

# Enantioselektive oxidative aerobe Desalkylierung von N-Ethylbenzyl-isochinolinen mithilfe des Berberin-Brücken-Enzyms

Somayyeh Gandomkar, Eva-Maria Fischereder, Joerg H. Schrittewieser, Silvia Wallner,  
Zohreh Habibi, Peter Macheroux und Wolfgang Kroutil\*

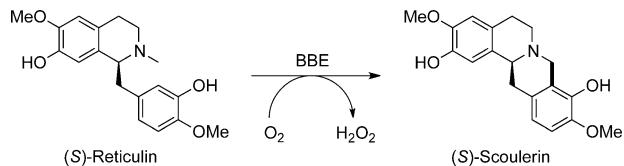
**Abstract:** N-Desalkylierungsverfahren sind ausführlich in der organischen Chemie beschrieben und finden sich auch in der Natur sowie bei der Verstoffwechselung von Medikamenten wieder. Eine enantioselektive N-Desalkylierung hingegen wurde nach unserem Wissen noch nie beschrieben. In der hier vorgestellten Studie wurde ausschließlich das S-Enantiomer eines racemischen tertiären N-Ethylamins (*I*-Benzyl-N-ethyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin) desalkyliert, wobei sich unter Verbrauch von molekularem Sauerstoff das entsprechende sekundäre S-Amin bildete. Diese Reaktion wird vom Berberin-Brücken-Enzym, das für die Knüpfung von C-C-Bindungen bekannt ist, katalysiert. Die Desalkylierung wurde für einen Maßstab >100 mg gezeigt und brachte das Desalkylierungsprodukt in höchster optischer Reinheit hervor (>98 % ee).

Die N-Desalkylierung wird für die organische Synthese genutzt,<sup>[1]</sup> z.B. unter Einsatz von Oxometallkomplexen ( $M=O$ )<sup>[2]</sup> oder niedervalenten Übergangsmetallkomplexen,<sup>[2a,3]</sup> um im Allgemeinen *N,N*-Dialkylanilin- oder Tetrahydroisochinolinderivate umzusetzen. Auch hochvalente Übergangsmetallkomplexe (nicht-oxo) wurden für diese Reaktion untersucht,<sup>[4]</sup> ebenso wie die acylierende Desalkylierung von tertiären Aminen mit Chlorameisensäureestern (Chlorformiaten) als Reagentien.<sup>[5]</sup>

In der Natur wird die oxidative N-Desalkylierung von P450-Monoxygenasen,<sup>[6]</sup> Peroxidasen<sup>[6a,7]</sup> und FAD-abhängigen Enzymen wie Trimethylamin-Dehydrogenase,<sup>[8]</sup> Sarkosin-Oxidase<sup>[9]</sup> und Dimethylglycin-Dehydrogenase katalysiert.<sup>[9a]</sup> N-Desalkylierung wurde auch in Metabolismusstudien von Medikamenten festgestellt, z.B. für Fenproporex<sup>[10]</sup> und Verapamil,<sup>[11]</sup> wobei die Enantioselektivität *E* dieser Prozesse nicht als signifikant einzustufen ist (*E*<2). Vor Kurzem wurde eine Kaskade für die Desalkylierung von Aminen publiziert, bei der zwei Enzyme – Monoaminoxidase (MAO-N) und  $\omega$ -Transaminase – zusammenwirken.<sup>[12]</sup>

Trotz dieser Vielzahl an chemischen und enzymatischen Methoden ermöglicht keine davon eine enantioselektive Umsetzung. Somit wäre eine enantioselektive N-Desalkylierung eine neue Methode in der organischen Chemie.

