

Strukturrevision einer weit verbreiteten marinen Sulfonolipidklasse basierend auf deren Isolierung und Totalsynthese

Roman, Dávid; Meisinger, Philippe; Guillonneau, Richard; Peng, Chia-Chi; Peltner, Lukas K.; Jordan, Paul M.; Haensch, Veit; Götze, Sebastian; Werz, Oliver; Hertweck, Christian; Chen, Yin; Beemelmans, Christine

DOI:

[10.1002/ange.202401195](https://doi.org/10.1002/ange.202401195)

License:

Creative Commons: Attribution-NonCommercial (CC BY-NC)

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Citation for published version (Harvard):

Roman, D, Meisinger, P, Guillonneau, R, Peng, CC, Peltner, LK, Jordan, PM, Haensch, V, Götze, S, Werz, O, Hertweck, C, Chen, Y & Beemelmans, C 2024, 'Strukturrevision einer weit verbreiteten marinen Sulfonolipidklasse basierend auf deren Isolierung und Totalsynthese', *Angewandte Chemie*.
<https://doi.org/10.1002/ange.202401195>

[Link to publication on Research at Birmingham portal](#)

General rights

Unless a licence is specified above, all rights (including copyright and moral rights) in this document are retained by the authors and/or the copyright holders. The express permission of the copyright holder must be obtained for any use of this material other than for purposes permitted by law.

- Users may freely distribute the URL that is used to identify this publication.
- Users may download and/or print one copy of the publication from the University of Birmingham research portal for the purpose of private study or non-commercial research.
- User may use extracts from the document in line with the concept of 'fair dealing' under the Copyright, Designs and Patents Act 1988 (?)
- Users may not further distribute the material nor use it for the purposes of commercial gain.

Where a licence is displayed above, please note the terms and conditions of the licence govern your use of this document.

When citing, please reference the published version.

Take down policy

While the University of Birmingham exercises care and attention in making items available there are rare occasions when an item has been uploaded in error or has been deemed to be commercially or otherwise sensitive.

If you believe that this is the case for this document, please contact UBIRA@lists.bham.ac.uk providing details and we will remove access to the work immediately and investigate.

Strukturrevision einer weit verbreiteten marinen Sulfonlipidklasse basierend auf deren Isolierung und Totalsynthese

Dávid Roman, Philippe Meisinger, Richard Guillonau, Chia-Chi Peng, Lukas K. Peltner, Paul M. Jordan, Veit Haensch, Sebastian Götze, Oliver Werz, Christian Hertweck, Yin Chen, und Christine Beemelmans*

Abstract: Bakterien der marinen *Roseobacter*-Gruppe spielen eine wichtige Rolle in globalen biogeochemischen Prozessen. Prominente Vertreter dieser Gruppe produzieren schwefelhaltige Aminolipide (SAL), die für die Bildung von Biofilmen und die Besiedlung von Meeresoberflächen von entscheidender Bedeutung sind. Obwohl Genome Mining-Ansätze und massenspektrometrische Studien homotaurinhaltige Strukturen für eine Gruppe von SALs postulierten, blieben deren relative und absolute Strukturen bisher unbekannt, was biochemische und funktionelle Untersuchungen behinderte. In dieser Studie konnten wir die absoluten Strukturen durch eine Kombination von analytischen Techniken, Isolierungs- und Abbaupersonen sowie Totalsynthese bestimmen. Im Gegensatz zu vorherigen Strukturvorschlägen sind die hier untersuchten Aminolipide durch eine ungewöhnliche N,O-acylierte Cysteinolsäure Kopfgruppe gekennzeichnet, weshalb wir die Substanzklasse Cysteinolide genannt haben. Durch gezielte Netzwerk-basierende metabolische Studien konnten wir zudem die Verteilung und strukturelle Vielfalt von Cysteinoliden in verschiedenen Vertretern der bakteriellen *Roseobacter*-Gruppe kartieren. Insgesamt konnten in dieser Studie 14 verschiedene Aminolipide, einschließlich der in dieser Studie isolierten Cysteinolide, synthetisiert werden. Der Vergleich der erhaltenen analytischen Daten ermöglichte tiefergehende strukturelle Einblicke in die Charakteristika dieser Substanzgruppe, welche für Studien zum bakteriellen Sulfonlipid-Stoffwechsel und zu biogeochemischen Nährstoffkreislauf in den Ozeanen von großer Bedeutung sein werden.

Einführung

Lipide sind von grundlegender Bedeutung für alle bekannten Lebewesen. Sie dienen als Hauptbestandteile von Zellmembranen, stellen eine wichtige Form der Energiespeicherung dar und bilden den zentralen Substratpool für den Primär- und in vielen Fällen auch den Sekundärstoffwechsel.^[1,2] Darüber hinaus dienen Lipide als Signalmoleküle und

spielen eine Schlüsselrolle bei biologischen Prozessen, die von der Beeinflussung von Entwicklungsprozessen in Mikroorganismen^[3] bis hin zur Immunologie^[4] von Säugetieren und der Krebsentstehung reichen.^[5,6] Ein Ungleichgewicht in der Lipidhomöostase kann daher schwerwiegende Folgen für einzelne Organismen oder ganze Ökosysteme haben.^[7] Um Lipide mit spezifischen Bioaktivitäten zu korrelieren und zu verstehen, wie äußere Stimuli zum Lipidumbau der

[*] D. Roman, P. Meisinger, C.-C. Peng, Prof. C. Beemelmans
Chemical Biology of Microbe-Host Interactions
Leibniz Institute for Natural Product Research and Infection Biology
– Hans Knöll Institute (HKI)
Beutenbergstrasse 11 A, 07745 Jena, Germany

D. Roman, C.-C. Peng, Dr. S. Götze, Prof. C. Beemelmans
Anti-Infectives from Microbiota
Helmholtz Institute for Pharmaceutical Research Saarland (HIPS)
Helmholtz Centre for Infection Research (HZI)
Campus E8.1, 66123 Saarbrücken, Germany
E-mail: christine.beemelmans@helmholtz-hips.de

P. Meisinger, Dr. V. Haensch, Prof. C. Hertweck
Biomolecular Chemistry
Leibniz Institute for Natural Product Research and Infection Biology
– Hans Knöll Institute (HKI)
Beutenbergstrasse 11 A, 07745 Jena, Germany

Dr. R. Guillonau
Nantes Université
CNRS, US2B, UMR 6286
F-44000 Nantes, France

L. K. Peltner, Dr. P. M. Jordan, Prof. O. Werz
Department of Pharmaceutical/Medicinal Chemistry
Institute of Pharmacy – Friedrich-Schiller-University Jena
Philosophenweg 14, 07743 Jena, Germany

Prof. C. Hertweck
Institute of Microbiology – Friedrich-Schiller-University Jena
07743 Jena, Germany

Prof. Y. Chen
School of Biosciences
University of Birmingham
Edgbaston B15 2TT, United Kingdom

Prof. C. Beemelmans
Saarland University
Campus E8.1, 66123 Saarbrücken, Germany

© Die Autoren. Angewandte Chemie veröffentlicht von Wiley-VCH GmbH. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution Non-Commercial License, die eine Nutzung, Verbreitung und Vervielfältigung in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert und nicht für kommerzielle Zwecke genutzt wird.

Plasmamembran führen, ist eine umfassende Analyse des Lipidoms durch massenspektrometrische Methoden (MS) notwendig.^[8,9] Obwohl die Vorhersagbarkeit chemischer Strukturen anhand von Massenfragmentationsmustern in den letzten Jahren deutlich verbessert wurde, bleibt es aufgrund der modularen Zusammensetzung von Lipiden und ihrer enormen strukturellen Vielfalt, die mehr als 20.000 Verbindungen umfasst, weiterhin schwierig ihre relativen Strukturen ausschließlich durch die Interpretation von Massenspektrometriedaten zu bestimmen.^[10,11] Diese Herausforderung wird noch deutlicher, wenn es sich um Lipide mikrobiellen Ursprungs handelt, da diese häufig bisher unbeschriebene strukturelle Veränderungen und hochspezifische Struktur-Aktivitäts-Profile aufweisen,^[12–14] für die authentische Standards meist nicht verfügbar sind.^[15–17] Die Vorhersagbarkeit von relativen Molekülstrukturen von Lipiden allein auf der Grundlage von MS-Daten ist daher meist noch zu unpräzise und kann zu lückenhaften oder fehlerhaften wissenschaftlichen Schlussfolgerungen führen.

