

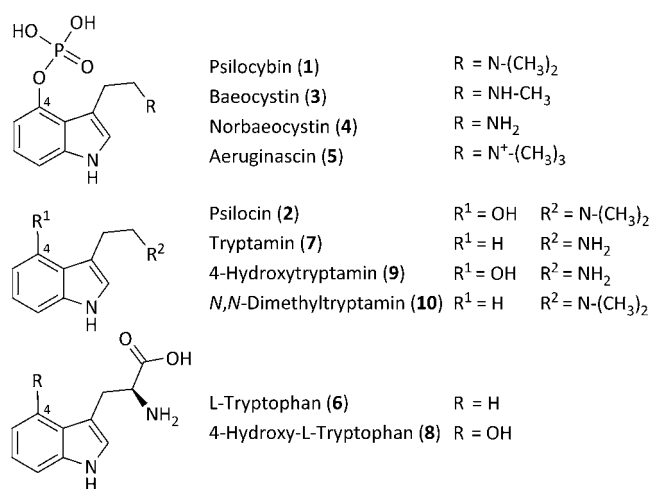
Enzymatische Synthese von Psilocybin

Janis Fricke⁺, Felix Blei⁺ und Dirk Hoffmeister*

Abstract: Psilocybin ist der psychotrope, vom Tryptamin abgeleitete Naturstoff der *Psilocybe*-Fruchtkörper, der so genannten „Zauberpilze“. Obwohl dessen Struktur seit 60 Jahren bekannt ist, blieb die enzymatische Grundlage ihrer Biosynthese ungeklärt. Wir charakterisierten vier Psilocybin-Biosyntheseenzyme, nämlich i) *PsiD*, welches zu einer neuen Klasse pilzlicher L-Tryptophan-Decarboxylasen gehört, ii) *PsiK*, welches den Phosphotransfer-Schritt katalysiert, iii) die Methyltransferase *PsiM*, welche einen wiederholten N-Methyltransfer als abschließenden Biosyntheseschritt katalysiert, sowie iv) *PsiH*, eine Monooxygenase. In einer kombinierten Reaktion mit *PsiD*, *PsiK* und *PsiM* wurde Psilocybin vom 4-Hydroxy-L-tryptophan ausgehend nach einer schrittökonomischen Route synthetisiert. Angesichts des wieder aufkommenden pharmazeutischen Interesses an Psilocybin könnten unsere Ergebnisse die Grundlage für dessen biotechnologische Produktion schaffen.

Zahlreiche Pilze der Gattung *Psilocybe* produzieren psychotrope Naturstoffe, die nach Aufnahme die Wahrnehmung tiefgreifend verändern. Mittelamerikanische Kulturen betrachteten diese Pilze als heilig und nutzten sie für religiöse Zwecke. In neuerer Zeit wurden die Fruchtkörper, umgangssprachlich „Zauberpilze“ genannt, als Rauschmittel gebraucht. Die pharmakologischen Effekte werden durch modifizierte Tryptamine hervorgerufen,^[1] von denen Psilocybin (**1**, Schema 1) der hauptsächlichste Inhaltsstoff dieser Pilze ist.^[2] Dieser Wirkstoffvorläufer wird nach Aufnahme rasch dephosphoryliert, wodurch die eigentliche psychotrope Verbindung Psilocin (**2**) entsteht, welche hauptsächlich als partieller Agonist am 5HT_{2A}-Rezeptor des menschlichen zentralen Nervensystems angreift.^[1] **1** hat die Aufmerksamkeit der Pharmazie erregt, da klinische Studien einen positiven Trend in der Behandlung von Existenzängsten bei Krebspatienten im fortgeschrittenen Stadium und bei Nikotinabhängigkeit zeigten.^[3] Studien zum klinischen Einsatz von **1** gegen Depressionen sind noch nicht abgeschlossen.^[4]

Hofmann und Mitarbeiter klärten 1959 die Strukturen von **1** und **2** auf.^[2a] Später wurden die Desmethylanaloga Baecocystin (**3**) und Norbaecocystin (**4**) sowie das trimethylierte Aeruginascin (**5**; Schema 1) beschrieben.^[5] Die Abfolge der Biosyntheseschritte, die zu **1** mit seiner einzigartigen 4-



Schema 1. Chemische Strukturen von *Psilocybe*-Naturstoffen und Enzymsubstraten.

