

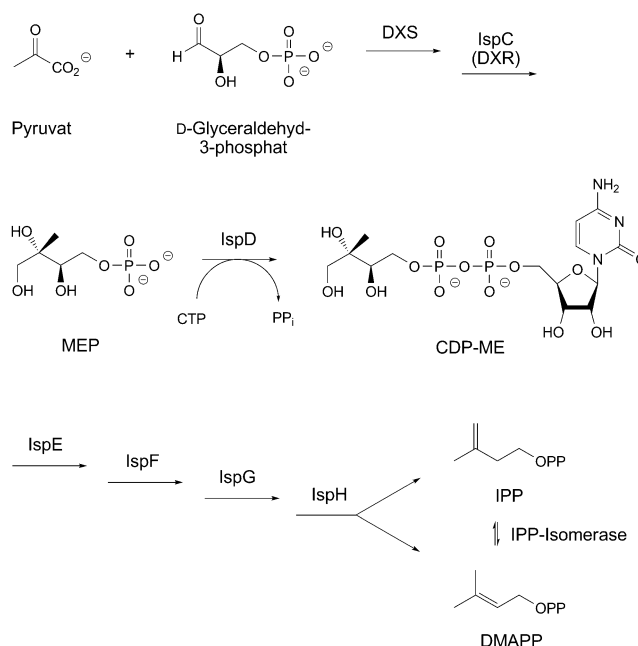
# Inhibitoren des Herbizid-Targets IspD: Bindung in einer allosterischen Tasche\*\*

Matthias C. Witschel,\* H. Wolfgang Höffken, Michael Seet, Liliana Parra, Thomas Mietzner, Frank Thater, Ricarda Niggeweg, Franz Röhl, Boris Illarionov, Felix Rohdich, Johannes Kaiser, Markus Fischer,\* Adelbert Bacher\* und François Diederich\*

In memoriam Dr. Viktoriya Illarionova

Nach der Aufklärung des mevalonatunabhängigen Biosyntheseweges der Isoprenoide (Schema 1) Mitte der 1990er Jahre<sup>[1]</sup> wurde an Hochschulen und in der Industrie intensiv daran geforscht, diesen essenziellen Biosyntheseweg für die Identifizierung neuer Antibiotika, Antimalariamittel und Herbizide zu nutzen.<sup>[2]</sup> Wegen zunehmender Resistenzen von Unkräutern und Humanpathogenen gegen die etablierten Wirkstoffklassen gibt es einen erheblichen Bedarf an Substanzen mit neuen Wirkmechanismen. Die Enzyme des mevalonatunabhängigen Isoprenoid-Biosynthesewegs sind besonders interessante Targets für Herbizide und Arzneimittel, da keine homologen Enzyme aus diesem Biosyntheseweg beim Menschen bekannt und daher keine Target-basierten Nebenwirkungen zu erwarten sind.

Die 1980 in den Markt eingeführten Hemmstoffe der *p*-Hydroxyphenylpyruvat-Dioxygenase (HPPD) sind die bisher letzten Herbizide mit neuem Wirkmechanismus.<sup>[3]</sup> Durch die Resistenz von Unkräutern gegen nahezu alle verfügbaren Herbizide, vor allem auch gegen das kommerziell bedeutendste Herbizid Glyphosat,<sup>[4]</sup> ist die Identifizierung neuer herbizider Wirkmechanismen von wesentlicher Bedeutung für die zukünftige Nahrungsmittelproduktion. Daher wurde ein Programm zur Identifizierung von Hemmstoffen des



**Schema 1.** Der mevalonatunabhängige Biosyntheseweg zu Isoprenoiden.<sup>[1]</sup> DXS: 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat-Synthase (EC 2.2.1.7), IspC/DXR: 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat-Reduktoisomerase (EC 1.1.1.267), MEP: 2C-Methyl-D-erythritol-4-phosphat, IspD: 4-Diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol-Synthase (EC 2.7.7.60), CTP: Cytidintriphosphat, CDP-ME: 4-Diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol, IspE: 4-Diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol-Kinase (EC 2.7.1.148), IspF: 2C-Methyl-D-erythritol-2,4-cyclodiphosphat-Synthase (EC 4.6.1.12), IspG: 2C-Methyl-D-erythritol-2,4-cyclodiphosphat-Reduktase (EC 1.17.4.3), IspH: 1-Hydroxy-2(E)-methylbutenyl-4-diphosphat-Reduktase (EC 5.3.3.2), IPP: Isopentenylidiphosphat, DMAPP: Dimethylallyldiphosphat.

mevalonatunabhängigen Isoprenoid-Biosyntheseweges in Pflanzen initiiert.

