

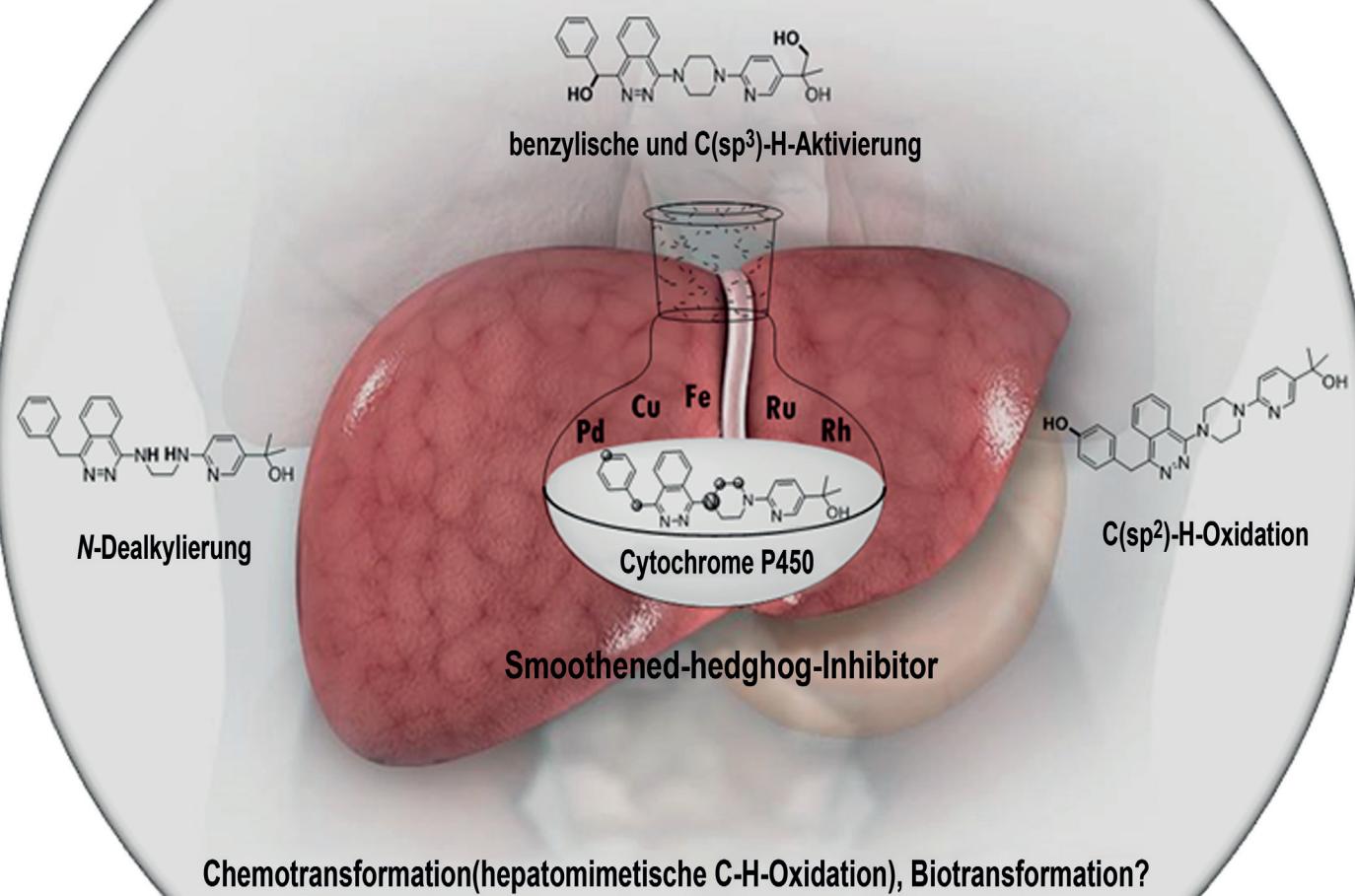
Die Erschließung von Wirkstoffmetaboliten durch übergangsmetallkatalysierte C-H-Oxidation: die Leber als Inspiration für die Synthese

Julien Genovino, Dalibor Sames[†], Lawrence G. Hamann⁺ und B. Barry Touré^{*}

Stichwörter:

Biotransformationen ·
C-H-Funktionalisierung ·
Chemotransformationen ·
Wirkstoffmetaboliten ·
Wirkstoffsuche

Oxidation von Pharmazeutika: die Leber als Vorbild



Können klassische und moderne C-H-Oxidationsreaktionen Biotransformationen bei der Synthese von Wirkstoffmetaboliten ergänzen? Wir haben versucht, bei einer Durchsicht der Literatur eine Antwort auf diese wichtige Frage für die Praxis der pharmazeutischen Industrie zu finden. Solche Metaboliten werden während aller Phasen der Wirkstoffsuche und -entwicklung benötigt; ihre Synthese ist jedoch noch immer ein ungelöstes Problem. Dieser Aufsatz stellt relevante Anwendungen von chemischen C-H-Oxidationen, Elektrochemie und Mikrofluidiktechniken auf Wirkstoff-Grundgerüste vor, mit denen Metaboliten zugänglich gemacht werden sollen, und fasst vielversprechende Reaktionen für diesen Zweck zusammen. Wo es möglich oder passend ist, wird der Vergleich zur Biotransformation gezogen. So haben wir versucht, bestehende Lücken zu finden, um weitere Aktivitäten auf diesem wichtigen Forschungsfeld anzuspornen.

1. Einleitung

Welche Wirkstoffmetaboliten werden im menschlichen Organismus gebildet? Welche Metaboliten gelangen in den Kreislauf? Wie werden sie ausgeschieden? Und welche pharmakologischen und toxikologischen Wirkungen haben sie? Diese Fragen begleiten den ganzen Kreislauf von Wirkstoffsuche und -entwicklung, und die beteiligten Wissenschaftler suchen ständig nach geeigneteren Wegen, diese Fragen möglichst früh angehen zu können. Der mit Abstand häufigste Mechanismus der Wirkstoffausscheidung verläuft über den oxidativen Metabolismus. Zu den oxidativen Stoffwechselwegen gehören eine Reihe biochemischer Reaktionen, in deren Verlauf ein Sauerstoffatom in C-H-Bindungen von Xenobiotika (Substanzen, die dem Organismus fremd sind) eingeschoben wird; dadurch werden die oft lipophilen Verbindungen polarer und lassen sich leichter ausscheiden. Die Oxidationsreaktionen des Stoffwechsels werden überwiegend durch Cytochrom-P450-Enzyme (CYPs) katalysiert; daneben spielen auch Alkohol- und Aldehyddehydrogenasen eine wichtige Rolle.^[1] Die Entwicklung chemischer Verfahren (typischerweise unter Übergangsmetallkatalyse), die das Reaktivitätsmuster dieser Enzyme nachahmen, ergänzen und erweitern, wird in der organischen Synthese schon lange vorangetrieben, weil nichtenzymatische Verfahren in der Handhabung und Skalierung einfacher sind. Im Laufe der Jahre wurden mehrere Katalysatoren gefunden, die aktivierte und nichtaktivierte C-H-Bindungen in komplexen organischen Molekülen regio- und chemoselektiv oxidieren können. Alle diese Verfahren wurden bei der Synthese und nachgelagerten Diversifizierung von Naturstoffen angewendet; dies ist eine traditionelle Messlatte für die Bedeutung neuer Strategien und Verfahren in der organischen Synthese. Gerade zeichnet sich jedoch eine Herausforderung für die Pharmaindustrie ab, nämlich die schnelle Identifizierung, Quantifizierung und präparative Synthese von Wirkstoffmetaboliten. Dieses Feld der praktischen Medizinalchemie bringt neue Standards für die Entwicklung moderner katalytischer Systeme für die C-H-Bindungsfunktionalisierung mit sich, insbesondere gezielte Oxidationen (und Halogenierun-

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	14431
2. Biotransformation, chemische C-H-Oxidationsverfahren und vergleichende Untersuchungen	14433
3. Moderne C-H-Oxidationen	14440
4. Elektrochemische Synthese und Mikrofluidiksysteme	14446
5. Andere Anwendungen: Strategien zur Verhinderung des metabolischen Abbaus	14447
6. Zusammenfassung und Ausblick	14448

gen) in Gegenwart einer Vielzahl funktioneller Gruppen, darunter basische Amine und Heterocyclen.^[2]

Die menschliche Leber exprimiert etwa 60 CYP-Isoformen für eine Vielzahl von Substraten. Dieser hohe Grad funktioneller Redundanz ist das Schlüsselement der Strategie der Natur, um sicherzustellen, dass möglicherweise schädliche Xenobiotika nicht in den systemischen Kreislauf gelangen. Hier deuten sich auch die Herausforderungen an, um nach dem gleichen Verfahren biologisch aktive Verbindungen zu sicheren und wirksamen In-vivo-Sonden und Medikamenten zu optimieren.^[3] Die Metabolisierung eines Wirkstoffes geht aber nicht immer mit seiner Inaktivierung einher:

1. In den 1930er Jahren wurde erstmalig bekannt, dass der antibakterielle Azofarbstoff Protosil seine pharmakolo-

[*] Dr. J. Genovino
Pfizer Inc., Worldwide Medicinal Chemistry
Cardiovascular, Metabolic, and Endocrine Diseases (CVMED)
558 Eastern Point Road, Groton CT 06340 (USA)

Prof. D. Sames^[+]
Columbia University
Department of Chemistry and Neurotechnology Center
3000 Broadway MC3101, New York, NY 10027 (USA)

Dr. L. G. Hamann^[+]
Novartis Institutes for Biomedical Sciences (NIBR)
Global Discovery Chemistry (GDC)
181 Massachusetts Avenue, Cambridge, MA 02139 (USA)

Dr. B. B. Touré
Novartis Institutes for Biomedical Sciences (NIBR)
Global Discovery Chemistry (GDC)
100 Technology Square, Cambridge, MA 02139 (USA)
E-Mail: btoure@relaytx.com

[†] Coautoren mit gleichwertigen Beiträgen.

[ID] Die ORCID-Identifizierungsnummern der Autoren dieses Artikels sind unter <http://dx.doi.org/10.1002/anie.201602644> aufgeführt.

gische Wirkung über seinen Metaboliten Sulfanilamid ausübt. Seitdem wird die Liste ständig länger. Inzwischen wissen wir, dass verschiedene umsatzstarke Arzneimittel wie Fexofenadin (Antihistaminikum),^[4a] Desloratadin (Antihistaminikum),^[4b] Desvenlafaxin (Antidepressivum),^[4c] Minoxidil (blutdrucksenkend),^[4d] Clopidogrel (gerinnungshemmend),^[4e] Ezetimib (lipidsenkend),^[4f] Enalapril (blutdrucksenkend),^[4g] Codein (schmerzstilzend),^[4h] Atorvastatin (lipidsenkend)^[4i] oder Nelfinavir (antiretroviral)^[4k] entweder Metaboliten von ehemaligen Wirkstoffen sind oder ihre pharmakologische Wirkung zum Teil oder ganz durch ihre Metaboliten erzielen. Wahrscheinlich wird die Liste in Zukunft weiter wachsen. In einem aktuellen Überblick über 125 käufliche Medikamente wird beschrieben, dass bei der überwiegenden Zahl der untersuchten Substanzen signifikante Mengen der zirkulierenden Metaboliten nachgewiesen wurden.^[5] In einigen Fällen übersteigt die Konzentration der Metaboliten die der Ausgangsverbindung. Eine Datenanalyse rund um die biologische Aktivität dieser Metaboliten muss noch durchgeführt werden.

2. Verschiedene Wirkstoffmetaboliten wurden mit Herzstillstand, Wechselwirkungen mit anderen Substanzen, Genotoxizität und anderen idiosynkratischen Arzneimittel-Nebenwirkungen in Verbindung gebracht, die letztlich zu Todesfällen und dem Rückruf der Substanzen vom Markt führten.^[6] Als Reaktion wurden von der FDA Richtlinien für „metabolites in safety testing“ (MIST) herausgegeben, die Sicherheitsüberprüfungen auch für die

wichtigsten Metaboliten fordern.^[7] Um diesen Richtlinien zu entsprechen, wurden außergewöhnliche Bemühungen wie die Markierung von Wirkstoffkandidaten mit ³H und ¹⁴C unternommen, um die Metabolite im Kreislauf und den Exkrementen zu charakterisieren und zu quantifizieren. Diese Untersuchungen werfen Licht auf die Ausscheidungswege und helfen, die Synthesebemühungen zu priorisieren.

Inzwischen ist bekannt, dass der Stoffwechsel von Arzneimitteln Metabolite mit grundlegend veränderten funktionalen Eigenschaften erzeugen kann, beispielsweise in Bezug auf die biologische Aktivität, die Ausscheidungsgeschwindigkeit und die Toxizität. Daher sollte hier eine mögliche Gefahr gesehen werden, vielleicht aber auch die nicht erschlossene Gelegenheit, die Chancen auf die Entdeckung von Wirkstoffen zu verbessern.^[8] Dieser Aufsatz liefert keine vollständige oder historische Betrachtung, sondern er beleuchtet wichtige Anwendungen chemischer C-H-Oxidationen an Wirkstoffgrundgerüsten und dazu aussichtsreiche Reaktionen. Die vordringliche Absicht ist, Medizinalchemiker auf die aktuellen Fortschritte bei der C-H-Oxidation aufmerksam zu machen und gleichzeitig Hochschulforscher darauf hinzuweisen, dass bei der Wirkstoffsuche auch noch Herausforderungen jenseits der Knüpfung von C-C- und C-N-Bindungen zum Aufbau von Molekülen existieren.



Julien Genovino studierte Chemie an der Pierre & Marie Curie-Universität (Paris VI) und der Universität Strasbourg (Frankreich). 2006 wechselte er an die University of Cambridge (England), wo er bei Prof. Ian Paterson seine Doktorarbeit über Naturstoffsynthese anfertigte. Anschließend beschäftigte er sich als Postdoktorand an den Novartis Institutes for Biomedical Research (Cambridge, MA, USA) unter der Anleitung von Dr. B. Barry Touré (Novartis) und Prof. Dalibor Sames (Columbia University, NYC, USA) mit C-H-Oxidationen. Seit 2014 ist er Senior Scientist zu Pfizer Worldwide Medicinal Chemistry (Groton CT, USA).



Dalibor Sames promovierte in Chemie an der University of Arizona in Tucson und arbeitete anschließend als Postdoktorand am Sloan-Kettering Cancer Center in New York City. Er ist seit 1998 Fakultätsmitglied der Columbia University. Durch die Entwicklung neuer Konzepte, Strategien und chemischer Transformationen im Bereich der C-H-Bindungsfunktionalisierung hat seine Arbeitsgruppe das molekulare Design und die organische Synthese vorangetrieben. Außerdem entwirft sie molekulare Sonden und untersucht experimentelle Therapeutika für die Visualisierung und Reparatur synaptischer Funktionen im Hirn.



Lawrence G. Hamann begann seine berufliche Laufbahn nach Chemie-Studium und Promotion in organischer Chemie im Jahr 1992 bei Ligand Pharmaceuticals (La Jolla, CA). Ab 1999 leitete er bei Bristol-Myers Squibb (Princeton) Arbeitsgruppen für die Suche nach Wirkstoffen gegen kardiovaskuläre und Stoffwechselerkrankungen, Sarkopenie, Hepatitis C und HIV. Seit 2008 ist er Executive Director, Global Discovery Chemistry, bei Novartis, und seit 2016 Vice President of Chemistry bei Celgene. Er ist Miterfinder bei mehr als 70 Patenten und ständiges Mitglied der NIH Study Section for Synthetic and Biological Chemistry.



