

Biologisch aktive Sesquiterpenoide

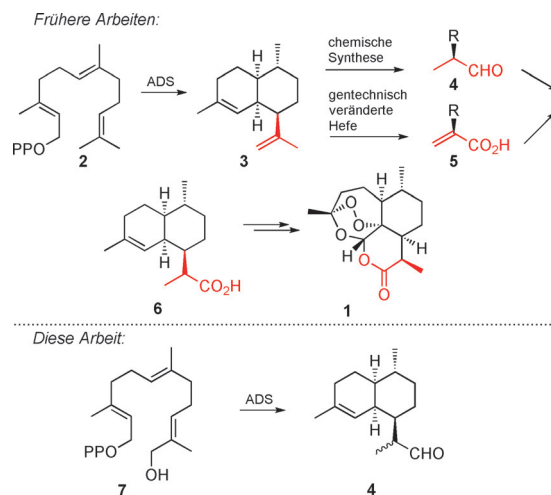
Deutsche Ausgabe: DOI: 10.1002/ange.201609557
Internationale Ausgabe: DOI: 10.1002/anie.201609557

Effiziente chemoenzymatische Synthese von Dihydroartemisinaldehyd

Melodi Demiray, Xiaoping Tang, Thomas Wirth, Juan A. Faraldos und Rudolf K. Allemann*

Abstract: Artemisinin aus der Pflanze *Artemisia annua* ist das wirkungsvollste Arzneimittel zur Behandlung von Malaria. Die Sesquiterpen-Cyclase Amorphadien-Synthase, ein Cytochrom-abhängiges CYP450 und eine Aldehyd-Reduktase wandeln in der Pflanze Farnesyl-Diphosphat (FDP) in Dihydroartemisinaldehyd (DHAAL) um, welches ein Schlüsselzwischenprodukt in der Biosynthese von Artemisinin und eine halbsynthetische Vorstufe in der chemischen Synthese des Arzneimittels ist. Hier berichten wir über einen chemoenzymatischen Prozess, der in der Lage ist, DHAAL nur mithilfe der Sesquiterpen-Synthase aus einem gezielt synthetisierten, hydroxylierten FDP-Derivat herzustellen. Dieser Prozess, der die natürliche Sequenz aus Cyclisierung von FDP und Oxidation des Kohlenwasserstoffs umkehrt, stellt eine wesentliche Verbesserung der DHAAL-Synthese dar und zeigt das Potenzial neuer Substrate in der Terpen-Synthase-katalysierten Synthese hochwertiger Naturstoffe auf.

Das sesquiterpenoide Endoperoxid Artemisinin (**1**) ist weit verbreitet zur Erstbehandlung von Malaria in Kombinations-therapien.^[1] Obwohl elegante organische Synthesen von Artemisinin publiziert worden sind,^[2] beruht die weltweite Versorgung von **1** überwiegend auf der Extraktion der Pflanze *Artemisia annua*.^[3] Artemisinin wird hauptsächlich in Entwicklungsländern benötigt, die auf eine Versorgung mit dem Medikament zu geringen Kosten angewiesen sind. Die derzeit effizienteste Art, Artemisinin zu synthetisieren, ist eine Kombination aus Biosynthese und chemischer Synthese. Zentral für die Biosynthese von **1** (Schema 1) ist die Klasse-I-Sesquiterpencyclase Amorphadien-Synthase (ADS), die die Reaktion von (*E,E*)-Farnesylidiphosphat (FDP, **2**) zu Amorphadien-4,11-dien (**3**) katalysiert. In einer komplexen Reaktionskaskade werden in einem Schritt zwei sechsgliedrige Ringe, vier Stereozentren und zwei Doppelbindungen mit absoluter regio- und stereochemischer Kontrolle gebildet.^[4] Dihydroartemisininaldehyd (DHAAL) (**4**) kann aus Amorphadien-4,11-dien (**3**) entweder durch eine dreistufige chemische Synthese oder durch Kombination einer biochemischen Oxidation mit zwei chemischen Stufen hergestellt werden.^[5]



Schema 1. Oben: Gegenwärtige Wege zu Artemisinin. Unten: ADS-katalysierte einstufige Synthese von Dihydroartemisinaldehyd (DHAAL) (**4**) aus 12-Hydroxyfarnesylidiphosphat (**7**).