In den letzten Jahren sind schwefelhaltige Aminolipide auf Grund ihrer Bioaktivitäten und globalen Abundanz in den Fokus verschiedener Forschungsrichtungen gerückt. So konnte gezeigt werden, dass Halocapnin^[18] und bakterielle Sulfonolipide (Abbildung 1A) nicht nur für die bakterielle Physiologie von Bedeutung sind,^[19] sondern auch an verschiedenen Wirt-Mikroben-Interaktionen beteiligt sind. Insbesondere die als RIFs^[20,21] und IOR-1A^[22,23] bekannten Sulfonosphingolipide, die zu den prokaryotischen Gegenstücken der Sphingolipidklasse gehören,^[24] spielen eine Rolle bei der Regulierung von Zelldifferenzierungsprozessen in dem einzelligen Eukaryoten *Salpingoeca rosetta*.^[25] Desweiteren haben spätere Studien auch die entzündungsfördernde

Wirkung von bakteriellen Sulfonosphingolipiden in primären Mausemakrophagen gezeigt.^[26]

Angesichts der bedeutenden Rolle von Sulfonolipiden in physiologischen und interorganismischen Prozessen weckte eine kürzlich veröffentlichte Studie zu Aminolipiden aus der marinen *Roseobacter*-Gruppe unser Interesse. Basierend auf der Analyse von Tandem-Massenspektrometrie (HR-MS/MS), sowie Genom- und Mutageneseexperimenten wurde eine neue Gruppe von schwefelhaltigen Aminolipiden (SALs) vorgeschlagen, welche charakteristisch für diese global verbreitete Bakteriengruppe sein sollte (Abbildung 1C).^[27]

Die Analyse diagnostischer massenspektrometrischer Fragmentierungsmuster legte die Vermutung nahe, dass es sich um Lipide handelt, welche entweder 3-Aminopropan-1-sulfonsäure (Homotaurin) oder 2-Aminopropan-1-sulfonsäure als polare Kopfgruppe tragen sollten, welche wiederum wahrscheinlich mit einer (β -Hydroxy-)Fettsäure-Seitenkette verbunden sein sollten. Mutagenese- und Bioassay-Studien verstärkten die Vermutung und deuteten ebenfalls darauf hin, dass SALs wahrscheinlich für die bakterielle Biofilmbildung von wesentlicher Bedeutung sind und somit den Prozess der Oberflächenbesiedlung von Meeresumgebungen unterstützen könnten. Die vorgeschlagenen SAL-Strukturen zeigten strukturelle Ähnlichkeit mit Taurolipid A, einer seltenen Verbindungsgruppe, die bisher nur in Süßwasser lebenden Wimperntierchen (*Tetrahymena* sp.) gefunden wurde (Abbildung 1B).^[28]

Die vorgeschlagene Homotaurin-basierende Lipidstruktur der SALs erregte unsere Aufmerksamkeit. Während Taurin ein wichtiger Metabolit mariner Metazoen ist,^[30] und von Prokaryonten als Kohlenstoff-, Stickstoff- und Schwefelquelle genutzt wird, ist die Verbreitung und die Funktion von Homotaurin (mit der Ausnahme von marinen Rotalgen) noch wenig erforscht.^[31,32] Ähnlich rudimentär sind Erkenntnisse zur Abundanz und Funktion von 2-Aminopropan-1-sulfonsäure als bakterieller Metabolit. Um sowohl die Regiochemie als auch absolute Konfiguration der vorgeschlagenen SAL-Strukturen zu ermitteln und damit Struktur und Aktivitäts-basierte ökologische Studien durchführen zu können, strebten wir in dieser Studie ihre Totalsynthese und strukturelle Evaluierung an.

Ergebnisse und Diskussion

Retrosynthetische Betrachtung

Die planare Kernstruktur der SALs wurden ursprünglich aus HR-MS³-Daten des Vorläuferions m/z 656.4903 ($[M-H]^-$) abgeleitet. Basierend auf den detektierten Fragmentationsmustern wurde die Anwesenheit einer gesättigten β -Hydroxy-C16-Fettsäure postuliert, welche mit einer einfach ungesättigten C18-Fettsäure O-acyliert sein sollte und über eine Peptidbindung entweder mit Homotaurin oder 2-Aminopropan-1-sulfonsäure verknüpft sein sollte (Abbildung 1C). Da zu Beginn dieser Studie weder die Stereochemie noch die Naturstoffe verfügbar waren, beschlossen wir in einem ersten Schritt vier

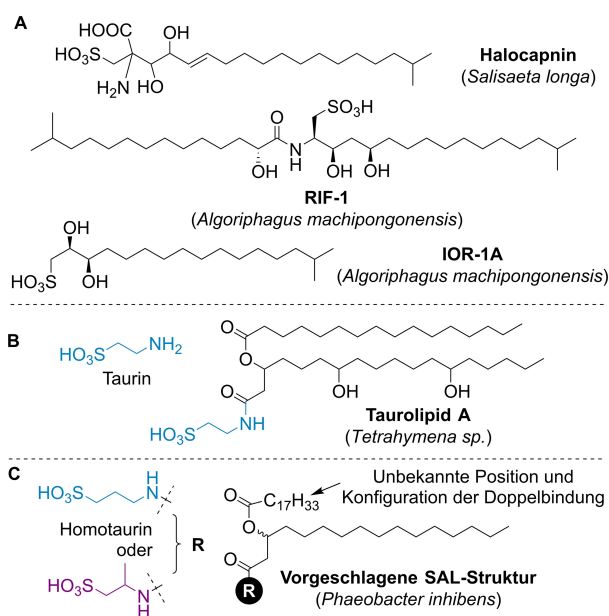


Abbildung 1. Chemische Strukturen von A) bakteriellen Sulfonolipiden mit den Bezeichnungen Halocapnin, RIF-1 und IOR-1 A,^[29] B) ein taurinhaltiges Lipid namens Taurolipid A aus *Tetrahymena* sp.; und C) vorgeschlagene chemische Strukturen der SALs.^[27]

mögliche SAL-Stereoisomere zu synthetisieren, um die Fragmentationsmuster abzugleichen. Dazu sollten beide Enantiomere der β -Hydroxysäure dargestellt werden, ebenso wie die geschützten Vorstufen von Homotaurin sowie 2-(*R/S*)-Aminopropan-1-sulfonsäure für die Synthese der anionischen Kopfgruppe (Abbildung 2A). Da auch die Struktur der Acylseitenketten zu dem Zeitpunkt unbekannt war, wurde angenommen, dass SALs mit den häufigsten bakteriellen Fettsäuren, *cis*-Ölsäure (C18:1, *cis*- Δ 9) und *cis*-Vaccensäure (C18:1, *cis*- Δ 11), verestert sein sollten.

Totalsynthese der SALs

Die Synthese von Homotaurin-basierten SAL-Isomeren begann mit der Kopplung von 3-(*R/S*)-Hydroxyhexadecansäure (**(R/S)-5**)^[33,34] und dem Trifluoressigsäure (TFA)-Salz von 3-(Acylthio)propylamin (**8**)^[35] (Abbildung 2B) unter Verwendung von 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC) als Kupplungsmittel und N-Methylmorpholin (NMM)^[36] als Base (siehe Hintergrundinformationen zur Synthese der Bausteine). Die Reaktion verlief in Gegenwart von NMM in guter Ausbeute, während die Verwendung von NEt_3 , N,N-Diisopropylethylamin^[37] oder Pyridin zur Bildung des unerwünschten Fettsäurethioesters durch vorherige Deacylierung des Ausgangsmaterials führte.

Die Steglich-Veresterung von (**(R/S)-9**) mit handelsüblicher *cis*-Ölsäure und *cis*-Vaccensäure führte zu den vier SAL-Isomeren (**(R/S)-10**) und (**(R/S)-11**) in hoher Ausbeute (85–98%). Die anschließende Oxidation der Thioacetate mit OxoneTM und NaOAc in Eisessig führte zur Bildung der Sulfonsäurederivate **1** und **2** (67–73%, Abbildung 2B), wobei nur Spuren von überoxidierten Nebenprodukten (z. B. Epoxide) anfielen. Um spätere Struktur-Aktivitäts-Studien zu ermöglichen, wurden auch taurinhaltige Derivate nach

dem gleichen Verfahren wie die Homotaurin-Derivate **1** und **2** synthetisiert (zur Synthese siehe SI). Um oxidative Nebenreaktionen im letzten Syntheseschritt zu vermeiden, wurde zudem die Synthesestrategie zur Darstellung von 2-Aminopropan-1-sulfonsäure-haltigen SALs (**3**) angepaßt. Für die Herstellung der Kopfgruppe wurden die Literatur bekannten Disulfide **6** als Bausteine verwendet, welche in zwei Schritten synthetisiert wurden (siehe Hintergrundinformationen für die Synthese). Die Kopplung von **6** mit β -Hydroxyfettsäuren ergab die gewünschten Produkte des Typs **12** in mäßiger bis guter Ausbeute (Abbildung 2C). Anschließend untersuchten wir verschiedene Reagenzien für die selektive Oxidation der Disulfide und stellten fest, dass OxoneTM in Gegenwart von AcOH und NaOAc als Additiv fast ausschließlich die gewünschten Lyso-sulfonsäuren **13** lieferte (Tabelle S3).^[38] Die anschließende Veresterung von **13** mit Oleoylchlorid in Gegenwart von 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) in Toluol bei 80 °C ergab 2-Aminopropan-1-sulfonsäure enthaltende SAL-Lipide des Typs **3** in 33–43% Ausbeute (Abbildung 2C).

