

Das biokatalytische Repertoire natürlicher Biarylbildung

Hülya Aldemir, René Richarz und Tobias A. M. Gulder*

Biaryle · Biosynthesen · Enzyme · Naturstoffe ·
Oxidative Kupplungen

Die katalytische und selektive Bildung von C-C-Bindungen für den Aufbau komplexer Moleküle ist eine der wichtigsten Aufgaben in der organischen Chemie. Dies wurde 2010 durch den Nobelpreis in Chemie für die Entwicklung Pd-katalysierter Kupplungsreaktionen deutlich hervorgehoben. Das Prinzip der Kreuzkupplung von Bausteinen zum Aufbau komplexer Moleküle kann auch in der Naturstoffbiosynthese häufig gefunden werden. Beeindruckende Beispiele für solche natürliche Kupplungsreaktionen stellen biosynthetische Prozesse für den Aufbau von Biaryleinheiten in Naturstoffen dar – hoch effiziente enzymatische Reaktionen, die oft bis dato in Synthesen noch nicht erreichte Selektivitäten erzielen. Dieser Kurzaufsatz stellt ausgewählte Beispiele vor, die diese faszinierenden Biotransformationen illustrieren.

1. Einleitung

Die Fähigkeit der Natur, ihr unerschöpfliches chemisches Arsenal an bioaktiven Naturstoffen aus einfachen Bausteinen zu bilden, ist äußerst bemerkenswert. Durch den Einsatz einer relativ kleinen Anzahl chemischer Reaktionen werden große Familien von Sekundärmetaboliten mit unterschiedlichsten Strukturen aufgebaut, darunter Alkaloide, Terpene, Polyketide und (nicht)ribosomale Peptide.^[1] Der eindrucksvolle chemische Strukturraum, der bereits dadurch zugänglich ist, wird durch weitere Veränderungen während oder nach dem Aufbau der Grundstrukturen durch „Tailoring“-Enzyme sogar noch erweitert. Diese Biokatalysatoren verändern Metabolite z. B. durch Alkylierung oder Glykosylierung, oder durch unterschiedliche Red/Ox-Transformationen wie Halogenierungen und Hydroxylierungen.^[2]

Ein besonders interessanter oxidativer Modifikationsschritt ergibt durch die Einführung einer oder mehrerer

Biarylbindungen eine große Anzahl medizinisch bedeutsamer Sekundärmetaboliten. Solche Modifikationen können in zahlreichen Naturstoff-Familien aus phylogenetisch sehr unterschiedlichen produzierenden Organismen gefunden werden und finden sowohl inter- als auch intramolekular statt. Dies resultiert in einer Fülle natürlicher Biarylverbindungen (Abbildung 1),^[3] die von isocyclischen Kongeneren, z. B. echte Dimere wie (–)-Gossypol (**1**)^[4] oder unsymmetrische Verbindungen wie (+)-Kniphonol (**2**),^[5] über Biaryle mit anellierten Heterocyclen, z. B. Blumeanic (**3**),^[6] und Heterobiaryle wie Streptonigrin (**4**)^[7] oder sogar N,C-verknüpfte Beispiele wie Murrastifolin F (**5**)^[8] bis hin zu verbrückten Biarylen wie (+)-Schizandrin (**6**),^[9] Cavicularin (**7**),^[10] oder Biphenomycin A (**8**)^[11] reicht. Aufgrund der oft lohnenswerten biologischen Aktivitäten solcher Moleküle wurde eine Vielzahl von Methoden für ihre Synthese entwickelt.^[12] Dies ist eine schwierige Aufgabe, da in vielen Fällen nicht nur Regioselektivität erreicht und hohe sterische Hindernisse überwunden, z. B. für die Installation tetrasubstituierter Achsen, sondern auch der stereochemische Verlauf kontrolliert werden muss, um im Fall konfigurationsstabilier Achsen die richtige axiale Chiralität zu erhalten.^[13] Die meisten der gegenwärtigen Methoden zur Bildung von Biarylbindungen erfordern daher eine Vorfunktionalisierung zur Aktivierung der Substrate, oder/und um Regio-/Stereoselektivität zu erzielen.^[12,13] Viel einfacher wäre die direkte, aber dennoch selektive Kupplung von zwei nichtfunktionalisierten Arylfragmenten. Innovative oxidative Methoden dieser Art kommen zwar gerade auf,^[14] sind jedoch noch weit davon entfernt, auf ein breites Spektrum an Zielmolekülen anwendbar zu sein.

[*] Dipl.-Chem. H. Aldemir,^[+] Dipl.-Biol. R. Richarz,^[+] Prof. Dr. T. A. M. Gulder
Biosystems Chemistry, Department Chemie und
Center of Integrated Protein Science Munich
Technische Universität München
Lichtenbergstraße 4, 85748 Garching (Deutschland)
E-Mail: tobias.gulder@ch.tum.de
Homepage: <http://www.biosystemchemie.ch.tum.de>
[+] H.A. und R.R. haben gleichermaßen zu dieser Arbeit beigetragen.

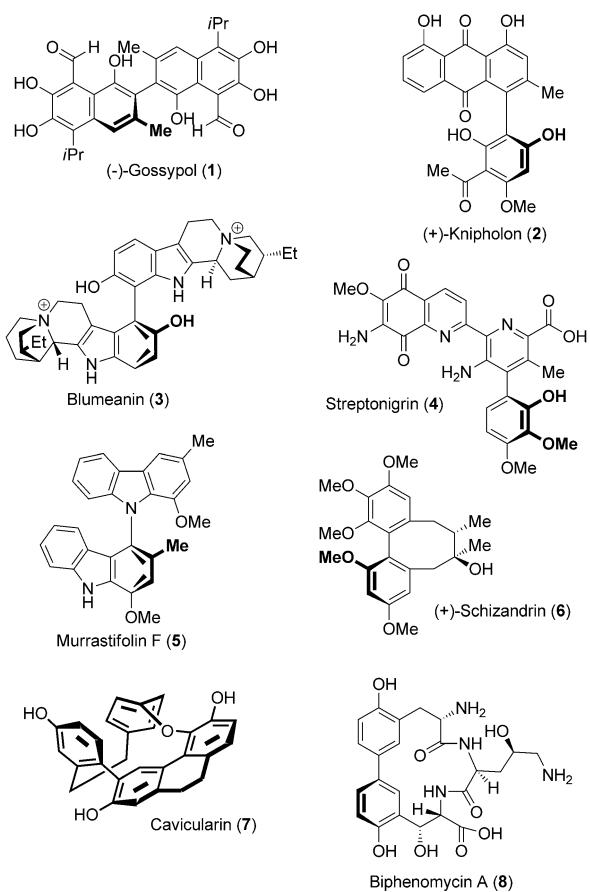


Abbildung 1. Beispiele strukturell diverser natürlicher Biaryle.