Die Verbindung **4** kann dann in vier etablierten Schritten chemisch oder enzymatisch in **1** umgewandelt werden.^[2a,6] Es ist bemerkenswert, dass ein eleganter semisynthetischer Weg entwickelt wurde, der ADS und fünf weitere Enzyme zur Herstellung von Artemisinsäure (**5**) in Hefe nutzt, die dann durch übergangsmetallkatalysierte Hydrierung in Dihydroartemisininsäure (**6**) überführt wird. Die Pharmafirma Sanofi hat diesen Prozess im Jahr 2014 eingeführt, jedoch wurde die Herstellung aufgrund starker Marktkräfte eingestellt.^[7] Dies verdeutlicht nachdrücklich die Notwendigkeit von umweltverträglichen und kostengünstigen Alternativen zur Herstellung von Artemisinin.

Hier berichten wir über ein neuartiges chemoenzymatisches Verfahren, das die Substrat-Promiskuität von ADS nutzt, um das hydroxylierte FDP-Analogon **7** in das synthetische Intermediat DHAAL (**4**) umzuwandeln. Im Vergleich zu bestehenden Verfahren wird bei diesem Prozess, der die natürliche Reihenfolge aus Cyclisierung von FDP und Oxidation des Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffs umkehrt, die Synthese von **4** signifikant verkürzt, indem nur ein Enzym verwendet wird und nur ein einziger Oxidationsschritt vor der ADS-katalysierten Cyclisierung zu **4** erforderlich ist. Das Verfahren vermeidet nach der Cyclisierung mehrere Redoxschritte, da es die Bildung des intermediären Amorphadiens (**3**) völlig umgeht (Schema 1).

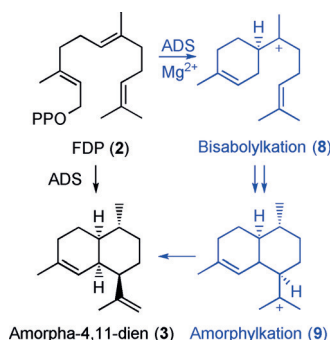
Amorphadien-Synthase (ADS) katalysiert die Mg^{2+} -abhängige Umwandlung des natürlichen Substrats FDP (**2**) (siehe Abbildung S13 in den Hintergrundinformationen) entlang eines komplexen Reaktionsweges, der die Isomerisierung der 2,3-Doppelbindung von der *E*- zur *Z*-Konfiguration, die 1,6-Cyclisierung unter Bildung eines Bisabonyl-Kat-

[*] M. Demiray, Dr. X. Tang, Prof. Dr. T. Wirth, Dr. J. A. Faraldos, Prof. Dr. R. K. Allemann
School of Chemistry, Cardiff University
Main Building, Park Place, Cardiff CF10 3AT (Großbritannien)
E-Mail: allemannrk@cf.ac.uk
Homepage: <http://blogs.cardiff.ac.uk/allemann>

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind unter:
<http://dx.doi.org/10.1002/ange.201609557> zu finden.

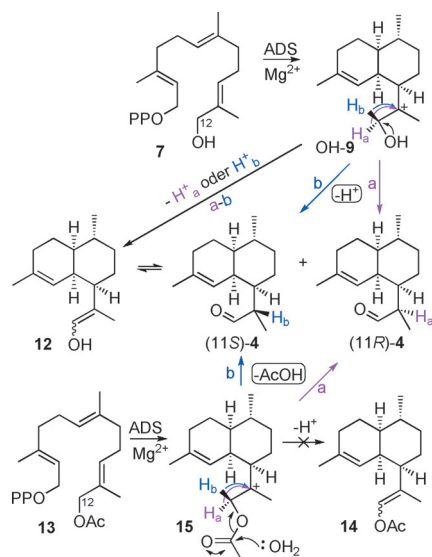
© 2017 Die Autoren. Veröffentlicht von Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution License, die jede Nutzung des Beitrages in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert wird.