Strukturaufklärung natürlicher Sulfonolipides

Unter Verwendung der synthetischen SAL-Derivate sollte anschließend die Konfiguration der natürlichen Aminolipide durch vergleichende lipidomische UHPLC-HRMS/MS-Analysen verifiziert werden. Dazu wurde eine Folch-Extraktion^[39] von Bakterienkulturen des Produzentenstammes *Ruegeria pomeroyi* DSS-3 wt und als Negativkontrolle der entsprechenden Deletionsmutante Δ salA durchgeführt, welche nicht in der Lage ist SALs zu produzieren.^[27]

Die anschließende gezielte Ionensuche ermöglichte die Identifizierung des SAL-spezifischen Signals m/z 656.4903 $[\text{M}-\text{H}]^-$ in Lipidextrakten von *R. pomeroyi* DSS 3 wt,

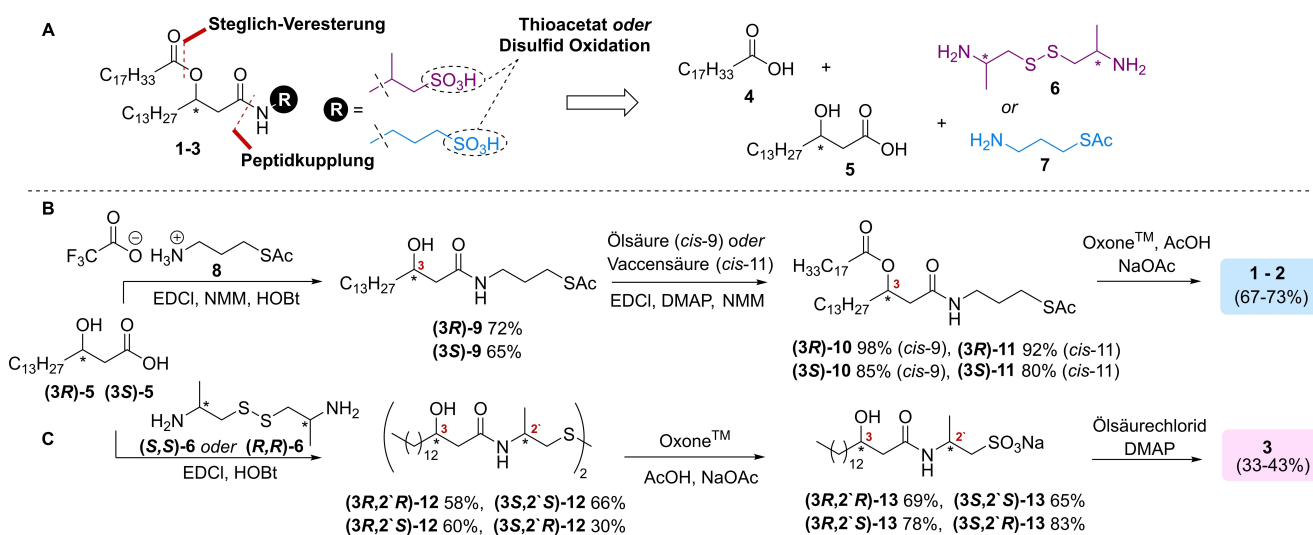


Abbildung 2. A) Vorgeschlagene Strukturen neuartiger SALs aus *Roseobacter* und retrosynthetische Betrachtung von SALs mit Schlüsselbausteinen. B–C) Synthese von Homotaurin (**1–2**) und 2-Aminopropan-1-sulfonsäure-haltigen SALs **3**, die entweder *cis*-Ölsäure oder *cis*-Vaccensäure als ungesättigte Fettsäure-Seitenkette tragen. NMM: N-Methylmorpholin; HOBT: Hydroxybenzotriazol; EDCI: 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid; AcOH: Essigsäure; OxoneTM: Kaliumperoxymonosulfat; DMAP: 4-Dimethylaminopyridin.

während in dem Extrakt der Deletionsmutante *R. pomeroyi* *AsalA* wie erwartet keine Moleküle im entsprechenden Massenbereich nachweisbar waren (Abbildung S17). Eine detaillierte Analyse zeigte jedoch deutlich, dass sich die Retentionszeiten der Vorläuferionen der mit SAL angereicherten Kulturen (26.7 min) von denen der synthetischen Standards (24.8 und 25.1 min, Abbildung S17–S19) unterschieden. Während eine geringfügige Retentionszeitverschiebung einem Matrixeffekt zugewiesen werden könnte, ließen die beobachteten zusätzlichen diagnostischen Unterschiede im Fragmentierungsmuster zwischen synthetischen und natürlichen Verbindungen nur den Schluss zu, dass die vorgeschlagenen planaren SAL-Strukturen wahrscheinlich inkorrekt sind (Figure 1C).

Um diese Diskrepanz zu beheben, kultivierten wir sowohl *R. pomeroyi* DSS-3 wt als auch einen neu isolierten *Hydractinia*-assoziierten Stamm *Ruegeria meonggei* ND-6 Stamm, welcher nachweislich die gleichen SAL-spezifischen

Molekülonensignale aufwies, um die lipidischen Naturstoffe zu isolieren. Dazu wurde jeder Stamm in 5×1 L marinem Kulturmedium drei Tage lang kultiviert (28 °C, 150 U/min). Nach der Ernte der Bakterienzellen ermöglichte eine gezielte MS-geleitete Aufreinigung ($[M-H]^-$, m/z 656.4903 und m/z 672.4847) die Isolierung von zwei SALs (**14** and **15**) aus jedem der beiden Stämme in analytischer Reinheit.

Die chemischen Strukturen wurden durch 1D- und 2D NMR -Spektroskopie und HRMS/MS-Fragmentierungsanalyse bestimmt (Abbildung 3B). Zunächst stellten wir fest, dass die isolierten Verbindungen **14** und **15** unabhängig von der produzierenden Bakterienart (*R. meonggei* und *R. pomeroyi*) denselben analytischen Datensatz (NMR, HRMS/MS und Retentionszeit, Abbildung S20–S21, S35–S48) aufwiesen. Ein abschließender Vergleich der 1H und ^{13}C -basierten chemischen Verschiebungen der isolierten Lipide mit den NMR-Daten synthetischer SAL-Derivate **2** und **3** zeigte signifikante Unterschiede auf (Abbildung 3C),