Das anfängliche Ziel dieser Studie war es, das Substratspektrum des C-C-bindungsknöpfenden Berberin-Brücken-Enzyms (BBE; EC 1.21.3.3) zu erweitern. In der Natur katalysiert BBE die Umwandlung von (S)-Reticulin zu (S)-Scoulerin mittels oxidativer C-C-Bindungsknöpfung zwischen der *N*-Methylgruppe und dem Phenolrest unter Verbrauch von molekularem Sauerstoff (Schema 1).<sup>[13]</sup> Dabei zieht der oxidierte, bi-kovalent gebundene FAD-Cofaktor ein Hydrid von der *N*-Methylgruppe ab, die gleichzeitig vom Phenolrest angegriffen wird.<sup>[14]</sup>



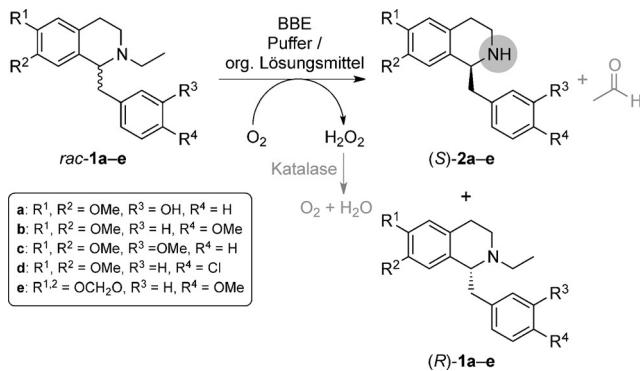
**Schema 1.** Natürliche Reaktion von BBE. Bildung der Berberinbrücke durch oxidative C-C-Bindungsknöpfung unter Verbrauch von molekularem Sauerstoff.

Da für BBE aus *Eschscholzia californica* (Kalifornischer Goldmohn)<sup>[15]</sup> bereits gezeigt wurde, dass eine enantioselektive C-C-Bindungsknöpfung für unterschiedlichste Reticulinderivate mit *N*-Methylgruppe möglich ist,<sup>[16]</sup> gingen wir davon aus, dass *N*-Ethyllderivate von **1a**<sup>[17]</sup> ebenfalls Substrate für die C-C-Bindungsknöpfung sein könnten. Zu unserer Überraschung führte das *N*-Ethyl-1-benzyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolinderivat **1a** jedoch nicht zur erwarteten enzymatischen Bildung einer C-C-Bindung. Vielmehr beobachteten wir eine enzymkatalysierte N-Desalkylierung, die das entsprechende sekundäre Amin **2a** ergab (Schema 2).

Im Verlauf der Reaktion stieg die Konzentration des desalkylierten Produkts **2a** zunächst bis etwa 25 % Umsatz an, bevor zusätzliche Folgeprodukte gebildet wurden, die wir als die vier stereo- und regiosomeren Produkte einer spontanen Pictet-Spengler-Reaktion von **2a** mit Acetaldehyd,<sup>[18]</sup> dem Koppelprodukt der Desalkylierung, identifizierten. Die Bildung von Acetaldehyd wurde mittels GC nachgewiesen und durch einen Purpald-basierten kolorimetrischen Assay zusätzlich untermauert (siehe Hintergrundinformationen). Aus all diesen Daten schließen wir, dass BBE eine oxidative Desalkylierung katalysiert.

[\*] S. Gandomkar, E.-M. Fischereder, Dr. J. H. Schrittewieser, Prof. Dr. W. Kroutil  
Institut für Chemie, Organische und Bioorganische Chemie  
Universität Graz, NAWI Graz  
Heinrichstraße 28, 8010 Graz (Österreich)  
Dr. S. Wallner, Prof. Dr. P. Macheroux  
Institut für Biochemie  
Technische Universität Graz (Österreich)  
S. Gandomkar, Dr. Z. Habibi  
Department of Pure Chemistry, Faculty of Chemistry  
Shahid Beheshti University, Teheran (Iran)

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201507970> zu finden.



**Schema 2.** Die biokatalytische enantioselektive N-Desalkylierung von nichtnatürlichen Benzylisochinolin-Alkaloiden mit BBE führt zu den optisch reinen Hauptprodukten (*S*)-**2a–e** und (*R*)-**1a–e** durch kinetische Racematspaltung.