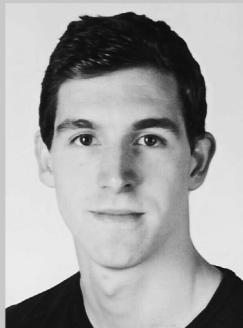
Aber wie macht sich die Natur solch eine große Bandbreite an Biaryl-Sekundärstoffen zugänglich? Ein einheitliches Prinzip, das hinter der Konstruktion von Biarylen in der Naturstoffbiosynthese steht, ist die oxidative Phenol-Kupplung.^[15] Es wird häufig angenommen, dass an diesem Prozess ein oxidatives Enzym beteiligt ist, z.B. eine Laccase, eine Peroxidase oder ein Cytochrom-P450-Enzym (CYP). Der Biokatalysator erzeugt ein Radikal an einem phenolischen Substituenten (oder einer Aminogruppe) – entweder durch Deprotonierung und Ein-Elektronen-Transfer oder durch Abstraktion eines Wasserstoffradikals – im Kupplungssubstrat, z.B. **9**, wobei das Intermediat **10** erzeugt wird. Dieses kann entweder mit einem zweiten, durch das Enzym gebildeten Radikalsubstrat (beispielhaft gezeigt in Schema 1) reagieren, oder durch Kupplung des Radikals mit einem weiteren Substratmolekül, hier **9**, unter anschließender erneuter Abspaltung eines Protons und eines Elektrons. Beide Reaktionspfade führen letztlich insgesamt zur Abstraktion von zwei Protonen und zwei Elektronen mit Installation einer Biaryl- oder Biarylether-Bindung. Das Radikal **10** trägt nicht nur Spindichte am Sauerstoffatom (**10a**), sondern auch an den *ortho*- und *para*-Positionen (**10b-d**). Dies ermöglicht die Bildung einer großen Auswahl regiodivergenter Produkte mit C-O-C- (oder C-N-C-) oder C-C-Verknüpfungen. Als mechanistische Alternative ist oft auch ein Radikalkation-Mechanismus denkbar, bei dem die Reihenfolge der Elektronen-



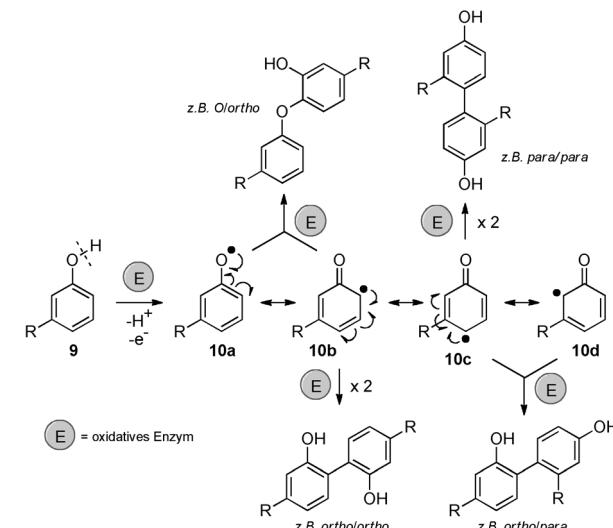
Tobias Gulder studierte Chemie in Würzburg, wo er 2008 im Umfeld von Prof. Bringmann auch seine Promotion in analytischer und synthetischer Naturstoffchemie abschloss. Nach einem Postdoktorat im Bereich mariner Naturstoff-Biosynthese bei Prof. Moore an der Scripps Institution of Oceanography (La Jolla, USA) von 2008–2010 startete er seine unabhängige wissenschaftliche Laufbahn in Bonn. 2014 nahm er einen Ruf der TU München auf die Professur Biosystemchemie an. Tobias Gulder interessiert sich für die Struktur und (Bio)-Synthese bioaktiver mikrobieller Naturstoffe.



Hülya Aldemir studierte Chemie an der Universität zu Köln und schloss 2010 ihre Diplomarbeit im Bereich der C-H-Aktivierung in der Gruppe von Prof. Goldfuss ab. Anschließend startete sie ihre Doktorarbeit bei Prof. Gulder an der Universität Bonn, in der sie sich mit der chemoenzymatischen Totalsynthese von Naturstoffen beschäftigt. Seit 2014 arbeitet sie am Abschluss ihrer Promotion an der TU München.



René Richarz studierte Biologie an der Universität Bonn, wo er seine Diplomarbeit in Mikrobiologie in der Gruppe von Prof. Deppenmeier abschloss. Seit 2011 arbeitet er bei Prof. Gulder an seiner Dissertation in Bonn und an der TU München. Er interessiert sich für chemoenzymatische Methoden zur Konstruktion komplexer Naturstoffe.



Schema 1. Das Grundprinzip der enzymatischen oxidative Phenolkupplung.

und Protonenabstraktion umgekehrt ist, der jedoch zum identischen Ergebnis bezüglich der Gesamtreaktion führt.

In diesem Kurzaufsatzen möchten wir die Vielseitigkeit der enzymatischen Biarylkonstruktion in der Naturstoff-Biosynthese herausstellen. Zu diesem Zweck diskutieren wir intra- und intermolekulare Varianten dieser faszinierenden Reaktion für eine kleine Auswahl ausgesuchter Beispiele biomedizinisch und strukturell fesselnder Sekundärstoffe.