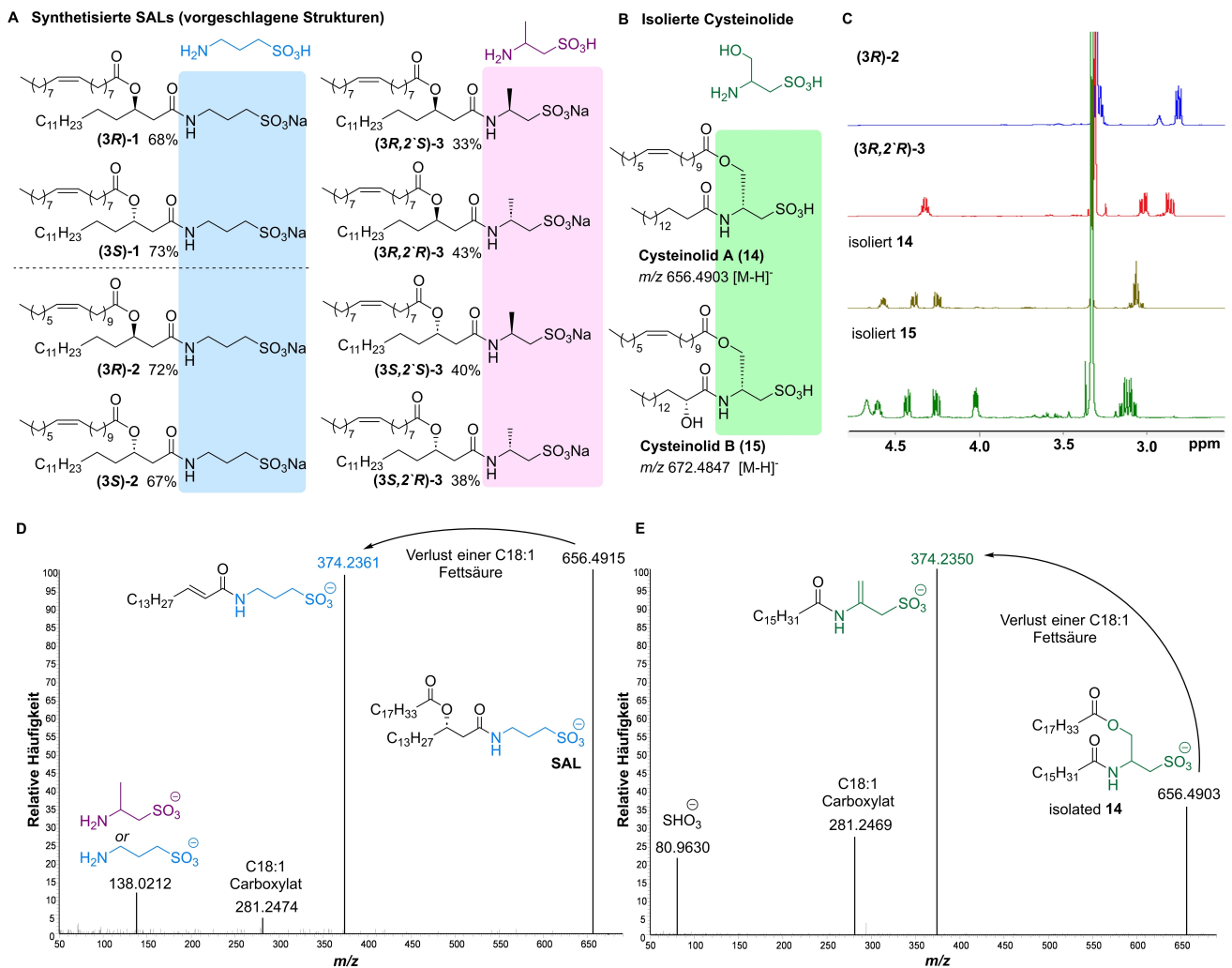


Abbildung 3. A–B) Chemische Strukturen von synthetisierten Homotaurin (**1**–**2**) und 2-Aminopropan-1-sulfonsäure (**3**) enthaltenden SALs und isolierten Cysteinoliden (**14**–**15**) aus *R. pomeroyi* DSS-3 Wildtyp (wt) und *R. meonggei* ND-6. C) Übereinander angeordnete und vergrößerte 1H NMR -Spektren im Bereich von $\delta = 2,5$ – $5,0$ ppm (500 MHz, CD₃OD) von synthetisierten SALs (**R**)-**2**, (**R,R**)-**3** und isoliertem Cysteinolid A **14** und Cysteinolid B **15**, die eine Cysteinolsäure-Kopfgruppe tragen. D–E) MS²-basierte Fragmentierung von synthetischem SAL **2** und isoliertem Cysteinolid A **14** und vorgeschlagene fragmentierte Strukturen auf der Grundlage ihrer m/z -Molekülonenmerkmale.

welche hauptsächlich der sulfonhaltigen Kopfgruppe zugeordnet werden konnten.

Analyse der wechselseitigen ^1H - ^1H -COSY- und ^1H - ^{13}C -HMBC-Korrelationen von beiden isolierten Lipiden (**14** und **15**) ermöglichte es uns, die chemische Struktur der Kopfgruppe für beide Lipidmetabolite als acylierte Cysteinolsäureeinheit zu identifizieren. Da die Molekülmassen von **14** und **15** einen Massenunterschied von $\Delta 16$ aufwiesen, schlossen wir auf das Vorhandensein einer zusätzlichen Hydroxylierung in einer der Fettsäureketten von Verbindung **15**. Tatsächlich konnten wir basierend auf der 2D NMR -Korrelationsmusteranalysen und der diagnostischen chemischen Verschiebungen das Vorhandensein einer α -hydroxylierten Fettsäuregruppe in **15** nachweisen, während Verbindung **14** nur Signale für eine gesättigte Hexadecansäuregruppe aufwies (Abbildung 3B, Abbildung S37–S48).

Unsere Schlussfolgerungen wurden durch eine gezielte MS²-Analyse unterstützt, die für die isolierten Cysteinolide dasselbe charakteristische Fragmentierungsmuster aufzeigte, welches sich jedoch von dem der synthetischen SALs deutlich unterschied (Abbildung 3D und E, Abbildung S27–S33). Während das HRMS/MS-Spektrum der synthetischen SALs **1–3** drei diagnostische m/z -Fragmente aufwies, die entweder dem Homotaurin- oder 2-Aminopropan-1-sulfonat-Anion (m/z 138.0212), einem entsprechenden Carboxylat-Fragment (m/z 281.2474) und einer N-acylierten Kopfgruppe (m/z 374.2361) zugeordnet werden konnte, zeigte das MS/MS-Spektrum des isolierten Cysteinolid A **14** ein zusätzliches diagnostisches Sulfonat-Anion-Signal (SO_3H , m/z 80.9630, Abbildung 3E). Außerdem wies das Fragmentierungsspektrum von **14** keine m/z -Merkmale auf, welche Homotaurin- oder 2-Aminopropan-1-Sulfonat-Anionen zugeordnet werden konnten. Im Gegensatz dazu fragmentierte das hydroxylierte Cysteinolid B **15** überwiegend in ein vorhergesagtes allylisches Prop-2-en-1-sulfonat (m/z 120.9965, $\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{SO}_3$, Abbildung S33).

Da weder die NMR- noch die MS-Analyse eine genaue Bestimmung der Fettsäurekette und der Position der Doppelbindung ermöglichten, wurde eine vergleichende Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS)-basierte Analyse durchgeführt. Dazu wurden **14** und **15** zunächst einer Hydrolyse mit LiOH in $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ unterzogen, und dass daraus resultierende Methanolextrakt mit TMS-Diazomethan in Hexan behandelt, um die freigewordenen Fettsäuren in die entsprechenden Methylester umzuwandeln. Zum Vergleich wurden handelsübliche *cis*-Ölsäure (C18:1, *cis*- $\Delta 9$) und *cis*-Vaccensäure (C18:1, *cis*- $\Delta 11$) unter den gleichen Bedingungen umgesetzt und die resultierenden Produkte als Standards verwendet (Abbildung S23). Ein Vergleich der GC-MS-basierten Retentionszeit von Basislinien-getrennten Signalen zeigte, dass beide natürlichen Aminolipide (**14** und **15**) *cis*-Vaccensäure enthielten (Abbildung S24). Nach unserem Kenntnisstand sind die isolierten Aminolipide **14** und **15** die ersten bakteriellen Lipide, die eine Cysteinolsäure-Kopfgruppe enthalten, und wurden daher Cysteinolid A (**14**) und Cysteinolid B (**15**) genannt (Abbildung 3B).

Zudem führt die Aufreinigung der Lipidextrakte auch zur Isolierung eines dritten dominanten Metaboliten mit einem m/z Wert von 773.5343 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Die HRMS/MS- sowie die 1D- und 2D NMR-Analyse dieser Verbindung zeigten eindeutig, dass **16** zur Gruppe der diacylierten Phosphatlipide auf Glycerinbasis gehört (siehe Abbildung 6C). Das Vorhandensein eines Phosphatsignals wurde durch ^{31}P NMR bestätigt (Abbildung S53–S60), und die Fettsäurezusammensetzung wurde ebenfalls durch GC-MS validiert (Abbildung S23–S26). Phosphatidylglycerin (PG) **16** wurde in verschiedenen Organismen,^[40] wie z. B. den Bakterien *Rhodobacter sphaeroides*^[41] und *Hyphomicrobium vulgare* nachgewiesen^[42] und auch im menschlichen Serum detektiert.^[43] Soweit wir wissen, umfasst diese Studie jedoch den ersten vollständigen analytischen Satz dieser Verbindung (NMR, IR und HPLC-HRMS/MS), der in Zukunft validierte Vergleichsstudien ermöglichen wird.

Totalsynthese von Cysteinolid A

Um die absolute Stereochemie von Cysteinolid A aufzuklären, synthetisierten wir die Verbindung **14** ausgehend von der potentiellen bakteriellen biosynthetischen Vorläufer-Aminosäure L-Cystin (Abbildung 4A). Unsere Synthese begann mit der NaBH_4 vermittelten Reduktion eines in situ erzeugten Anhydrids von L-Cystin (**2R,2'R**)-**17** unter Verwendung eines modifizierten Literaturverfahrens zur Herstellung von Boc-geschütztem L-Cystinol (**2R,2'R**)-**18** in 68 % Ausbeute.^[44]

Die anschließende säurekatalysierte Boc-Abspaltung lieferte L-Cystinolphydrochlorid (**2R,2'R**)-**19**, welches durch eine Kupplung mit Palmitinsäure in 55 % Ausbeute über 2 Stufen in das diacylierte Disulfid (**2R,2'R**)-**20** überführt wurde. Im nächsten Schritt wurde das Disulfid (**2R,2'R**)-**20** mit OxoneTM und NaOAc in Eisessig behandelt, was Lyso-Cysteinolid A (**2R**)-**21** in 71 % Ausbeute ergab. Schließlich wurde die Sulfonsäure (**2R**)-**21** mit *cis*-Vaccensäurechlorid und DMAP in Toluol bei 80 °C behandelt um Cysteinolid A (**2R**)-**14** in 42 % Ausbeute herzustellen. Da die optische Drehung von synthetisiertem Cysteinolid A (**2R**)-**14** und isoliertem **14** vergleichbar war und das selbe Vorzeichen aufwies, schlussfolgerten wir, dass die Kopfgruppe des Naturstoffes L-Cysteinolsäure enthält. Insgesamt gelang uns damit die erste Totalsynthese von Cysteinolid A (**2R**)-**14** in fünf Schritten ausgehend von dem bekannten Disulfid L-Cystin (**2R,2'R**)-**17** mit einer Gesamtausbeute von 11 %.