Das herbizide Potenzial der Hemmstoffe dieser Enzyme wurde über Antisense-Experimente validiert,<sup>[5]</sup> zwei Inhibitoren mit herbizider Aktivität sind bereits bekannt: Ketoclamazon für das Enzym DXS (1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat-Synthase, EC 2.2.1.7)<sup>[6]</sup> sowie Fosmidomycin für das Enzym DXR (1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat-Reduktoisomerase, auch IspC genannt, EC 1.1.1.267).<sup>[7]</sup> Für die nachfolgenden Enzyme des Biosyntheseweges, IspD bis IspH, wurden erst vor Kurzem Inhibitoren für IspE<sup>[8]</sup> und IspF<sup>[9]</sup> beschrieben.

[\*] Dr. M. C. Witschel, Dr. H. W. Höffken, Dr. L. Parra, T. Mietzner, F. Thater, Dr. R. Niggeweg, Dr. F. Röhl  
BASF SE  
Boschstraße 14, 67056 Ludwigshafen (Deutschland)  
E-Mail: matthias.witschel@basf.com

M. Seet, Prof. Dr. F. Diederich  
Laboratorium für Organische Chemie, ETH Zürich  
Wolfgang-Pauli-Strasse 10, HCI, 8093 Zürich (Schweiz)  
E-Mail: diederich@org.chem.ethz.ch

Dr. B. Illarionov, Prof. Dr. M. Fischer, Prof. Dr. A. Bacher  
Institut für Lebensmittelchemie, Universität Hamburg  
Grindelallee 117, 20146 Hamburg (Deutschland)  
E-Mail: markus.fischer@chemie.uni-hamburg.de

Dr. F. Rohdich, Dr. J. Kaiser, Prof. Dr. A. Bacher  
Lehrstuhl für Biochemie, Technische Universität München  
Lichtenbergstraße 4, 85748 Garching (Deutschland)  
E-Mail: adelbertbacher@aol.com

[\*\*] Die Arbeiten an der ETH Zürich wurden vom Schweizer Nationalfonds unterstützt. IspD = 4-Diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol-Synthase, EC 2.7.7.60.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201102281> zu finden.

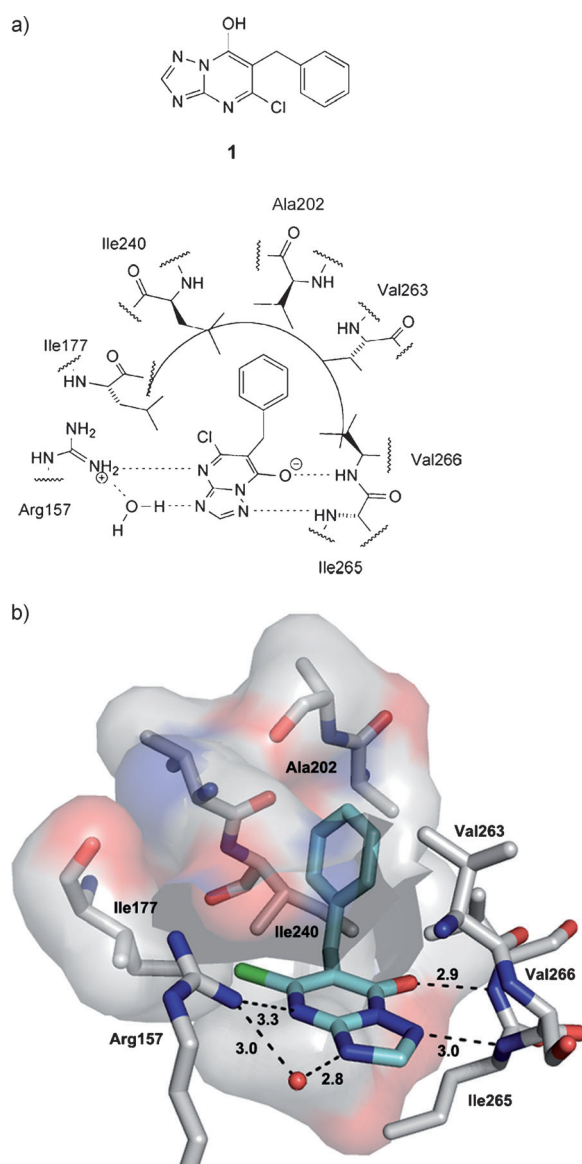
Da IspD durch Antisense-Experimente als essenziell für Pflanzen validiert werden konnte, sollten Hemmstoffe dieses Enzyms eine herbizide Wirkung zeigen.<sup>[10]</sup> Daher wurde bei der BASF eine proprietäre Substanzbank mit ca. 100000 nach maximaler Diversität ausgewählter Verbindungen im Hochdurchsatz-Screening (HTS, für Details zum verwendeten Assay siehe die Hintergrundinformationen) auf Hemmung gegen das pflanzliche IspD-Enzym aus *Arabidopsis thaliana* getestet.<sup>[11]</sup>