Phosphoryloxy-Gruppe am Indolgrundgerüst führen, wurde 1968 basierend auf ¹⁴C- und ³H-Radioisotopenmarkierungen beschrieben.^[6] Es wurde vorgeschlagen, dass L-Tryptophan (**6**) zunächst decarboxyliert wird, wodurch Tryptamin (**7**) entsteht, gefolgt von N,N-Dimethylierung, Hydroxylierung an C4 sowie 4-O-Phosphorylierung.

Hier berichten wir über Enzyme der Biosynthese von **1** aus *P. cubensis*, darunter eine L-Tryptophan-Decarboxylase, eine Kinase, eine S-Adenosyl-L-methionin(SAM)-abhängige N-Methyltransferase sowie eine Monooxygenase. Die Ergebnisse zeigten, dass diese Biosynthese nicht in der oben beschriebenen Reihenfolge erfolgt. Unter Verwendung von heterolog hergestellten Enzymen und 4-Hydroxy-L-tryptophan (**8**) als Ausgangssubstrat rekonstituierten wir den Biosyntheseweg für **1** in vitro. Unsere Ergebnisse umfassen auch die Identifizierung einer neuen Klasse pilzlicher L-Tryptophan-Decarboxylasen und den Beweis, dass die N,N-Dimethylierung den letzten Schritt darstellt. Daher stellen wir einen weiterentwickelten Vorschlag für einen Biosyntheseweg von **1** vor.

Die Genome von *P. cubensis* und *P. cyanescens* wurden sequenziert. In Pilzen sind die Gene, die eine bestimmte Biosynthese codieren, üblicherweise in zusammenhängenden Genclustern colokalisiert und umgeben meistens Gene für Polyketidsynthasen, Peptidsynthetasen oder Terpencyclasen.^[7] Die Biosynthese von **1** erfordert jedoch keines dieser Gene. Ebenso war unklar, ob ein Gen für eine aromatische L-Aminosäure-Decarboxylase, beispielsweise CsTDC,^[8] im Cluster vorhanden sein könnte, da die entsprechende enzymatische Aktivität auch im Primärmetabolismus erforderlich ist. Stattdessen wurden lediglich Gene für eine Methyltransferase, eine Hydroxylase sowie eine Kinase für die Biosyn-

[*] J. Fricke,^[a] F. Blei,^[a] Prof. Dr. D. Hoffmeister
Department Pharmazeutische Mikrobiologie am
Hans-Knöll-Institut
Friedrich-Schiller-Universität
Beutenbergstraße 11a, 07745 Jena (Deutschland)
E-Mail: dirk.hoffmeister@leibniz-hki.de

[⁺] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind unter:
<https://doi.org/10.1002/ange.201705489> zu finden.

these von **1** erwartet. In beiden Genomen wurde ein genetischer Locus identifiziert (*P. cubensis*: 21.8 kb, *P. cyanescens*: 25 kb), welcher die erwarteten Gene beinhaltet (nachfolgend als *psiM*, *psiH* und *psiK* bezeichnet; Abbildung 1, Tabelle S1) sowie ein vermutliches Decarboxylase-Gen (*psiD*). Gene für Transporter der „Major-facilitator“-Familie (*psiT1* und *psiT2*) sowie für einen Transkriptionsregulator (*psiR*) mit einer Helix-Schleife-Helix-Domäne („helix-loop-helix“, HLH) wurden ebenfalls gefunden.