Verifizierung der absoluten Struktur von Cysteinolid B

Da trotz wiederholter Modifizierungsversuche die Bestimmung der absoluten Konfiguration von Cysteinolid B **15** mit Hilfe des Mosher-Protokolls nicht möglich war, erfolgte dies ebenfalls durch Synthese und einer vergleichende Analyse mit dem Lyso-Diastereoisomer **25**. Basierend auf der Annahme, dass L-Cysteinolsäure ebenfalls die Kopfgruppe des Naturstoffes bildet, konnten in einem komplementären Syntheseansatz unter Verwendung enantiomerenreiner α -

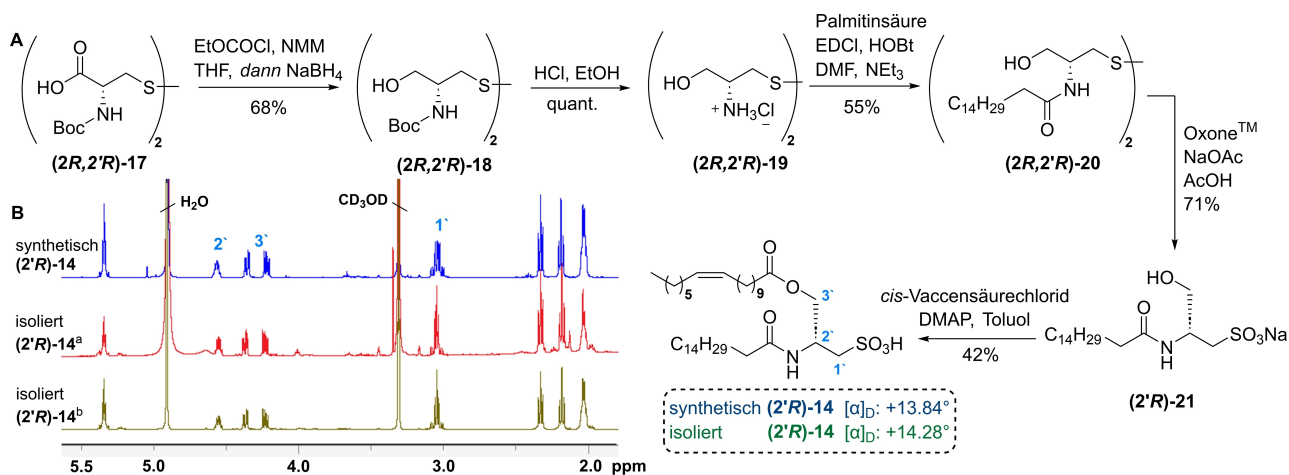


Abbildung 4. A) Totalsynthese von Cysteinolid A (**R**)-**14** und Vergleich der optischen Drehwerte (c 0.7, MeOH). B) Übereinander angeordnete und vergrößerte ¹H NMR -Spektren (CD₃OD, 500 MHz, δ = 2.0–5.5 ppm) von isoliertem (**R**)-**14** aus a) *R. pomeroyi* DSS-3 wt und aus b) *R. meonggei* ND-6 und synthetischem Cysteinolid A (**R**)-**14**. THF: Tetrahydrofuran; EtOH: Ethanol; DMF: Dimethylformamid.

Hydroxyfettsäuren die beiden verbleibenden Diastereoisomere hergestellt werden. Die Synthese der α-Hydroxyfettsäuren begann mit der nukleophilen Ringöffnung von (*R*)- oder (*S*)- Glycidylbenzylether unter Verwendung von einem in situ gebildetem Lithiumalkin, was zu propargylichen Alkoholen führte, die sofort mit BzCl in Pyridin behandelt wurden, um (*R*)- und (*S*)-benzylierte Benzoate in 44 % bzw. 67 % Ausbeute über zwei Syntheseschritte zu erhalten. Beide geschützte Diole wurden einer Palladium-katalysierten Hydrierung unterzogen. Die neu gebildeten Alkanole wurden durch eine Oxoammonium-katalysierten Oxidation mit Trichlorisocyanursäure (TCCA) in Gegenwart einer katalytischen Menge von TEMPO und NaBr^[45] oxidiert, um die entsprechenden α-benzylierten Carbonsäuren (**2R**)-**23** und (**2S**)-**23** in 93 % bzw. 82 % Ausbeute über zwei Syntheseschritte zu erhalten. Die Amidkupplung von **23** mit L-Cystinylhydrochlorid (**2R,2'R**)-**19** führte zur Bildung von Disulfiden, die nach Behandlung mit Oxone™ und NaOAc in Essigsäure Zugang zu den benzylierten Lyso-Cysteinoliden (**2R,2'R**)-**24** und (**2S,2'R**)-**24** in 76 % bzw. 55 % ermöglichte. Basische Verseifung von (**2R,2'R**)-**24** und (**2S,2'R**)-**24** ergab jeweils ein Diastereomer des Lyso-Cysteinolid B (**25**). Zur Vergleichbarkeit, wurde das isolierte Cysteinolid B denselben milden Verseifungsbedingungen unterworfen und das entsprechende Lyso-Cysteinolid B erhalten. Der Vergleich der ¹H- und ¹³C NMR-Spektren der synthetischen Diastereomere mit dem Verseifungsprodukt bakteriellen Ursprungs (Cysteinolid B **15**) ergab eindeutig, dass die α-Hydroxygruppe die (*R*)-Konfiguration besitzt (Abbildung 5B, S49–S52).

Global Natural Product Social Molecular Networking (GNPS) Analyse

Wie aus früheren Studien hervorgeht, ist für die Biosynthese von Cysteinoliden eine charakteristische Acyltransferase (SalA) erforderlich. Eine vorangegangene bioinformatische

Analyse des Tara Oceans^[46] Metagenom-Datensatzes hatte die globale Präsenz von Gen-Homologen (*salA*) in marinen *Roseobacter*-Stämmen aufgezeigt. Um diese Beobachtung experimentell zu bestätigen, haben wir die Produktion von Cysteinoliden in fünf Stämmen, die zur *Roseobacter*-Gruppe gehören (*Salipiger thiooxidans* (DSM10146), *R. pomeroyi* (DSM15171), *Stappia stellulata* (DSM5886), *Dinoroseobacter shibae* (DSM16493) und *R. meonggei* ND-6) unter Verwendung isolierter und synthetischer Standards detailliert analysiert.

Die vergleichende HRMS/MS-Analyse bestätigte, dass *salA*-kodierenden Stämme Cysteinolid A **14** (Abbildung S16) produzierten, während *S. stellulata* und die *ΔsalA* Deletionsmutante (Negativkontrolle) keine Produktion aufwiesen. Um die mögliche strukturelle Vielfalt der Cysteinolide besser beschreiben zu können, haben wir die generierten lipidomischen UHPLC-HRMS-Daten mittels Netzwerk-basierter Analysealgorithmen des GNPS Portals analysiert.^[47] Die Visualisierung der Netzwerkanalyse deckte zwei separate GNPS-Cluster zugehörig zu Cysteinolid A **14** (*m/z* 656.4929) und Cysteinolid B **15** (*m/z* 672.4878) auf, die weitere verwandte Molekülionen-Peaks umfassen (Abbildung 6B). Eine Analyse und Vergleich der einzigartigen Fragmentierungsmuster führte zur putativen Identifizierung von acht weiteren Cysteinoliden (Abbildung 6D–E, Abbildung S61–S77). Die Analyse ihrer relativen Häufigkeit (siehe Abbildung 6A) anhand der Intensität der Molekül-Ionen-Peaks zeigte, dass auch acht Cysteinolid-Kongenerne in *R. meonggei* mit dieser Methode nachweisbar waren, einem Stamm, der zuvor nicht als Produzent beschrieben worden war. Darüber hinaus wurden bis zu sechs weitere Cysteinolide in dem ursprünglichen Produzenten *R. pomeroyi* DSM15171 bzw. DSS-3 wt nachgewiesen.