B. Barry Touré studierte Chemie, Enzymologie und Molekularbiologie an der University of Montreal und promovierte 2004 an der University of Alberta unter Anleitung von Prof. Dennis G. Hall. Anschließend war er als NSERC-Stipendiat Postdoktorand bei Prof. Sames an der Columbia University. Er wechselte 2006 zu den Novartis Institutes for BioMedical Research als Research Investigator, und er führte mehrere multidisziplinäre Projektteams auf den Gebieten Onkologie und neurologische Erkrankungen an. Seit 2016 arbeitet er bei Relay Therapeutics als Director of Medicinal Chemistry.

1.1. Aktuelle Ansätze zur Identifizierung und Charakterisierung von Wirkstoffmetaboliten

In-vitro-Systeme wie Lebermikrosomen, S9-Leberfraktionen, zytosolische Fraktionen, Hepatocyten und Plasma werden routinemäßig in Untersuchungen der metabolischen Stabilität und der Identifizierung von Metaboliten (MetID) genutzt. Außerdem ist der direkte Nachweis von Metaboliten in komplexen biologischen Flüssigkeiten oder Geweben sehr wünschenswert und wird oft durchgeführt. Solche Ansätze werden durch ausgefeilte bioanalytische Techniken wie die Tandem-Flüssigkeitschromatographie/Massenspektrometrie (LC-MS/MS)^[9,10] oder – weniger gebräuchlich – die Kernresonanzspektroskopie (NMR)^[11] ermöglicht. Dennoch bleibt die MetID langsam, arbeitsintensiv und oft unvollständig (gleichzeitige Analyse vieler unbekannter Metabolite in oft niedrigen Konzentrationen in der gleichen Probe ohne Referenzstandards, Wahl von Säulenmaterialien, Elutionsbedingungen, Interpretation von Retentionszeiten, Analyse von Fragmentmustern, Massenänderungen usw.). Aktuell haben Wissenschaftler von Merck in einem bahnbrechenden Artikel die Anwendung affinitätsbasierter Massenspektrometrie (AS-MS) in der MetID beschrieben, die bis dahin nur zur Suche nach Wirkstoffkandidaten eingesetzt wurde.^[12] Hier wurde AS-MS zur Identifizierung interessierender Metaboliten (die an die Zielstruktur binden) genutzt; anschließend wurden sie im Mikromaßstab isoliert, um sie NMR-spektroskopisch mit der 1.7-mm-MicroCryoProbe-Technik zu charakterisieren.^[12]

Mit vielstufigen chemischen Synthesen werden dann stereochemische Konfiguration, Regioselektivität der Oxidation usw. bestätigt. Wenn eine praktikable Synthese etabliert werden konnte, wurden die Metaboliten in größerem Maßstab hergestellt, oft auf langen und schwierigen Routen. Insofern bleiben Biotransformationsansätze das Arbeitspferd auf diesem Gebiet (siehe Abschnitt 2.1).^[13] Mit einem tiefen Verständnis für die Faktoren, die die Chemo- und Regioselektivität bestimmen, könnte man erwarten, dass eine Serie von übergangsmetallkatalysierten Varianten dieses

Konzepts (Chemotransformation im Gegensatz zu Biotransformation;^[2a,14,15] Schema 1)

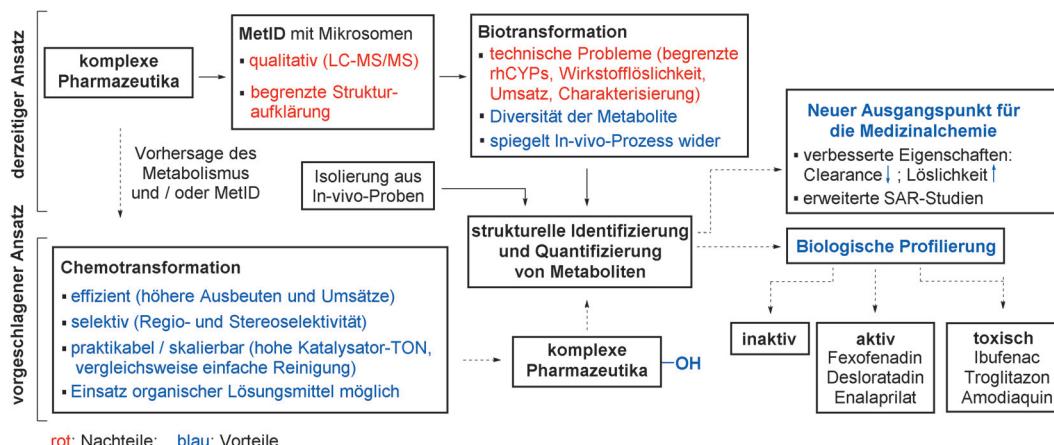
- technologisch dem Medizinalchemiker besser zugänglich sein könnte,
- eher in einer Parallelsynthese im präparativen Maßstab nutzbar gemacht werden könnte,
- sowohl konkordante als auch orthogonale Reaktivitätsmuster im Vergleich zu den für Biotransformationen beobachteten zeigt,
- und sich möglicherweise weiterentwickeln lässt, um eine direkte C-H-zu-C-F-Umwandlung (als metabolostatische Strategie) zu erreichen.

2. Biotransformation, chemische C-H-Oxidationsverfahren und vergleichende Untersuchungen

2.1. Biotransformation

In-vitro-Biotransformationsversuche bleiben das Arbeitspferd, um Wirkstoffmetabolite in präparativem Maßstab herzustellen.^[13,16] Das Arsenal für diese Versuche reicht von gereinigten rekombinanten humanen CYPs über ganze Zellen, die CYPs exprimieren, bis hin zu verschiedenen Mikroorganismen. Außerdem gibt es wichtige Fortschritte bei der Korrelation der Reaktivität dieser künstlichen Systeme mit humanen CYPs, sodass man die relevantesten Katalysatoren einsetzen kann.

Die heterologe rekombinante Expression einzelner CYP-Isoformen in Bakterien, Hefe, Insekten- oder Säugerzellen macht lösliche Enzymvarianten verfügbar. Von diesen Expressionssystemen scheint *Escherichia coli* (*E. coli*) besonders gut für großvolumige Anwendungen geeignet zu sein, obwohl die Reaktionsgeschwindigkeiten niedrig sind und die CYPs mit einer Reduktase coexprimiert werden müssen.^[17] Zusätzlich finden pilzliche unspezifische Peroxygenasen (UPOs)^[18] und genetisch veränderte BM3-Varianten, welche sezernierte Enzyme (ohne Cofaktorbedarf) sind, immer mehr Anwendung in Biotransformationen, unter anderem, weil sie



Schema 1. Bio- und Chemotransformationen als orthogonale Ansätze, um Wirkstoffmetaboliten im präparativen Maßstab herzustellen. MetID = Metabolitidentifizierungsstudien. rhCYPs = rekombinante humane Cytochrome P450.

den zusätzlichen Vorteil haben, dass sie mit organischen Lösungsmitteln kompatibel sein können. Gegenüber dem Einsatz von Hepatocyten, S9-Fraktionen und Lebermikrosomen menschlichen oder tierischen Ursprungs, die Mischungen von CYPs enthalten, haben sie erhebliche Vorteile. Daher kann man Probleme wie Reproduzierbarkeit, Trennung und Charakterisierung komplexer Produktgemische und das zusammen mit der Variabilität zwischen verschiedenen Arten erwarten.

Zusätzlich wird die Feinjustierung von Reaktivität und Spezifität von CYPs über „umgekehrte“ gerichtete Evolution aktiv verfolgt. Im Unterschied zur überwiegenden Mehrheit der Enzyme hat sich die evolutionäre Promiskuität der CYPs über viele Arten hin erhalten. Geleitet von strukturellen Erkenntnissen haben verschiedene Forschergruppen inzwischen nachgewiesen, dass diese promiskuen Enzyme mit modernen Verfahren des Protein-Engineering in selektive Biokatalysatoren entwickelt werden können, die die Metaboliten der Wahl umsetzen.^[19]

Zusammen bilden diese Systeme eine leistungsfähige Plattform, mit der man Zugang zu einer breiten Palette oxidierten Metabolite erhalten kann, die von Benzylzentren, N-Alkylaminen, Ethern und anderen C(sp³)- und C(sp²)-H-Bindungen in einem Schritt abgeleitet werden können (Schema 2); ausgewählte Anwendungsbeispiele sind unten

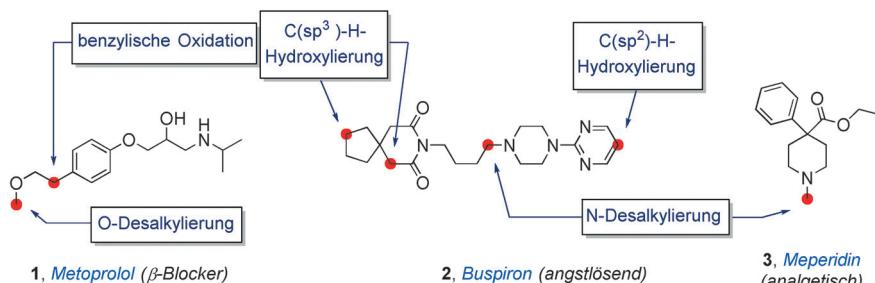
ausgeführt. Die Beispiele sollen nur die ausgezeichnete Regio- oder Choselektivität bei gleichzeitiger Diversität der C-H-Oxidationsreaktionen, die durch diese Enzyme katalysiert werden, demonstrieren. Wir zitierten aktuelle Beispiele, die nicht zuvor an anderer Stelle angeführt worden sind, und bei denen auch aktuelle Ausbeuten angegeben sind. Für eine umfassendere Darstellung dieses Gegenstandes einschließlich wichtiger Publikationen seien die Leser auf neuere maßgebliche Übersichtsartikel verwiesen.^[13, 16, 19]

Mit BM2-Mutanten wurden die Metaboliten und vermuteten Metaboliten von Naproxen (**9**, nichtsteroidale entzündungshemmende Substanz, NSAID), Diclofenac (**10**, NSAID) und Amitriptylin (**11**, Antidepressivum)^[20] verfügbar. Aus Naproxen wurde der O-demethylierte Metabolit **12** unter diesen Bedingungen mit 57% Ausbeute gebildet (Tabelle 1). Interessanterweise wurde das Methylketon **13**, das auch unter chemischen Bedingungen gebildet wird (26%, siehe Schema 11), in 62% Ausbeute isoliert. Die Enzyme differenzierten auch zwischen den Phenylgruppen (Choselektivität) und den C(sp²)-H-Bindungen (Regioselektivität) in Diclofenac, was anhand der Bildung von Milligramm-Mengen der Phenol-Metabolite **14** und **15** (34% und 47% HPLC-Ausbeute) sichtbar wurde. Schließlich wurde mit diesen Biokatalysatoren auch eine Kombination von Metaboliten von Amitriptylin (einfache und doppelte N-Demethylierung sowie Benzylhydroxylierung; **16**, **17**, **18**, **19**) erhalten.

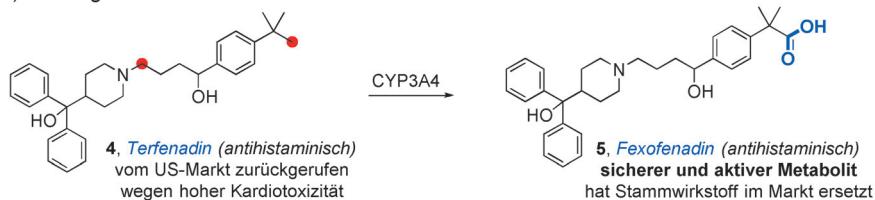
In einer anderen eleganten Untersuchung durchlief der bcr/abl-Kinaseinhibitor Dasatinib (**20**, tumorhemmend) eine Hydroxylierung an der bekannten metabolischen Schwachstelle am Arylrest bei Behandlung mit *Streptomyces* sp. Dagegen oxidierte *Streptomyces griseus* selektiv das Substrat an der benzylischen Methylengruppe, einer anderen bekannten Stelle für einen Stoffwechselangriff in vivo (Tabelle 1). Damit waren orthogonale Bedingungen für verschiedene Metaboliten gefunden.^[21]

Pharmakokinetische (PK) Studien geben oft Aufschluss über die Wahl der Biotransformationsmethode. Beispielsweise erreichte man mit oral verreichtem BMS-1 (**23**, blutdrucksenkend) nur einen niedrigen systemischen Spiegel in Cynomolgus-Affen. Folglich untersuchte man Lebermikrosomen aus dieser Art; als Hauptmetabolit wurde 5-Hydroxymethylisoxazol **24** identifiziert, das sich auch als wichtigster Metabolit

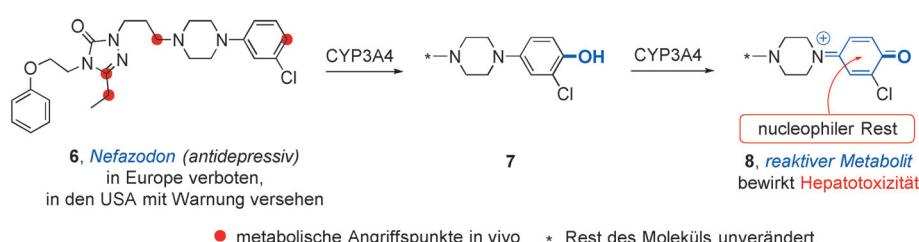
a) Ausgewählte wichtige metabolische Angriffspunkte in vivo



b) Bildung stärkerer und/oder sicherer Wirkstoffe



c) Bildung reaktiver Metabolite



Schema 2. Gemeinsame Positionen für metabolische Angriffe in vivo – Potenzial für verbesserte Wirkstoffe oder reaktive Metaboliten.

Tabelle 1: Aromatische und benzyliche Hydroxylierungen, O- und N-Demethylierung durch Biotransformation.

Wirkstoff	Produkte der In-vitro-Biotransformation, die zu humanen Metaboliten führen ^[a]
9, Naproxen	12, 57%^[b]
10, Diclofenac	14, 34%^[b]
11, Amitriptylin	16, 69%^[b]
20, Dasatinib	21, 20.6%^[d]
23, BMS-1	24, 59%^[f]
	* Rest des Moleküls unverändert ○ metabolischer Angriffspunkt in vivo

[a] Ausbeuten an isolierten Produkten, wenn nicht anders angegeben. [b] Optimale Ausbeute bei einem Screening einer Reihe von BM3-Mutanten. [c] Nicht isoliert, HPLC-Ausbeute. [d] *Streptomyces* sp. [e] *Streptomyces griseus*. [f] Affenleber-Mikrosomen.

nach Umsetzung in humanen Lebermikrosomen entpuppte. In der Folge ließ sich der reine Metabolit **24** in 59 % Ausbeute isolieren.^[22]

Über die direkte Oxidation dieser Substrate mit chemischen Methoden ist in der Literatur nichts zu finden, aber zweifelsohne könnte sich dieses Unterfangen als extrem schwierig herausstellen.

2.2. Biomimetische C-H-Oxidationen

Röntgenstrukturanalysen, Computerverfahren und detaillierte kinetische Untersuchungen haben Licht auf den Mechanismus geworfen, nach dem CYPs Xenobiotika oxidieren.^[23] Gleichzeitig wurden biomimetische Katalysatoren entwickelt, die auf einer Nachahmung des aktiven Zentrums (ohne die umliegende komplexe Proteinarchitektur) beruhen, um so die selektiven Oxidationen in der Natur zu reproduzieren. Die Strukturmotive sind meist reaktive Metall-Oxo-

Propanol (**28**, β-Blocker, Tabelle 2)^[28] eingesetzt. Bemerkenswert ist, dass dieses System elektronenreiche und elektronenarme (Hetero)Arene hydroxylieren kann, allerdings sind in allen Fällen die Ausbeuten sehr schlecht. Die gewünschten Metaboliten können andererseits auf diese Art schnell, kostengünstig und umweltfreundlich hergestellt werden. Weitere Entwicklungen dieses Katalysatorsystems werden es wahrscheinlich zu einem System der Wahl für medizinalchemische Anwendungen machen.