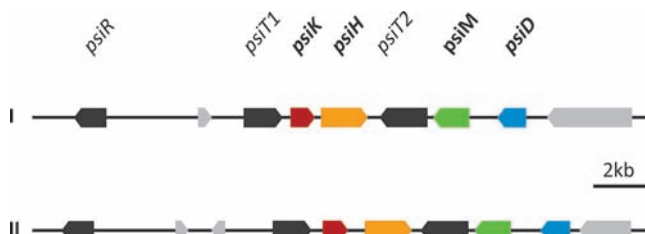


Abbildung 1. Karte der syntanischen Loci (*psi*) für die Biosynthese von **1** in *P. cubensis* (I) und *P. cyanescens* (II). Relevante Gene für die enzymatische Synthese sind in Fettdruck beschriftet und farbig hervorgehoben. Die Gencluster umfassen Gene für eine Kinase (*psiK*, rot), eine Methyltransferase (*psiM*, grün), L-Tryptophan-Decarboxylase (*psiD*, blau) und eine P₄₅₀-Monooxygenase (*psiH*, orange). Weiterhin codiert der Locus für zwei „Major-facilitator“-artige Transporter (*psiT1* und *psiT2*) und für einen vermutlichen Transkriptionsregulator (*psiR*). Hypothetische Gene sind hellgrau dargestellt. Introns sind nicht eingezeichnet.

Die meisten Basidiomyceten sind einer genetischen Veränderung nicht zugänglich, was Strategien der reversen Genetik oder Gen-Stillegung ausschließt.^[9] Um zu beweisen, dass dieser Locus der Biosynthese von **1** zuzuordnen ist, folgten wir einem In-vitro-Ansatz. Angesichts der hohen Ähnlichkeit der vorhergesagten Enzyme, die in *P. cubensis* und *P. cyanescens* codiert sind (zwischen 78 und 85 % identische Aminosäuren), haben wir *P. cubensis* als Modell gewählt. Die cDNAs von *psiD*, *psiK* und *psiM* wurden kloniert, um die Expressionsplasmide pJF24, pJF23 und pFB13 zu erzeugen. *Escherichia coli*-KRX wurde jeweils einzeln mit ihnen transformiert, um N-terminale Hexahistidin-Fusionsproteine herzustellen, die mittels Metallaffinitätschromatographie gereinigt wurden (Abbildung S1).

PsiD ist ein 49.6-kDa-Enzym (439 Aminosäuren in nativer Form, berechneter pI 5.3), das zur Familie der PLP-unabhängigen Phosphatidylserin-Decarboxylasen (E.C. 4.1.1.65) gehört und am ähnlichsten zu hypothetischen Proteinen anderer Basidiomyceten ist, z.B. aus *Fibulorhizoctonia* sp. (GenBank-Zugangsnummer: KZP09902.1, 60 % identische AS) und *Moniliophthora roreri* (XP_007857499.1, 52 % identische AS). PsiD ist nicht verwandt mit PLP-abhängigen aromatischen L-Aminosäure-Decarboxylasen (E.C. 4.1.1.28, Abbildung S2),^[8,10] jedoch mit Phosphatidylserin-Decarboxylasen.^[11] LC-MS-Analysen zeigten Produktbildung, wenn **6** als Substrat zugegeben wurde (Abbildung 2A). Überraschenderweise wurde **8** von PsiD ebenso als Substrat akzeptiert. Fraktionen, die das für Indole typische UV/Vis-Spektrum ergaben, eluierten nach einer Retentionszeit von $t_R = 14.0$ min in der Reaktion mit **6** und nach $t_R = 9.8$ min in der