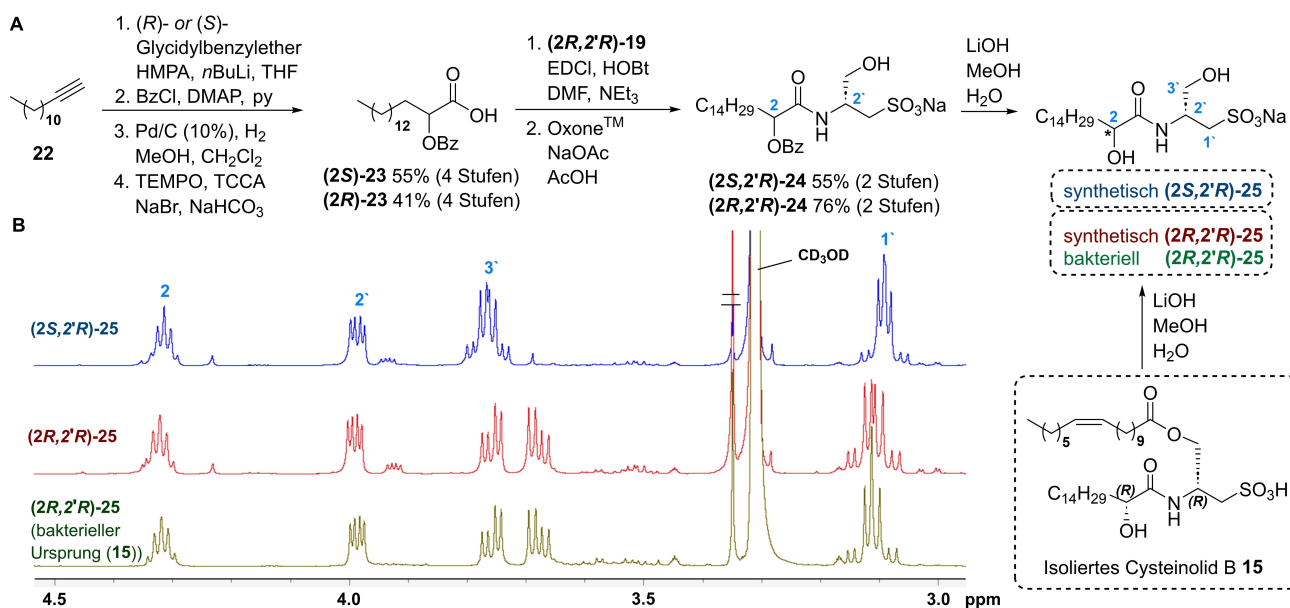


Abbildung 5. A) Totalsynthese der Lyso-Cysteinolide B (**2R,2'R**)-25 und (**2S,2'R**)-25 und halbtotale Synthese von **25** durch Verseifung des isolierten Cysteinolids B **15**. B) Vergleich der vergrößerten und gestapelten ¹H NMR -Spektren (CD₃OD, 500 MHz, δ = 3,0–4,5 ppm) der synthetischen Lyso-Cysteinolide und das durch Verseifung des natürlichen Lipids **15** (isoliert aus *R. meonggei*) erhalten lyso Cysteinolid B. BzCl: Benzoylchlorid; py: Pyridin; MeOH: Methanol; TEMPO: 2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-oxyl; TCCA: Trichlorisocyanursäure.

Bewertung der Bioaktivität von Aminosulfolipiden

Aufgrund der postulierten Rolle im Prozess der Biofilmbildung haben wir schließlich untersucht, ob die Applikation von Cysteinoliden oder synthetisch hergestellten und strukturell verwandten SALs die Biofilmbildung im Deletionsstamm *ΔsalA* wiederherstellen kann. (Abbildung S78).

Die Zugabe von Cysteinoliden während der bakteriellen Wachstumsphase führte jedoch weder beim Wildtyp zu signifikanten phänotypischen Effekten noch zur Wiederherstellung der Biofilmbildung in der *ΔsalA* Mutante. Dies legt die Vermutung nahe, dass extrazelluläre Supplementierung die komplexen zellulären Prozesse zur Biofilmbildung nicht signifikant beeinflussen können, oder dass *ΔsalA*-Mutanten nicht in der Lage sind, extern verabreichte Cysteinolide zu verarbeiten.^[48] Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit von SALs (**1–3**) und Cysteinoliden (**14, 15**) mit Sulfonylphospholipiden wie RIFs und IOR-1,^[21–23] untersuchten wir im nächsten Schritt ob Cysteinolide ähnliche Auswirkungen auf die Bildung von mehrzelligen Rosetten in *S. rosetta* aufwiesen. Mit Ausnahme von Cysteinolid A **14**, welches die Proliferation von Choanoflagellaten in konzentrationsabhängiger Weise negativ beeinflusste, verursachte keines der getesteten Lipide eine morphologische Veränderung (siehe SI-Abbildung S79–S80). Eine ähnliche milde zytotoxische Wirkung wurde auch beobachtet, als die Lipide im Zelltoxizitätstest mit menschlichen Zelllinien getestet wurden (siehe Tabelle S14).

Sulfolipid-produzierende Bakterien sind Teil des menschlichen Mikrobioms, welche aktiv an den Schnittstellen zwischen Bakterien und Menschen interagieren und bakterielle Signalmoleküle, wie zum Beispiel Lipidmediatoren, ausschütten. Daher haben wir auch die pharmakopho-

ren Eigenschaften von SALs und Cysteinoliden getestet, wobei der Fokus auf die Arachidonat-5-Lipoxygenase fiel (ALOX5 oder 5-LOX).^[49] 5-LOX ist ein eisenhaltiges Nicht-Häm-Enzym, das eine zweistufige Reaktion zur Bildung des instabilen Epoxid-Zwischenprodukts 5,6-Oxido-7,9,11,14-Icosatetraensäure (LTA₄) aus Arachidonsäure (AA) katalysiert.^[50] LTA₄ wird weiter enzymatisch in verschiedene Leukotriene (LT) umgewandelt oder verstoffwechselt, die als Entzündungsmediatoren eine wichtige Rolle in der Abwehrreaktionen des Wirts und bei verschiedenen Krankheiten, wie zum Beispiel Asthma, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und bestimmten Krebsarten spielen.^[51,52] Bisher ist trotz seines ungünstigen pharmakokinetischen Profils und seiner hepatotoxischen Wirkung nur ein Wirkstoff als 5-LOX-Hemmer zur Behandlung von Asthma durch die FDA zugelassen (Zileuton, ein Benzothiophen-N-Hydroxyharnstoff).^[53]

Daher wurden mittels eines etablierten zellfreien Assays die synthetischen SALs sowie die bakteriellen Cysteinolide auf ihre Auswirkungen auf die 5-LOX-vermittelte Produktbildung getestet. Während für taurin- oder homotaurinhaltige SALs keine Wirkung festgestellt wurde, konnte für 2-aminopropan-1-sulfonsäurehaltige SALs (**R,R**)-3, Lyso-SALs (**R,S**)-13 und (**R,R**)-13 eine schwache 5-LOX-hemmende Aktivität festgestellt werden. Interessanterweise hemmen (**S,R**)-3 und Cysteinolid A (**14**) 5-LOX mäßig, während die höchste Aktivität für Cysteinolid B (**15**) beobachtet wurde (Abbildung 7), was auf eine Spezifität gegenüber der α-Hydroxygruppe in der Molekülstruktur hindeutet (Abbildungen S81–S82). Diese Ergebnisse zeigen erneut, dass spezifische bakterielle Lipide Immunreaktionen im Wirtsmilieu strukturabhängig modulieren können. Der Chemotyp von **15** als 5-LOX-Inhibitor ist neuartig und nicht mit

Studien deuten z. B. darauf hin, dass insbesondere Phosphor-limitierte Wachstumsbedingungen heterotrophe Bakterien dazu veranlassen, Phospholipide durch den Einbau schwefelhaltiger Lipide zu ersetzen.^[55] Neben ihrer Rolle als Energiespeicher und Membrankomponenten dienen schwefelhaltige mikrobielle Lipide auch als intra- und interzelluläre Signalmoleküle, die auch für die Interaktionen zwischen Wirt und Mikrobe von Bedeutung sind.^[56] Studien an Mikroben, die mit dem menschlichen Darm assoziiert sind (z. B. *Bacteroides* und *Odoribacter*) haben gezeigt, dass Sulfonolipide, insbesondere Sulfonosphingolipide, wichtige bakterielle Membranbestandteile sind und eine entzündungsfördernde Wirkung auf eukaryotische Zelllinien haben. Darüber hinaus sind z. B. *N*-Acyltaurine eine endogene Klasse bioaktiver Lipide, die häufig bei Säugetieren, aber auch bei wirbellosen Meerestieren vorkommen, wo sie als Signalmoleküle im zentralen Nervensystem und in peripheren Geweben wirken.^[57,58]

Die Verfügbarkeit dieser weit verbreiteten bioaktiven Sulfonolipide und ihrer potenziellen biosynthetischen Vorstufen werden für zukünftige Forschungsansätze, die darauf abzielen, ihre Biosynthese sowie ihre ökologischen und physiologischen Funktionen zu entschlüsseln, von wesentlicher Bedeutung sein. Darüber hinaus werden sie als wertvolle Referenzsubstanzen in marinen biologischen Studien dienen, um das Vorkommen dieser Verbindungsklasse in Meerwasserproben, mikrobiellen Gemeinschaften oder marinen Lebensmitteln zu quantifizieren.

Erklärung zur Datenverfügbarkeit

Die Datensätze, die diesen Artikel unterstützen, wurden als Teil der elektronischen unterstützenden Informationen (SI) hochgeladen und enthalten Details zu chemischen Verfahren, 1D- und 2D NMR Spektren der beschriebenen Verbindungen sowie HRMS- und Bioassay-Daten. Dieses Material ist kostenlos verfügbar.

Danksagung

Wir danken Heike Heinecke (Leibniz-HKI) für die Messung von NMR-Spektren, Nina Messerschmidt (Leibniz-HKI) für vorläufige zytotoxische und antiproliferative Assays und Nils Dormanns für die Bereitstellung des Stammes *R. meonggei* ND-6. PRM dankt der Studienstiftung des deutschen Volkes für die finanzielle Unterstützung während seines Studiums. CB dankt für die Finanzierung durch das Forschungs- und Innovationsprogramm Horizont 2020 der Europäischen Union (ERC Grant Nummer: 802736, MOR-PHEUS). RG und YC danken dem Europäischen Forschungsrat (ERC) im Rahmen des Forschungs- und Innovationsprogramms Horizont 2020 der Europäischen Union (grant agreement Nr. 726116). Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, SFB 1127/3 ChemBioSys Projekt Nr. 239748522 (für OW, CH und CB) unterstützt. Open Access Veröffentlichung ermöglicht und organisiert durch Projekt DEAL.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte vorliegen.