Eine der umfangreichsten Ligandenklassen, die bis heute in biomimetischen Reaktionen untersucht worden sind, sind die Porphyrine. Die sterischen und elektronischen Anforderungen sind detailliert charakterisiert worden; Eisen und Mangan sind die Metalle der Wahl. Angeregt durch diese

Gruppen (typischerweise mit Eisen-, Mangan- oder Kupferzentren), die durch Liganden (Porphyrine, EDTA und andere) stabilisiert sind.^[24] Einige dieser Systeme werden in der Synthese von Wirkstoffmetaboliten eingesetzt.

Das Udenfriend-System, das den Monoxygenase-Enzymen nachempfunden ist, wurde erstmals 1954 beschrieben^[25] und wird seitdem weiter untersucht.^[26] Der Katalysator wird *in situ* erzeugt, indem das Eisen(II)-Salz mit einem Reduktionsmittel (Ascorbinsäure) und EDTA unter Sauerstoffatmosphäre in wässrigem Medium gemischt wird. Nach diesem einfach zu handhabenden Verfahren lassen sich aromatische und aliphatische Ringe effizient hydroxylieren; daher wird die Methode trotz oft schlechter Ausbeuten für die Metabolitsynthese eingesetzt.^[27] Die Ähnlichkeit dieses biomimetischen Modells mit oxidativen Enzymen ist sehr groß und es wurde ein Mechanismus vorgeschlagen, um seine Reaktivität zu beschreiben, allerdings muß dieses Modell noch endgültig bestätigt werden (Abbildung 1).

Eine modifizierte Kombination von Reaktionsbedingungen mit Mn(OAc)₂ in Verbindung mit FeSO₄ wurde kürzlich zur Bildung von Aren-Hydroxylierungsprodukten von Oxcarbazepin (**26**, krampflösend), Buspiron (**2**, angstlösend), Imipramin (**27**, antidepressiv) und

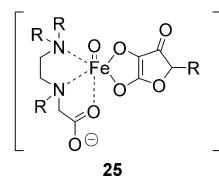
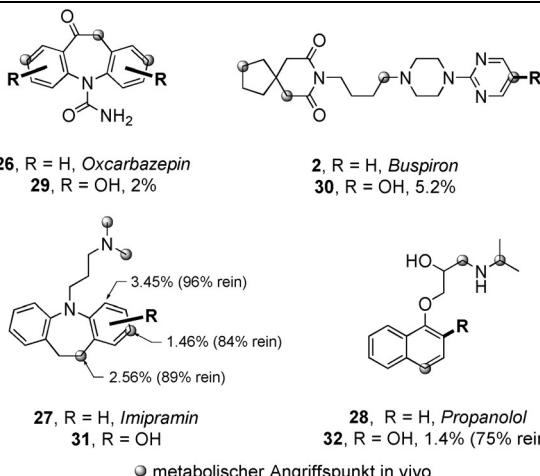


Abbildung 1. Mögliche aktive Katalysatorform des Udenfriend-Systems.

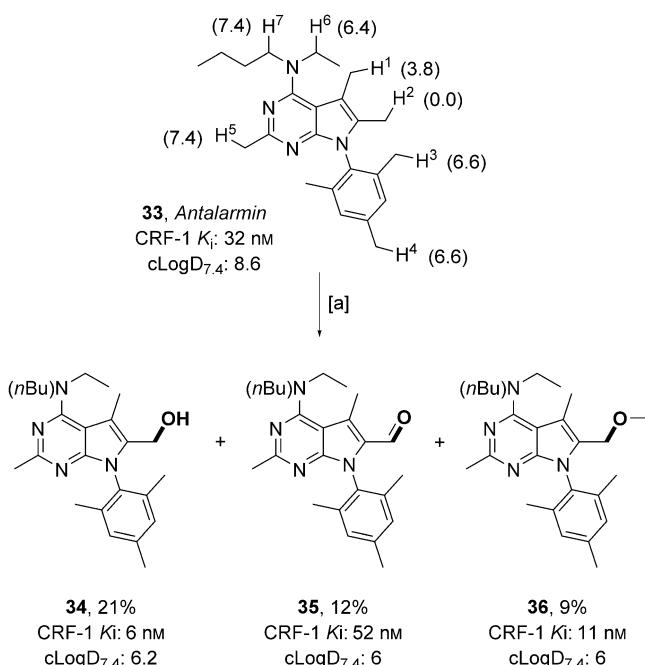
Tabelle 2: Aktuelle Anwendung eines modifizierten Udenfriend-Systems auf Wirkstoffe.^[a]

[a] Reaktionsbedingungen: FeSO_4 (1 Äquiv.), $\text{Mn}(\text{OAc})_2$ (1.5 Äquiv.), EDTA (1 Äquiv.), Ascorbinsäure (7 Äquiv.), O_2 -Acetatpuffer pH 4.5, 40–60°C, 2–48 Std. EDTA-Ethyldiamintetraacetat.

wegweisenden Entdeckungen wurde eine Screening-Plattform untersucht, um Wirkstoffkandidaten über eine chemische C-H-Oxidation ausschließlich mit Metalloporphyrinen zu oxidieren.^[29] Diese Methode bringt kommerziell erhältliche Eisen-, Mangan-, Ruthenium- und Chrom-Porphyrine zur Anwendung, deren bekannte Reaktivität den Auswahlprozess für das Substrat lenkt (Schema 3). Der erste Suchlauf wird auf einer Platte mit 96 Vertiefungen durchgeführt und erfordert nur sehr wenig Substrat (5–10 µmol).

Beispiele für die Suchbedingungen im zweiten Schritt in der 36er-Titerplatte sind drei Metalloporphyrinkomplexe ($[\text{Fe}(\text{TNNO}_2\text{PP})]$, $[\text{Mn}(\text{TDCIPP})]$, $[\text{Fe}(\text{TFPP})]$), fünf Oxidationsmittel (H_2O_2 , PhIO , Oxon , CumOOH , $m\text{-CPBA}$) und zwei Lösungsmittelgemische (DCE/MeCN oder MeOH/MeCN, je 1:1). Dieses Ablaufschema ähnelt sehr dem Biotransformationsansatz, ist aber aufgrund praktischer Einschränkungen nicht für das Durchmustern anderer Verbindungen als Metalloporphyrine geeignet (z. B. unterschiedliche Reaktionstemperaturen und -protokolle, eventuell langsames Zudosieren erforderlich, Einsatz spezifischer Reagenzien). Verschiedene Anwendungsbeispiele für diese Technologie auf Wirkstoffgerüste sind im Folgenden gezeigt.

Mit diesem Ansatz und unter optimalen Bedingungen wurde Antalarmin (**33**, Antidepressivum) selektiv an der C6-Position im 200-mg-Maßstab oxidiert, was drei Produkte lieferte: Alkohol (**34**, 21%), Aldehyd (**35**, 12%) und Methyl-ether (**36**, 9%, Schema 4). Die Regioselektivität stimmt mit Studien überein, die zeigen, dass die Abstraktion von H^2 zum stabilsten Radikal führt (im Vergleich zu den Radikalen, die



Schema 4. Oxidation des Antagonisten des Corticotropin-releasing-hormone-Rezeptors 1 (CRF-1) Antalarmin (**33**). Werte in Klammern sind relative Energien [kcal mol^{-1}] der neutralen Radikale, die durch C-H-Abstraktion an den verschiedenen benzylichen und α -Amino-Positionen entstehen. [a] $m\text{-CPBA}$, $\text{Fe}(\text{TFPP})$ (10 Mol-%), MeOH/MeCN (1:1), 6 h, RT. $m\text{-CPBA}$ = meta-Chlorperoxybenzoësäure. TFPP = Tetra-kis(pentafluorphenyl)porphyrin.

bei der Abstraktion der anderen fünf aktivierten Methyl-Wasserstoffatome H^1 , H^3 – H^7 entstehen).

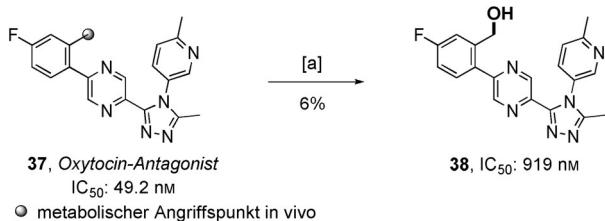
Die neuen Produkte wurden in biologischen Tests bewertet; mit Ausnahme des Aldehyds **35** sind sie 3- bis 5-mal wirksamer als das Ausgangsmolekül. Außerdem könnten durch die Abnahme von $c\text{logP}$ die physikochemischen Eigenschaften verbessert und die Stabilität der neuen Analoga im Stoffwechsel gesteigert werden.

In einer anderen erfolgreichen Anwendung dieses Screening-Schemas wurde der Oxytocin-Antagonist **37** mit dem Mangan[tetrakis(2,6-dichlorphenyl)porphyrin]-Komplex $[\text{Mn}(\text{TDCIPP})]$ behandelt; dabei entstand selektiv mit 6% Ausbeute das Hydroxymethylanalogon **38**, das auch als In-vivo-Metabolit bekannt ist (Schema 5).^[30]

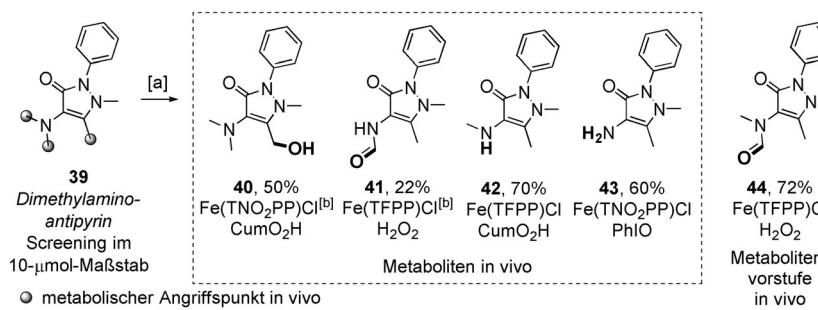
Dimethylaminoantipyrin (**39**, entzündungshemmend) trägt drei verschiedene Methylgruppen, von denen zwei im In-vivo-Metabolismus angegriffen werden können. Mit der Screening-Plattform wurden Katalysatoren und Reaktionsbedingungen identifiziert, um diese metabolischen Schwachstellen selektiv anzugreifen (allylische und *N,N*-Dimethyl-C-H-Bindungen) (siehe Schema 6).^[31] Die Kombination von Eisen[tetrakis(*ortho*-nitrophenyl)porphyrin]chlorid ($[\text{Fe}(\text{TNNO}_2\text{PP})\text{Cl}]$) und Imidazol erbrachte den Alkohol **40** in guter Ausbeute (50%). Drei andere Eisen-Katalysatoren griffen selektiv die *N,N*-Dimethyl-C-H-Bindungen an und erzeugten *N*-Formamid **41** (22%), *N*-Methylamin **42** (70%)



Schema 3. Suchtrichter für phorphyrinbasierte biomimetische Oxidationen.



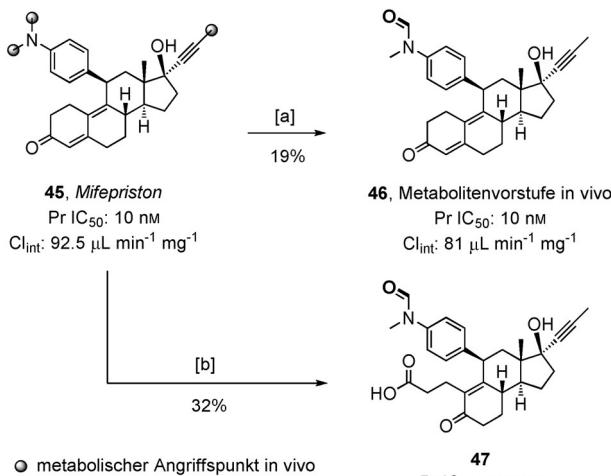
Schema 5. Benzoylation des Oxytocin-Antagonisten **37**. [a] *m*-CPBA, Mn(TDCIPP) (5 Mol-%), MeOH/MeCN (1:1), 15 h, RT. TDCIPP = Tetra(2,6-dichlorphenyl)porphyrin.



Schema 6. Orthogonale Bedingungen zur Oxidation von Dimethylaminoantipyrin (**39**).
[a] Metallporphyrin (20 mL, 5 mg mL⁻¹) in DCE, HCO₂H (1.8 mL), Oxidationsmittel (2 Äquiv.), MeOH/MeCN, RT, 3 h; prozentualer Umsatz gemäß HPLC. [b] Mit Imidazol (6 mL) als Ligand und MeCN/DCE anstelle von MeOH/MeCN. TNO₂PP = Tetrakis(*ortho*-nitrophenyl)porphyrin.

oder das doppelt demethylierte Amin **43** (60%). Außerdem ließ sich das *N*-Methylformamid **44** auch mit 72 % Ausbeute mithilfe von Eisen[tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin]chlorid, [Fe(TFPP)Cl], synthetisieren. Verbindung **44** konnte durch N-Deformylierung dann weiter zu Verbindung **42** umgesetzt werden.

Der Katalysator [Fe(TNO₂PP)] konnte auch den metabolisch labilen *N,N*-Dimethylanilin-Rest von Mifepriston (**45**) oxidieren (Schema 7).^[29] Das *N*-Formamid-Derivat **46** wurde



Schema 7. Eisenporphyrin/Peroxid-Oxidation von Mifepriston (**45**).
[a] [Fe(TNO₂PP)] (10 Mol-%), CumO₂H, DCE, RT, 6 h. [b] [Fe(TFPP)] (10 Mol-%), H₂O₂, DCE, RT, 4 h. Pr = Progesteron-Rezeptor. Cl_{int} = intrinsische Clearance.

mit 19 % Ausbeute isoliert; ausgehend davon konnte durch *N*-Deformylierung ein In-vivo-Metabolit von Mifepriston erhalten werden. Eine Kombination von [Fe(TFPP)] und Wasserstoffperoxid kann auch die Anilinalkylgruppe angreifen. In diesem Fall verlief die entsprechende *N*-Formamid-Bildung gleichzeitig mit einer Ringfragmentierung zu **47** (32 % Ausbeute). Beide Analoga behielten ihre Aktivität gegen die Zielstruktur.

Insgesamt zeigen diese Beispiele, dass klassische biomimetische Katalysatoren sich zur selektiven Oxidation aktiver C-H-Bindungen in komplexen Pharmaka eignen. Die

Produkte können in präparativem Maßstab isoliert werden, was neue Optionen für eine Struktur-Wirkungs-Analyse eröffnet.