Es konnten nur wenige Treffer im submikromolaren und mikromolaren Affinitätsbereich identifiziert werden, wobei das 7-Hydroxy-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyrimidin **1** mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von (140 ± 10) nM die höchste Aktivität zeigte. Basierend auf der publizierten Kristallstruktur des *A. thaliana*-IspD-Enzyms (PDB-Code: 1W77) und Docking-Experimenten<sup>[12]</sup> konnte keine plausible Wechselwirkung von **1** mit dem Enzym vorgeschlagen werden. Aus diesem Grund wurde **1** im Komplex mit diesem Enzym kristallisiert, wobei eine Kokristallstruktur mit einer Auflösung von 1.4 Å (PDB-Code: 2YC3) erhalten wurde (Abbildung 1; Abbildungen 1SI und 2SI in den Hintergrundinformationen). Überraschenderweise bindet der Inhibitor nicht in der mutmaßlichen Substratbindungstasche, sondern in einer sich neu bildenden, benachbarten allosterischen Bindestelle, wodurch die eigentliche aktive Tasche in ihrer Größe reduziert wird.

Das Hydroxytriazolopyrimidin **1** hat einen pK<sub>a</sub>-Wert von 3.9 und bindet somit in deprotonierter Form, indem es die Seitenkette von Arg157 und die Hauptketten-NH-Einheit von Val266 verbrückt. Darüber hinaus bildet ein Stickstoffatom der Triazolteilstruktur mit der Hauptketten-NH-Gruppe von Ile265 eine Wasserstoffbrücke. Das zweite Triazolstickstoffatom bindet über ein lokalisiertes Wassermolekül an Arg157, sodass der Inhibitor über ein Netzwerk von vier Wasserstoffbrücken in der Tasche fixiert ist. Der Heterobicyclus ist zwischen der Wasserstoffbrücke der Seitenketten-NH-Gruppe von Gln238 mit der Hauptketten-C=O-Gruppe von Asp262 auf der Oberseite und einem Netzwerk von lipophilen Seitenketten der Aminosäuren Leu245, Ile265 und Val259 auf der Unterseite sandwichartig eingebettet (Abbildung 2SI in den Hintergrundinformationen).

Die Benzylgruppe von **1** passt sich perfekt in den lipophilen hinteren Teil der Tasche ein, der sich aus Val266, Val263, Ala202 und Ile240 zusammensetzt und nahezu keine weiteren Substitutionen in dieser Position ermöglicht. Die *ortho*-C-Atome am Phenylring zeigen auf die lipophilen Seitenketten von Ile240 und Val263, mit C⋯C-Abständen von 3.8 und 3.9 Å. Potenzielle Substituenten in *meta*-Position würden mit der Hauptketten-C=O-Gruppe von Val239 (Abstand C<sub>Bn</sub>⋯O: 3.5 Å) und der Seitenkette von Val263 (Abstand C<sub>Bn</sub>⋯C: 3.7 Å) kollidieren. Die *para*-Position wird von der Seitenkette von Val204 mit einem C<sub>Bn</sub>⋯C-Abstand von 3.9 Å blockiert. Diese ausgesprochen unpolare Umgebung wird weiterhin von der Seitenkette von Ile177 begrenzt, die eng mit dem Cl-Substituenten des Liganden wechselwirkt (Abstand C⋯Cl: 2.9 Å, siehe Abbildung 2SI in den Hintergrundinformationen).