Erklärung zur Datenverfügbarkeit

Die Daten, die die Ergebnisse dieser Studie unterstützen, sind in den Hintergrundinformationen zu diesem Artikel verfügbar.

Stichwörter: Totalsynthese · Naturstoffe · Sulfonolipide · Cysteinolide · *Roseobacter*

- [1] T. Harayama, H. Riezman, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2018**, *19*, 281–296; *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2019**, *20*, 715.
- [2] P. N. Leão, T. P. Martins, K. Abt, J. P. A. Reis, S. Figueiredo, R. Castelo-Branco, S. Freitas, *Chem. Commun.* **2023**, *59*, 4436–4446.
- [3] D. Lechnitz, L. Raguž, C. Beemelmans, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, *46*, 6330–6344.
- [4] M. Bae, C. D. Cassilly, X. Liu, S. M. Park, B. K. Tusi, X. Chen, J. Kwon, P. Filipčík, A. S. Bolze, Z. Liu, H. Vlamakis, D. B. Graham, S. J. Buhrlage, R. J. Xavier, J. Clardy, *Nature* **2022**, *608*, 168–173.
- [5] S. Vasseur, F. Guillaumond, *Oncogenesis* **2022**, *11*, 46.
- [6] Y. Okazaki, K. Saito, *Plant J.* **2014**, *79*, 584–596.
- [7] J. P. Koelmel, M. P. Napolitano, C. Z. Ulmer, V. Vasiliou, T. J. Garrett, R. A. Yost, M. N. V. Prasad, K. J. Godri Pollitt, J. A. Bowden, *Metabolomics* **2020**, *16*, 56.
- [8] J. Flores, B. M. White, R. J. Brea, J. M. Baskin, N. K. Devaraj, *Chem. Soc. Rev.* **2020**, *49*, 4602–4614.
- [9] T. Züllig, M. Trötz Müller, H. C. Köfeler, *Anal. Bioanal. Chem.* **2020**, *412*, 2191–2209.
- [10] M. A. Stravs, K. Dührkop, S. Böcker, N. Zamboni, *Nat. Methods* **2022**, *19*, 865–870.
- [11] M. Thukral, A. E. Allen, D. Petras, *ISME J.* **2023**, *17*, 2147–2159.
- [12] J. Kwon, M. Bae, D. Szamosvári, C. D. Cassilly, A. S. Bolze, D. R. Jackson, R. J. Xavier, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, *145*, 7071–7074.
- [13] S. Bang, Y. H. Shin, X. Ma, S. M. Park, D. B. Graham, R. J. Xavier, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, *145*, 23422–23426.
- [14] D. Szamosvári, M. Bae, S. Bang, B. K. Tusi, C. D. Cassilly, S. M. Park, D. B. Graham, R. J. Xavier, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, *144*, 2474–2478.
- [15] H. Tsugawa, K. Ikeda, M. Takahashi, A. Satoh, Y. Mori, H. Uchino, N. Okahashi, Y. Yamada, I. Tada, P. Bonini, Y. Higashi, Y. Okazaki, Z. Zhou, Z. J. Zhu, J. Koelmel, T. Cajka, O. Fiehn, K. Saito, M. Arita, M. Arita, *Nat. Biotechnol.* **2020**, *38*, 1159–1163.
- [16] E. C. Gentry, S. L. Collins, M. Panitchpakdi, P. Belda-Ferre, A. K. Stewart, M. Carrillo Terrazas, H.-h. Lu, S. Zuffa, T. Yan, J. Avila-Pacheco, D. R. Plichta, A. T. Aron, M. Wang, A. K. Jarmusch, F. Hao, M. Syrkin-Nikolau, H. Vlamakis, A. N. Ananthakrishnan, B. Boland, A. Hemperly, N. Vande Castele, F. J. Gonzalez, C. B. Clish, R. J. Xavier, H. Chu, E. S. Baker, A. D. Patterson, R. Knight, D. Siegel, P. C. Dorrestein, *Nature* **2023**, ahead of print: <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06906-8>.
- [17] Y. H. Shin, S. Bang, S. M. Park, X. Ma, C. Cassilly, D. Graham, R. Xavier, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, *145*, 21183–21188.