Um die Bildung von Nebenprodukten zu vermeiden, testeten wir die N-Desalkylierung mit einem alternativen Substrat **1b**, bei dem die für die spontane Pictet-Spengler-Reaktion essenzielle Phenol-OH-Gruppe fehlt. In der Tat führte die Umsetzung von **1b** ausschließlich zum desalkylierten Produkt **2b**.

Im nächsten Schritt wurden die Reaktionsbedingungen optimiert. Als geeigneter Puffer stellte sich Tris(hydroxymethyl)aminomethan-Hydrochlorid (Tris-HCl) bei pH 9 heraus, der zusätzlich 10 mM MgCl<sub>2</sub> enthielt. Das bei der Reaktion freigesetzte Wasserstoffperoxid wurde durch eine Katalase zu Wasser und molekularem Sauerstoff disproportioniert. Die Reaktionen wurden im Dunkeln und bei einer Temperatur von 40 °C durchgeführt. Da sich die nichtnatürlichen Substrate kaum im Puffer lösten, testeten wir mit Wasser mischbare wie auch mit Wasser nicht mischbare organische Lösungsmittel (10%, v/v) zur Substrat-Solubilisierung. Dabei stellte sich DMSO (10%, v/v) bei einer Substratkonzentration von 10 mM als beste Wahl heraus.

Unter optimierten Bedingungen wurde das Substrat **rac-1b** bei einer Konzentration von 10 mM innerhalb von 24 h mit 45% Umsatz in **2b** umgewandelt.<sup>[19]</sup> Eine Analyse der optischen Reinheit ergab, dass der ee-Wert des verbleibenden Substrats (**1b**) 74% zugunsten des *R*-Enantiomers betrug, während das erhaltene Produkt (*S*)-**2b** optisch rein war (>98% ee). Dementsprechend liegt eine kinetische Racematspaltung mit *E* > 100 vor (Tabelle 1). Aus dem racemischen Ausgangsmaterial wurde also allein das *S*-Enantiomer umgesetzt, während das *R*-Enantiomer unberührt blieb.

Substrat **rac-1c**, bei dem sich ein Methoxysubstituent in *meta*-Position der Benzylgruppe befindet, wurde zum desalkylierten Produkt **2c** umgesetzt; die Reaktion war jedoch langsam, was wahrscheinlich auf sterische Hinderung im aktiven Zentrum des Enzyms zurückzuführen ist. Im Unterschied dazu wurden *N*-Ethyl-Derivate mit einem Chloratom in *para*-Position der Benzylgruppe (**rac-1d**) oder mit einer Methylendioxybrücke am Isochinolin (**rac-1e**) ohne weiteres akzeptiert. Beide Substrate wurden mit exzellenter Enantioselektivität (*E* > 100) desalkyliert, sodass die optisch reinen sekundären Amine (*S*)-**2d** bzw. (*S*)-**2e** (ee > 98%; Tabelle 1) erhalten werden konnten. Es wurde also erneut ausschließlich

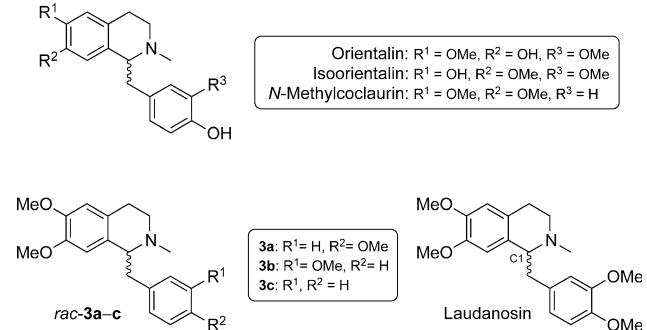
**Tabelle 1:** Enantioselektive N-Desalkylierung mittels BBE.<sup>[a]</sup>