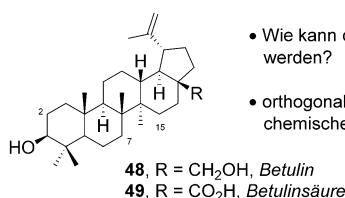
2.3. Vergleichende Untersuchungen

2.3.1. Naturstoffe

Die Arbeitsgruppe um Baran untersuchte zusammen mit Wissenschaftlern von Bristol-Myers Squibb chemische und enzymatische Methoden zur Oxidation von aliphatischen C-H-Bindungen, um die Löslichkeit mehrerer Lupan-Gerüste ohne basische Amingruppen, darunter Betulin (**48**) und Betulinsäure (**49**), zu verbessern (Schema 8).^[32] Verschiedene C-H-Oxidationsprodukte konnten mit chemischen Methoden hergestellt werden. Bemerkenswerte Beispiele sind die Oxidation einer geschützten Säure (**50**) mit gerichteter iridiumkatalysierter C-H-Silylierung nach Hartwig zum Diol **51** in 22 % Ausbeute nach Tamao-Oxidation (Schema 8a).^[33] Diese Arbeit ergab auch eine bemerkenswerte selektive Methyl(trifluormethyl)dioxiran(TFDO)-vermittelte C-H-Oxidation der Methylengruppe C16 von **52** zum Keton **53**.^[34]

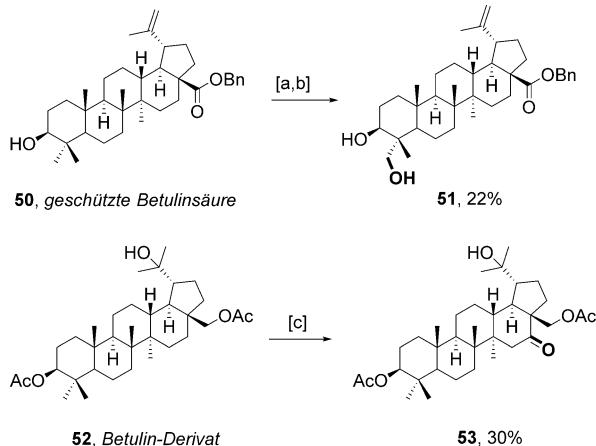
Naturstoffe aus der Terpenfamilie waren eine besonders nützliche Strukturklasse für Substrate, an denen neue C-H-Oxidationsreaktionen entwickelt und getestet werden konnten. Fortschritte konnten durch den Einsatz biophysikalischer und rechnergestützter Methoden ebenso erzielt werden wie durch empirische Regeln, um Reaktivitätstrends bei C-H-Bindungen in dieser Strukturklasse vorherzusagen und zu erklären. Diese Bestrebungen sollten auch die Medizinalchemiker ermuntern, diese einzigartigen Chemotypen als Ausgangspunkt für die Suche nach neuen Wirkstoffen zu nutzen.

Zwei Mikroorganismen, die Bakterien *Streptomyces fragilis* und *Bacillus megaterium*, bildeten C2/C7- und C2/C15-oxidierte Produkte **54** und **55** aus Betulinsäure (**49**), während verschiedene andere Strukturanaloga dieser Substrate für Biokatalysatoren unzugänglich waren (Schema 8b). Obwohl keine echten Metaboliten unter diesen Bedingungen synthetisiert wurden, dient diese Arbeit als wichtiges Beispiel, bei dem sich chemische und enzymatische Oxidationsmethoden als orthogonal erwiesen haben.

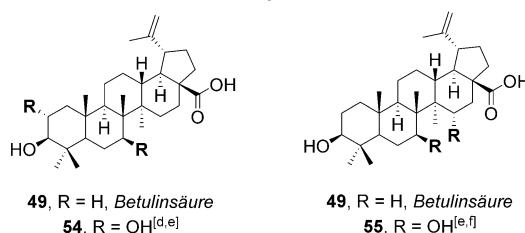


- Wie kann die Löslichkeit verbessert werden?
- orthogonale enzymatische und chemische Ansätze zur C-H-Oxidation?

a) Chemische Oxidationen



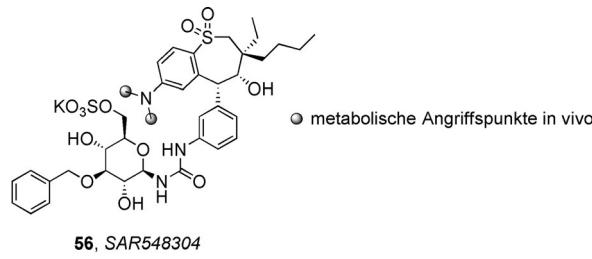
b) Oxidationen durch Mikroorganismen



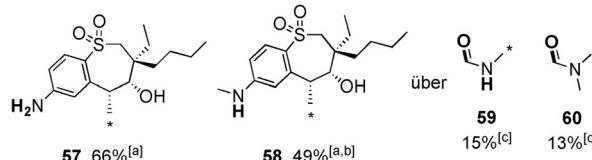
Schema 8. Oxidation von Betulin (**48**) und dem Betulinsäurederivat (**49**). [a] Et₂SiH₂, [Ir(cod)(OMe)]₂ (1 Mol-%), RT, 12 h; nach Verdampfen des Silans [Ir(cod)(OMe)]₂ (2 Mol-%), Me₄Phen (5 Mol-%), Norbornen, 120°C, 36 h. [b] H₂O₂, KHCO₃, 50°C, 12 h. [c] TFDO. [d] *Streptomyces fragilis* SC16401. [e] Keine Ausbeute angegeben. [f] *Bacillus megaterium* SC16644. TFDO = Methyl(trifluormethyl)dioxiran.

2.3.2. Pharmazeutika

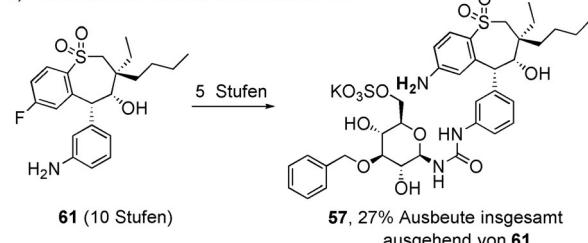
Die beim Menschen entstehenden Metabolite des Gallensäuren-Reabsorptionshemmstoffes SAR548304 (**56**) sind bekannt, und pilzliche unspezifische Peroxygenasen (UPOs) wurden als Katalysatoren zu ihrer Synthese untersucht (Schema 9).^[18] Wie BM3-Mutanten sind auch UPOs oft in organischen Lösungsmitteln aktiv, was im Fall von Verbindungen, die in wässrigen Medium schlecht löslich sind, vorteilhaft sein kann. Daher werden solche Enzyme (einschließlich der aromatischen Peroxygenasen APOs) in zunehmendem Ausmaß für die Herstellung von Metaboliten eingesetzt.^[18,35] Das Produkt der doppelten N-Demethylierung von SAR548304 (**57**) wurde mit 66 % Ausbeute in einem einzigen Schritt erhalten (Schema 9a). Dagegen erfordert die chemische Synthese fünf Stufen von einem bereits komplexen Zwischenprodukt (**61**) aus, sowie einige chromatographische



a) Metaboliten aus der Biotransformation



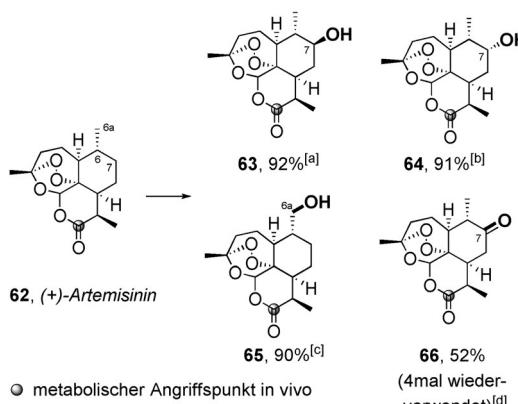
b) Chemische Route zu Metabolit **58**



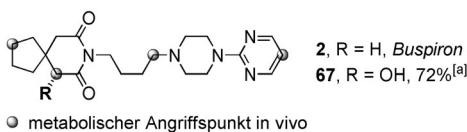
Schema 9. Zugang zu den Metaboliten des Gallensäuren-Reabsorptionsinhibititors SAR548304 (**56**). [a] MroUPO. [b] Reaktion nach 90 min angehalten. [c] **59** und **60** können isoliert (Ausbeuten nicht angegeben) und dann zu **57** und **58** hydrolysiert werden.

Reinigungsschritte, um das Produkt mit einer Gesamtausbeute von 27 % zu erhalten (Schema 9b).

Eine seltene Anwendung der gerichteten Evolution von CYPs zur Synthese von Wirkstoffmetaboliten wurde von Fasan et al. beschrieben.^[36] Die Gruppe richtete die Selektivität von P450 BM3 auf die C6a- und C7-Positionen von (+)-Artemisinin (**62**) aus; dieses sind auch die bekannten Stellen für den Angriff im Stoffwechsel.^[37] Zu diesem Zweck wurde eine mittelgroße BM3-Mutantenbibliothek (ca. 10⁵ Elemente), die gegen Reste in der Nachbarschaft des katalytischen Hämzentrums gerichtet waren, hergestellt und in einer 96er-Titerplatte mit künstlichen Sonden kalorimetrisch auf vielversprechende Verbindungen untersucht. Eine kleine Auswahl wurde dann gegen Artemisinin getestet, um Modelle zur Selektivitätsvorhersage zu entwickeln. Aus diesem Procedere entstanden letztlich Biokatalysatoren, die selektiv C7-(R)-, C7(S)- und C6a-Hydroxyartemisinin-Derivate (**63**, **64**, **65**) in präparativem Maßstab (bis 400 mg) verfügbar machen (Schema 10). Das chemische Äquivalent der C7-Oxidation von Artemisinin wurde von White et al. beschrieben; sie verwendeten den biomimetischen Nichthäm-Eisen(II)-Katalysator Fe(*S,S*-CF₃PDP) (Schema 13b).^[38] Das Produkt der weitergehenden Oxidation, Keton **66**, wurde nach vier Reaktionszyklen in 52 % Ausbeute isoliert. Es wird dazu zwar nichts weiter ausgeführt, aber die stereoselektive Reduktion des Ketons zum gewünschten Metaboliten sollte in diesem starren Gerüst möglich sein.



Versuche, P450 von BM3 weiterzuentwickeln, führten auch zur Synthese eines echten Metaboliten (**67**) von Buspiron mit ausgezeichneter Stereoselektivität (Abbildung 2). Bisher wurde zu dieser Transformation noch keine chemische Entsprechung publiziert.^[39]

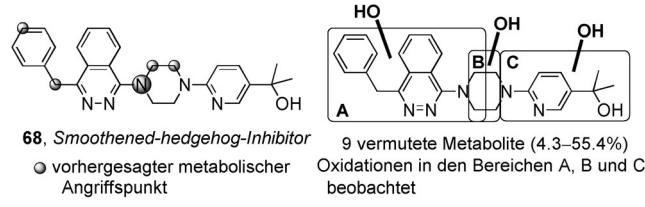


In einer systematischen Untersuchung in unseren Labors bei Novartis wurde unser Arsenal an Biotransformationen (14 rekombinante humane CYPs, coexprimiert in *E. coli*, 5 bakteriell exprimierte CYPs und S9-Fraktionen von 10 Leberpräparationen) mit einer Zusammenstellung klassischer und moderner C-H-Oxidationskatalysatoren verglichen: Alle wurden zur Gewinnung von Metaboliten des „Smoothed-hedgehog“-Antagonisten **68**, von Naproxen (**9**) und Oxcarbazepin (**26**) eingesetzt.^[2a] Zusätzlich wurde **68** mit einer Prognosesoftware, MetaSite,^[40] untersucht, um mögliche metabolische Schwachstellen auf virtuellem Wege zu identifizieren (Tabelle 3a). Die Tests der experimentellen Biotransformation starten mit einer analytischen Durchmusterung, um Hinweise für die Auswahl der geeigneten Methoden für den präparativen Maßstab zu erhalten (Tabelle 3b). Mit diesem Ansatz wurden fünf mögliche Hauptmetabolite von **68** isoliert und vollständig charakterisiert (Tabelle 3c).^[41]

Für die Verbindungen **9** und **26**, die als NSAID bzw. krampflösendes Medikament auf dem Markt sind, sind die humanen Metabolite dokumentiert und charakterisiert (Tabelle 4). Auf Naproxen angewendet gelangte man mit dieser Verfahrenssequenz zum O-demethylierten Metaboliten **12** in geringerer Ausbeute (Tabelle 4c). Das Produkt **77** einer Naphthalinhydroxylierung wurde ebenfalls bei einer analytischen Durchmusterung identifiziert, konnte aber wegen der

Tabelle 3: Biotransformation des Smoothed-hedgehog-Inhibitors **68**.

a) MetaSite-Vorhersagen b) Analytisches Screening



c) Präparative Biotransformationen (CYP3A4b5)

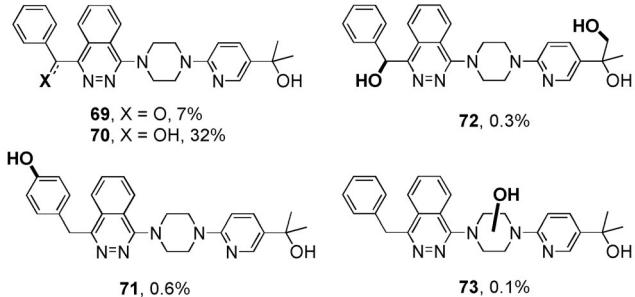
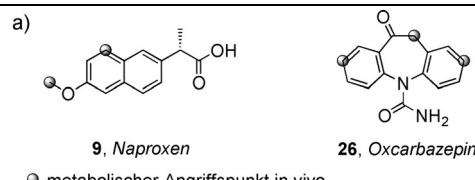
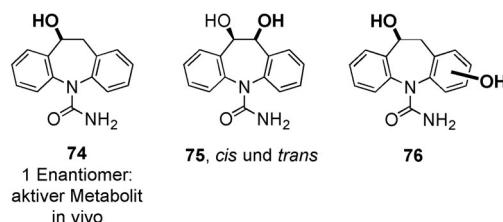


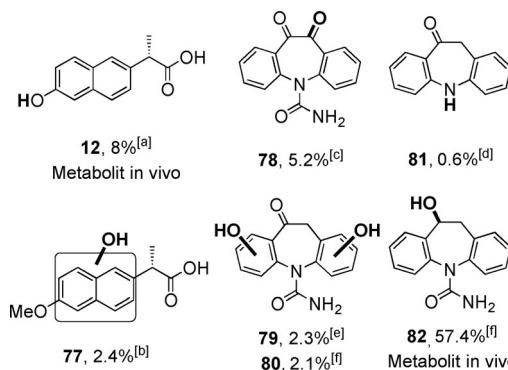
Tabelle 4: Analytische Durchmusterung der Biotransformation von Oxcarbazepin (**26**) und Naproxen (**9**).



b) Oxcarbazepin-Metabolite in vivo



c) Analytisches Screening der Biotransformation

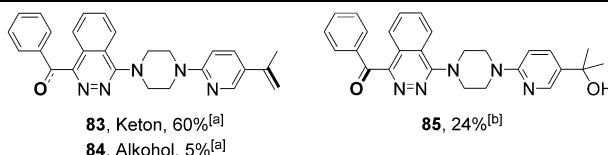


[a] CYP102A7. [b] CYP3A4. [c] CYP2C18. [d] CYP3A5. [e] Pferdeleber-S9-Fraktion. [f] CYP102A7.

unzureichenden Ausbeute nicht isoliert und charakterisiert werden. Aus Oxcarbazepin wurden nach diesem Prozess die Oxidationsprodukte **78**, **79**, **80** und **81** sowie der in vivo vorkommende Metabolit **82** gewonnen. Dennoch war diese In-vitro-Biotransformationsstrategie insgesamt ziemlich ineffizient, sodass nach alternativen Strategien gesucht wurde, beispielsweise nach chemischen Methoden, mit denen diese Metaboliten in präparativem Maßstab zugänglich werden.