- [18] M. Baronio, V. M. Lattanzio, N. Vaisman, A. Oren, A. Corcelli, *J. Lipid Res.* **2010**, *51*, 1878–85.
- [19] E. Ryan, S. A. Joyce, D. J. Clarke, *Microbiology* **2023**, *169*, 001315.
- [20] C. Beemelmans, A. Woznica, R. A. Alegado, A. M. Cantley, N. King, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 10210–10213.
- [21] D. Leichnetz, C. C. Peng, L. Raguž, F. U. N. Rutaganira, T. Jautzus, L. Regestein, N. King, C. Beemelmans, *Chemistry* **2022**, *28*, e202103883.
- [22] A. M. Cantley, A. Woznica, C. Beemelmans, N. King, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 4326–4329.
- [23] L. Raguž, C. CPeng, F. U. N. Rutaganira, T. Krüger, A. Stanišić, T. Jautzus, H. Kries, O. Kniemeyer, A. A. Brakhage, N. King, C. Beemelmans, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2022**, *61*, e202209105.
- [24] Y. Liu, Y. Wei, T. M. Teh, D. Liu, Y. Zhou, S. Zhao, E. L. Ang, H. Zhao, Y. Zhang, *Biochemistry* **2022**, *61*, 2861–2869.
- [25] E. V. Ireland, A. Woznica, N. King, *Appl. Environ. Microbiol.* **2020**, *86*, e02920–19.
- [26] L. Hou, H. Y. Tian, L. Wang, Z. E. Ferris, J. Wang, M. Cai, E. A. Older, M. R. K. Raja, D. Xue, W. Sun, P. Nagarkatti, M. Nagarkatti, H. Chen, D. Fan, X. Tang, J. Li, *ACS Chem. Biol.* **2022**, *17*, 1197–1206.
- [27] A. F. Smith, E. Silvano, R. Guillonneau, M. Quareshy, A. Murphy, M. A. Mausz, R. Stirrup, B. Rihman, M. Aguilo-Ferretjans, D. J. Scanlan, Y. Chen, *ISME J.* **2021**, *15*, 2440–2453.
- [28] K. Kaya, *Prog. Lipid Res.* **1992**, *31*, 87–108.
- [29] F. Blachier, M. Andriamihaja, A. Blais, *J. Nutr.* **2020**, *150*, 2524S–2531S.
- [30] E. L. Clifford, M. M. Varela, D. De Corte, A. Bode, V. Ortiz, G. J. Herndl, E. Sintes, *Microb. Ecol.* **2019**, *78*, 299–312.
- [31] C. Terriente-Palacios, M. Castellari, *Food Chem.* **2022**, *368*, 130770.
- [32] M. Baronio, V. M. Lattanzio, N. Vaisman, A. Oren, A. Corcelli, *J. Lipid Res.* **2010**, *51*, 1878–85.
- [33] B. Jakob, G. Voss, H. Gerlach, *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 3255–3262.
- [34] S. Götz, R. Vij, K. Burow, N. Thome, L. Urvat, N. Schlosser, S. Pflanze, R. Müller, V. G. Hänsch, K. Schlabach, L. Fazlikhani, G. Walther, H. M. Dahse, L. Regestein, S. Brunke, B. Hube, C. Hertweck, P. Franken, P. Stallforth, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, *145*, 2342–2353.
- [35] B. Wängler, R. Schirmacher, C. Wängler, *Tetrahedron Lett.* **2020**, *61*, 151840.
- [36] M. Smetana, P. Clayette, P. Mialocq, J. J. Vasseur, J. Oiry, *Bioorg. Chem.* **2008**, *36*, 133–140.
- [37] E. Bomal, V. Croué, R. Yeo, R. Scopelliti, H. Frauenrath, *Chem. Eur. J.* **2020**, *26*, 8907–8915.
- [38] K. N. Parida, A. Chandra, J. N. Moorthy, *ChemistrySelect* **2016**, *3*, 490–494.
- [39] J. Folch, M. Lees, G. H. S. Stanley, *J. Biol. Chem.* **1957**, *226*, 497–509.
- [40] C. Bovigny, G. Tamò, T. Lemmin, N. Maino, M. D. Peraro, *J. Chem. Inf. Model.* **2015**, *55*, 2491–2499.
- [41] X. Zhang, C. Hiser, B. Tamot, C. Benning, G. E. Reid, S. M. Ferguson-Miller, *Biochemistry* **2011**, *50*, 3891–3902.
- [42] S. G. Batrakov, D. I. Nikitin, *Biochim. Biophys. Acta* **1996**, *1302*, 129–137.
- [43] T. H. Kuo, H. H. Chun, H. Y. Chang, C. W. Lin, M. Y. Wang, T. L. Shen, C. C. Hsu, *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 11905–11915.
- [44] L. Burchill, L. Zudich, P. L. van der Peet, J. M. White, S. J. Williams, *J. Org. Chem.* **2022**, *87*, 4333–4342.
- [45] L. De Luca, G. Giacomelli, S. Masala, A. Porcheddu, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4999–5001.
- [46] C. Vernet, J. Lecubin, P. Sánchez, Tara Oceans Coordinators, S. Sunagawa, T. O. Delmont, S. G. Acinas, E. Pelletier, P. Hingamp, M. Lescot, *Nucleic Acids Res.* **2022**, *50*, W516–W526.
- [47] M. Wang, J. J. Carver, V. V. Phelan, L. M. Sanchez, N. Garg, Y. Peng, D. D. Nguyen, J. Watrous, C. A. Kapon, T. Luzzatto-Knaan, C. Porto, A. Bouslimani, A. V. Melnik, M. J. Meehan, W.-T. Liu, M. Crüsemann, P. D. Boudreau, E. Esquenazi, M. Sandoval-Calderón, R. D. Kersten, L. A. Pace, R. A. Quinn, K. R. Duncan, C.-C. Hsu, D. J. Floros, R. G. Gavilan, K. Kleigrewe, T. Northen, R. J. Dutton, D. Parrot, E. E. Carlson, B. Aigle, C. F. Michelsen, L. Jelsbak, C. Sohlenkamp, P. Pevzner, A. Edlund, J. McLean, J. Piel, B. T. Murphy, L. Gerwick, C.-C. Liaw, Y.-L. Yang, H.-U. Humpf, M. Maansson, R. A. Keyzers, A. C. Sims, A. R. Johnson, A. M. Sidebottom, B. E. Sedio, A. Klitgaard, C. B. Larson, C. A. Boya, P. D. Torres-Mendoza, D. J. Gonzalez, D. B. Silva, L. M. Marques, D. P. Demarque, E. Pociute, E. C. O’Neill, E. Briand, E. J. N. Helfrich, E. A. Granatosky, E. Glukhov, F. Ryffel, H. Houson, H. Mohimani, J. J. Kharbush, Y. Zeng, J. A. Vorholt, K. L. Kurita, P. Charusanti, K. L. McPhail, K. F. Nielsen, L. Vuong, M. Elfeki, M. F. Traxler, N. Engene, N. Koyama, O. B. Vining, R. Baric, R. R. Silva, S. J. Mascuch, S. Tomasi, S. Jenkins, V. Macherla, T. Hoffman, V. Agarwal, P. G. Williams, J. Dai, R. Neupane, J. Gurr, A. M. C. Rodríguez, A. Lamsa, C. Zhang, K. Dorrestein, B. M. Duggan, J. Almaliti, P.-M. Allard, P. Phapale, L.-F. Nothias, T. Alexandrov, M. Litaudon, J.-L. Wolfender, J. E. Kyle, T. O. Metz, T. Peryea, D.-T. Nguyen, D. VanLeer, P. Shinn, A. Jadhav, R. Müller, K. M. Waters, W. Shi, X. Liu, L. Zhang, R. Knight, P. R. Jensen, B. Ø. Palsson, K. Pogliano, R. G. Linington, M. Gutiérrez, N. P. Lopes, W. H. Gerwick, B. S. Moore, P. C. Dorrestein, N. Bandeira, *Nat. Biotechnol.* **2016**, *34*, 828–83.
- [48] H. Benamara, C. Rihouey, T. Jouenne, A. Alexandre, *Biochim. Biophys. Acta* **2011**, *1808*, 98–105.
- [49] a) F. Bruno, G. Spaziano, A. Liparulo, F. Roviezzo, S. M. Nabavi, A. Sureda, R. Filosa, B. D’Agostino, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *153*, 65–72; b) D. Steinhilber, B. Hofmann, *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **2014**, *114*(1), 70–77; c) S. Sinha, M. Doble, S. L. Manju, *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 3745–3759.
- [50] a) N. C. Gilbert, J. Gerstmeier, E. E. Schexnaydre, F. Börner, U. Garscha, D. B. Neau, O. Werz, M. E. Newcomer, *Nat. Chem. Biol.* **2020**, *16*, 783–790; b) C. D. Funk, S. Hoshiko, T. Matsumoto, O. Rdmarm, B. Smuulsson, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **1998**, *86*, 2587–2591.
- [51] B. Samuelsson, *Science* **1983**, *220*, 568–575.
- [52] a) O. Rådmark, O. Werz, D. Steinhilber, B. Samuelsson, *Biochim. Biophys. Acta* **2015**, *1851*, 331–339; b) K. Bishayee, A. R. Khuda-Bukhsh, *Acta Biochim. Biophys. Sin.* **2013**, *45*, 709; c) B. Samuelsson, S.-E. Dahlén, J. A. Lindgren, C. A. Rouzer, C. N. Serhan, *Science* **1987**, *237*, 1171–1176.
- [53] a) A. Rossi, C. Pergola, A. Koeberle, M. Hoffmann, F. Dehm, P. Bramanti, S. Cuzzocrea, O. Werz, L. Sautebin, *Br. J. Pharmacol.* **2010**, *161*, 555–570; b) W. Berger, M. T. M. De Chant, C. B. Cairns, *Int. J. Clin. Pract.* **2007**, *61*, 663–676; c) P. M. Malo, R. L. Bell, T. K. Shaughnessy, J. B. Summers, D. W. Brooks, G. W. Carter, *Pulm. Pharmacol.* **1994**, *7*, 73–79; d) R. L. Bell, P. R. Young, D. Albert, C. Lanni, J. B. Summers, D. W. Brooks, P. Rubin, G. W. Carter, *Int. J. Immunopharmacol.* **1992**, *14*, 505–510.
- [54] L. Zudich, M. Leeming, L. Pallasdies, M. Nuske, G. Reid, L. Burchill, S. Williams, *ChemRxiv*. **2024**, doi: 10.26434/chemrxiv-2024-6q17l.
- [55] M. Sebastián, A. F. Smith, J. M. González, H. F. Fredricks, B. Van Mooy, M. Koblížek, J. Brandsma, G. Koster, M. Mestre, B. Mostajir, P. Pitta, A. D. Postle, P. Sánchez, J. M. Gasol, D. J. Scanlan, Y. Chen, *ISME J.* **2016**, *10*, 968–78.

- [56] H. Mannocho-Russo, S. O. I. Swift, K. K. Nakayama, C. B. Wall, E. C. Gentry, M. Panitchpakdi, A. M. Caraballo-Rodriguez, A. T. Aron, D. Petras, K. Dorrestein, T. K. Dorrestein, T. M. Williams, E. M. Nalley, N. T. Altman-Kurosaki, M. Martinelli, J. Y. Kuwabara, J. L. Darcy, V. S. Bolzani, L. Wegley Kelly, C. Mora, J. Y. Yew, A. S. Amend, M. McFall-Ngai, N. A. Hynson, P. C. Dorrestein, C. E. Nelson, *Commun. Biol.* **2023**, *6*, 896.
- [57] T. J. Grevenkoed, S. A. J. Trammell, M. K. McKinney, N. Petersen, R. L. Cardone, J. S. Svenningsen, D. Ogasawara, C. C. Nexøe-Larsen, F. K. Knop, T. W. Schwartz, R. G. Kibbey, B. F. Cravatt, M. P. Gillum, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2019**, *116*, 24770–24778.
- [58] X. Zhou, T. Xu, K. Wen, X. W. Yang, S. H. Xu, Y. Liu, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2010**, *74*, 1089–1091.

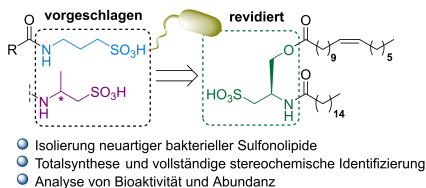
Manuskript erhalten: 18. Januar 2024
Akzeptierte Fassung online: 26. März 2024
Endgültige Fassung online: ■ ■ ■

Zuschriften

Naturstoffe

D. Roman, P. Meisinger, R. Guillonau, C.-C. Peng, L. K. Peltner, P. M. Jordan, V. Haensch, S. Götz, O. Werz, C. Hertweck, Y. Chen, C. Beemelmans* ————— **e202401195**

Strukturrevision einer weit verbreiteten marinen Sulfonolipidklasse basierend auf deren Isolierung und Totalsynthese



In dieser Studie konnten wir die chemischen Strukturen einer neu entdeckten Gruppe von bakteriellen schwefelhaltigen Aminolipiden (Cysteinolides) mittels analytischer Techniken, Isolierungs- und Abbauxperimente sowie ihrer Totalsynthese revidieren und ihre absolute Stereochemie bestimmen. Im Gegensatz zu früheren Strukturvorschlägen auf der Basis von Homotaurin, weisen Cysteinolide eine cysteinolsäurehaltige Kopfgruppe auf, die mit verschiedenen (α -Hydroxy-) Carbonsäuren acyliert ist.