Besonders vielversprechend erschien uns die Möglichkeit, die Bindungsaffinität durch den Ersatz des konservierten Wassermoleküls am Eingangskanal der Tasche, das eine H-

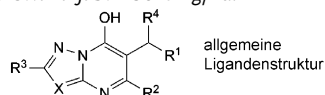


**Abbildung 1.** Röntgenkristallstruktur von *A. thaliana*-IspD, kokristallisiert mit **1** bei 1.4 Å Auflösung (PDB-Code: 2YC3). a) Formel von **1** und schematische Darstellung seines Bindungsmodus. b) Oberfläche der allosterischen Tasche. Abstände sind in Å angegeben. Farbcodierung: C grau (Enzym) und cyan (Inhibitor), N blau, O rot, Cl grün.

Brücke zum N(3)-Atom von **1** (zur Atomnummerierung siehe Schema 2) und zur Seitenkette von Arg157 bildet (Abbildung 1), durch einen geeigneten Substituenten zu erhöhen. Um diese Option zu untersuchen und die Hypothesen auf Grundlage der Analyse der Kokristallstruktur von **1** zu validieren, wurden 17 Derivate hergestellt (**2–18**; Tabelle 1).

Die Synthesen aller 7-Hydroxy[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyrimidine und 7-Hydroxypyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine erfolgt über den in Schema 2 für Ligand **1** beschriebenen Weg (experimentelle Details siehe Hintergrundinformationen). Das Benzylmalonat **19** wurde mit dem Aminotriazol **20** kondensiert, wodurch das Dihydroxytriazolopyrimidin **5** erhalten wurde. Anschließende Chlorierung mit POCl<sub>3</sub> ergab das Dichlorpyrimidin **21**, das regioselektiv in der 7-Position mit

**Tabelle 1:** Hemmwirkung und herbizide Aktivität verschiedener Azolopyrimidine auf *A. thaliana*-IspD bzw. auf *Abutilon theophrasti* und *Setaria faberi* bei 3 kg/ha.



| Ligand         | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup> | R <sup>3</sup>     | R <sup>4</sup> | X                             | IC <sub>50</sub> [μM] | herbizide Aktivität <sup>[a]</sup> |
|----------------|----------------|----------------|--------------------|----------------|-------------------------------|-----------------------|------------------------------------|
| <b>1</b>       | Ph             | Cl             | H                  | H              | N                             | 0.14 ± 0.01           | +++                                |
| <b>4</b>       | Ph             | Me             | H                  | H              | N                             | 20 ± 3                | +++                                |
| <b>5</b>       | Ph             | OH             | H                  | H              | N                             | > 500                 | n.b.                               |
| <b>6</b>       | Ph             | Me             | CO <sub>2</sub> H  | H              | N                             | > 500                 | +                                  |
| <b>7</b>       | Ph             | Me             | CH <sub>2</sub> OH | H              | N                             | > 500                 | 0                                  |
| <b>8</b>       | Ph             | Cl             | H                  | H              | C-Me                          | 43 ± 2                | n.b.                               |
| <b>3</b>       | Ph             | Cl             | H                  | H              | C-CO <sub>2</sub> H           | 274 ± 15              | 0                                  |
| <b>9</b>       | Ph             | Cl             | H                  | H              | C-CO <sub>2</sub> tBu         | 38 ± 3                | 0                                  |
| <b>10</b>      | Ph             | Cl             | H                  | H              | C-CO <sub>2</sub> Et          | 9.5 ± 0.6             | 0                                  |
| <b>11</b>      | Ph             | Cl             | H                  | H              | C-CONH<br>( <i>n</i> -Pentyl) | 18 ± 1                | n.b.                               |
| <b>12</b>      | Ph             | Cl             | H                  | H              | C-CONH <sub>2</sub>           | 6 ± 0.3               | n.b.                               |
| <b>2</b>       | Ph             | Cl             | H                  | H              | C-CN                          | 0.035 ± 0.007         | +                                  |
| <b>13</b>      | Ph             | OH             | H                  | H              | C-CN                          | > 500                 | 0                                  |
| (±)- <b>14</b> | Ph             | Cl             | H                  | Me             | C-CN                          | 3.1 ± 0.3             | 0                                  |
| <b>15</b>      | 2-F-Ph         | Cl             | H                  | H              | C-CN                          | 0.25 ± 0.01           | 0                                  |
| <b>16</b>      | 3-F-Ph         | Cl             | H                  | H              | C-CN                          | 0.27 ± 0.02           | 0                                  |
| <b>17</b>      | 3-Cl-Ph        | Cl             | H                  | H              | C-CN                          | 0.45 ± 0.05           | 0                                  |
| <b>18</b>      | <i>i</i> Pr    | Cl             | H                  | H              | N                             | 91 ± 12               | n.b.                               |

[a] n.b. = nicht bestimmt.