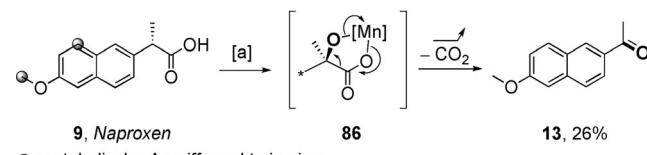
Es wurde eine Vielzahl moderner C(sp²/sp³)-H-Oxidationsverfahren von verschiedenen Arbeitsgruppen untersucht, um die Übereinstimmung solcher chemischer Syntheseansätze mit den bekannten Biotransformationswegen zu bestätigen. Zu den getesteten Methoden gehören Reaktionen auf Basis von Übergangsmetallkatalyse mit Mangan, Eisen, Kupfer, Ruthenium, Iridium, Palladium, Silber, Rhenium, Platin und Gold, außerdem Ansätze mit Nichtmetallkatalysatoren.^[2a] In den meisten Fällen waren die Substrate für diese Untersuchungen nicht speziell auf das bekannte Substratspektrum der Katalysatoren abgestimmt, sondern die Bedingungen wurden eher als Repräsentanten der letzten Fortschritte in dem Arbeitsfeld gewählt. Die meisten Bedingungen, die auf Verbindung **68** angewendet wurden, resultierten in der Bildung des N-Oxids, dem Ausbleiben einer Reaktion oder dem vollständigen Abbau des Moleküls.^[2a] Letztendlich erwies sich ein einfaches Metallsalz (CuI) in Verbindung mit molekularem Sauerstoff als effizient, um eine benzylike C-H-Oxidation zu katalysieren (Tabelle 5); außerdem zeigte das System eine breite Toleranz gegenüber basischen Funktionalitäten, wenn die benzylichen C-H-Oxidationsprodukte **83** und **84** (mit gleichzeitiger Eliminierung des labilen tertiären Alkohols) gebildet wurden. Letzteres ließ sich vermeiden, indem man CuI durch FeCl₃ ersetzte; der gewünschte Metabolit (**85**) konnte in 24 % Ausbeute isoliert werden.^[2a]

Tabelle 5: Oxidation von Phthalazin **68** zum gewünschten Metaboliten **85**.



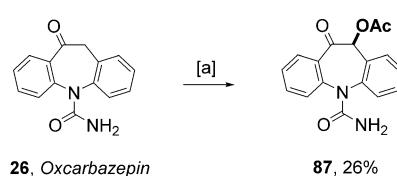
[a] CuI (10 Mol-%), O₂, AcOH (1 Äquiv.), DMSO, 110°C, 16 h. [b] FeCl₃ anstelle von CuI.

Auch Naproxen (**9**) zeigte unter den gleichen chemischen Bedingungen eine sehr eingeschränkte Reaktivität; nur das oxidative Decarboxylierungsprodukt **13** wurde in 26 % Ausbeute mit KMnO₄ in tBuOH isoliert (Schema 11). Die Verbindung könnte von dem hydroxylierten Zwischenprodukt **86** stammen, da der Katalysator bekannt dafür ist, benzylike C-H-Bindungen zu oxidieren. Der vermutete fünfgliedrige Mangan-Chelatkomplex (**86**) sollte leicht oxidativ decarboxylieren und Kohlendioxid und das Keton freisetzen. Interessant ist, dass Verbindung **13** auch in vitro unter Biotransformationsbedingungen mit einer entsprechend konstruierten BM3-Mutante gebildet wird (siehe Tabelle 1).



Schema 11: Permanganatoxidation des nichtsteroidalen Entzündungshemmers Naproxen (**9**). [a] KMnO₄ (5 Äquiv.), tBuOH, 40°C, 16 h.

Ein drittes Substrat, Oxcarbazepin (**26**), erwies sich, abgesehen von einer aromatischen Hydroxylierung mit geringer Ausbeute (siehe Tabelle 2), als ziemlich reaktionsträge; eine benzylike Oxidation mit Bis(acetoxy)iodbenzol in Essigsäure **87** gelang mit 26 % Ausbeute (Schema 12).^[2a]



Schema 12: Chemotransformation von Oxcarbazepin (**26**). [a] Phl(OAc)₂ (2 Äquiv.), AcOH, 100°C, 2–16 h.

Die bis hierher diskutierten Ergebnisse sollen illustrieren, dass die klassischen und bislang entwickelten C-H-Oxidationsverfahren nicht für effiziente Umsetzungen komplexer pharmazeutischer Verbindungen geeignet sind. Weitere Fortschritte auf diesem Gebiet erfordern die Entwicklung neuer katalytischer Reaktionen, die typische Strukturmerkmale von Wirkstoffen wie basische Stickstoffzentren tolerieren.

3. Moderne C-H-Oxidationen

3.1. Oxidation nichtaktivierter C(sp³)-H-Bindungen in komplexen Pharmazeutika

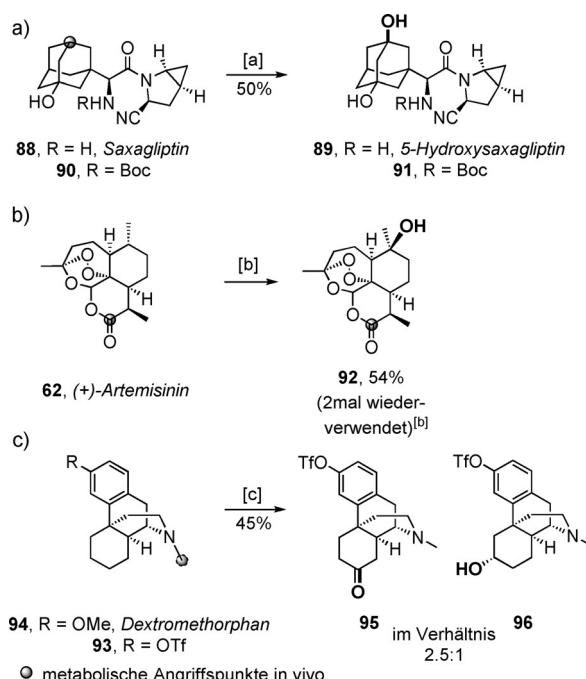
Beispiele für diesen Anwendungstyp sind selten, weil die Hydroxylierung nichtaktivierter C(sp³)-H-Bindungen mit chemischen Mitteln noch immer eine schwierige Aufgabe ist.^[2, 42] Wir haben in diesem Abschnitt daher auch interessante Beispiele aufgenommen, in denen es speziell um die Metabolitsynthese von Wirkstoffen geht, die aber den Fortschritt auf diesem Feld anhand von Substraten veranschaulichen, die der strukturellen Komplexität von Pharmazeutika gleichkommen. Wir erwarten, dass der Bedarf an solchen C(sp³)-H-Oxidationsverfahren für die Metabolitsynthese in Zukunft steigen wird, denn es besteht ein Trend zur Reduktion der Zahl aromatischer Ringe in Wirkstoffen. Aktuelle Untersuchungen sind zu dem Schluss gekommen, dass „sogar in einem definierten Lipophilie-Bereich die Zunahme der Zahl aromatischer Ringe zu einer verringerten Wasserlöslichkeit führt.“^[43] Ein Medikament muss sich lösen, um als ersten Schritt zum Wirkort den Kreislauf zu erreichen und

dort im Blutstrom zu bleiben. Daher ist die Verbesserung einer schlechten Löslichkeit eine wesentliche Entwicklungsaufgabe, die während der Optimierung der Leitstruktur angegangen werden muss. Es ist allgemein bekannt, dass die Einführung polarer Gruppen in das Wirkstoffgerüst erforderlich ist, auch wenn dies nicht immer ausreicht, um die Löslichkeit zu verbessern. Als neue Optimierungsstrategie hat sich die Einführung von Strukturelementen entwickelt, die die Kristallpackung stören (weniger planare Komponenten) und die Energiebarriere für die Auflösung senken. Außerdem hat eine aktuelle Untersuchung ergeben, dass die molekulare Komplexität nicht nur die physikochemischen Eigenschaften von Verbindungen verbessert, sondern auch die Zahl der Bindungsstellen abseits des Wirkorts („off-targets“) und die CYP450-Hemmung verringert. Hier wurde die Komplexität an zwei Parametern festgemacht, dem sp^3 -Anteil („fraction sp^3 “: $(Fsp^3) = \text{Zahl der } sp^3\text{-hybridisierten Kohlenstoffatome} / \text{Gesamtzahl der Kohlenstoffatome im Molekül}$) und die Zahl der Stereozentren.^[44] Dieser neue Trend sollte einen starken Anstoß geben, aliphatische Reste in Wirkstoffe einzuführen.

Die Analyse der menschlichen Ausscheidungen von radioaktiv markiertem Saxagliptin (**88**, Antidiabetikum) ergab, dass 44.1 % der wiedergefundenen Radioaktivität auf 5-Hydroxsaxagliptin (**89**) entfiel. Dieser Hauptmetabolit ist auch biologisch aktiv.^[45] Eine Strategie für eine späte C-H-Oxidation zur Gewinnung dieses Metaboliten wurde vor kurzem von Du Bois et al.^[46] erschlossen. In diesem Fall wurde das komplexe Substrat *N*-Boc-Saxagliptin (**90**) mit einem Rutheniumkatalysator, der einen 1,4,7-Trimethyl-1,4,7-triazacyclonanon-Liganden ($(Me_3tacn)RuCl_3$) trägt, in Gegenwart eines Oxidationsmittels behandelt. Dabei fiel trotz der Gegenwart eines Amids, eines Carbamats, eines Nitrils und eines ungeschützten tertiären Alkohols das *N*-Boc-5-Hydroxsaxagliptin (**91**) in 50 % Ausbeute in einer Stufe an (Schema 13 a). Aus dieser Verbindung sollte man nach Entfernen der Boc-Gruppe den humanen Metaboliten erhalten.

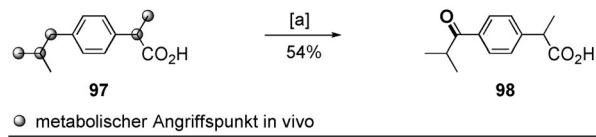
Die Arbeitsgruppe von White hat auch über die Entwicklung von $Fe(S,S-PDP)$ und seinen Einsatz bei der Oxidation der tertiären C6-H-Bindung in (+)-Artemisinin (**62**) mit 54 % Ausbeute berichtet.^[38] Die Regeln, die die Katalysatorselektivität bestimmen, sind relativ gut verstanden. Typischerweise folgt sie der Abstufung – tertiäre C-H > sekundäre C-H > primäre C-H – es sei denn, die Substrate bieten die Möglichkeit für eine Carboxylat-gerichtete Oxidation, die diesen Reaktivitätstrend überlagern kann.

Diese beiden Beispiele (siehe auch Schema 10) zeigen, dass tertiäre und zu einem gewissen Grad auch sekundäre, sp^3 -C-H-Bindungen in komplexen organischen Molekülen und Pharmazeutika mit hoher Chemoselektivität oxidiert werden können, wenn eine sorgfältige Optimierung vorausgegangen ist. Die nächste Aufgabe ist die Ausweitung des Substratspektrums auf solche Verbindungen, die basische Amine enthalten, denen man oft in Pharmazeutika begegnet. Gleichzeitig schlugen vier Arbeitsgruppen eine Lösung für dieses schwierige Problem ausgehend vom gleichen allgemeinen Prinzip vor. Die Basizität der Amine und Azaheteroarene könnte *in situ* durch Salzbildung maskiert werden (siehe Abschnitt 3.5.1.), wodurch die Wechselwirkung mit

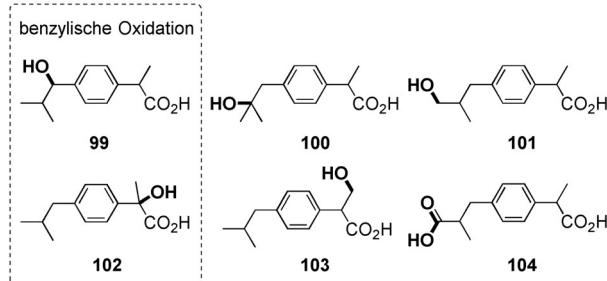


schnitt 3.1), oxidiert bevorzugt benzyliche Methylengruppen zu den entsprechenden Alkoholen und Arylketonen.^[46b] In Gegenwart einer katalytischen Menge von $[\text{Me}_3\text{tacn}]\text{RuCl}_3$, AgClO_4 und einem Überschuss an CAN (6 Äquivalente) als Oxidationsmittel wurde der entzündungshemmende Wirkstoff Ibuprofen (**97**) erfolgreich an der Benzylposition, einer metabolischen Schwachstelle, oxidiert. Das Keton **98** wurde in 54% Ausbeute isoliert (Schema 14 a und b).

a) Ruthenium-katalysierte Oxidation von Ibuprofen (**97**)



b) Bekannte Ibuprofen-Metaboliten in vivo



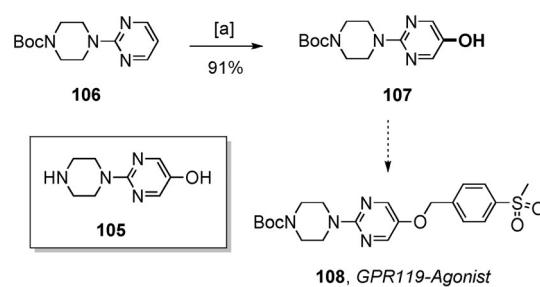
Schema 14. Oxidation benzylicher Methylengruppen in Ibuprofen (**97**). [a] $[\text{Me}_3\text{tacn}]\text{RuCl}_3$ (2 Mol-%), AgClO_4 (8 Mol-%), CAN (6 Äquiv.), $t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1).

Ständig werden neue Methoden für die Oxidation benzylicher C-H-Bindungen entwickelt, und einige dieser modernen Methoden sind sehr vielversprechend. Beispiele sind die ungerichtete Iridiumkatalysierte Borierung primärer C-H-Bindungen^[51] und die ungerichtete KOtBu-katalysierte Silylierung der benzylichen C-H-Bindung.^[52] Diese Verfahren befinden sich noch im Entwicklungsstadium und eine erfolgreiche Anwendung auf ein wirkstoffähnliches Molekül steht noch aus. Es ist aber eine realistische Annahme, dass das Arbeitsgebiet weiterhin aussichtsreich für die Entwicklung und Testung neuer Methoden bleiben wird.

3.3. Oxidation von $C(\text{sp}^2)$ -H-Bindungen

Der Einschub eines Sauerstoffatoms in eine $C(\text{sp}^2)$ -H-Bindung ist eine übliche Reaktion bei der Bildung von Metaboliten. Chemische C-H-Oxidationen, die Arene in Arenolderivate umwandeln können, gewinnen an Bedeutung; die meisten Beispiele betreffen allerdings einfache Substrate, die außerhalb des Themas dieses Aufsatzes liegen.^[53] Am besten ausgearbeitet sind momentan die indirekte C-H-Borylierung und C-H-Silylierungen, die nach Oxidation Arenole ergeben. Diese Methoden sind außergewöhnlich gut für die Anwendung an Pharmazeutika geeignet, da sie eine beeindruckende Toleranz gegenüber funktionellen Gruppen haben; einige Beispiele sind im Folgenden veranschaulicht. 2-(Piperazin-1-

yl)pyrimidin-5-ol (**105**) ist ein Metabolit von verschiedenen im Markt befindlichen Antidepressiva wie Buspiron (**2**), Tandospiron, Gepiron und Ipsapiron.^[54] Die Verbindung wird in vivo durch N-Dealkylierung gebildet. In einem zweiten Reaktionsweg zu einem neuen Leitmolekül (**108**, potenziell antidiabetisch) für ein Analogon des Agonisten des G-Protein-gekoppelten Rezeptors 119 (GPR119) wurde die Verbindung **106** in einer Eintopfsequenz aus Hartwig-C-H-Borylierung und Oxidation umgesetzt, um das Pyrimidinol **107** in 91% Ausbeute herzustellen (Schema 15).^[55,56] Dieses



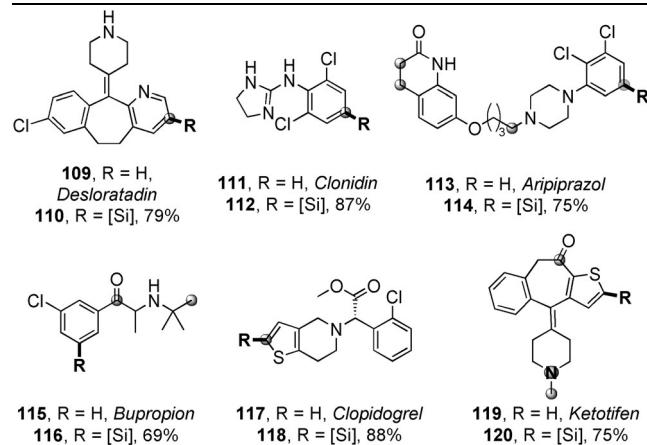
Schema 15. Aren-C-H-Borylierung an dem GPR119-Agonisten **108**.