2. Intramolekulare enzymatische Biarylkapplungen

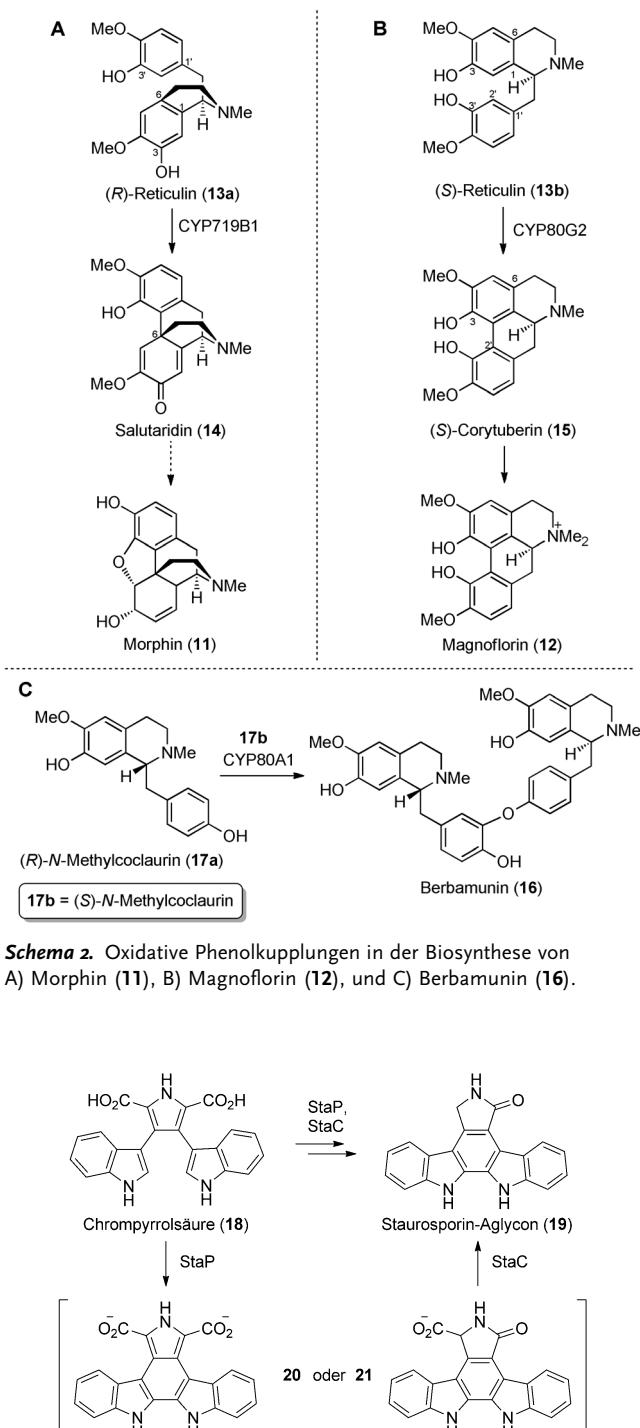
2.1. Bildung von Alkaloid-Gerüsten

Die aus Pflanzen stammenden Benzylisochinolin-Alkaliole bilden eine Naturstoffklasse, die bekannt ist für ihre pharmazeutische Wirkung, wie z.B. Morphin (**11**)^[16] als ein narkotischer und schmerzlindernder Wirkstoff oder das sedative und angstlösende Magnoflorin (**12**).^[17] Diese strukturell komplexen Verbindungen werden unter anderem aufgebaut durch Biaryl- und/oder Biarylether-Bildung, die durch CYP-Oxidases katalysiert wird.^[18–20] Die intramolekulare C-C-Phenolkupplung in der Morphin-Biosynthese in Schlafmohn wird durch die hoch stereo- und regioselektive Salutaridin-Synthase CYP719B1 in einem Eisen-Oxidationszyklus katalysiert.^[18] Dabei wird (*R*)-Reticulin (**13a**) in Salutaridin (**14**) umgewandelt, eine Vorstufe von **11** (Schema 2). Die Magnoflorin-Vorstufe (*S*)-Corytuberin (**15**) wird durch stereospezifische Oxidation von (*S*)-Reticulin (**13b**) durch die Oxidase CYP80G2 erzeugt.^[19] In diesem Fall wird postuliert, dass die Kupplung über einen Diradikal-Mechanismus verläuft. Die Biosynthese des Bisbenzylisochinolin-Alkaloids Berbamunin (**16**) aus *N*-Methylcoclaurin (**17a**) in *Berberis stolonifera* ist ein Beispiel für eine regioselektive intermolekulare C-O-C-Phenolkupplung (siehe Abschnitt 3), die durch die Berbamunin-Synthase CYP80A1 katalysiert wird.^[20]

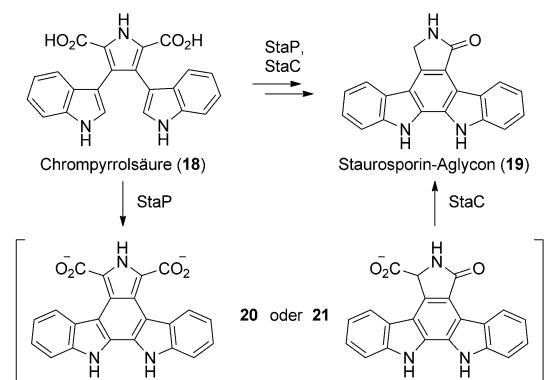
Eine weitere hochinteressante Alkaloid-Klasse mit Biarylbindung sind die antitumoralen Indolcarbazole.^[21] Die bekanntesten Beispiele sind Staurosporin^[22] und Rebecca-mycin.^[23] Die Biarylkapplung, die diese Verbindungen liefert, wird durch die CYPs StaP bzw. RebP katalysiert.^[24] In Kombination mit der Flavin-abhängigen Oxidoreduktase StaC (oder RebC)^[25] wird Chrompyrrolsäure (**18**) in einer Vier-Elektronen-Oxidationssequenz über **20** oder **21** in das Aglycon von Staurosporin (**19**) umgewandelt (Schema 3).

2.2. Oxidative Kreuzkupplung in der Tannin-Biosynthese

Natürliche organische Gerbstoffe bilden eine strukturell diverse Klasse polyphenolischer Verbindungen mit interessanten pharmazeutischen Eigenschaften, z.B. antimikrobielle, antitumorale oder antivirale Aktivitäten.^[26] Tannine können eingeteilt werden in hydrolysierbare und kondensierbare Kongenere. Letztere bestehen aus polymeren Flavonoiden, während hydrolysierbare Tannine Ester der Gallensäure mit einem Polyol, typischerweise β -D-Glukose, enthalten. Eine vollständig galloylierte Glukose bildet die Vorstufe (**22**) der hydrolysierbaren Ellagitannine und Gallotannine. Die Ella-



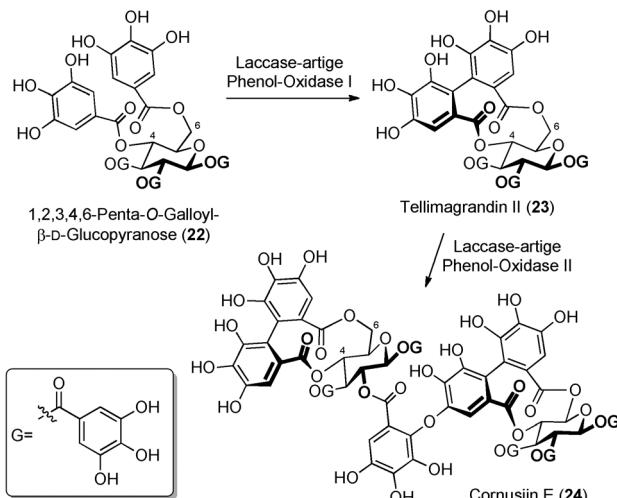
Schema 2. Oxidative Phenolkupplungen in der Biosynthese von A) Morphin (**11**), B) Magnoflorin (**12**), und C) Berbamunin (**16**).



Schema 3. Oxidative Kupplung in der Biosynthese des Indolcarbazols Staurosporin.

gitannine sind strukturell charakterisiert durch oxidative Aryl-Aryl-Kupplungen zwischen passend ausgerichteten Galloyl-Einheiten. Die Konformation des zentralen Glukose-Bausteins bestimmt dabei die Regioselektivität in der Kupplungsreaktion. 2,3- und 4,6-Kreuzkupplungen sind bevorzugt, wenn die zentrale Glukose-Einheit in der energetisch bevorzugten $^4\text{C}_1$ -Konformation vorliegt, während das weniger stabile $^1\text{C}_4$ -Konformer 1,6-, 3,6- und 2,4-Verknüpfungen liefert.