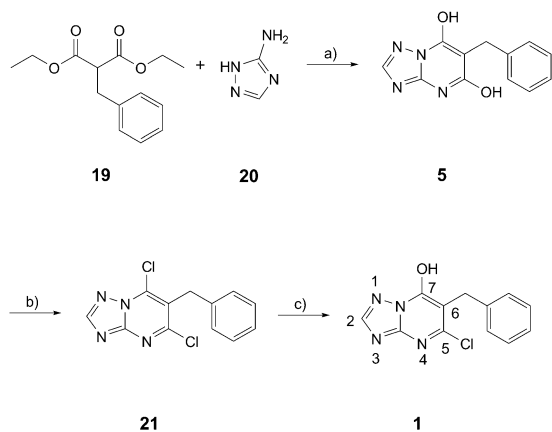
NaOH zum 5-Chlor-7-hydroxypyrimidin **1** hydrolysiert wurde.

Die Benzyltasche ist, wie oben beschrieben, sehr eng. Die Einführung einer zusätzlichen Methylgruppe in der Benzylposition ((±)-**14**) verringert die Aktivität um einen Faktor von über 100 gegenüber der von **2**. In ähnlicher Weise ergab auch die Einführung von Substituenten am Phenylring eine verringerte Aktivität (vgl. **2** mit **15–17**).

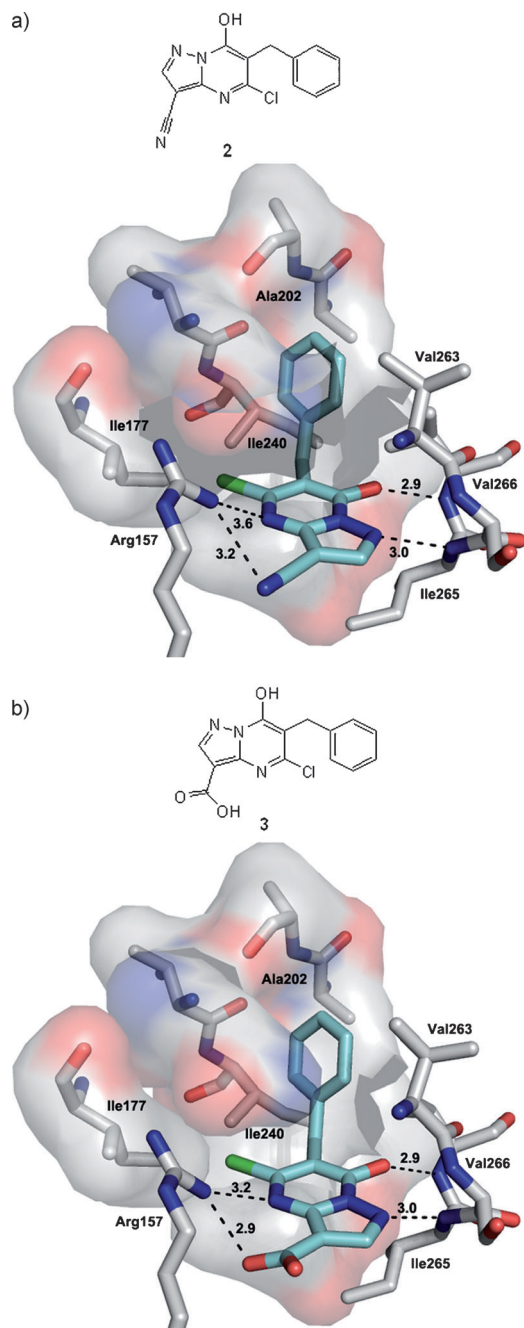
Alle Änderungen am Heterobicyclus mit Ausnahme der 3-Position führten ebenfalls zu einer signifikanten Verringerung der Aktivität (vgl. **4–7**, **13**). Der Ersatz von N(3) von **1** durch C-Me (**8**) führte erwartungsgemäß zu einem drastischen Aktivitätsverlust, da das H-Brückennetzwerk zerstört