[a] $[\text{Ir}(\text{cod})\text{OMe}]_2$ (0.5 Mol-%), Me_4phen (1 Mol-%), B_2pin_2 , THF, RT; $\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, THF, H_2O .

Zwischenprodukt sollte nach einfacher Abspaltung der Boc-Schutzgruppe den verbreiteten Metaboliten **105** freisetzen.

Eine Alternative zu der C-H-Borylierung in einem späten Reaktionsstadium ist die neu entwickelte Iridiumkatalysierte C-H-Silylierung mit dem preisgünstigen Silan $\text{HSiMe}_2(\text{OTMS})_2$ (Tabelle 6).^[57] Dabei erwies sich die Art des Silans als entscheidend für die Reaktion. Verschiedene übliche

Tabelle 6: Aren-C-H-Silylierung von Wirkstoffen in einem späten Synthesestadium.^[a]



● metabolischer Angriffspunkt des Stammwirkstoffs im Menschen
● wichtiger metabolischer Angriffspunkt in Ratten

[a] Reaktionsbedingungen: $[\text{Ir}(\text{cod})\text{OMe}]_2$ (1.5 Mol-%), 2,4,7-Me₃Phen (3.1 Mol-%), H-[Si] (1.5 Äquiv.), Cyclohexen (1 Äquiv.), THF, 80–100°C, 1–2 Tage. Reaktionsbedingungen für die Oxidation von Silylarenen zu Phenolen: KHF_2 (3 Äquiv.), H_2O_2 (2.6 Äquiv.), DMF, 16 h, RT
[Si] = SiMe(OTMS)₂.

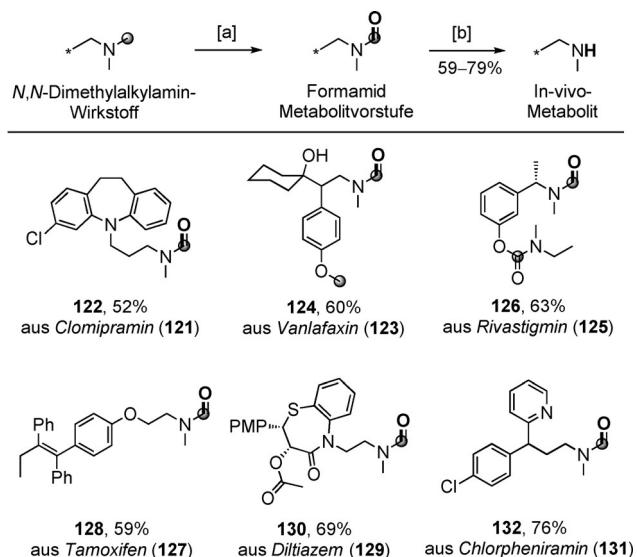
Silane wie Triethylsilan treiben die Reaktion nicht voran, wahrscheinlich wegen der geringeren Reaktivität des Metall-Silylkomplexes für die C-H-Einschubreaktion. Die optimierten Reaktionsbedingungen – [Ir(cod)OMe]₂, 2,4,7-Trimethyl-1,10-phenanthrolin und Cyclohexen in THF – waren mit einer überraschend breiten Auswahl an funktionellen Gruppen verträglich.^[58] Unter diesen Bedingungen verläuft die direkte Silylierung von Desloratadin (**109**, Antihistaminikum) an der bekannten metabolischen Schwachstelle in ausgezeichneter Ausbeute (79%). Interessanterweise reagierten auch verschiedene andere Wirkstoffe wie Clonidin (**111**, blutdrucksenkend), Aripiprazol (**113**, antipsychotisch), Buproprion (**115**, Antidepressivum), Clopidogrel (**117**, gerinnungshemmend) und Ketotifen (**119**, Antihistaminikum) unter diesen Bedingungen in hohen Ausbeuten zu den entsprechenden Phenolprodukten, die in einigen Fällen die direkten Vorstufen der Metabolite sind.

3.4. Oxidation von Amin-C-H-Bindungen

Amine werden in der Leber leicht durch CYPs zu den entsprechenden Amiden und N-Dealkylierungsderivaten umgesetzt.^[59] Jahrzehnte intensiver Syntheseforschung haben nur wenige Katalysatorsysteme für die direkte Umwandlung von Aminen in Amide oder ihre N-Dealkylierungsprodukte hervorgebracht.^[60] Insbesondere tertiäre Amine sind in Pharmazeutika allgegenwärtig. Man findet sie in *N,N*-Dimethylalkylamin-Gruppen, alkylierten/arylierten Piperazinen, Piperidinen, 4-Aminopiperidinen, Morphinolinen, Pyrrolidinen und Anilinen. Diese Motive weisen wahrscheinlich gegenüber Katalysatoren unterschiedliche Reaktivität in Abhängigkeit vom Oxidationspotenzial, sterischer Anordnung und Konformation auf.

Das *N,N*-Dimethylalkylamin-Motiv geht bekanntermaßen CYP-vermittelte N-Demethylierungen ein. Die entsprechende chemische Reaktion im späten Stadium ist ein noch weitgehend ungelöstes Problem (siehe als Beispiel SAR548304 in Abschnitt 2.3.2). Wir und danach andere Gruppen^[14,61] haben dazu eine zweistufige Abfolge einer *N*-Formamid-Bildung und nachfolgender Hydrolyse vorgeschlagen. Das katalytische System besteht aus einem einfachen Kupfersalz (CuI) ohne Liganden (außer dem Lösungsmittel DMSO) und einem praktischen Oxidationsmittel (Luft). Es oxidiert *N,N*-Dimethylamino-Gruppen in komplexen Pharmazeutika zu den entsprechenden *N*-Methylformamiden. Mit wässriger HCl werden dann die *N*-Methylamin-Metaboliten freigesetzt (Schema 16). Die Demethylierung sekundärer Amine wurde nicht untersucht. Der beschriebenen Reaktionssequenz wurden verschiedene Wirkstoffe unterworfen, darunter Clomipramin (**121**, Antidepressivum), Venlafaxin (**123**, Antidepressivum), Rivastigmin (**125**, Demenzbehandlung), Tamoxifen (**127**, Antitumor), Diltiazem (**129**, blutdrucksenkend) und Chlorpheniramin (**131**, Antihistaminikum). Die Produkte wurden in 52–76% Ausbeute isoliert.

Die beschriebenen Bedingungen können auch auf andere tertiäre Amin-Motive in Wirkstoffen angewendet werden, so auf *N*-Methylpiperidine und *N*-Alkylaniline. Die erfolgreiche

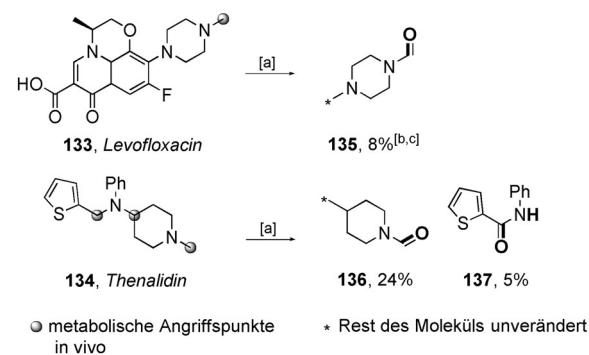


● metabolische Angriffspunkte der Stammwirkstoffe in vivo

Schema 16. Oxidation von *N,N*-Dimethylalkylaminen zu N-demethylierten Metabolitvorstufen. [a] CuI (20 Mol-%), O₂ (Ballon), DMSO, 120°C, 1–3 h. [b] HCl, Dioxan, 100°C, 1 h.

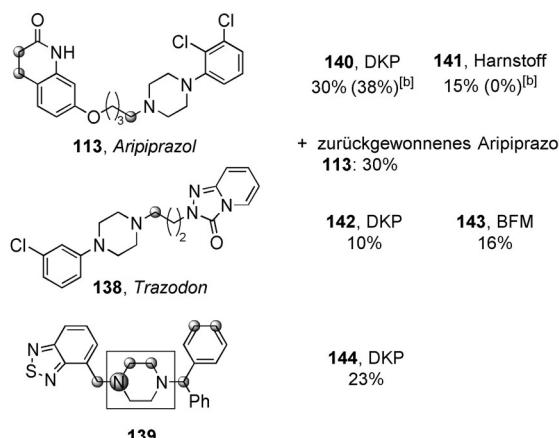
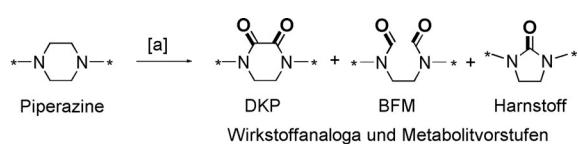
Oxidation des Fluorchinolon-Antibiotikums Levofloxacin (**133**) und des Antihistaminikums Thenalidin (**134**) an der Angriffsstelle des Metabolismus in vivo ist in Schema 17 dargestellt.^[2a]

Das Piperazin-Gerüst, das von Medizinalchemikern oft als starre polare Verbindungsgruppe eingebaut wird, kann auch an endocyclischen Positionen mit der CuI/O₂-Methode zu 2,3-Diketopiperazinen (DKPs), 1,4-Bisformamiden (BFMs) und fünfgliedrigen cyclischen Harnstoffderivaten oxidiert werden (Schema 18). Aripiprazol (**113**, antipsychotisch), Trazodon (**138**, Antidepressivum) und das wirkstoffähnliche Molekül **139** bildeten alle 2,3-DKPs mit Ausbeuten von 30%, 10% bzw. 23%. Die Oxidation von Trazodon ergab auch 16% BFM, während das cyclische Harnstoffanalogon (**141**) von Aripiprazol mit 15% Ausbeute anfiel. Die Zugabe von TEMPO zum Reaktionsgemisch mit Aripiprazol änderte die Produktverteilung deutlich. Insgesamt wurden 64% DKP



● metabolische Angriffspunkte in vivo * Rest des Moleküls unverändert

Schema 17. Oxidation der In-vivo-Angriffspunkte des Stoffwechsels von Levofloxacin **133** und Thenalidin **134**. [a] CuI (20 Mol-%), O₂ oder Luft, DMSO, 120°C. [b] CuI (1 Äquiv.). [c] Niedrige Ausbeuten infolge von Reinigungsschritten.

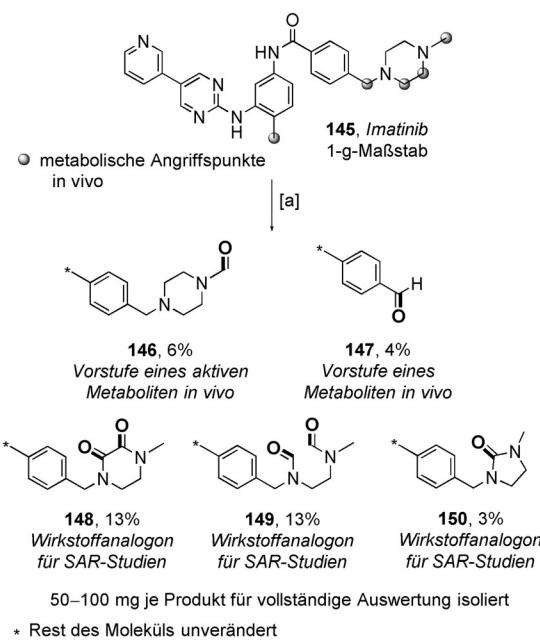


● metabolische Angriffspunkte in vivo

Schema 18. Oxidation Piperazin-haltiger Wirkstoffe zu 3,4-Diketopiperazinen (DKP), Bisformamiden (BFM) und Harnstoffderivaten. [a] CuI (20 Mol-%), O_2 (Ballon) oder Luft, DMSO, 120°C. [b] Ausbeute bei Zusatz von 1 Äquiv. 2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-yl)oxyl (TEMPO) als Additiv.

und BFM gebildet; das Harnstoffprodukt **141** entstand nicht.^[2a] Eine andere spannende Beobachtung war, dass das Anbringen von elektronenziehenden Gruppen am Piperazinring die endocyclischen C-H-Bindungen vor Oxidation schützt.

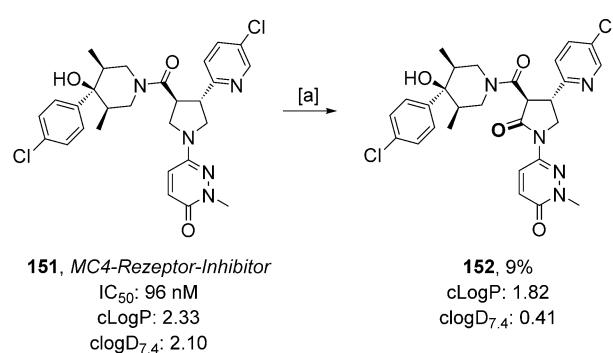
Die Praktikabilität dieses Oxidationsprotokolls macht eine Maßstabsvergrößerung möglich, wie dies an Imatinib (**145**, Antitumorwirkung) demonstriert wurde (Schema 19).



Schema 19. Oxidation des Tumortherapeutikums Imatinib (**145**) im Gramm-Maßstab. [a] CuI (20 Mol-%), O_2 , DMSO, 120°C.

In diesem Fall wurde die exocyclische *N*-Methylpiperazin-Position zum entsprechenden *N*-Formamid-Piperazin **146** oxidiert, das eine Metabolitenvorstufe ist. Die exocyclische benzylische C-H-Bindung wurde ebenfalls in 4 % Ausbeute oxidiert (**147**). Die Hauptprodukte entstanden jedoch durch die Oxidation der endocyclischen Piperazin-C-H-Bindungen zu 2,3-DKP **148**, 1,4-BFM **149** und die Harnstoffverbindung **150** mit 13, 13 bzw. 3 % Ausbeute. In allen Fällen waren die Produkte im 50- bis 100-mg-Maßstab zugänglich.

Der Imin-Katalysator nach Du Bois wurde eingesetzt, um den Pyrrololidinrest, der im Hemmstoff des Melanocortin-4-(MC4)-Rezeptors **151** eingebaut wurde, mit 9 % Ausbeute in das entsprechende Lactam umzuwandeln (Schema 20).^[30] Die direkte Oxidation von Wirkstoffen mit cyclischen Aminen (Piperidin, Pyrrolidin) zu den entsprechenden Lactamen in komplexen Pharmazeutika durch chemische Katalyse kommt noch selten vor.^[62] Dieses Beispiel stellt daher trotz der niedrigen Ausbeute einen wichtigen Präzedenzfall dar.



Schema 20. Oxidation des MC4-Inhibitors **151** zum Lactamderivat **152**. [a] Du-Bois-Iminkatalysator, $(\text{PhSe})_2$ (5 Mol-%), H_2O_2 -Harnstoff, 100°C (Mikrowellen), 2 h.