ions (**8**) sowie eine 1,3-Hydridverschiebung von C1 zu C7 und eine 1,10-Cyclisierung zum Amorphylkation (**9**) beinhaltet. Die finale Deprotonierung an C12 oder C13 erzeugt Amorpha-4,11-dien (**3**) (siehe Schema 2 und die Abbildungen S4, S22–S23).^[8]

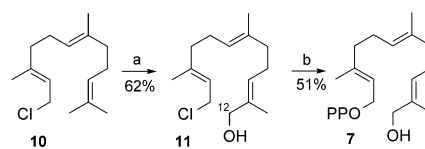


Scheme 2. Synthese von Amorpha-4,11-dien (**3**) aus FDP (**2**) in der Pflanze *A. annua*.

Viele Sesquiterpen-Synthasen zeigen einen gewissen Grad an Substrat-Promiskuität und können methylierte und fluoridierte Farnesyldiphosphat-Analoga zu modifizierten Terpenoiden konvertieren.^[9–11] Wir beschreiben hier erstmals das Potential einer Sesquiterpen-Synthase, ein hydroxyliertes FDP-Analogon als Substrat umzusetzen. Insbesondere untersuchten wir, ob ADS^[11b] das Substrat 12-Hydroxyfarnesyldiphosphat (**7**)^[12] (Schema 1) über das 12-Hydroxyamorphyl-Kation (OH-**9**) zu Dihydroartemisininaldehyd (**4**) umwandeln kann (Schema 3). Es ist bekannt, dass α -hydroxylierte Carbokationen wie OH-**9** unter sauren Bedingungen zu Aldehyden isomerisieren können.^[13] Die elektrophile Natur der Terpen-Synthasen kombiniert mit der inhärenten



Scheme 3. ADS-katalysierte Synthese von **4** aus 12-Hydroxyfarnesyldiphosphat (**7**) und 12-Acetoxyfarnesyldiphosphat (**13**) über Carbokationen OH-**9** bzw. **15**.



Scheme 4. Synthese von 12-Hydroxyfarnesyldiphosphat (**7**) aus kommerziell erhältlichem Farnesylchlorid **10**. a) SeO_2 (0.3 Äquiv.), Salicylsäure (0.3 Äquiv.), $t\text{BuOOH}$ (5 Äquiv.), CH_2Cl_2 , 0°C . b) $(\text{Bu}_4\text{N})_3\text{HP}_2\text{O}_7$ (2 Äquiv.), CH_3CN , Raumtemperatur.

Reaktivität von α -hydroxylierten Carbokationen wie OH-**9** sollte daher zum Aldehyd **4** führen.

Das Diphosphat **7** wurde in zwei Schritten aus kommerziell erhältlichem (*E,E*)-Farnesylchlorid (**10**) synthetisiert (Schema 4). Die kurze Synthese erforderte eine Selendioxyd-

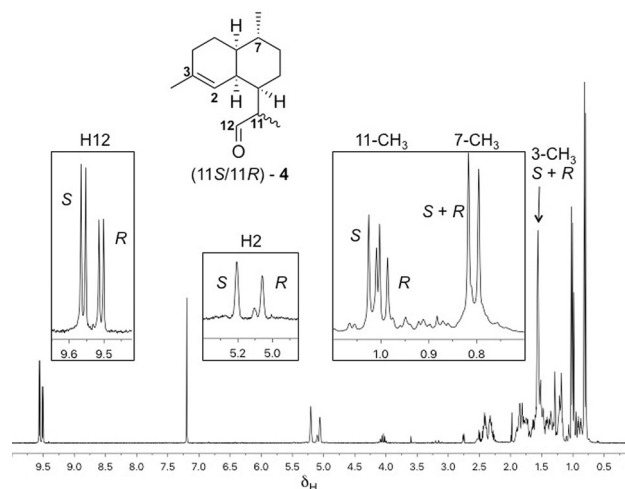


Abbildung 1. ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz, CDCl_3) des Produktgemisches der Pentanextrakte, das durch die Reaktion von **7** mit ADS nach Reinigung an Kieselgel erhalten wurde. Die Vergrößerungen zeigen die diagnostischen Signale H12, H2, 11- CH_3 und 7- CH_3 .