Die entstehenden monomeren Ellagitannine können intermolekulare oxidative Biaryl- und/oder Biarylether-Bindungen bilden und so die enorme strukturelle Vielfalt der oligomeren Derivate hervorbringen. Untersuchungen zur Biosynthese von Ellagitanninen in *Tellima grandiflora* führten zur Identifizierung eines Enzyms, das selektiv Tellimagrandin II (23)^[27] produziert (die Schlüsselvorstufe vieler Ellagitannine)^[28] und eines zweiten Enzyms, das 23 oxidativ zu Cornusin E (24)^[29] dimerisiert (Schema 4). Die beiden Enzyme wurden der Unterkasse der Laccasen zugeordnet,^[26] die die Oxidation von Phenolen durch Ein-Elektronen-Transfer und gleichzeitige Reduktion von molekularem Sauerstoff katalysieren.^[30]



Schema 4. Laccase-vermittelte oxidative Kreuzkupplung in der Ellagitannin-Biosynthese.

2.3. Bildung cyclischer Peptide durch oxidative Vernetzung

Eine Vielzahl biomedizinisch relevanter Peptide beinhaltet zwischen aromatischen Aminosäure-Seitenketten gebildete Biaryl-Strukturelemente. Diese Peptide stammen von nichtribosomalen Peptidsynthetasen (NRPS) oder NRPS-Polyketidsynthase-Hybridenzymen (NRPS/PKS). Biaryl- oder Biarylether-Bindungen, die in vivo enormen Einfluss auf Gestalt und Stabilität dieser Moleküle und folglich auch auf deren biologische Aktivität haben,^[31] werden von CYPs eingebracht. Das bekannteste Beispiel aus dieser Naturstoffklasse ist Vancomycin (25, Abbildung 2), ein Glykopeptid-Antibiotikum, das Mitte der 1950er entdeckt wurde^[32] und effektiv die Zellwandbiosynthese inhibiert.^[33] 25 beinhaltet drei durch Biaryl- und Biarylether-Bindungen gebildete Makrocyclen. Die Kreuzkupplungen werden von den drei CYPs OxyA, OxyB und OxyC durchgeführt, die im entsprechenden Biosynthese-Gencluster kodiert sind.^[34] Gendeletionen in *Amycolatopsis balhimycina*, dem Produzenten des eng verwandten Balhimycins, deuten darauf hin, dass die Ringbildung in folgender Reihenfolge katalysiert wird: OxyB → Ring 1, OxyA → Ring 2, OxyC → Ring 3.^[31a,35] Bislang konnte der exakte Zeitpunkt der Vernetzung wäh-

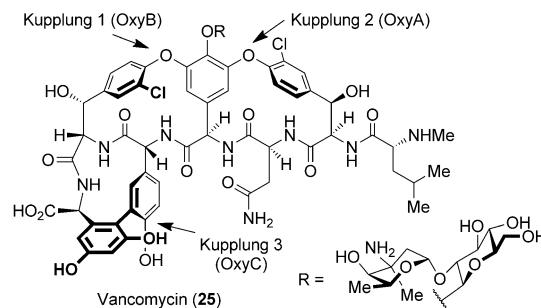


Abbildung 2. CYP-katalysierte Kreuzkupplung während der Vancomycin-Biosynthese.

rend des Aufbaus der Peptidkette noch nicht eindeutig aufgeklärt werden. Weitere Deletionsmutanten von *A. balhimycina*^[31b] und In-vitro-Untersuchungen mit OxyB aus dem Vancomycin-Produzenten *Amycolatopsis orientalis* deuten jedoch stark darauf hin, dass entweder die lineare Hexa- oder Heptapeptidvorstufe, gebunden am vorletzten bzw. letzten Trägerprotein der NRPS, das Substrat für die Biarylkkupplung ist und nicht die entsprechenden freien Säuren.^[34a,36]

Die oxidativen Kreuzkupplungen fügen drei chirale Elemente in 25 ein, eine konfigurationsstabile Biarylachse und zwei Biarylether-Bindungen, die planare Chiralität hervorrufen. Während die axiale Chiralität durch die Biarylkkupplung selbst kontrolliert werden muss, ist dies bei den Elementen planarer Chiralität, bei denen die an den Tyrosin-Einheiten gebundenen Chloratome entscheidend sind, weniger eindeutig. Nichtpolare Deletionsmutanten von OxyABC des Balhimycin-Clusters produzierten lineare, nichtchlorierte Peptide (Δ OxyB) und monacyclische oder bicyclische, vollständig chlorierte Peptide (Δ OxyA oder Δ OxyC).^[34b] Zusammen mit einer signifikant geringen Umsetzung von chlorierten Hexa- und Heptapeptiden durch Vancomycin-OxyB in vivo^[37] wirft dies die Frage auf, ob es sich bei den in früheren Deletionsstudien entdeckten, vollständig chlorierten linearen Peptiden^[31b,35a] lediglich um Nebenprodukte des Biosyntheseweges handelt. In diesem Fall wäre es möglich, dass die Halogenierung erst nach der initialen Kupplung durch OxyB erfolgt,^[37] wodurch die Halogenierungsreaktion zum stereochemisch entscheidenden Schritt würde.

Biaryl- und Biarylether-Bindungen sind Strukturmerkmale, welche sich auch in diversen anderen biologisch aktiven Peptiden finden. Interessante Beispiele sind das antivirale Complestatin (26)^[38] und die antibiotischen Lipopeptide der Arylomycin-Familie (z. B. 27, Abbildung 3).^[39] In allen Fällen folgt die Bildung von Biarylbindungen höchstwahrscheinlich dem obigen Schema,^[31c,39d,40] wobei der experimentelle Nachweis dafür noch aussteht.

3. Intermolekulare enzymatische Biarylkkupplungen

3.1. Dimerisierung aromatischer Peptide

Der Abschnitt 2.3 beleuchtete Biaryl-bildende Reaktionen in der Glykopeptidbiosynthese, wobei die resultierenden

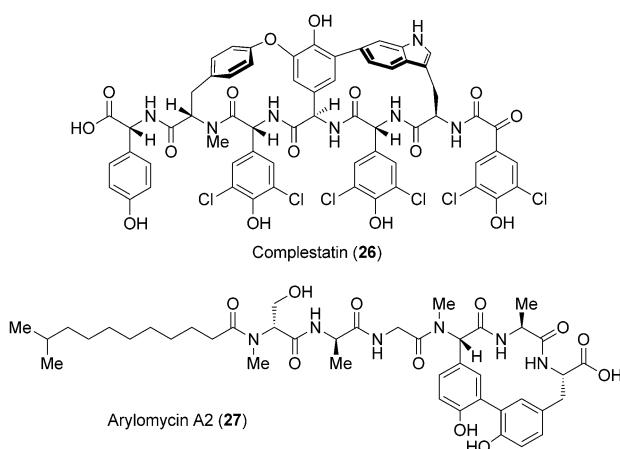
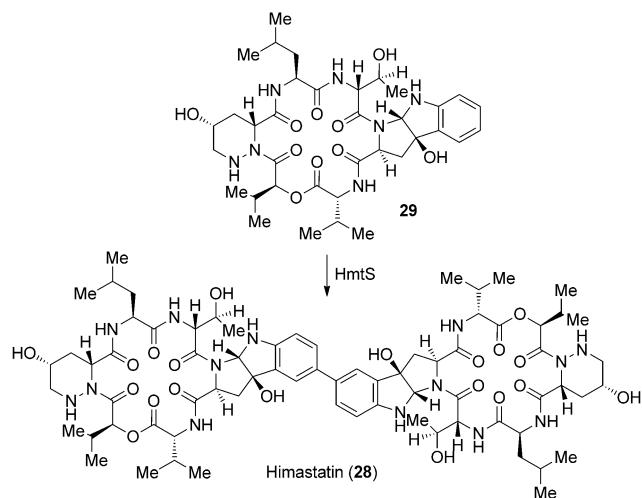