3.5. Andere aussichtsreiche Verfahren und Strategien

3.5.1. Ungerichtete C-H-Oxidation

Die Shilov-Pt^{II}/Pt^{IV}-Oxidation ist eine verfahrenstechnisch geradlinige Oxidation einer C-H-Bindung, die bei einfachen Kohlenwasserstoff-Substraten entdeckt wurde.^[63] In der Arbeitsgruppe von Sames wurde eine katalytische Variante dieser Reaktion mit K_2PtCl_4 als Präkatalysator und CuCl_2 als Oxidationsmittel in wässrigen Medien entwickelt, welche die Hydroxylierung der γ -C-H-Bindungen in Aminosäuren zu den entsprechenden γ -Lactonen auslöst.^[47a] *N*-Butylamin reagierte zu einer 3:1-Mischung der δ - und γ -Aminoalkohole (**153** und **154**) mit insgesamt 24 % Ausbeute (Tabelle 7). Schließlich konnte die Reaktion sogar mit Valeri-

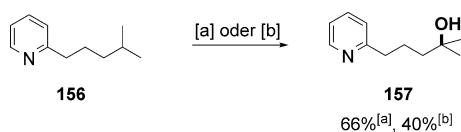
Tabelle 7: Hydroxylierung basischer Amine mit $\text{K}_2\text{PtCl}_4/\text{CuCl}_2$.

	153	154	155, 90%
24% (Verhältnis 3:1), $\text{K}_2\text{PtCl}_4 / \text{CuCl}_2$			$\text{K}_2\text{PtCl}_4 / \text{CuCl}_2 / \text{H}_2\text{SO}_4$

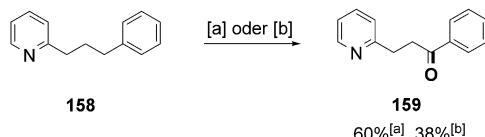
ansäure als Substrat durchgeführt werden. Später stellte sich auch heraus, dass H_2SO_4 als Additiv nicht nur die Ausbeute der Reaktion verbessert sondern auch das Substratspektrum erweitert. Unter diesen neuen Bedingungen ließ sich das Pivaloyl-geschützte Produkt **155** aus dem entsprechenden Amin in 90 % Ausbeute isolieren.^[47b]

Wissenschaftler bei Novartis haben in Zusammenarbeit mit der Gruppe um Du Bois auch gezeigt, dass das saure ($\text{Me}_3\text{tacn}\text{RuCl}_3/\text{CAN}$ -Katalysatorsystem (in Lösung bei $\text{pH} \approx 2$) und das analoge ($\text{Mn}(\text{OTf})_2/\text{Bipyridin}/\text{AcO}_2\text{H}, \text{AcOH}$ -) Katalysatorsystem tertiäre C-H-Bindungen in einfachen Substraten, die Azaheteroarene enthalten, oxidieren können (z.B. **156**, Schema 21 a). Das zweite System zeichnet sich

a) Oxidation tertiärer $\text{C}(\text{sp}^3)$ -Zentren



b) Oxidation in Benzylstellung

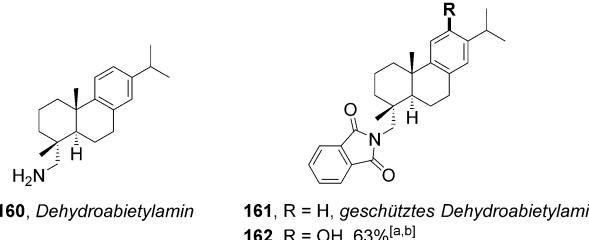


Schema 21. Mangankatalysierte Oxidation von $\text{C}(\text{sp}^3)$ -H-Bindungen in Gegenwart von Azaheteroarenen. [a] $[(\text{Me}_3\text{tacn})\text{RuCl}_3]$ (2–4 Mol-%), AgClO_4 (8–16 Mol-%), CAN (6 Äquiv.), $\text{tBuOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1). [b] $\text{Mn}(\text{OTf})_2$ (0.1 Mol-%), Bipyridin (1 Mol-%), AcO_2H (3 Äquiv.), AcOH , 90 s.

durch einen sehr niedrigen Katalysatorbedarf und extrem kurze Reaktionszeiten (weniger als 2 Minuten) aus, und es ist einfach anzuwenden, da sich der Katalysator *in situ* bildet. Dieses System kann ebenso wie das neu entwickelte System ($\text{Mn}(\text{OTf})_2/\text{Bipyridin}/\text{AcO}_2\text{H}, \text{AcOH}$) auch benzylische C-H-Bindungen oxidieren. Außerdem sind heterobenzylische C-H-Bindungen im Allgemeinen gegen die Oxidation abgeschirmt (z.B. **158**, Schema 21 b).^[47c] Die Autoren führten den ersten Vergleich zwischen verschiedenen bekannten Ru-, Mn- und Fe-Katalysatoren für die Oxidation aliphatischer und benzylischer C-H-Bindungen durch und verwendeten dazu eine gewöhnliche Auswahl einfacher Substrate. Im Ergebnis war das ($\text{Me}_3\text{tacn}\text{RuCl}_3/\text{CAN}$ -System allen anderen überlegen, obwohl bereits die einfache Kombination $\text{Mn}(\text{OTf})_2/\text{Bipyridin}/\text{AcO}_2\text{H}$ in Essigsäure zufriedenstellende Ergebnisse lieferte.^[47c]

Eine ungerichtete C-H-Hydroxylierungsmethode zur Bildung von Arenolen wurde von Siegel und seinen Mitarbeitern 2013 veröffentlicht (Tabelle 8).^[64] Der Verzicht auf Metalle wird durch die einzigartigen Eigenschaften von Phthaloylperoxid möglich, das bei homolytischer Spaltung der O-O-Bindung unter Bildung einer C-O-Bindung an Arenringe addiert und nach C-H-Abstraktion den entsprechenden Arenolester liefert. Das Phthalimid-geschützte Analogon **161** von Dehydroabietylamin (**160**, Antioxidans)^[65]

Tabelle 8: Metallfreie ungerichtete C-H-Hydroxylierung des Dehydroabietylamin-Derivats **161**.



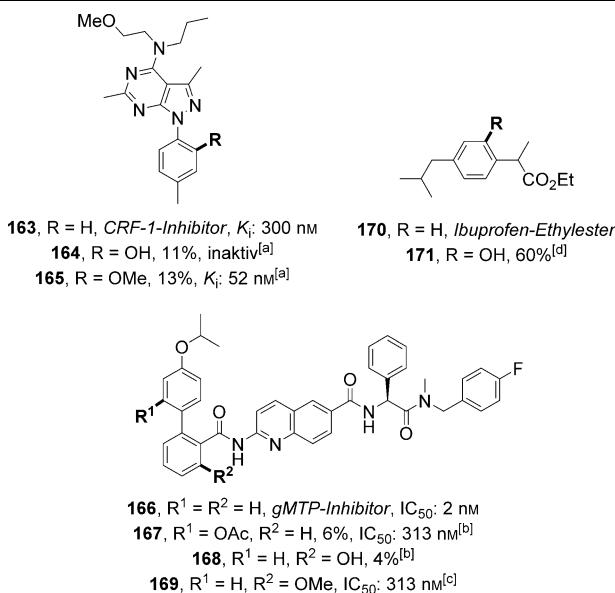
[a] Phthaloylperoxid (1.3 Äquiv.), HFIP, 40°C , 24 h. [b] MeOH/ NaHCO_3 (gesättigt), 40°C . HFIP = Hexafluor-2-propanol.

wurde unter diesen Bedingungen zum entsprechenden Arenol **162** hydroxyliert (isoliert in 63 % Ausbeute).

3.5.2. Gerichtete C-H-Oxidationen von $\text{C}(\text{sp}^3)$ - und $\text{C}(\text{sp}^2)$ -H-Bindungen

Eine große Auswahl von Verfahren für die gerichtete Oxidation von $\text{C}(\text{sp}^2)$ -H-Bindungen in Arenen ist bekannt.^[66] Aktuell sind die dirigierenden Gruppen Aldehyde,^[66a] Ketone,^[66b] Ester und Carbonsäuren,^[66b,c] Amide,^[66b,d,e] Sulfonamide,^[66b] Silylether,^[66f] Pyridinringe,^[66g,h] Oxime,^[66i] Pyrazolringe,^[66j] Azobenzol,^[66k] *N,N*-Dimethylamin,^[66l] Benzylalkohole,^[66k] *ortho*-Benzoesäuren.^[66l] Erfolgreiche Anwendungen dieser Verfahren auf Pharmazeutika sind allerdings selten. Wir werden hier Methoden vorstellen, von denen wir glauben, dass sie angewendet werden können, oder die bereits für Chemotransformationen eingesetzt wurden. Die Liste der hier gezeigten Verfahren ist bei weitem nicht erschöpfend.

Im Verlauf mehrerer Jahre wurden in Sanfords Gruppe Heteroarene als dirigierende Gruppen etabliert. Solche Gruppen sind bei Pharmazeutika weit verbreitet. So wurde der Pyrazolpyrimidinring im Inhibitor **163** des Corticotropin-Releasing-Factor-1(CRF-1)-Rezeptors genutzt, um die *ortho*-Hydroxylierung und -Methoxylierung (**164**, **165**) des *N*-Tolyl-Restes mit 11 bzw. 13 % Ausbeute zu steuern (Tabelle 9).^[30] In biologischen Tests war das Phenolderivat **164** inaktiv, doch das methoxylierte Analogon **165** war sechsmal wirksamer als die Ausgangsverbindung (52 nm gegenüber 300 nm). In einem anderen Beispiel wurde der Inhibitor **166** des mikrosomalen Triglycerid-Transportproteins aus dem Darm (gMTP) ebenfalls einer Oxidation mit Sanfords Reaktionsbedingungen ($\text{Pd}(\text{OAc})_2$, $\text{AcOH}/\text{Ac}_2\text{O}$ (1:1), Oxon) unterworfen. Es bildeten sich die acetoxylierten und hydroxylierten Produkte **167** und **168**.^[30] Auffällig ist, dass nur das terminale sekundäre Amid an dieser Reaktion über fünf- und sechsgliedrige cyclische Palladiumzwischenprodukte beteiligt war. In Methanol als Lösungsmittel zur Förderung der Methoxylierung entstand eine Mischung aus fünf verschiedenen Oxidationsprodukten (darunter **169**); der relative Umsatz war 40 % (3 monomethoxylierte und 2 bismethoxylierte Produkte). Schließlich gelang die Monohydroxylierung des Ibuprofen-Ethylesters (**170**, NSAID-Derivat) in 60 % Ausbeute unter Nutzung der analogen Esterfunktion, um $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ bevorzugt auf die proximale C-H-Bindung zu lenken.^[66b]

Tabelle 9: Gerichtete aromatische Hydroxylierungen von Wirkstoffkandidaten.

[a] Pd(OAc)₂ Oxon, MeOH/H₂O. [b] Pd(OAc)₂, Oxon, AcOH/Ac₂O.
 [c] Pd(OAc)₂ Oxon, MeOH. [d] Pd(OAc)₂, K₂S₂O₈, TFA/TFAA. TFA = Trifluoressigsäure. TFAA = Trifluoressigsäureanhydrid.

4. Elektrochemische Synthese und Mikrofluidiksysteme

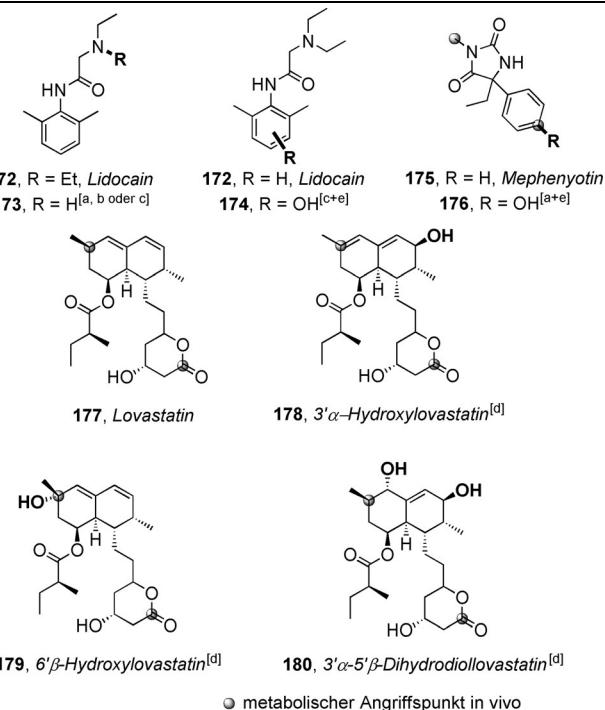
Elektrochemische (EC) und mikrofluidische Technologien werden im akademischen Umfeld ebenso implementiert wie in Labors für Wirkstoffentwicklungen.^[15,67] Auch wenn Anwendungen zur aktuell insbesondere für Mikrofluidik noch selten sind, könnten diese neuen Technologien die Synthese von Wirkstoffmetaboliten spürbar vereinfachen. Wir fassen hier den Stand der Literatur kurz zusammen.

Die elektrochemische Herstellung von Wirkstoffmetaboliten hat viele Vorteile: 1) Die Systeme sind einfacher als In-vitro-Biotransformationen, 2) die Oxidation verläuft unter milderen Reaktionsbedingungen, und 3) der Einsatz von organischen Lösungsmitteln und schädlichen Chemikalien (und die Exposition) kann vermindert werden.

Die Oxidation wird meist durch reaktive radikalische Zwischenstufen (erzeugt durch Elektronenübertragungen in der elektrochemischen Zelle) vermittelt;^[68] dies kann Produktgemische und/oder niedrige Umsätze verursachen.^[69,70] Es gibt allerdings verschiedene experimentelle Randbedingungen, die diese Rückschläge mildern können (indem sie die Reaktivität der Radikale im Zaum halten). Dazu gehören der Elektrodentyp (kohlenstoffbasiert, Gold, Platin, Bor-dotierter Diamant), die elektrochemische Zelle (Dünnschicht-Durchflusszelle; poröse Durchflusszelle; Batch-Zelle), Lösungsmittel, gelöste Gase, Elektrolyte, pH-Wert und Wirkstoffkonzentration. Eine weitere neue Entwicklung ist das Aufkommen von elektrochemischen/massenspektrometrischen (EC/MS) In-line-Systemen,^[71,72] mit denen die Prozesse so verfolgt werden, dass die Identifizierung von unterschied-

lichen orthogonalen experimentellen Bedingungen zur Be-günstigung chemoselektiver Oxidationen (N-Dealkylierung, N-, S- oder P-Oxidationen oder Hydroxylierungen von C-(sp²)- und C(sp³)-H-Bindungen) in komplexen Substraten möglich wurde.^[68] Schließlich erweitern indirekte EC-Reak-tionsbedingungen wie die EC-gestützte Fenton-Oxidation das Substratspektrum dieser Methode. Insgesamt gesehen können diese Trends EC zu einem leistungsfähigen Ansatz machen, um zukünftig Zugang zu den gewünschten Metaboliten zu erhalten. Der selektive Einsatz von EC zur Oxidation von Wirkstoffen und wirkstoffähnlichen Molekülen wird im Folgenden im Einzelnen beschrieben.