(IC<sub>50</sub>: (274 ± 15) μM) ist allerdings um das nahezu 2000-fache reduziert. Dieses Ergebnis ist recht überraschend, bedenkt man, dass die pK<sub>a</sub>-Werte des Carbonsäurerests und der aromatischen OH-Gruppe zu 2.32 und 5.22 bestimmt wurden, sodass **3** vermutlich als Dianion bindet. Unsere Erklärung für die geringe Aktivität von **3** ist der hohe Energieaufwand, der für die Desolvatisierung des Carboxylatrests im Bindungsschritt notwendig ist. Ester und Amide (**9–12**) zeigen eine höhere Aktivität als die Carbonsäure, sind allerdings immer noch deutlich schwächere Liganden als **1** und **2**.

Es ist bemerkenswert, dass in der Kokristallstruktur von *A. thaliana*-IspD mit Cytidinmonophosphat (CMP; PDB-Code: 1W77) die allosterische Tasche, die von Liganden wie **1–3** besetzt wird, nicht gefüllt und auch nicht vollständig gebildet ist. Der Grund hierfür liegt in Geometrie und Flexibilität der Schleife zwischen Glu255 und Tyr268, deren Seitenketten in der CMP-Struktur teilweise nicht aufgelöst sind. Nur in Gegenwart eines geeigneten Liganden, wie **2**, öffnet die Schleife die allosterische Tasche vollständig und nimmt dabei eine geordnete Geometrie an. Abbildung 3 zeigt die Überlagerung der Kokristallstrukturen von *A. thaliana*-IspD mit CMP und mit **2**. Im unteren Teil der Abbildung findet sich eine Vergrößerung der Schleife beider Strukturen. Während Glu255 in der 1W77-Struktur (grün) und Glu255\* in der Kokristallstruktur mit **2** (grau) eine gute Überlagerung zeigen, sieht man beginnend mit den darauffolgenden Aminosäuren eine unterschiedliche Konformation der Schleife. Besonders die Seitenkette von Glu258\*, die in der Struktur mit **2** nach außen zeigt, orientiert sich in 1W77 nach innen, in den Bereich der allosterischen Tasche. Zusätzlich orientiert sich die Carboxylat-Seitenkette von Asp262\* von außen (bei 1W77) in Richtung der mutmaßlichen MEP-Bindungstasche



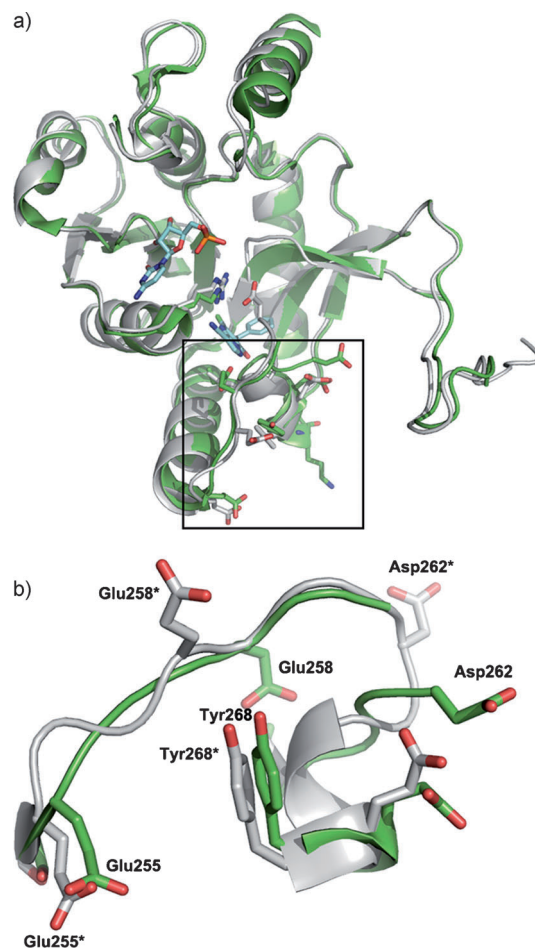
**Schema 2.** Synthese des Triazolopyrimidins **1**. a) NBu<sub>3</sub>, 150 °C, 8 h, 25 %; b) POCl<sub>3</sub>, HNMe<sub>3</sub>Cl, 150 °C, 15 h, 48 %; c) NaOH, THF, 25 °C, 14 h, 57 %.