Abbildung 3. Complestatin (26) und Arylomycin A2 (27).

Verknüpfungen entscheidend für die biologische Aktivität der Produkte sind. Dies findet man auch im intermolekularen Fall des Histamins (28).^[41] Untersuchungen zur Biosynthese von 28 haben gezeigt, dass das CYP HmtS die Dimerisierung der Hexapeptid-Vorstufe 29 katalysiert (Schema 5).^[42] Dies ist eine außergewöhnliche Reaktion, da die Kupplungssubstrate in freier Form – also nicht an ein Trägerprotein gebunden – vorliegen. Interessanterweise ist das Kandidatenzym HmtS eng verwandt mit KtzM, einem Protein, von dem man annimmt, dass es in der Kutznerid-Biosynthese die oxidative Transformation eines Tryptophanrestes in Hexahydropyrrolindol bewirkt;^[43] dieses Strukturelement findet man auch in 28. Im Himastatin-Biosyntheseweg wird die oxidative Dimerisierung allerdings von HmtS durchgeführt, während die Bildung des Indolteils durch HmtT katalysiert wird.^[44]

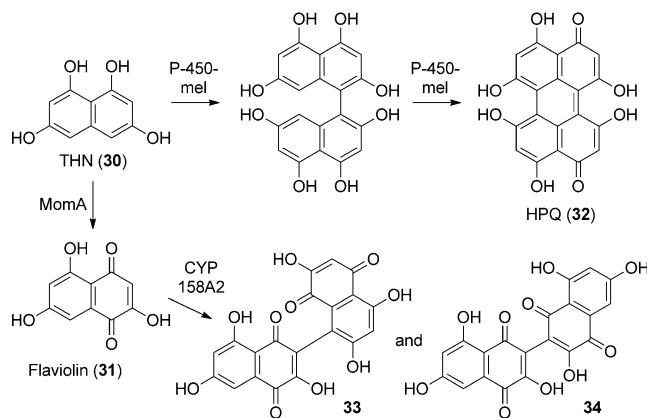


Schema 5. Oxidative Dimerisierung zu Himastatin (28).

3.2. Biarylverknüpfungen aromatischer Polyketide

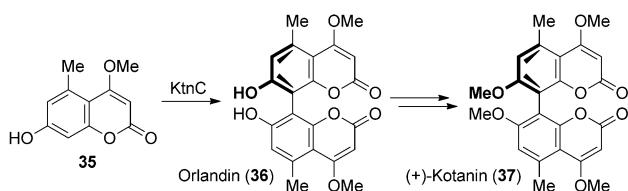
Melanine bilden eine biosynthetisch und strukturell diverse Klasse von Metaboliten.^[45] Diese Makromoleküle

werden generell durch die oxidative Polymerisierung von Phenolen oder Indolen gebildet. Eine der wichtigsten Klassen der fungalen Melanine sind die DHN-Melanine (nach 1,8-Dihydroxy-naphthalin). Der monomere Baustein 1,3,6,8-Tetrahydroxy-naphthalin (30, THN) wird von fungalen Typ-I-Polyketidsynthasen (PKS I) produziert^[46] und in DHN umgewandelt, das durch eine Laccase oxidativ dimerisiert/polymerisiert wird.^[45] Interessanterweise kann 30 auch in diversen Streptomyces durch ein PKS-III-System synthetisiert werden.^[47] Das PKS-Gen wird häufig durch das Monooxygenase-Homolog momA und das CYP-Homolog P-450mel flankiert.^[48] Während MomA ein Chinon-bildendes Enzym ist, z. B. oxidiert es 30 zu Flaviolin (31),^[48] katalysiert P-450mel in *Streptomyces griseus* die Dimerisierung von 30 durch doppelte Biarylverknüpfung zu Hexahydroxyperylchinon (32, HPQ) (Schema 6). Bemerkenswert ist, dass das Homolog CYP158A2 aus *Streptomyces coelicolor* A3(2) wiederum 31 als Substrat akzeptiert, was in der Bildung von dimeren und trimeren Flaviolin-Kupplungsprodukten, z. B. 33 und 34, resultiert.^[50]



Schema 6. Biokatalytische Bildung von THN (30) und den Flaviolin-Dimeren 32–34.

Die Dimerisierung von 31 durch CYP158A2 ist nicht regioselektiv (zur Stereoselektivität gibt es bislang keine Untersuchungen). Im Unterschied dazu wird in vielen anderen Polyketid-abgeleiteten Naturstoffen die Regio- und Stereoselektivität der Kupplungsreaktionen effektiv kontrolliert.^[3] Besonders beeindruckende Beispiele dafür sind die Bicumarine.^[51] Hüttel und Müller et al. beleuchteten die Biosynthese des einfach methylierten Bausteins 35 über Orlandin (36) hin zu (+)-Kotanin (37) (Schema 7).^[52] Es wurde gezeigt, dass in vivo das CYP KtnC die Biarylverknüpfung katalysiert.^[53] Docking-Experimente mit einem Homologiemodell von KtnC gaben zudem erste strukturelle Einblicke in Bezug auf die Kontrolle der Regio- und Stereoselektivität während der Bildung von 37. Fütterungsexperimente bei fungalen Polyketiden des Phlegmacin-Typs lassen vermuten, dass auch hier ein ähnlicher Biosyntheseweg zugrunde liegt.^[54]

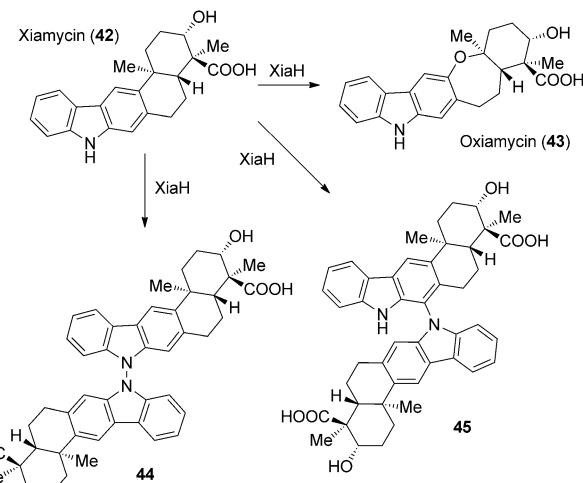


Schema 7. Biaryl kupplung während der Biosynthese von Kotanin (37).