Substrat	C <sup>[b]</sup> [%]	ee (1) <sup>[c]</sup> [%]	ee (2) <sup>[c]</sup> [%]	E <sup>[d]</sup>
<b>rac-1b<sup>[e]</sup></b>	45	74 ( <i>R</i> )	>98 ( <i>S</i> )	>100
<b>rac-1c</b>	4	n.d. <sup>[h]</sup>	n.d. <sup>[h]</sup>	n.a. <sup>[i]</sup>
<b>rac-1d<sup>[f]</sup></b>	30	41 ( <i>R</i> )	>98 ( <i>S</i> )	>100
<b>rac-1d</b>	28	21 ( <i>R</i> )	>98 ( <i>S</i> )	>100
<b>rac-1e<sup>[f]</sup></b>	46	80 ( <i>R</i> )	>98 ( <i>S</i> )	>100
<b>rac-1e<sup>[g]</sup></b>	42	63 ( <i>R</i> )	>98 ( <i>S</i> )	>100

[a] Reaktionsbedingungen: Substrat **rac-1** (10 mM), Tris-HCl-Puffer (50 mM, enthält 10 mM MgCl<sub>2</sub>), pH 9, 10% (v/v) DMSO, Katalase-Rohpräparation (5 mg mL<sup>-1</sup>), BBE (5 mg mL<sup>-1</sup>), Glasgefäß (4 mL) in vertikaler Position geschüttelt, Reaktion im Dunkeln, 40 °C, 24 h. [b] Der Umsatz C wurde mit HPLC auf einer stationären C18-Phase bestimmt. [c] Der Enantiomerenüberschuss wurde mit HPLC auf einer chiralen stationären Phase bestimmt. [d] Die E-Werte wurden aus den ee-Werten von Substrat und Produkt unter Zuhilfenahme eines Online-Tools bestimmt: <http://biocatalysis.uni-graz.at/enantio/cgi-bin/enantio.pl>. [e] Glasgefäß in horizontaler Position geschüttelt. [f] Substratkonzentration 5 mM. [g] Substratkonzentration 5 mM, Enzymkonzentration 3 mg mL<sup>-1</sup>, 10% (v/v) DMF. [h] Nicht bestimmt aufgrund des niedrigen Umsatzes. [i] Nicht anwendbar.

das *S*-Enantiomer umgesetzt. Diese Befunde zeigen auch, dass sowohl elektronenschiebende als auch elektronenziehende Substituenten in *para*-Position der Benzylgruppe von Substrat **1** toleriert werden.

Zum Vergleich testeten wir auch verwandte Substrate, die anstatt der *N*-Ethyl- eine *N*-Methylgruppe aufweisen, obwohl laut früheren Veröffentlichungen die Verbindungen Orientalin und Isoorientalin (Abbildung 1) nicht von BBE akzeptiert werden.



**Abbildung 1.** 1-Benzyl-N-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline **3**, die in der vorliegenden Studie untersucht wurden.

tier werden.<sup>[20]</sup> Von Laudanosin, das zwei Methoxysubstituenten am Isochinolin-Grundgerüst trägt, wurde in früheren Studien gezeigt, dass es langsam an der C1-N-Bindung oxidiert wird, wodurch eine Doppelbindung in Konjugation zum aromatischen System gebildet wird; eine Desalkylierung wurde hingegen nicht beobachtet.<sup>[14a]</sup> Einzig für (*S*)-*N*-Methylcoclaurin wurden bei 10 μM Substratkonzentration 2% Desalkylierung innerhalb von 6 h beschrieben.<sup>[20]</sup> Dementsprechend war es überraschend, dass **rac-3a**, das *N*-Methylhomologe von **1b**, bereitwillig umgesetzt und enantioselektiv desalkyliert wurde: Innerhalb von 24 h wurde ein Umsatz von 47% erreicht, wodurch (*S*)-**2b** in optisch reiner Form

(>98% ee) und das verbleibende Substrat (*R*)-**3a** in 87% ee (*E*>100) gebildet wurden. Für andere *N*-Methylverbindungen, wie *rac*-**3b** oder *rac*-**3c**, konnte keine Desalkylierung festgestellt werden, was sich in die Reihe früherer Berichte über Nichtsubstrate mit *N*-Methylgruppe einfügt.