Oxidation von **10**^[14] bei niedriger Temperatur mit $t\text{BuOOH}$ und eine Diphosphorylierung des entstandenen Chlorids **11**^[15] (siehe die Tabellen S1, S2 und S13–S16). Für den ^1H -NMR- und GC-MS-Vergleich wurde eine authentische Probe des Aldehyds **4** aus handelsüblicher (11*R*)-Dihydroartemisininsäure (11*R*)-**6** hergestellt (siehe Abbildungen S7, S8, S26, S27).^[6b,16]

Das ^1H -NMR-Spektrum der gereinigten enzymatischen Produkte (siehe Abbildung 1 und die Abbildungen S24, S25) aus Inkubationen von **7** mit ADS zeigt ein Aldehydgemisch im Verhältnis 3:2 an, am deutlichsten durch die diagnostischen NMR-Signale bei $\delta = 9,62$ ppm (1 H, d, $J = 3,5$ Hz, CHO, Hauptprodukt) und 9,57 ppm (1 H, d, $J = 3,5$ Hz, CHO, Nebenprodukt). Das Nebenprodukt stellt (11*R*)-**4** dar, bestimmt basierend auf ^1H -NMR-Daten und dem Vergleich mit einer authentischen Probe von **4** (siehe die Abbildungen S26, S27).^[17a] Die Struktur des Hauptaldehyds wurde als (11*S*)-**4** ermittelt auf der Basis seiner diagnostischen ^1H -NMR-Signale bei $\delta = 5,27$ (s, H2), 1,64 (s, 3-Me), 1,07 (d, $J = 6,8$ Hz, 11-Me), 0,87 ppm (d, $J = 6,5$ Hz, 7-Me), die komplementär zu

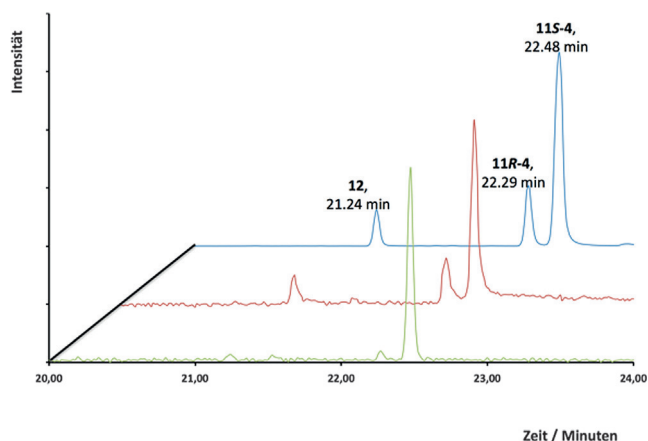
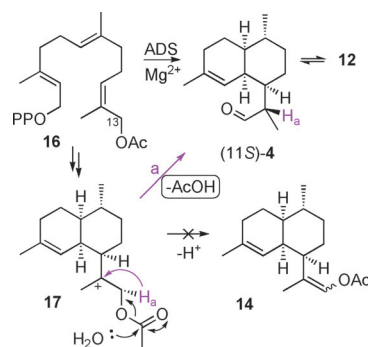


Abbildung 2. GC-Chromatogramm (TIC) der Pentanextrakte aus einer Inkubation von Diphosphat **7** (blau), **13** (rot) und **16** (grün) mit ADS. GC-Peaks wurden dem Enol **12** (21.24 min) und den Aldehyden (11R)-**4** (22.29 min) und (11S)-**4** (22.48 min) zugeordnet.