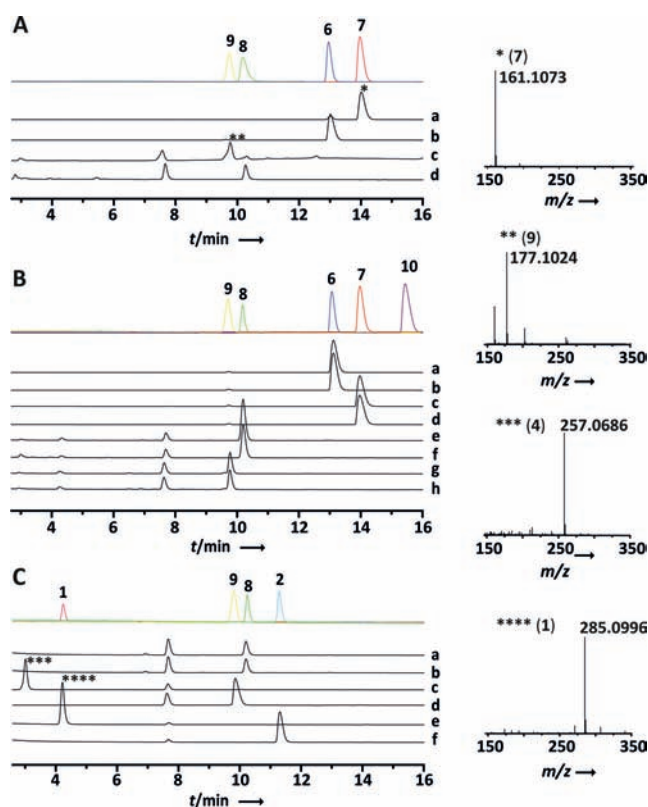


Abbildung 2. Chromatographische Analyse der Produktbildung durch Enzyme der Biosynthese von **1** in vitro. Chromatogramme wurden bei $\lambda = 280$ nm aufgenommen. A) Durch PsiD katalysierte Reaktionen. Oberste Spur (Überlagerung der Chromatogramme): Referenzsubstanzen von **6–9**. Chromatogramme a und b: Reaktion mit **6** als Substrat sowie Negativkontrolle (hitzeinaktiviertes Enzym); c und d: Reaktion mit **8** sowie Negativkontrolle. B) Reaktionen mit PsiM. Oberste Spur: Referenzsubstanzen von **6–10**, Chromatogramme a und b: Reaktion mit **6** sowie Negativkontrolle; c und d: Reaktion mit **7** und Negativkontrolle; e und f: Reaktion mit **8** und Negativkontrolle; g und h: Reaktion mit **9** und Negativkontrolle. C) Reaktionen mit PsiK. Oberste Spur: Referenzsubstanzen von **1, 2, 8** und **9**. Chromatogramme a und b: Reaktion mit **8** und Negativkontrolle; c und d: Reaktion mit **9** und Negativkontrolle; e und f: Reaktion mit **2** und Negativkontrolle. Die Signale bei $t_R = 7.7$ min kommen sowohl in Negativkontrollen als auch in enzymatischen Reaktionen vor und stammen vom 1,4,5-Oxadithiopyran, das sich aus β -Mercaptoethanol bildete. Die Abbildungen rechts zeigen HR-MS-Spektren der HPLC-Signale, die den in Klammern angegebenen Verbindungen zugehören.

Reaktion mit **8**. Die massenspektrometrischen Signale für diese Fraktionen korrespondierten zu denen von **7** und 4-Hydroxytryptamin (**9**, Abbildung 2A, Tabelle S2). Daher identifizierten wir PsiD als ein wahrscheinliches Biosyntheseenzym für **1**. Es gehört zu einer Klasse von Decarboxylasen, für das **6** bislang nicht als Substrat beschrieben worden ist, und das sich abhebt von anderen pilzlichen und pflanzlichen aromatischen L-Aminosäure-Decarboxylasen. Angesichts des Umsatzes von **8** erschien eine schrittökonomische, auf drei Enzymen beruhende In-vitro-Synthese von **1** möglich.

Als nächstes untersuchten wir die vermutliche SAM-abhängige Methyltransferase PsiM (34.5 kDa, 309 AS). Sie ähnelt hypothetischen Methyltransferasen aus Basidiomyceten, z.B. aus *Heterobasidion irregulare* (XP_009549744.1,

52 % identische AS) und *Dichomitus squalens* (XP_007367644.1, 50 % identische AS). PsiM ist eine Klasse-I-Methyltransferase, welche eine Rossmann-Faltung mit der Sequenz $^{103}\text{G-V-D-I-G-T-G-A-S}^{111}$ als plausibles Kernmotiv aufweist.^[12] Basierend auf der vorgeschlagenen Abfolge der Biosyntheseschritte für **1**^[6] ist zu erwarten, dass PsiM den wiederholten Methyltransfer auf die Aminogruppe von **7** katalysiert, um *N,N*-Dimethyltryptamin (**10**) zu erzeugen. Mechanistische Überlegungen ließen **6** als Substrat unwahrscheinlich erscheinen, da der Decarboxylierungsschritt ein primäres Amin für die Bildung einer Schiff-Base erfordert. Enzymreaktionen mit SAM und **6**, **7**, **8** oder **9** wurden mittels LC-MS analysiert.