Alle getesteten Substrate (**1a–e**) sowie das Produkt **2e** waren zuvor weder in optisch reiner noch in racemischer Form beschrieben worden und **3a–c** sowie **2a–d** ausschließlich in racemischer Form.<sup>[16c]</sup> Insofern schafft die biokatalytische N-Desalkylierung mittels BBE einen Zugang zu neuartigen Benzylisochinolin-Alkaloiden in optisch angereicherter oder sogar optisch reiner Form.

Zum Abschluss wurde die enantioselektive Desalkylierung der beiden Substrate **1b** und **1e** auch im präparativen Maßstab (171 bzw. 81 mg) durchgeführt. Nach 48 h konnten die Produkte der kinetischen Racematspaltung, (*S*)-**2b** bzw. (*S*)-**2e**, in guter Ausbeute und mit exzellenter optischer Reinheit (>98% ee; Tabelle 2) isoliert werden.

**Tabelle 2:** Präparative enantioselektive N-Desalkylierung mittels BBE.<sup>[a]</sup>

Substrat	C <sup>[b]</sup> [%]	( <i>R</i> )- <b>1</b> [% (mg)]	ee ( <b>1</b> ) <sup>[c]</sup> [%]	( <i>S</i> )- <b>2</b> [% (mg)]	ee ( <b>2</b> ) <sup>[c]</sup> [%]	<i>E</i> <sup>[d]</sup> [%]
<i>rac</i> - <b>1b</b>	33	47 (80)	54 ( <i>R</i> )	16 (24)	>98 ( <i>S</i> )	>100
<i>rac</i> - <b>1e</b>	39	39 (32)	68 ( <i>R</i> )	24 (18)	>98 ( <i>S</i> )	>100

[a] Die Reaktionen wurden in Puffer/DMSO (90:10, v/v), pH 9, bei einer Substratkonzentration von 10 mm für **1b** bzw. 5 mm für **1e**, 3 mg mL<sup>-1</sup> BBE für **1b** bzw. 5 mg mL<sup>-1</sup> BBE für **1e**, 5 mg mL<sup>-1</sup> Katalase, 40°C, im Dunkeln über 48 h durchgeführt. [b] Der Umsatz C wurde mit HPLC auf einer stationären C18-Phase bestimmt. [c] Der Enantiomerenüberschuss wurde mit HPLC auf einer chiralen stationären Phase bestimmt. [d] Der E-Wert wurde auf Basis der ee-Werte von Substrat und Produkt bestimmt.

Alkaloide,<sup>[21]</sup> darunter Benzylisochinoline und deren Derivate, weisen eine breites Spektrum an biologischen Aktivitäten auf.<sup>[22]</sup> Zum Beispiel wurde bei 1-Benzyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolinen eine krampflösende<sup>[23]</sup> und blutdrucksenkende<sup>[24]</sup> Wirkung festgestellt. Für die Herstellung von Benzylisochinolin-Alkaloiden ist eine Vielzahl an asymmetrischen Synthesestrategien entwickelt worden, die im Allgemeinen viele Reaktionsschritte benötigen, wodurch die Gesamtausbeute beschränkt wird, und die nur in Ausnahmefällen zu optisch reinen Verbindungen führen.<sup>[25]</sup> Die enantioselektive Desalkylierung könnte sich zu einer alternativen Strategie für einige Anwendungsfälle entwickeln. Bei der Desalkylierung handelt es sich jedoch nicht um die natürliche Aktivität von BBE; vielmehr stellt sie eine promiskutive Aktivität dar.<sup>[26,27]</sup>

Nach unserer Kenntnis ist dies die erste enantioselektive N-Desalkylierung, bei der Benzylisochinolin-Alkaloide mit *N*-Ethylgruppe sowie in einem Fall mit *N*-Methylgruppe zu optisch reinen (>98% ee) NH-Benzylisochinolinen umgesetzt werden. Die metallfreie biokatalytische Desalkylierung wurde auch im präparativen Maßstab demonstriert und verläuft unter milden Reaktionsbedingungen mit molekularem Sauerstoff als Oxidationsmittel. Sie ist damit ein Schritt in Richtung von saubereren und selektiveren organisch-chemischen Umsetzungen. Die enantioselektive Desalkylierung

könnte sich zu einer alternativen Methode für die asymmetrische Synthese entwickeln.