3.3. Neue Biaryl kupplungsprinzipien in der Biosynthese von Indolterpenen und Pyrrolen

Fenical et al. berichteten kürzlich über die Marinopyrrole, z.B. Marinopyrrol A (38), strukturell neuartige Verbindungen mit bemerkenswerter antibiotischer Aktivität aus dem marinen *Streptomyces*-Stamm CNQ-418.^[55] Diese Metabolite enthalten eine *M*-konfigurierte Biarylachse, die biosynthetisch mit perfekter Stereokontrolle installiert wird. Untersuchungen zur Biosynthese von 38 offenbarten, dass zwei Flavoproteine, die mit FADH₂-abhängigen Halogenasen verwandt sind, an der Biarylbildung beteiligt sind.^[56] Neben dem üblichen radikalischen Mechanismus macht dies einen gänzlich unterschiedlichen Mechanismus denkbar. Ausgehend von monomeren Monodeoxypyoluteorin (39) könnte eine C- oder N-Halogenierung zu 40 bzw. 41 führen, die nach Angriff eines N- bzw. C-Nukleophils von einem zweiten Äquivalent 39 unter formalem Verlust von HX schließlich 38 ergäben (Schema 8).

Eine weitere hochinteressante Klasse neuer Naturstoffe bilden in diesem Kontext die Indolsesquiterpene, z.B. Xiamycin (42) oder Oxiamicin (43; Schema 9).^[58] Untersuchungen an den diese Metabolite kodierenden Genclustern zeigten nicht nur eine beispiellose Cyclisierungssequenz,^[59] sondern ermöglichen auch eine verbesserte Produktion dieser Substanzen in einem heterologen Wirt, wodurch die



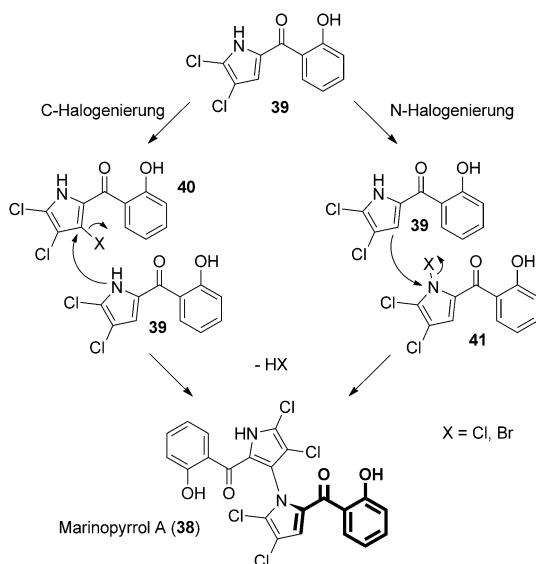
Schema 9. Produktvielfalt des Flavoproteins XiaH.

Charakterisierung einzigartiger N,N- (z.B. 44) und C,N-Dimere (z.B. 45) von Xiamycin (42) gelang.^[59b] Erstaunlicherweise identifizierten Hertweck et al. ein einziges Flavoprotein, die FAD-abhängige Hydroxylase aromatischer Ringe XiaH, die alleinig nicht nur die Bildung aller Biarylderivate durch radikalische Kupplung, sondern auch die oxidative Umlagerung von 42 zu 43 bewirkt.^[60]

4. Zusammenfassung und Ausblick

Die Beispiele zeigen klar, welche beeindruckenden biokatalytischen Werkzeuge die Natur entwickelt hat, um aromatische Gruppen unter Bildung von Biaryl- und Biarylether-Bindungen effizient (oxidativ) zu vernetzen. Bei der Biosynthese kleiner Sekundärmetabolite scheinen Laccasen und insbesondere CYPs die Hauptrolle bei der Bildung dieser privilegierten Strukturmerkmale zu spielen. Die neuartige Biochemie der in Kapitel 3.3 vorgestellten Flavoenzyme zeigt jedoch deutlich, dass es trotz intensiver Untersuchungen in der Naturstoffbiosynthese wahrscheinlich immer noch eine enorme Zahl an Enzymen gibt, die auf ihre Entdeckung warten.

Zudem existieren neben den oxidativen Strategien zur Biarylbiosynthese weitere Konzepte, um diese Strukturelemente zu bilden. Ein bemerkenswertes Beispiel hierfür ist die Bildung der Biphenyl-Phytoalexine der Pyrinae, die durch eine Biphenylsynthase katalysiert wird. Diese verlängert eine Benzoat-Startereinheit um drei Malonateinheiten und baut durch anschließende decarboxylierende Cyclisierung der resultierenden Polyketidkette die zweite aromatische Hälfte des Biarylsystems auf.^[61] Wenn man in Betracht zieht, dass selbst die seit langem bekannten CYP-vermittelten oxidativen Kreuzkupplungen noch nicht ausreichend mechanistisch verstanden, chemisch genutzt oder biotechnologisch ausgeschöpft sind, kann man noch aufregende Jahrzehnte in diesem Feld moderner biomolekularer Naturstoffuntersuchung erwarten.



Schema 8. Vorgeschlagener Biaryl kupplungsmechanismus in der Biosynthese von 38.

H.A. dankt dem Fonds der Chemischen Industrie (FCI) für ihr Promotionsstipendium. Die Forschung im Labor von T.A.M.G. wird großzügig gefördert durch den FCI, die Nordrhein-Westfälische Akademie der Wissenschaften und der Künste („Junges Kolleg“) sowie durch die Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) im Rahmen des Emmy-Noether-Programms und den Exzellenzcluster des „Center for Integrated Protein Science Munich“ (CIPSM).