Mono- oder dimethylierte Produkte wurden aber nicht detektiert (Abbildung 2B), und die Verwendung von **9** als Substrat resultierte lediglich in Produktpuren. Auch eine kombinierte Reaktion mit PsiD/PsiM erbrachte keine methylierten Produkte (Abbildung 3). Daher nahmen wir an, dass die Phosphoryloxy-Gruppe eine strukturelle Voraussetzung für Substrate von PsiM darstellt, weswegen wir nachfolgend den Phosphotransfer-Schritt untersuchten.

Die vermutliche Kinase PsiK (40.4 kDa, 362 AS) ist der 5-Methylthioribose-Familie der Kinasen zugehörig. Die höchste Ähnlichkeit bestand zu hypothetischen Enzymen aus *Fibulorhizoctonia* sp. (KZP10121.1, 41 % identische AS) und *Daedalea quercina* (KZT 74976.1, 31 % identische AS). Reines PsiK setzte **2** in **1** um, wie aus der LC-MS-Analyse ersichtlich ist (Abbildung 2C, Tabelle S2). Der Vergleich mit authentischem **1** als Standard zeigte identische Retentions-

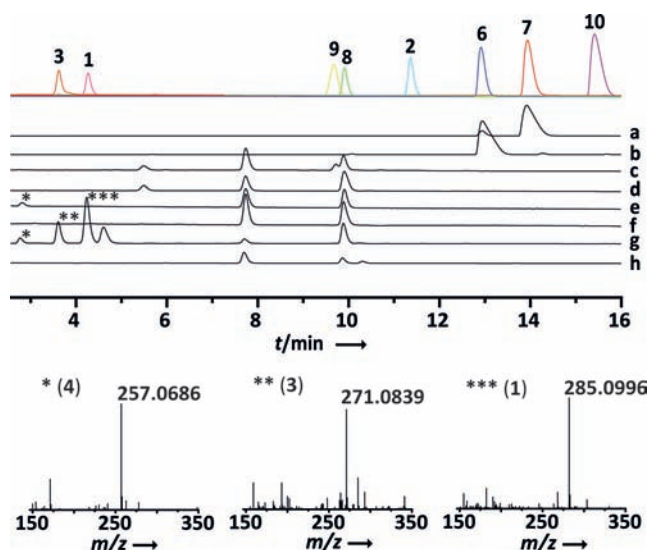


Abbildung 3. LC-MS-Analysen der gekoppelten enzymatischen Reaktionen. Die Chromatogramme wurden bei $\lambda = 280$ nm aufgenommen. Oberste Spur: Referenzsubstanzen von **1–3** sowie **6–10** (Überlagerung der Chromatogramme). Spur a zeigt die gekoppelte PsiD/PsiM-Reaktion mit **6** als Substrat (Spur b: Negativkontrolle) und **7** als Produkt. Spur c zeigt die gekoppelte PsiD/PsiM-Reaktion mit **8** als Substrat und **9** als Produkt (Spur d: Negativkontrolle). Spur e zeigt die gekoppelte PsiD/PsiK-Reaktion mit **8** als Substrat und der Bildung von **4** (Spur f: Negativkontrolle). Spur g zeigt die kombinierte PsiD/PsiK/PsiM-Reaktion (Spur h: Negativkontrolle) mit der Bildung von **1**, **3** und **4** in vitro. Das Signal bei $t_R = 4.7$ min stammt vom *S*-Adenosyl-L-Homocystein.