## Experimentelles

Repräsentatives, präparatives Beispiel für die enantioselektive N-Desalkylierung: Substrat **1b** (170.6 mg, 0.50 mmol, Endkonzentration: 10 mm) wurde in DMSO (5 mL, Endkonzentration: 10%, v/v) und Puffer (41.2 mL, 50 mM Tris-HCl, pH 9, 10 mM MgCl<sub>2</sub>) mit BBE-W165F (3.79 mL Enzymlösung, Endkonzentration: 3 mg mL<sup>-1</sup>) und Katalase (206 mg Rohpräparation) gelöst. Die Reaktionslösung wurde 48 h in einem lichtgeschützten Erlenmeyerkolben (250 mL) in einem Thermoschüttler bei 40°C und 850 rpm geschüttelt. Danach wurde der Ansatz mit Essigester extrahiert (4×50 mL), wobei die Phasentrennung durch Zentrifugieren (4×15 min; 4000 rpm) beschleunigt wurde. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, und das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt. Das so erhaltene Produkt wurde mittels präparativer Dünnschichtchromatographie (Kieselgel 60; Hexan/Essigester = 1:1 + 0.1% NH<sub>4</sub>OH) aufgereinigt. Nach der Reinigung konnten 80 mg (47%) **1b** und 24.4 mg (16%) **2b** erhalten werden. Vollständige Strukturdaten (NMR-Spektren, HPLC-Chromatogramme, optische Drehwerte, HRMS- und CD-Spektren) sind in den Hintergrundinformationen angeführt.

## Danksagung

S.G. dankt dem Ministerium für Wissenschaft, Forschung und Technologie (Teheran, Iran). E.-M.F. dankt dem 7. Rahmenprogramm der Europäischen Union FP7/2007–2013 unter Förderungsnummer no. 289646 (KyroBio).

**Stichwörter:** Alkaloide · Asymmetrische Synthese · Enantioselektivität · Enzymkatalyse · N-Desalkylierung

**Zitierweise:** *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 15051–15054  
*Angew. Chem.* **2015**, *127*, 15265–15268

- [1] Ausgewählte Beispiele: a) D. Lee, S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 4611–4612; b) D. Maiti, A. A. N. Sarjeant, K. D. Karlin, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6720–6721; c) R. Olofson, J. T. Martz, J. P. Senet, M. Piteau, T. Malfroot, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 2081–2082.
- [2] Ausgewählte Beispiele: a) M. Z. Wang, C. Y. Zhou, M. K. Wong, C. M. Che, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 5723–5735; b) B. Chiavarino, R. Cipollini, M. E. Crestoni, S. Fornarini, F. Lanucara, A. Lapi, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 3208–3217; c) T. S. Dowers, D. A. Rock, D. A. Rock, J. P. Jones, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8868–8869; d) E. Baciocchi, O. Lanzalunga, A. Lapi, L. Manduchi, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5783–5787; e) P. Shannon, T. C. Bruice, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 4580–4582.
- [3] Ausgewählte Beispiele: a) S. Kim, J. W. Ginsbach, J. Y. Lee, R. L. Peterson, J. J. Liu, M. A. Siegler, A. A. Sarjeant, E. I. Solomon, K. D. Karlin, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 2867–2874; b) Y. Li, F. Jia, Z. Li, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 82–86; c) S. Ueno, N. Chatani, F. Kakiuchi, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6098–6099; d) S. Mahapatra, J. A. Halfen, W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 11575–11586; e) S. Murahashi, T. Watanabe, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 7429–7430.
- [4] a) Z. Ling, L. Yun, L. Liu, B. Wu, X. Fu, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 4214–4216; b) L. Yun, L. Zhen, Z. Wang, X. Fu, *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2014**, *18*, 937–943.
- [5] a) M. W. Miller, S. F. Vice, S. W. McCombie, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3429–3432; b) D. S. Millan, R. H. Prager, *Tetrahedron*