denen von (11R)-**4** bei $\delta = 5.13$ (s, Me), 1.06 (d, $J = 6.9$ Hz, 11-Me), 0.87 ppm (d, $J = 6.5$ Hz, 7-Me) sind (Abbildung 1). Auch die Epimerisierung der entsprechenden Ester (siehe Schema 6) unterstützt die Zuordnung von (11R)-**4** und (11S)-**4**. Zusätzlich zu der 7:2-Mischung von (11S)-**4** und (11R)-**4** ergab die Analyse der NMR-Probe durch GC-MS etwa 10 % eines Nebenprodukts (Abbildung 2), das vermutlich die Enolform (**12**) des Aldehyds **4** auf der Basis des mit (11S)-**4** identischen MS-Spektrums darstellt (Abbildung S3). Die MS-Spektren sowie die GC-Elutionszeiten von (11R)-**4** (schneller) und (11S)-**4** stimmen mit den zuvor beschriebenen überein.^[17] Der Reaktionsmechanismus für die Umwandlung von FDP in Amorphadien (Schema 2) legt nahe, dass das Enol **12** über eine Deprotonierung von H_a oder von H_b (Pfad a-b in Schema 3) aus dem Carbokation OH-**9** gebildet werden kann, bevor **12** zu dem beobachteten Gemisch aus Epimeren von **4** außerhalb der aktiven Seite von ADS äquilibriert. Allerdings führte die Inkubation von Diphosphat **7** mit ADS in D₂O zur ausschließlichen Synthese von deuteriertem (11S)-**4** (siehe Abbildung S10). Es konnte kein deuteriertes (11R)-**4** durch GC-MS nachgewiesen werden. Diese Beobachtung zeigt, dass nur (11S)-**4** über das Enol **12** gebildet werden kann.

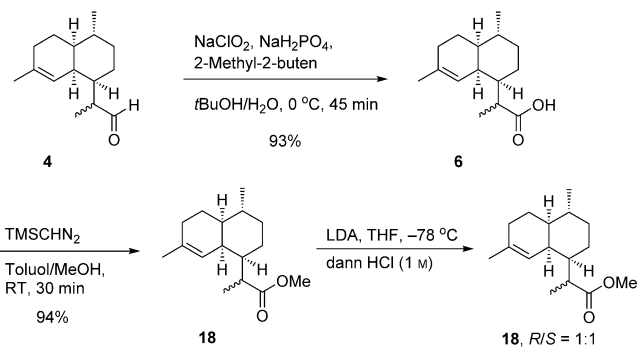
Um die Fähigkeit von ADS zur Umsetzung nichtnatürlicher Substrate weiter zu untersuchen, wurde 12-Acetoxyfarnesyldiphosphat (**13**) in drei Schritten (32 % Gesamtausbeute) aus dem bekannten 1-O-THP-geschützten 12-Hydroxyfarnesol^[14] hergestellt (siehe die Abbildungen S17, S18) und mit ADS inkubiert. Die GC-MS-Analyse ergab, dass die gleichen drei Produkte wie durch Inkubation mit Diphosphat **7** erhalten wurden (siehe Abbildung 2 und Abbildung S9). Die Beobachtung, dass kein Vinylacetat **14** aus **13** erzeugt wird (Schema 3), deutet darauf hin, dass das Enol **12** kein Produkt der ADS-Katalyse ist, sondern ausschließlich aus (11S)-**4** nach der Freisetzung aus dem aktiven Zentrum des Enzyms gebildet wird. Kontrollversuche schlossen die Anwesenheit einer Esterhydrolase-Aktivität in unseren Enzympräparaten aus (siehe die Hintergrundinformationen). Bemerkenswerterweise ergab die Inkubation von 13-Acetoxyfarnesyldiphosphat (**16**) (siehe Abbildung S19) mit ADS



Schema 5. ADS-katalysierte Produktion von (11S)-**4** aus 13-Acetoxyfarnesyldiphosphat (**16**) über Carbokation **17**.