zeiten. Wurde **8** als Substrat verwendet, konnte keine Produktbildung detektiert werden. Dieses Ergebnis zeigte zum einen eine Zurückweisung dieser Verbindung durch PsiK an, und zum anderen, dass ein decarboxyliertes Substrat erforderlich ist. Wurde **9** als Substrat angeboten, dann wurde die Bildung von **4** beobachtet (Abbildung 2C). Um zu bestätigen, dass ein decarboxyliertes Substrat nötig ist, und um gleichzeitig einen weiteren Schritt in der enzymatischen Synthese zu etablieren, wurde eine gekoppelte PsiD/PsiK-Reaktion mit **8** als Substrat durchgeführt, die in der Bildung von **4** resultierte, wie durch LC-MS gezeigt wurde (Abbildung 3, Tabelle S2). Daher beschreiben wir PsiK als die spezifische Kinase, die den 4-*O*-Phosphorylierungsschritt der **1**-Biosynthese katalysiert.

PsiK ist eine der wenigen biochemisch charakterisierten Naturstoffkinasen, zu denen auch die für die Paeninodin- und Calyculin-Biosynthese gehören.^[13] Um Methyltransferase-Aktivität zu zeigen und um unserem enzymatischen Ansatz für die Synthese von **1** den dritten Schritt hinzuzufügen, wurde anschließend eine PsiD/PsiK/PsiM-Reaktion mit **8** als Substrat durchgeführt. Die LC-MS-Analyse bewies eindeutig die Bildung eines Produktes, das hinsichtlich Retentionszeit sowie UV/Vis- und Massenspektren identisch mit authentischem **1** als Standard war (Abbildung 3, Spur g; Abbildung 4). Eine nachfolgende Reaktion im vergrößerten Maßstab mit 15 μmol (d. h. 3.3 mg) **8** als Ausgangsmaterial ergab 3.9 μmol **1**.

Geringfügige Mengen von **3** und **4** wurden ebenfalls detektiert. Wir schließen daher, dass **4** das hauptsächliche Substrat von PsiM ist, welches von PsiD und PsiK produziert und dann prozessiv *N,N*-dimethyliert wird, um **1** zu ergeben. Unsere Ergebnisse implizieren daher, dass **2** nicht das eigentliche Substrat auf der Biosyntheseroute zu **1** ist. Da aber PsiK **2** problemlos in **1** umsetzt, schlagen wir vor, dass diese Aktivität einen Schutzmechanismus darstellt, um im Fall von

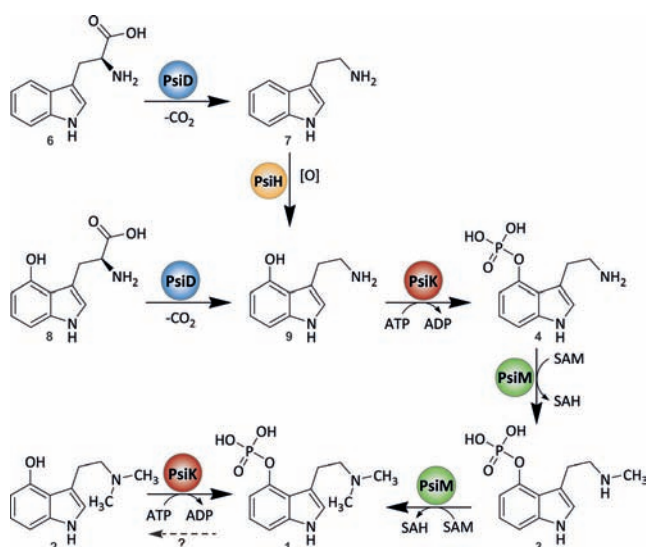


Abbildung 4. Produktion von **1** durch i) die enzymatische In-vitro-Route, beginnend mit **8**, sowie ii) durch Biosynthese in *P. cubensis*, ausgehend von **6**. Der gestrichelte Pfeil von **1** nach **2** symbolisiert eine hypothetische intrazelluläre Dephosphorylierung.

intrazellulärer Esterspaltung das instabile **2** wieder zum stabilen **1** zu phosphorylieren (Abbildung 4).