- Lett. **1998**, *39*, 4387–4390; c) S. Imori, H. Togo, *Synlett* **2006**, 2629–2632; d) P. R. Dave, K. A. Kumar, R. Duddu, T. Axenrod, R. Dai, K. K. Das, X.-P. Guan, J. Sun, N. J. Trivedi, R. D. Gilardi, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1207–1209.
- [6] Ausgewählte Beispiele: a) A. H. Meyer, A. Dybala-Defrattyka, P. J. Alaimo, I. Geronimo, A. D. Sanchez, C. J. Cramer, M. Elsner, *Dalton Trans.* **2014**, *43*, 12175–12186; b) I. G. Denisov, T. M. Makris, S. G. Sligar, I. Schlichting, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2253–2278; c) T. J. Volz, D. A. Rock, J. P. Jones, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9724–9725; d) X. L. Lu, S. K. Yang, *Chirality* **1990**, *2*, 1–9; e) C. L. Shaffer, M. D. Morton, R. P. Hanzlik, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 349–350; f) M. Taupp, F. Heckel, D. Harmsen, P. Schreier, *Int. Biodegradation Biodegrad.* **2008**, *61*, 272–277.
- [7] M. N. Bhakta, K. Wimalasena, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 4801–4805.
- [8] a) J.-I. Tomizawan, *Jpn. Med. J.* **1951**, *4*, 21–31; b) S. Scrutton, M. J. Sutcliffe, *Subcell. Biochem.* **2000**, *35*, 29–72.
- [9] a) A. J. Wittwers, C. Wagner, *J. Biol. Chem.* **1981**, *256*, 4102–4108; b) P. Trickey, M. Wagner, M. S. Jorns, F. S. Mathews, *Structure* **1999**, *7*, 331–345.
- [10] T. Kraemer, T. Pflugmann, M. Bossmann, N. M. Kneller, F. T. Peters, L. D. Paul, D. Springer, R. F. Staack, H. H. Maurer, *Biochem. Pharmacol.* **2004**, *68*, 947–957.
- [11] W. L. Nelson, L. D. Olsen, *Drug Metab. Dispos.* **1988**, *16*, 834–841.
- [12] E. O'Reilly, C. Iglesias, N. J. Turner, *ChemCatChem* **2014**, *6*, 992–995.
- [13] a) E. Rink, H. Boehn, *FEBS Lett.* **1975**, *49*, 396–399; b) S. Paul, N. Naotaka, M. H. Zenk, *Phytochemistry* **1985**, *24*, 2577–2583.
- [14] a) A. Winkler, A. Lyskowski, S. Riedl, M. Puhl, T. M. Kutchan, P. Macheroux, K. Gruber, *Nat. Chem. Biol.* **2008**, *4*, 739–741; b) H. M. Gaweska, K. M. Roberts, P. F. Fitzpatrick, *Biochemistry* **2012**, *51*, 7342–7347.
- [15] a) A. Winkler, F. Hartner, T. M. Kutchan, A. Glieder, P. Macheroux, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 21276–21285; b) A. Winkler, K. Motz, S. Riedl, M. Puhl, P. Macheroux, K. Gruber, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 19993–20001.
- [16] a) J. H. Schrittwieser, V. Resch, J. H. Sattler, W. D. Lienhart, K. Durchschein, A. Winkler, K. Gruber, P. Macheroux, W. Kroutil, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 1068–1071; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 1100–1103; b) V. Resch, J. H. Schrittwieser, S. Wallner, P. Macheroux, W. Kroutil, *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 2377–2383; c) J. H. Schrittwieser, V. Resch, S. Wallner, W.-D. Lienhart, J. H. Sattler, J. Resch, P. Macheroux, W. Kroutil, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 6703–6714; d) J. H. Schrittwieser, B. Groenendaal, V. Resch, D. Ghislieri, S. Wallner, E. M. Fischereder, E. Fuchs, B. Grischek, J. H. Sattler, P. Macheroux, N. J. Turner, W. Kroutil, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 3731–3734; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 3805–3809.