(Schema 5) (11S)-**4** (93 %) und Enol **12** (7 %) (siehe Abbildung 2 und die Abbildungen S5, S6). Das Fehlen signifikanter Mengen des Epimers (11R)-**4** bedeutet, dass das Enol **12** unter den verwendeten Reaktionsbedingungen (pH-Wert 7.5) nicht zu (11R)-**4** tautomerisiert (Schema 3). Diese Ergebnisse legen nahe, dass nur ein Weg die beobachtete Epimerenmischung der Aldehyde **4** ergibt. Die Bildung von **4** aus **7** (und **13**) läuft daher wahrscheinlich über eine Sauerstoff-vermittelte, nicht-stereospezifische intramolekulare [1,2]-Hydridverschiebung des Carbokations OH-**9** (oder **15** für **13**) ab (Pfad a und b, Schema 3). Da das stabile Vinylacetat **14** nicht aus 13-Acetoxyfarnesyldiphosphat (**16**) gebildet wird, scheint auch eine Deprotonierung von **17** über das Enol **12** zu (11S)-**4** unwahrscheinlich. Daher wird für die ausschließliche Bildung von (11S)-**4** (Weg a, Schema 5) aus dem Diphosphat **16** eine stereospezifische [1,2]-Hydridverschiebung von H_a aus Carbokation **17** wahrscheinlich sein.

Um dieses neue chemoenzymatische Verfahren zur Herstellung von Artemisinin weiter zu entwickeln, wurde das 2:3-Gemisch aus (11R)-**4** und (11S)-**4** zu den entsprechenden Dihydroartemisinsäuren (**6**) in 93 % Ausbeute oxidiert (Schema 6) und anschließend in 94 % Ausbeute in die entsprechenden Dihydroartemisinsäuremethylester (**18**) umgewandelt (siehe Abbildung S11).^[18] Die Behandlung der Ester mit LDA unter kinetischer Kontrolle ergab eine 1:1-Mischung der (11R)- und (11S)-Methylester (siehe Abbildung S28). Verbindung (11R)-**18** ist das gewünschte Intermediat für die Synthese von Artemisinin.^[19]



Schema 6. Synthese von Dihydroartemisinsäuremethylester (**18**).

Zusammenfassend haben wir eine effiziente chemoenzymatische Route zu Dihydroartemisininaldehyd (**4**) entwickelt. Dihydroartemisininaldehyd ist ein wichtiges Zwischenprodukt in der Produktion von Artemisinin (**1**), dem wichtigsten Medikament für die Behandlung von Malaria. Wir haben erstmalig gezeigt, dass hydroxylierte FDP-Analoga als Substrate von Sesquiterpen-Synthasen akzeptiert werden können. Daher bietet unsere Arbeit einen neuartigen „umgekehrten biosynthetischen“ Ansatz für die Synthese von funktionell diversifizierten hydroxylierten Terpenoiden. Die chemische Synthese solcher Produkte ist oft schwierig, da mehrere Ringsysteme mit hoher Stereo- und Regiokontrolle hergestellt werden müssen. Die relativ hohe Substrat-Promiskuität und der Templateffekt des aktiven Zentrums ermöglicht es Terpensynthasen, nichtnatürliche Substrate entlang wohldefinierter Reaktionswege zu bestimmten Produkten mit hoher Reproduzierbarkeit umzusetzen. Dies bietet einen vielversprechenden Ansatz zur Herstellung von hochwertigen Terpenoiden und Terpenalkaloiden,^[11a] der komplementär zu herkömmlichen Synthese- und Biosyntheseverfahren ist.

Danksagung

Diese Arbeit wurde vom Biotechnology and Biological Sciences Research Council (BBSRC) durch Zuschüsse (BB/H01683X/1, BB/M022463/1, BB/N012526/1) sowie durch das Engineering and Physical Sciences Research Council (EPSRC) unterstützt (EP/M013219/1). Wir danken Dr. Veronica Gonzalez (Cardiff University) für hilfreiche Diskussionen sowie Dr. Rob Jenkins und Thomas Williams für massenspektrometrische und NMR-spektroskopische Unterstützung.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine Interessenskonflikte vorliegen.