Iterativer Methyltransfer auf niedermolekulare Verbindungen durch Enzyme wurde bereits zuvor untersucht, darunter RemG, für welches die Katalyse der geminalen C-Dimethylierung während der Resistomycin-Bildung gezeigt wurde.^[14] Die mykobakterielle Methyltransferase EgtD, deren Struktur gelöst wurde, katalysiert die prozessive N-Trimethylierung der Aminogruppe von L-Histidin während der Ergothionein-Biosynthese.^[15] Jedoch sind EgtD und PsiM nicht nahe verwandt, da erstere der Methyltransferase-Familie 33 zugehörig ist, wohingegen letztere in die Familie 10 fällt. Ebenso ist PsiM nicht verwandt mit der Indolethylamin-N-Methyltransferase aus Säugern.^[16]

In einer früheren Publikation^[17] wurde bereits spekuliert, dass **3** ein möglicher Vorläufer von **1** sei, was durch unsere gegenwärtige Arbeit bewiesen wurde. Ebenso wurde vermutet,^[5a,6] dass *P. cubensis* früh hydroxylieren würde, d.h. in einer von Säugern bekannten Serotonin-artigen Abfolge der Biosyntheseschritte.^[18] Angesichts der Substratflexibilität von PsiD gegenüber **8** erschien es plausibel, dass Decarboxylierung und 4-Hydroxylierung austauschbare Schritte sein könnten. Um den Hydroxylierungsschritt aufzuklären, wurde die P₄₅₀-Monooxygenase PsiH heterolog in *Aspergillus niger* tJF02.05 produziert. Der Umsatz von entweder **6** oder **7**, welche zu den Kulturen gegeben wurden, zu **8** bzw. **9** wurde mittels LC-MS untersucht (Abbildung S3). Während die Bildung von **8** nicht detektiert werden konnte, wurde der Umsatz von **7** in **9** jedoch beobachtet. Da die Hydroxylierung von N-alkylierten Tryptaminen bereits gezeigt wurde,^[17] könnte **10** als Substrat von PsiH dienen, was **2** als Vorstufe ergeben würde. Der Pilz jedoch schließt diese Route durch die strikte Spezifität von PsiM aus. Daher zeigten wir, dass die Biosynthese von **1** ein weitgehend linearer Prozess ist (Abbildung 4) und von der von PsiD katalysierten Decarboxylierung als Einstiegsschritt eingeleitet wird. **2** kommt als eine Nebenverbindung in *Psilocybe*-Fruchtkörpern vor und entsteht wahrscheinlich durch intrazelluläre Dephosphorylierung, die durch PsiK nicht vollständig kompensiert wird. Nichtenzymatischer Umbau von **1** in **2** während der Isolierung kann zusätzlich die anscheinenden Konzentrationen von **2** erhöhen.

Unsere Ergebnisse bereiten den Weg für die heterologe Produktion von **1** für pharmazeutische Zwecke in einer kontrollierten Umgebung durch gentechnisch veränderte Mikroben als Wirte, sollte der wiederentdeckte pharmazeutische Wert zu einem erhöhten Bedarf führen.

Danksagung

Wir danken J. Greßler und J. Wick (beide Friedrich-Schiller-Universität Jena) sowie A. Perner (Hans-Knöll-Institut Jena) für cDNA-Synthese, Psilocybin und die Aufnahme von hochaufgelösten Massenspektren. D.H. hat die Erlaubnis zum Umgang mit Betäubungsmitteln gemäß Betäubungsmittelgesetz der Bundesrepublik Deutschland. Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, Projekt HO2515/7-1) unterstützt.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine Interessenskonflikte vorliegen.