**Abbildung 2.** Röntgenkristallstrukturen von **2** (a, 1.6 Å Auflösung, PDB-Code: 2YC5) und **3** (b, 1.8 Å Auflösung, PDB-Code: 2YMC), kokristallisiert mit *A. thaliana*-IspD. Abstände sind in Å angegeben. Farbcodierung siehe Abbildung 1.

(bei 2YC5) und trägt so zur allosterischen Hemmung durch **2** bei, indem sie zum einen die aktive Tasche verkleinert und zum anderen wahrscheinlich zu elektrostatischen Repulsionen mit dem anionischen Substrat führt.

Der ursprüngliche Treffer **1** zeigte sehr gute Herbizidwirkung (+++) im Gewächshaus bei 3 kg/ha gegen die zwei wichtigen Mais-Unkräuter *Abutilon theophrasti* und *Setaria faberi* (Tabelle 1). Die Analoga mit geringerer Target-Aktivität ergaben eine schwächere herbizide Wirkung. Das am Target hochaktive Nitril **2** lieferte im gleichen Test ebenfalls



**Abbildung 3.** Überlagerung der beiden Kokristallstrukturen von *A. thaliana*-IspD. Grün: mit CMP (PDB-Code: 1W77), grau: mit **2** (PDB-Code: 2YC5). a) Überblick über das vollständige Protein. b) Flexible Schleife zwischen Glu255 und Tyr268 (mit einem Stern markierte Aminosäuren gehören zur Kokristallstruktur mit **2**). Farbcodierung für die Aminosäureseitenketten und Liganden: C grau oder grün (Enzym) und cyan (CMP und Inhibitor **2**), N blau, O rot, Cl grün, P orange.

eine gewisse Aktivität (+), allerdings geringer als die der Leitstruktur **1**. Der Ersatz des Adjuvans durch das acidere DASH<sup>[14]</sup> erhöhte die herbizide Wirkung nach einer Woche z. B. für **2** und **15** (++), was auf eine Aktivitätslimitierung durch die Aufnahme dieser Verbindungen in die Pflanze schließen lässt. Die Aktivität dieser Verbindungsklasse liegt in einem interessanten Bereich für herbizide Leitstrukturen. Für eine Kommerzialisierung dieser Verbindungen müsste allerdings die Target- und Gewächshausaktivität noch um einen Faktor von mindestens 10 gesteigert werden.

Nach unserem Wissen sind die Azolopyrimidine die ersten beschriebenen Inhibitoren des Enzyms IspD. Die Analyse des Bindungsmodus in der neu gebildeten allosterischen Tasche und nachfolgende Strukturoptimierung ergaben eine Aktivitätserhöhung zu IC<sub>50</sub>-Werten von (35 ± 7) nM. Für eine Reihe Target-aktiver Analoga konnten wir zusätzlich herbizide Wirkung nachweisen. Eine mögliche rückkopplungsregulatorische Funktion der allosterischen Tasche durch die Bindung späterer Produkte des mevalonatunabhängigen Biosynthesewegs wird zurzeit untersucht.

Eingegangen am 1. April 2011  
Online veröffentlicht am 18. Juli 2011

**Stichwörter:** Allosterie · Herbizide · Medizinische Chemie ·  
Protein-Ligand-Wechselwirkungen ·  
Struktur-Aktivitäts-Beziehungen