Stichwörter: Artemisinin · Chemoenzymatische Synthesen · Sesquiterpenoide · Substrat-Engineering · Synthetische Biologie

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 4347–4350
Angew. Chem. **2017**, *129*, 4411–4415

- [1] a) D. L. Klayman, *Science* **1985**, *228*, 1049–1055; b) N. J. White, *Trends Parasitol.* **2004**, *113*, 1084–1092; c) S. Krishna, L. Bustamante, R. K. Haynes, H. M. Staines, *Trends Pharmacol. Sci.* **2008**, *29*, 520–527; d) P. G. Kremsner, S. Krishna, *Lancet* **2004**, *364*, 285–294.
- [2] a) F. Lévesque, P. H. Seeberger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 1706–1709; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 1738–1741; b) J. S. Yadav, B. Thirupathaiah, P. Srihari, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 2005–2009; c) M. A. Avery, W. K. M. Chong, C. Jennings-White, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 974–979.
- [3] a) T. Townsend, V. Segura, G. Chigeza, T. Penfield, A. Rae, D. Harvey, D. Bowles, I. A. Graham, *PLoS One* **2013**, *8*, e61989; b) T. R. Larson, C. Branigan, D. Harvey, T. Penfield, D. Bowles, I. A. Graham, *Ind. Crops Prod.* **2013**, *45*, 1–6; c) W. K. Milhous, P. J. Weina, *Science* **2010**, *327*, 279–280; d) I. A. Graham, et al., *Science* **2010**, *327*, 328–331.
- [4] a) H. J. Bouwmeester, T. E. Wallaart, M. H. A. Janssen, B. van Loo, B. J. M. Jansen, M. A. Posthumus, C. O. Schmidt, J.-W. De Kraker, W. A. König, M. C. R. Franssen, *Phytochemistry* **1999**, *52*, 843–854; b) P. Mercke, M. Bengtsson, H. J. Bouwmeester, M. A. Posthumus, P. E. Brodelius, *Arch. Biochem. Biophys.* **2000**, *381*, 173–180; c) Y. J. Chang, S. H. Song, S. H. Park, S. U. Kim, *Arch. Biochem. Biophys.* **2000**, *383*, 178–184.
- [5] a) K. H. Teoh, D. R. Polichuk, D. W. Reed, G. Nowak, P. S. Covelio, *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 1411–1416; b) K. H. Teoh, D. R. Polichuk, D. W. Reed, P. S. Covelio, *Botany* **2009**, *87*, 635–642; c) K. Yang, R. S. Monafared, H. Wang, A. Lundgren, P. E. Brodelius, *Plant Mol. Biol.* **2015**, *88*, 325–340; d) P. Muangphrom, M. Suzuki, H. Seki, E. O. Fukushima, T. Muranaka, *Plant Biotechnol.* **2014**, *31*, 483–491.
- [6] a) J. A. Dietrich, Y. Yoshikuni, K. J. Fisher, F. X. Woolard, D. Ockey, D. J. McPhee, N. S. Renninger, M. C. Y. Chang, D. Baker, J. D. Keasling, *ACS Chem. Biol.* **2009**, *4*, 261–267; b) P. J. Westfall, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, E111–E118; c) C. J. Paddon, et al., *Nature* **2013**, *496*, 528–532; d) D.-K. Ro, et al., *Nature* **2006**, *440*, 940–943.
- [7] M. Peplow, *Nature* **2016**, *530*, 389–390.
- [8] a) S. Picaud, P. Mercke, X. He, X. O. Sterner, M. Brodelius, D. E. Cane, P. E. Brodelius, *Arch. Biochem. Biophys.* **2006**, *448*, 150–155; b) S.-H. Kim, K. Heo, Y.-J. Chang, S.-H. Park, S.-K. Rhee, S.-U. Kim, *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 758–762.
- [9] D. E. Cane, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 1089–1103.