Stichwörter: Biosynthese · Enzyme · Kinasen · Naturstoffe · Psilocybin

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 12352–12355
Angew. Chem. **2017**, *129*, 12524–12527

- [1] a) D. E. Nichols, *Pharmacol. Ther.* **2004**, *101*, 131–181; b) F. Hasler, U. Grimberg, M. A. Benz, T. Huber, F. X. Vollenweider, *Psychopharmacology* **2004**, *172*, 145–156.
- [2] a) A. Hofmann, R. Heim, A. Brack, H. Kobel, A. Frey, H. Ott, T. Petrzilka, F. Troxler, *Helv. Chim. Acta* **1959**, *42*, 1557–1572; b) A. Y. Leung, A. H. Smith, A. G. Paul, *J. Pharm. Sci.* **1965**, *54*, 1576–1579.
- [3] a) C. S. Grob, A. L. Danforth, G. S. Chopra, M. Hagerty, C. R. McKay, A. L. Halberstadt, G. R. Greer, *Arch. Gen. Psychiatry* **2011**, *68*, 71–78; b) M. W. Johnson, A. Garcia-Romeu, M. P. Cosimano, R. R. Griffiths, *J. Psychopharmacol.* **2014**, *28*, 983–992.
- [4] A. Mahapatra, R. Gupta, *Ther. Adv. Psychopharmacol.* **2017**, *7*, 54–56.
- [5] a) A. Y. Leung, A. G. Paul, *J. Pharm. Sci.* **1968**, *57*, 1667–1671; b) D. B. Repke, D. T. Leslie, *J. Pharm. Sci.* **1977**, *66*, 113–114; c) N. Jensen, J. Gartz, H. Laatsch, *Planta Med.* **2006**, *72*, 665–666.
- [6] a) S. Agurell, J. L. Nilsson, *Acta Chem. Scand.* **1968**, *22*, 1210–1218; b) S. Agurell, J. L. Nilsson, *Tetrahedron Lett.* **1968**, *9*, 1063–1064.
- [7] D. Hoffmeister, N. P. Keller, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 393–416.
- [8] D. Kalb, J. Gressler, D. Hoffmeister, *ChemBioChem* **2016**, *17*, 132–136.
- [9] M. Stadler, D. Hoffmeister, *Front. Microbiol.* **2015**, *6*, 127.
- [10] M. P. Torrens-Spence, M. Lazear, R. von Guggenberg, H. Ding, J. Li, *Phytochemistry* **2014**, *106*, 37–43.
- [11] a) D. Rontein, W. I. Liu, D. R. Voelker, A. D. Hanson, *Plant Physiol.* **2003**, *132*, 1678–1687; b) I. Schuiki, G. Daum, *IUBMB Life* **2009**, *61*, 151–162.
- [12] a) R. M. Kagan, S. Clarke, *Arch. Biochem. Biophys.* **1994**, *310*, 417–427; b) P. Z. Kozbial, A. R. Mushegian, *BMC Struct. Biol.* **2005**, *5*, 19.
- [13] a) S. Zhu, C. D. Fage, J. D. Hegemann, D. Yan, M. A. Marahiel, *J. Biol. Chem.* **2016**, *291*, 13662–13678; b) T. Wakimoto, Y. Egami, Y. Nakashima, Y. Wakimoto, T. Mori, T. Awakawa, T. Ito, H. Kenmoku, Y. Asakawa, J. Piel, I. Abe, *Nat. Chem. Biol.* **2014**, *10*, 648–655.
- [14] K. Ishida, K. Fritzsche, C. Hertweck, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12648–12649.
- [15] a) A. Vit, L. Misson, W. Blankenfeldt, F. P. Seebeck, *ChemBioChem* **2015**, *16*, 119–125.
- [16] a) J. Axelrod, *Science* **1961**, *134*, 343; b) M. A. Thompson, R. M. Weinshilboum, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 34502–34510.
- [17] J. Gartz, *J. Basic Microbiol.* **1989**, *29*, 347–352.
- [18] W. Lovenberg, H. Weissbach, S. Udenfriend, *J. Biol. Chem.* **1962**, *237*, 89–93.

Manuskript erhalten: 29. Mai 2017

Akzeptierte Fassung online: 1. August 2017

Endgültige Fassung online: 25. August 2017