- [1] a) M. Rohmer, M. Knani, P. Simoni, B. Sutter, H. Sahn, *Biochem. J.* **1993**, 295, 517–524; b) M. K. Schwarz, Dissertation Nr. 10951, ETH Zürich, **1994**; c) S. T. J. Broers, Dissertation Nr. 10978, ETH Zürich, **1994**; d) W. Eisenreich, B. Menhard, P. J. Hylands, M. H. Zenk, A. Bacher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 6431–6436; e) W. Eisenreich, M. Schwarz, A. Cartayrade, D. Arigoni, M. H. Zenk, A. Bacher, *Chem. Biol.* **1998**, 5, R221–R233; f) W. Eisenreich, F. Rohdich, A. Bacher, *Trends Plant Sci.* **2001**, 6, 78–84; g) W. Eisenreich, A. Bacher, D. Arigoni, F. Rohdich, *Cell. Mol. Life Sci.* **2004**, 61, 1401–1426.
- [2] H. Jomaa, J. Wiesner, S. Sanderbrand, B. Altincicek, C. Weidemeyer, M. Hintz, I. Turbachova, M. Eberl, J. Zeidler, H. K. Lichtenthaler, D. Soldati, E. Beck, *Science* **1999**, 285, 1573–1576.
- [3] H. Matsumoto, M. Mitzutani, T. Yamaguchi, J. Kadotani, *Weed Biol. Manage.* **2002**, 2, 39–45.
- [4] S. C. Weller, M. D. K. Owen, W. G. Johnson in *Glyphosate Resistance in Crops and Weeds* (Hrsg.: V. K. Nandula), Wiley, Hoboken, **2010**, S. 213–232.
- [5] K. Okada, H. Kawaide, T. Kuzuyama, H. Seto, I. S. Curtis, Y. Kamiya, *Planta* **2002**, 215, 339–344.
- [6] C. Müller, J. Schwender, J. Zeidler, H. K. Lichtenthaler, *Biochem. Soc. Trans.* **2000**, 28, 792–793.
- [7] a) F. Rohdich, S. Lauw, J. Kaiser, R. Feicht, P. Köhler, A. Bacher, W. Eisenreich, *FESB J.* **2006**, 273, 4446–4458; b) T. Kuzuyama, T. Shimizu, S. Takahashi, H. Seto, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 7913–7916; c) J. Zeidler, J. Schwender, C. Müller, J. Wiesner, C. Weidemeyer, E. Beck, H. Jomaa, H. K. Lichtenthaler, *Z. Naturforsch. C* **1998**, 53, 980–986.
- [8] A. K. H. Hirsch, M. S. Alphey, S. Lauw, M. Seet, L. Barandun, W. Eisenreich, F. Rohdich, W. N. Hunter, A. Bacher, F. Diederich, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, 6, 2719–2730.
- [9] a) C. M. Crane, J. Kaiser, N. L. Ramsden, S. Lauw, F. Rohdich, W. Eisenreich, W. N. Hunter, A. Bacher, F. Diederich, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 1082–1087; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 1069–1074; b) J. G. Geist, S. Lauw, V. Illarionova, B. Illarionov, M. Fischer, T. Gräwert, F. Rohdich, W. Eisenreich, J. Kaiser, M. Groll, C. Scheurer, S. Wittlin, J. L. Alonso-Gómez, W. B. Schweizer, A. Bacher, F. Diederich, *ChemMedChem* **2010**, 5, 1092–1101.
- [10] a) F. Rohdich, J. Wungstaweekul, W. Eisenreich, G. Richter, C. A. Schuhr, S. Hecht, M. H. Zenk, A. Bacher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 6451–6456; b) M. Fellermeier, M. Raschke, S. Sagner, J. Wungstaweekul, C. A. Schuhr, S. Hecht, K. Kis, T. Radykewicz, P. Adam, F. Rohdich, W. Eisenreich, A. Bacher, D. Arigoni, M. H. Zenk, *Eur. J. Biochem.* **2001**, 268, 6302–6310.
- [11] a) V. Illarionova, J. Kaiser, E. Ostrozhenkova, A. Bacher, M. Fischer, W. Eisenreich, F. Rohdich, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 8824–8834; b) A. Bacher, M. H. Zenk, W. Eisenreich, M. Fellermeier, M. Fischer, S. Hecht, S. Herz, K. Kis, H. Lüttgen, F. Rohdich, S. Sagner, C. A. Schuhr, J. Wungstaweekul, WO 2001011055, **2001**.
- [12] M. Gabrielsen, J. Kaiser, F. Rohdich, W. Eisenreich, R. Laupitz, A. Bacher, C. S. Bond, W. N. Hunter, *FEBS J.* **2006**, 273, 1065–1073.
- [13] a) M. Ellermann, R. Jakob-Roetne, C. Lerner, E. Borroni, D. Schlatter, D. Roth, A. Ehler, M. G. Rudolph, F. Diederich, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 9256–9260; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 9092–9096; b) H. Yu, S. W. Rick, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 6608–6613.
- [14] T. Whitwell, K. E. Kalmowitz, G. S. Stapleton, *J. Environ. Hortic.* **1992**, 10, 55–58.