Eingegangen am 31. Januar 2014
Online veröffentlicht am 9. Juli 2014

- [1] P. M. Dewick, *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3 Wiley, Chichester, 2009.
- [2] Für Übersichtsartikel, siehe die folgenden Arbeiten und die dort zitierten Literaturstellen: a) C. T. Walsh, H. Chen, T. A. Keating, B. K. Hubbard, H. C. Losey, L. Luo, C. G. Marshall, D. A. Miller, H. M. Patel, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2001**, 5, 525–534; b) P. Wang, X. Gao, Y. Tang, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2012**, 16, 362–369.
- [3] G. Bringmann, C. Günther, M. Ochse, O. Schupp, S. Tasler, *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, Vol. 82 (Hrsg.: W. Herz, H. Falk, G. W. Kirby, R. E. Moore, C. Tamm), Springer, Wien, 2001, S. 1–249.
- [4] L. Marchlewski, *J. Prakt. Chem.* **1899**, 60, 84–90.
- [5] E. Dagne, W. Steglich, *Phytochemistry* **1984**, 23, 1729–1731.
- [6] D. Arbain, Dachriyanus, Firmansyah, M. V. Sargent, B. W. Skelton, A. H. White, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 2537–2540.
- [7] K. V. Rao, W. P. Cullen, *Antibiot. Annu.* **1959–1960**, 950–953.
- [8] C. Ito, Y. Thoyama, M. Omura, I. Kajiura, H. Furukawa, *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, 41, 2096–2100.
- [9] Y. Ikeya, H. Taguchi, H. Mitsuhashi, S. Takeda, Y. Kase, M. Aburada, *Phytochemistry* **1988**, 27, 569–573.
- [10] M. Toyota, T. Yoshida, Y. Kan, S. Takaoka, Y. Asakawa, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 4745–4748.
- [11] I. Uchida, N. Shigematsu, M. Ezaki, M. Hashimoto, H. Aoki, H. Imanaka, *J. Antibiot.* **1985**, 38, 1462–1468.
- [12] Ausgewählte Übersichtsartikel: a) J. Hassan, M. Sévignon, C. Gozzi, E. Schulz, M. Lemaire, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 1359–1470; b) G. Bringmann, A. J. P. Mortimer, P. A. Keller, M. J. Gresser, J. Garner, M. Breuning, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 5518–5563; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 5384–5427; c) D. Alberico, M. E. Scott, M. Lautens, *Chem. Rev.* **2007**, 107, 174–238.
- [13] G. Bringmann, T. Gulder, T. A. M. Gulder, M. Breuning, *Chem. Rev.* **2011**, 111, 563–639.
- [14] Ausgewählte Übersichtsartikel: a) M. C. Kozlowski, B. J. Morgan, E. C. Linton, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 3193–3207; b) J. A. Ashenhurst, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 540–548.
- [15] Oxidative Phenolkupplungen wurden erstmals beschrieben von R. Pummerer, P. Puttfarcken, P. Schopflocher, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1925**, 58, 1808–1820.
- [16] P. R. Blakemore, J. D. White, *Chem. Commun.* **2002**, 1159–1168.
- [17] J. B. de la Pena, H. L. Lee, S. Y. Yoon, G. H. Kim, Y. S. Lee, J. H. Cheong, *J. Nat. Med.* **2013**, 67, 814–821.
- [18] a) M. H. Zenk, R. Gerardy, R. Stadler, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1725–1727; b) R. Gerardy, M. H. Zenk, *Phytochemistry* **1992**, 32, 79–86; c) A. Gesell, M. Rolf, J. Ziegler, M. L. D. Chávez, F.-C. Huang, T. M. Kutchan, *J. Biol. Chem.* **2009**, 284, 24432–24442.
- [19] N. Ikezawa, K. Iwasa, F. Sato, *J. Biol. Chem.* **2008**, 283, 8810–8821.
- [20] a) R. Stadler, M. H. Zenk, *J. Biol. Chem.* **1993**, 268, 823–831; b) P. F. X. Kraus, T. M. Kutchan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 2071–2075.
- [21] K. S. Ryan, C. L. Drennan, *Chem. Biol.* **2009**, 16, 351–364.
- [22] S. Omura, Y. Iwai, A. Hirano, A. Nakagawa, J. Awaya, H. Tsuchiya, Y. Takahashi, R. Masuma, *J. Antibiot.* **1977**, 30, 275–282.
- [23] J. A. Bush, B. H. Long, J. J. Catino, W. T. Bradner, K. Tomita, *J. Antibiot.* **1987**, 40, 668–678.
- [24] a) A. R. Howard-Jones, C. T. Walsh, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 12289–12298; b) A. R. Howard-Jones, C. T. Walsh, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 11016–11017; c) M. Makino, H. Sugimoto, Y. Shiro, S. Asamizu, H. Onaka, S. Nagano, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, 104, 11591–11596; d) Y. Wang, H. Chen, M. Makino, Y. Shiro, S. Nagano, S. Asamizu, H. Onaka, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 6748–6762.
- [25] K. S. Ryan, A. R. Howard-Jones, M. J. Hamill, S. J. Elliott, C. T. Walsh, C. L. Drennan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, 104, 15311–15316.
- [26] R. Niemetz, G. G. Gross, *Phytochemistry* **2005**, 66, 2001–2011.
- [27] R. Niemetz, G. G. Gross, *Phytochemistry* **2003**, 62, 301–306.
- [28] E. Haslam, Y. Cai, *Nat. Prod. Rep.* **1994**, 11, 41–66.
- [29] R. Niemetz, G. G. Gross, *Phytochemistry* **2003**, 64, 1197–1201.
- [30] N. Santhanam, J. M. Vivanco, S. R. Decker, K. F. Reardon, *Trends Biotechnol.* **2011**, 29, 480–489.
- [31] a) D. Bischoff, S. Pelzer, A. Höltzel, G. J. Nicholson, S. Stockert, W. Wohlleben, G. Jung, R. D. Süßmuth, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 1736–1739; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 1693–1696; b) D. Bischoff, B. Bister, M. Bertazzo, V. Pfeifer, E. Stegmann, G. J. Nicholson, S. Keller, S. Pelzer, W. Wohlleben, R. D. Süßmuth, *ChemBioChem* **2005**, 6, 267–272; c) X. Jin, M. Rao, W. Wei, M. Ge, J. Liu, D. Chen, Y. Liang, *Biotechnol. Lett.* **2012**, 34, 2283–2289.
- [32] M. H. McCormick, W. M. Stark, G. E. Pittenger, R. C. Pittenger, J. M. McGuire, *Antibiot. Annu.* **1955–1956**, 606–611.
- [33] D. Kahne, C. Leimkuhler, W. Lu, C. T. Walsh, *Chem. Rev.* **2005**, 105, 425–448.
- [34] a) K. Zerbe, O. Pylypenko, F. Vitali, W. Zhang, S. Rousset, M. Heck, J. W. Vrijbloed, D. Bischoff, B. Bister, R. D. Süßmuth, S. Pelzer, W. Wohlleben, J. A. Robinson, I. Schlichting, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 47476–47485; b) E. Stegmann, S. Pelzer, D. Bischoff, O. Puk, S. Stockert, D. Butz, K. Zerbe, J. Robinson, R. D. Süßmuth, W. Wohlleben, *J. Biotechnol.* **2006**, 124, 640–653.
- [35] a) R. D. Süßmuth, S. Pelzer, G. Nicholson, T. Walk, W. Wohlleben, G. Jung, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 2096–2099; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1976–1979; b) D. Bischoff, S. Pelzer, B. Bister, G. J. Nicholson, S. Stockert, M. Schirle, W. Wohlleben, G. Jung, R. D. Süßmuth, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 4824–4827; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 4688–4691.
- [36] a) K. Zerbe, K. Woithe, D. B. Li, F. Vitali, L. Bigler, J. A. Robinson, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 6877–6881; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 6709–6713; b) K. Woithe, N. Geib, K. Zerbe, D. B. Li, M. Heck, S. Fournier-Rousset, O. Meyer, F. Vitali, N. Matoba, K. Abou-Hadeed, J. A. Robinson, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 6887–6895.
- [37] P. C. Schmartz, K. Wölfel, K. Zerbe, E. Gad, El S. El Tamany, H. K. Ibrahim, K. Abou-Hadeed, J. A. Robinson, *Angew. Chem.* **2012**, 124, 11635–11639; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 11468–11472.
- [38] I. Kaneko, K. Kamoshida, S. Takahashi, *J. Antibiot.* **1989**, 42, 236–241.
- [39] a) J. Schimana, K. Gebhardt, A. Höltzel, D. G. Schmid, R. Süßmuth, J. Müller, R. Pukall, H. P. Fiedler, *J. Antibiot.* **2002**, 55, 565–570; b) A. Höltzel, D. G. Schmid, G. J. Nicholson, S. Stevanovic, J. Schimana, K. Gebhardt, H. P. Fiedler, G. Jung, *J. Antibiot.* **2002**, 55, 571–577; c) P. Kulanthaivel, A. J. Kreuzman, M. A. Strege, M. D. Belvo, T. A. Smitka, M. Clemens, J. R. Swartling, K. L. Minton, F. Zheng, E. L. Angleton, D. Mullen, L. N. Jungheim, V. J. Klimkowski, T. I. Nicas, R. C. Thompson,