- [10] a) S. Touchet, K. Chamberlain, C. M. Woodcock, D. J. Miller, M. A. Birkett, J. A. Pickett, R. K. Allemann, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 7550–7553; b) V. Gonzalez, S. Touchet, D. J. Grundy, J. A. Faraldos, R. K. Allemann, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 14505–14512; c) O. Cascón, S. Touchet, D. J. Miller, V. Gonzalez, J. A. Faraldos, R. K. Allemann, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 9702–9704; d) J. A. Faraldos, D. J. Miller, V. Gonzalez, Z. Yoosuf-Aly, O. Cascon, A. Li, R. K. Allemann, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 5900–5908; e) D. J. Miller, F. L. Yu, R. K. Allemann, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 1819–1825; f) J. A. Faraldos, Y. Zhao, P. E. O'Maille, J. P. Noel, R. M. Coates, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 1826–1833.
- [11] a) K. A. Rising, C. M. Crenshaw, H. J. Koo, T. Subramanian, K. A. H. Chehade, C. Starks, K. D. Allen, D. A. Andres, H. P. Spielmann, J. P. Noel, *ACS Chem. Biol.* **2015**, *10*, 1729–1736; b) R. Lauchli, K. S. Rabe, K. Z. Kalbarczyk, A. Tata, T. Heel, R. K. Kitto, F. H. Arnold, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 5571–5574; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 5681–5684.
- [12] a) M. Nagaki, T. Ichijo, R. Kobashi, Y. Yagihashi, T. Musashi, J. Kawakami, N. Ohya, T. Gotoh, H. Sagami, *J. Mol. Catal. B* **2012**, *80*, 1–6; b) M. Nagaki, M. Nakada, T. Musashi, J. Kawakami, N. Ohya, M. Kurihara, Y. Maki, T. Nishino, T. Koyama, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2007**, *71*, 1657–1662.
- [13] a) H. B. Henbest, T. I. Wrigley, *J. Chem. Soc.* **1957**, 4596–4604; b) J. M. Coxon, M. P. Hartshorn, D. N. Kirk, *Tetrahedron* **1964**, *20*, 2531–2545; c) J. M. Coxon, M. P. Hartshorn, D. N. Kirk, *Tetrahedron* **1964**, *20*, 2547–2554; d) S. Julia, J.-P. Lavaux, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1963**, 1238–1241.
- [14] M. W. Rose, N. D. Rose, J. Boggs, S. Lenevich, J. Xu, G. Barany, M. D. Distefano, *J. Pept. Res.* **2005**, *65*, 529–537.
- [15] a) V. J. Davisson, A. B. Woodside, T. R. Neal, K. E. Stremmler, M. Muehlbacher, C. D. Poulter, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4768–4779; b) Z. Huang, C. D. Poulter, *Org. Synth.* **1988**, *66*, 211–215; c) R. K. Keller, R. Thompson, *J. Chromatogr.* **1993**, *645*, 161–167.
- [16] M. Jung, D. A. Bustos, H. N. Elsohly, J. D. McChesney, *Synlett* **1990**, 743–744.
- [17] a) C. M. Berteau, et al., *Planta Med.* **2005**, *71*, 40–47; b) Y. Zhang, K. H. Teoh, D. W. Reed, L. Maes, A. Goossens, D. J. H.

- Olson, A. R. S. Ross, P. S. Covello, *J. Biol. Chem.* **2008**, 283, 21501–21508.
- [18] E. Kühnel, D. D. P. Laffan, G. C. Lloyd-Jones, T. M. Campo, I. R. Shepperson, J. L. Slaughter, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 7075–7078; *Angew. Chem.* **2007**, 119, 7205–7208.
- [19] a) M. P. Feth, K. Rossen, A. Bugard, *Org. Process Res. Dev.* **2013**, 17, 282–293; b) J. Turconi, F. Griolet, R. Guevel, G. Oddon, R. Villa, A. Geatti, M. Hvala, K. Rossen, R. Goller, A. Burgard, *Org. Process Res. Dev.* **2014**, 18, 417–422; c) A. Burgard, T. Gieshoff, A. Peschl, D. Hoerstermann, C. Keleschovsky, R. Villa, S. Michelis, M. P. Feth, *Chem. Eng. J.* **2016**, 294, 83–96.

Eingegangen am 29. September 2016
endgültige Fassung veröffentlicht am 13. März 2017