534, ber.: 67.0548 für $[\text{C}_5\text{H}_7]$.

2: weißer Feststoff; UV/Vis (MeOH): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 227 (4.38), 334 nm (4.14); IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2923, 1710, 1690, 1651, 1592, 1513, 1357, 1265, 1140, 1024, 806 cm^{-1} ; ^1H -NMR (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, Referenz: δ = 2.04 ppm): δ = 2.58 (s, $\text{H}_{(3)-18}$), 2.62 (s, $\text{H}_{(3)-19}$), 3.84 (s, $\text{H}_{(3)-20}$), 3.90 (s, $\text{H}_{(3)-21}$), 4.00 (d, J = 5.9 Hz, $\text{H}_{(2)-1'}$), 4.41 (s, $\text{H}_{(2)-5}$), 5.01 (dd, J = 10.3, 2.0 Hz, H-5'b), 5.15 (dd, J = 16.9, 2.0 Hz, H-5'a), 5.79 (dt, J = 15.2, 5.9 Hz, H-2'), 6.21 (dd, J = 15.2, 10.5 Hz, H-3'), 6.35 (ddd, J = 16.9, 10.5, 10.3 Hz, H-4'), 6.92 (d, J = 16.4 Hz, H-10), 6.98 (d, J = 8.3 Hz, H-16), 7.20 (dd, J = 8.3, 2.2 Hz, H-17), 7.37 (d, J = 2.2 Hz, H-

13), 7.47 ppm (d, $J = 16.4$ Hz, H-11); ^{13}C -NMR (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, Referenz: $\delta = 29.8$ ppm): $\delta = 11.5$ (C-18), 12.2 (C-19), 40.0 (C-5), 40.6 (C-1'), 56.1 (C-20, C-21), 110.4 (C-13), 111.5 (C-10), 112.4 (C-16), 116.9 (C-5'), 122.6 (C-17), 129.0 (C-12), 130.5 (C-2), 131.9 (C-2'), 132.7 (C-3'), 135.2 (C-7), 137.6 (C-4'), 138.1 (C-11), 150.7 (C-14), 151.9 (C-15), 153.7 (C-3), 155.9 (C-8), 156.7 (C-4), 160.0 (C-9), 161.9 (C-1), 190.0 ppm (C-6); EI-MS m/z (%) = 477 (100), 436 (6), 410 (14), 395 (12), 368 (8), 353 (4), 337 (7), 323 (14), 314 (14), 286 (7), 275 (16), 272 (10), 244 (11), 202 (38), 191 (58), 175 (15), 82 (33), 67 (7); HR-EI-MS (m/z): gef.: 477.1911, ber.: 477.1900 für $[\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_6]$.

Eingegangen am 20. Dezember 2005

Online veröffentlicht am 3. Mai 2006

Stichwörter: Biosynthese · Herpetosiphon · Naturstoffe · Siphonazol · Strukturaufklärung

-
- [1] G. M. Garrity, J. G. Holt in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, 2. Aufl. (Hrsg.: G. M. Garrity), Springer, New York, **2001**, S. 427.
 - [2] H. Oyaizu, B. Debrunner-Vossbrinck, L. Mandelco, J. A. Studier, C. R. Woese, *Syst. Appl. Microbiol.* **1987**, 9, 47–53.
 - [3] L. Stefaniak, *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Chim.* **1978**, 26, 291–302.
 - [4] A. Bax, J. A. Ferretti, N. Nashed, D. M. Jerina, *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 3029–3034.
 - [5] P. M. Dewick in *Medicinal Natural Products—A Biosynthetic Approach*, 2. Aufl., Wiley, Chichester, **2002**, S. 307.
 - [6] Viele Bakterien können 4-Hydroxybenzoesäure direkt aus Chorisminsäure durch Abspaltung von Brenztraubensäure gewinnen. Nach Fütterung von $[1-^{13}\text{C}]$ Acetat erhält man so eine Markierung des Carboxy-C-Atoms in Benzoesäure, was die ^{13}C -Anreicherung in C-11 von Siphonazol (**1**) erklärt.
 - [7] Obwohl $[1-^{13}\text{C}]$ Serin als Intermediat im Zuge der Metabolisierung von $[1-^{13}\text{C}]$ Acetat zu $[1-^{13}\text{C}]$ Glycin auftritt, konnte nur ein Einbau der letztgenannten Aminosäure in **1** im Rahmen einer Fütterung mit $[1-^{13}\text{C}]$ Acetat nachgewiesen werden. Daneben kann Serin auch über den Abbau von Glycin gebildet werden. Fütterungsexperimente mit $[1-^{13}\text{C}]$ Glycin und $[1,2-^{13}\text{C}_2,^{15}\text{N}]$ Glycin ergaben jedoch ebenfalls keine Hinweise auf eine Beteiligung von Serin an der Siphonazol-Biosynthese. Deshalb wurde die Aminosäure als mögliche Vorstufe der Oxazolringe ausgeschlossen.
 - [8] Die nach Fütterung mit vollständig markiertem Glycin auftretende ^{13}C -Anreicherung in Position 20 kann auf eine Glycinspaltung unter Bildung von N^5 , N^{10} -[Methylen- ^{13}C]Tetrahydrofolsäure und nachfolgende Übertragung der markierten Methylengruppe auf Methionin zurückgeführt werden.
 - [9] H. B. Bode, R. Müller, *Plant Physiol.* **2003**, 132, 1153–1161.
 - [10] R. Jansen, P. Washausen, B. Kunze, H. Reichenbach, G. Höfle, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1085–1089.
 - [11] E. Jurkiewicz, R. Jansen, B. Kunze, W. Trowitzsch-Kienast, E. Forche, H. Reichenbach, G. Höfle, G. Hunsmann, *Antiviral Chem. Chemother.* **1992**, 3, 189–193.
 - [12] N. R. Krieg, G. M. Garrity in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, 2. Aufl. (Hrsg.: G. M. Garrity), Springer-Verlag, New York, **2001**, S. 16.
 - [13] S. Berger, S. Braun in *200 and More NMR Experiments*, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**, S. 318–320.
-