- S. B. Peng, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 36250–36258; d) W. T. Liu, R. D. Kersten, Y. L. Yang, B. S. Moore, P. C. Dorrestein, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 18010–18013.
- [40] H. T. Chiu, B. K. Hubbard, A. N. Shah, J. Eide, R. A. Fredenburg, C. T. Walsh, C. Koshla, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 8548–8553.
- [41] T. M. Kamenecka, S. J. Danishefsky, *Chemistry* **2001**, 7, 41–63.
- [42] J. Ma, Z. Wang, H. Huang, M. Luo, D. Zuo, B. Wang, A. Sun, Y.-Q. Cheng, C. Zhang, J. Ju, *Angew. Chem.* **2011**, 123, 7943–7948; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 7797–7802.
- [43] D. G. Fujimori, S. Hrvatin, C. S. Neumann, M. Stricker, M. A. Marahiel, C. T. Walsh, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, 104, 16498–16503.
- [44] H. Zhang, J. Chen, H. Wang, Y. Xie, J. Ju, Y. Yan, H. Zhang, *FEBS Lett.* **2013**, 587, 1675–1680.
- [45] Für Melanin-Biosynthese, siehe die folgenden Übersichtsartikel und die dort zitierten Literaturstellen: a) P. M. Plonka, M. Grabacka, *Acta Biochim. Pol.* **2006**, 53, 429–443; b) K. Langfelder, M. Streibel, B. Jahn, G. Haase, A. A. Brakhage, *Fungal Genet. Biol.* **2003**, 38, 143–158.
- [46] a) Y. Takano, Y. Kubo, K. Shimizu, K. Mise, T. Okuno, I. Furusawa, *Mol. Gen. Genet.* **1995**, 249, 162–167; b) I. Fujii, Y. Mori, A. Watanabe, Y. Kubo, G. Tsuji, Y. Ebizuka, *Biochemistry* **2000**, 39, 8853–8858.
- [47] a) N. Funai, Y. Ohnishi, I. Fujii, M. Shibuya, Y. Ebizuka, S. Horinouchi, *Nature* **1999**, 400, 897–899; b) M. B. Austin, M. Izumikawa, M. E. Bowman, D. W. Udwyer, J.-L. Ferrer, B. S. Moore, J. P. Noel, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 45162–45174.
- [48] N. Funai, M. Funabashi, E. Yoshimura, S. Horinouchi, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 14514–14523.
- [49] N. Funai, M. Funabashi, Y. Ohnishi, S. Horinouchi, *J. Bacteriol.* **2005**, 187, 8149–8155.
- [50] B. Zhao, F. P. Guengerich, A. Bellamine, D. C. Lamb, M. Izumikawa, L. Lei, L. M. Podust, M. Sundaramoorthy, J. A. Kalaizis, L. M. Reddy, S. L. Kelly, B. S. Moore, D. Stec, M. Voehler, J. R. Falck, T. Shimada, M. R. Waterman, *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 11599–11607.
- [51] H. Hussain, J. Hussain, A. Al-Harrasi, K. Krohn, *Tetrahedron* **2012**, 68, 2553–2578.
- [52] W. Hüttel, M. Müller, *ChemBioChem* **2007**, 8, 521–529.
- [53] C. Gil Girol, K. M. Fisch, T. Heinekamp, S. Günther, W. Hüttel, J. Piel, A. A. Brakhage, M. Müller, *Angew. Chem.* **2012**, 124, 9926–9929; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 9788–9791.
- [54] a) C. Elsworth, M. Gill, A. Giménez, N. M. Milanovic, E. Raudies, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1999**, 119–126; b) M. Müller, K. Lamottke, W. Steglich, S. Busemann, M. Reichert, G. Bringmann, P. Spitteler, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 4850–4855.
- [55] a) C. C. Hughes, A. Prieto-Davo, P. R. Jensen, W. Fenical, *Org. Lett.* **2008**, 10, 629–631; b) C. C. Hughes, C. A. Kauffman, P. R. Jensen, W. Fenical, *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 3240–3250; c) N. M. Haste, C. C. Hughes, D. N. Tran, W. Fenical, P. R. Jensen, V. Nizet, M. E. Hensler, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, 55, 3305–3312.
- [56] K. Yamanaka, K. S. Ryan, T. A. M. Gulder, C. C. Hughes, B. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 12434–12437.
- [57] a) L. Ding, J. Münch, H. Goerls, A. Maier, H.-H. Fiebig, W.-H. Lin, C. Hertweck, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, 20, 6685–6687; b) L. Ding, A. Maier, H.-H. Fiebig, W.-H. Lin, C. Hertweck, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, 9, 4029–4031.
- [58] Q. Zhang, A. Mándi, S. Li, Y. Chen, W. Zhang, X. Tian, H. Zhang, H. Li, W. Zhang, S. Zhang, J. Ju, T. Kurtán, C. Zhang, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 5256–5262.
- [59] a) H. Li, Q. Zhang, S. Li, Y. Zhu, G. Zhang, H. Zhang, X. Tian, S. Zhang, J. Ju, C. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 8996–9005; b) Z. Xu, M. Baunach, L. Ding, C. Hertweck, *Angew. Chem.* **2012**, 124, 10439–10443; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 10293–10297.
- [60] M. Baunach, L. Ding, T. Bruhn, G. Bringmann, C. Hertweck, *Angew. Chem.* **2013**, 125, 9210–9213; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 9040–9043.
- [61] Siehe: C. Chizzali, L. Beerhues, *Beilstein J. Org. Chem.* **2012**, 8, 613–620, zit. Lit.