- [17] Die racemischen Substrate **rac-1** und **rac-3** wurden über drei bis fünf Stufen in Gesamtausbeuten von 36–60% synthetisiert (siehe Hintergrundinformationen). Die Produkte **2** wurden durch Vergleich mit unabhängig hergestellten racemischen Referenzverbindungen und in einigen Fällen auch durch Charakterisierung der aus den Biotransformationen isolierten Produkte identifiziert.
- [18] B. Lichman, E. Lamming, T. Pesnot, J. Smith, H. Hailes, J. Ward, *Green Chem.* **2015**, *17*, 852–855.
- [19] Die Desalkylierung mithilfe von BBE ist um einen Faktor von 300–1000 (**1b**, **3a**; abhängig vom Substrat) langsamer als die natürliche Reaktion mit (*S*-Reticulin; siehe Lit. [14a]).
- [20] T. M. Kutchan, H. Dittrich, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 24475–24481.
- [21] a) M. W. Fraaije, A. Mattevi, *Nat. Chem. Biol.* **2008**, *4*, 719–721; b) J. Keasling, *Nat. Chem. Biol.* **2008**, *4*, 524–525; c) K. W. Bentley, *The Isoquinoline Alkaloids*, Harwood, Amsterdam, **1998**.
- [22] a) K. Iwasa, M. Moriyasu, Y. Tachibana, H.-S. Kim, Y. Wataya, W. Wiegrebe, K. F. Bastow, L. M. Cosentino, M. Kozuka, K.-H. Lee, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2871–2884; b) P. Cheng, N. Huang, Z.-Y. Jiang, Q. Zhang, Y.-T. Zheng, J.-J. Chen, X.-M. Zhang, Y.-B. Ma, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2475–2478.
- [23] M. L. Martin, M. T. Diaz, M. J. Montero, P. Prieto, L. S. Roman, D. Cortes, *Planta Med.* **1993**, *59*, 63–67.
- [24] S. Chuliá, M. D. Ivorra, C. Lugnier, E. Vila, M. A. Noguera, P. D'Ocon, *Br. J. Pharmacol.* **1994**, *113*, 1377–1385.
- [25] M. Chrzanowska, M. D. Rozwadowska, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3341–3370.
- [26] Ausgewählte Literaturstellen zu promiskuitiver Aktivität: a) X. Garrabou, T. Beck, D. M. Hilvert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 5609–5612; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 5701–5704; b) S. Humble, P. Berglund, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 3391–3401; c) A. Taglieber, H. Höbenreich, J. D. Carballera, R. J. G. Mondiere, M. T. Reetz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 8597–8600; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 8751–8754; d) K. Hult, P. Berglund, *Trends Biotechnol.* **2007**, *25*, 231–238; e) U. T. Bornscheuer, R. J. Kazlauskas, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6032–6040; *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 6156–6165.
- [27] Andere promiskuitive Aktivitäten, die bereits für BBE beschrieben worden waren, sind die Oxidation von Laudanosin zu 2-Methyl-3,4-dihydropapaverinium (Lit. [13a]) sowie STOX-Aktivität: A. Winkler, M. Puhl, H. Weber, T. M. Kutchan, K. Gruber, P. Macheroux, *Phytochemistry* **2009**, *70*, 1092–1097.

Eingegangen am 25. August 2015

Online veröffentlicht am 21. Oktober 2015