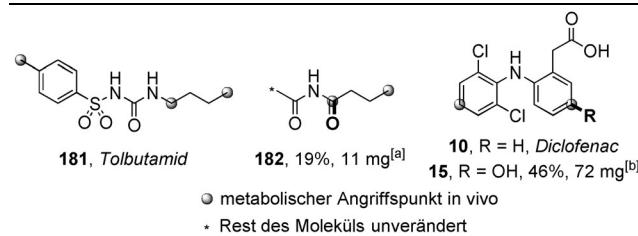
Verschiedene Elektrodentypen wurden mit Erfolg einge-setzt, um die N-Dealkylierung von Lidocain (**172**, antiar-rythmisches) zu beeinflussen (Tabelle 10)^[71] Der Wechsel zum Fenton-System mit einer Platinelektrode und Hydroxyl-Ra-dikalen (die in situ erzeugt werden) ermöglichte ebenfalls die Isolierung eines aromatischen Hydroxylierungsprodukts (**174**).^[73] Auf ähnliche Weise wurde Mephenytoin (**175**, krampflösend) an der Position des In-vivo-Metabolismus unter Fenton-Bedingungen hydroxyliert (**176**).^[71] Das EC/MS-System, ausgerüstet mit einer Bor-dotierten Diamant-elektrode bei einem konstanten Potential von 1500 mV, wurde zur Oxidation von Lovastatin (**177**, lipidsenkend) in einem Maßstab von weniger als 1 mg verwendet, die zu 3' α -Hydroxy-, 6' β -Hydroxy- und 3' α -5' β -Dihydrodiol-Lovastatin-Analoga (**178**, **179**, **180**) führte. Die Ausbeuten waren mit denen vergleichbar, die mit CYP-BM3-Mutanten erzielt wurden;^[74] drei Metabolite wurden isoliert und NMR-spektroskopisch charakterisiert.

Tabelle 10: EC/MS-System für die vollständige Charakterisierung von Wirkstoffmetaboliten (die Ausbeuten wurden nicht bestimmt).

[a] Glaskohlenstoff. [b] Gold. [c] Platin. [d] Bor-dotierter Diamant.
 [e] Fenton-Bedingungen.

Zusätzlich zu den bereits erwähnten Problemen hängt die breitere Einführung dieser Technologie an weiteren Fortschritten bei der Ausgestaltung der Elektroden (der Elektrodenoberfläche, die Massenübertragung und Umsetzungs geschwindigkeit bestimmt) und den Bemühungen, die Adsorption der Verbindungen an der Elektrodenoberfläche zu minimieren, wenn die Reaktionen in konzentrierten Lösungen ablaufen. Diese Fortschritte werden ein Aufskalieren der Reaktionen ermöglichen. Zu den Lösungsansätzen, die gegenwärtig verfolgt werden, gehören die direkte Adsorption von CYPs auf der Elektrodenoberfläche oder eine Fixierung über Linkergruppen. Auch die Immobilisierung von Metalloporphyrinen an der Elektrodenoberfläche wird untersucht.^[75, 76] Solche Ansätze könnten NADPH und CYP-Re duktase-Cofaktoren, die für eine konventionelle Biotransformation nötig sind, überflüssig machen. Ein weiterer Ansatz beruht auf der Mikrofluidik mit ihrem kontinuierlichen Fluss im Mikromafstab.^[77] Erste Ergebnisse sehen vielversprechend aus. So konnten Tolbutamid (**181**, Antidiabetikum) und Diclofenac (**10**, NSAID) zu vermuteten Metaboliten (dem Amid **182** und dem Phenol **15**) in Milligramm Mengen oxidiert werden (Tabelle 11). Chemische Synthesen des Phenols **15** benötigten mehrere Stufen und lieferten schlechtere Ausbeuten (25 %, 42 %).^[78]

Tabelle 11: Präparative mikrofluidische Elektrosynthese von Wirkstoffmetaboliten.

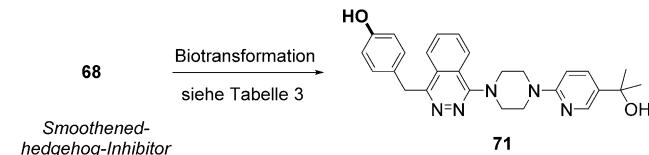


[a] 8 Fmol⁻¹, NaHCO₃, MeCN/H₂O (1:1). [b] 10 Fmol⁻¹, NaHSO₃, MeCN/H₂O (1:1).

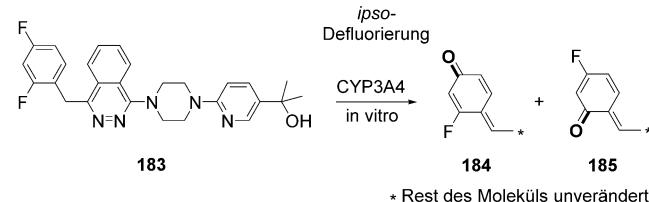
5. Andere Anwendungen: Strategien zur Verhinderung des metabolischen Abbaus

Eine verbreitete Strategie zur Reduktion der CYP-Oxidation ist die Einführung elektronenziehender blockierender Gruppen (Fluor, Chlor, Trifluormethyl usw.) unmittelbar an der Angriffsstelle des Metabolismus. Ein Beispiel ist der Versuch, die mikrosomale Stabilität zu erhöhen und die mögliche Chinonmethid-Bildung zu dämpfen, indem man den „Smoothened“-Antagonisten mit konventionellen Verfahren in sein Difluorderivat **183** überführte (Schema 22; der *para*-Hydroxymetabolit **71** wurde bereits in Tabelle 3 in Abschnitt 2.3.2 vorgestellt). Die Transformation genügte jedoch nicht, um die beschriebene Situation zu verbessern. CYP-vermittelte *ipso*-Defluorierungen laufen leicht unter Bildung von **184** und **185** ab, wie durch LC/MS und Glutathion-Abfangstudien bestätigt wurde.^[79] Mit diesem Beispiel soll verdeutlicht werden, dass der Ersatz eines Wasserstoffatoms durch ein Halogenatom mitnichten eine unfehlbare Strategie ist, um die Ausscheidung zu verringern oder um die Bildung

a) Isolierung des vermuteten *para*-Hydroxy-Metaboliten **71**



b) Fehlgeschlagener Versuch, die Aryloxidation zu verhindern



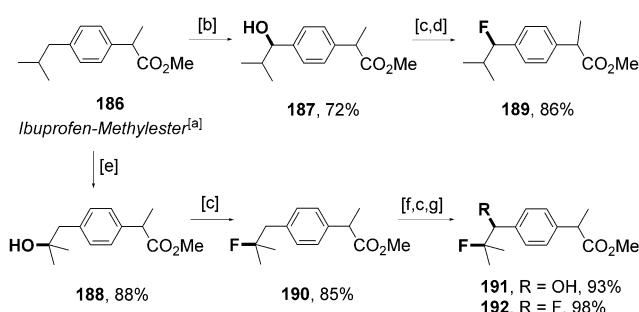
Schema 22. Gescheiterter Versuch, die Bildung des *para*-Hydroxy-Metaboliten **71** durch das 2,4-Difluoranalogon **183** zu unterdrücken.

reaktiver Zwischenprodukte zu vermeiden. Während die oben beschriebene Art von Reaktivität neu und noch selten ist, kommt es sehr oft vor, dass durch die Blockade eines möglichen Angriffspunktes die CYPs einfach auf eine andere Position umgelenkt werden („Hase und Igel“). Der Medizinalchemiker muss also ständig den möglichen Nutzen dieser Strategie gegen die Einfachheit der Synthese abwägen.

Andererseits findet man in der Literatur aber auch verschiedene Beispiele, in denen mit Fluor erfolgreich Schwachstellen einer Verbindung blockiert und so die metabolische Stabilität von Wirkstoffen verbessert wurde. Zusammengefasst stellen sie ein überzeugendes Plädoyer für die Entwicklung direkter C-H-Halogenierungen^[80] und Tandem- oder sequenzieller C-H-Hydroxylierungen/Halogenierungen sowie ihre Anwendung auf Wirkstoffgerüste dar. Mit dieser Strategie ist auch die C-H-¹⁸F-Markierung von Substanzen möglich, für die es zur Anwendung in PET-Studien einen dringenden Bedarf gibt. Wir stellen hier interessante Strategien und Reaktionen zu diesem Thema zusammen.

Die Gruppe um Fasan entwickelte eine robuste und elegante zweistufige chemoenzymatische Strategie, in der die Metabolite in einem ersten Schritt durch Biokatalysatoren erzeugt und dann mit chemischen Verfahren in ihre Fluoride umgewandelt werden.^[81] Diese Sequenz wurde auf den Ibuprofen-Ester **186** angewendet (Schema 23). Die Biokatalyse-Screeningplattform enthält Varianten von P450_{BM3} von *Bacillus megaterium*, einer katalytisch unspezifischen Hydroxylase langketiger Fettsäuren. Aus dieser Plattform wurden die Varianten var-B4 und var-G4 identifiziert, die das Substrat an Benzyl- und Isobutyl-C-H-Bindungen oxidieren können. Diese Enzyme wurden dann verwendet, um die hydroxylierten Analoga **187** und **188** in größeren Mengen verfügbar zu machen. Diese wurden dann mit Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) zu den Fluorderivaten **189** und **190** umgesetzt. Daneben wurde auch die Variante var-B2 identifiziert, die **190** zu dem Analogon **191** umsetzen kann.

Das Einführen von ¹⁸F über eine C-H-Funktionalisierung am Ende der Synthese ist eine Herausforderung, aber wohl



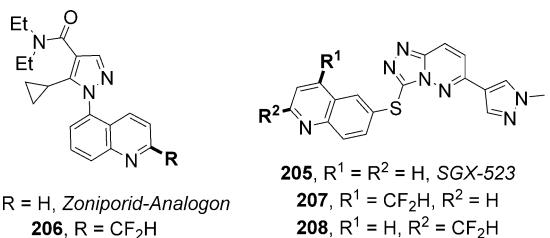
Schema 23: Synthese fluorierter Ibuprofen-Analoga (**189**, **190**, **191**, **192**). [b] 0.1 Mol-% var-B4. [c] DAST (1.4 Äquiv.), DCM, -78 °C, 12 h. [d] d.r. 1:3.2; Hauptprodukt: 19% ee; Nebenprodukt: 44% ee. [e] 0.05 Mol-% var-G4. [f] 0.06 mol % var-B2. [g] 1.2 Äquiv. DAST anstelle von 1.4 Äquiv.; d.r. 1:3.7; Hauptprodukt: 9% ee; Nebenprodukt: 9% ee. DAST = Diethylaminoschweifeltrifluorid.

eine, die sich ideal für die Herstellung von PET-Liganden eignet. Vor kurzem beschrieben Hooker, Groves et al. einen Mangan(salen)-Komplex, der eine einzigartige Reaktivität und Selektivität gegenüber benzylichen C-H-Bindungen in komplexen Pharmazeutika aufweist.^[82] In der Reaktion wird durch PhIO als Oxidationsmittel eine Mn^{IV}-Oxo-Zwischenstufe gebildet, die für die Wasserstoffabstraktion erforderlich ist (Tabelle 12). Das entstehende Benzylkation wird dann nach dem Vorschlag der Autoren von einem Fluoridanion abgefangen. Mithilfe dieses katalytischen Systems wurden Wirkstoffe mit moderaten bis guten Ausbeuten in der benzylichen Position markiert. Die ¹⁸F-Variante dieser Reaktion war zuvor von den Autoren beschrieben worden.^[83] Die

Produkte dieser Reaktionen sollten stabiler gegenüber einem CYP-vermittelten Angriff sein.

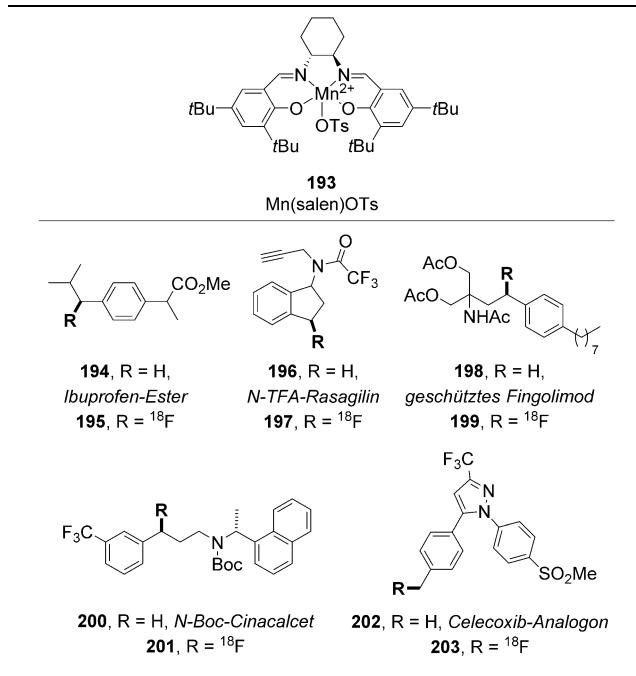
Es ist ziemlich schwierig, die Umsetzung von Wirkstoffkandidaten durch Aldehydoxidasen (AOs) vorherzusagen. Meist greifen AOs elektronenarme Heteroarene, Aldehyde und Iminiumionen an. Die Arbeitsgruppe um Baran berichtete gemeinsam mit Wissenschaftlern von Pfizer, dass die Reaktivität eines Azaheteroarens gegen Bis(((difluormethyl)sulfinyl)oxy)zink (DFMS) der Zugänglichkeit für AOs vergleichsweise nahe kommt (Tabelle 13).^[84] Eine Auswahl bekannter AO-Substrate und Nicht-Substrate wurde diesem neuen „Lackmus“-Test unterworfen, um eine empirische Korrelation aufzubauen. Dazu gehörten das Analogon **204** von Zoniporid (herzschützend) und SGX-523 (**205**, MET-Rezeptor-Tyrosinkinase-Inhibitor), zwei bekannte AO-Substrate. Im Allgemeinen wurde eine starke Korrelation zwischen der Anfälligkeit für AO-Oxidation und einer Reaktion mit DFMS bestätigt. Außerdem eröffnen die Reaktionen einen Zugang zu Analoga, die man für stabil gegen AOs hält.

Tabelle 13: DFMS-Test als Modell für die AOs-Reaktivität.



[a] Zn(SO₂CF₃H)₂ (DFMS), TFA, tBuO₂H, DMSO.

Tabelle 12: Einführung von radioaktivem Fluor in eine C-H-Bindung mit dem Salen-Komplex **193** in einem späten Syntheseschritt.



[a] Mn(salen)OTs (10 Mol-%), PhIO (1.0 Äquiv.), [¹⁸F]F⁻, K₂CO₃, Aceton, Luft, 50°C, 10 min.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Es ist offensichtlich, dass das Feld der Chemotransformationen von den Methoden profitiert hat, die für andere Substrate als komplexe Pharmazeutika entwickelt oder an ihnen getestet wurden. Es gibt jedoch, wie in diesem Aufsatz gezeigt wurde, noch große Lücken. Damit dieses Feld die Biotransformation ergänzen kann, müssen neue Methoden entwickelt und automatisiert werden. Zusammen mit der C-H-Halogenierungen^[83-87] könnten diese Verfahren und Techniken (z.B. präparative Mikrofluidik^[77] und EC) eine neue Ära der Medizinalchemie einleiten, in der die Metabolitenprofilierung nicht mehr als lästige Pflicht empfunden wird, sondern als Gelegenheit, Bibliotheken zu erweitern, neue Struktur-Aktivitäts-Beziehungen zu etablieren und letztlich die Entdeckung wirksamerer und sicherer Medikamente zu erleichtern.

Danksagungen

Wir danken dem Novartis Office of Education, Diversity and Inclusion für die Verleihung der Presidential Postdoctoral Fellowship (J.G.).

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 14218–14238
Angew. Chem. **2016**, *128*, 14430–14451

- [1] a) L. C. Wienkers, T. G. Heath, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2005**, *4*, 825–833; b) T. C. Goosen, V. Peterkin, J. R. Koup, S. E. Ball, *Drug Metab. Dispos.* **2004**, *32*, 1201–1208.
- [2] a) J. Genovino, S. Lütz, D. Sames, B. B. Touré, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 12346–12352; b) K. Godula, D. Sames, *Science* **2006**, *312*, 67–72; c) M. C. White, *Science* **2012**, *335*, 807–809.
- [3] A. F. Stepan, V. Mascitti, K. Beaumont, A. S. Kalgutkar, *Med. Chem. Commun.* **2013**, *4*, 631–652.
- [4] a) M. Jurima-Romet, K. Crawford, T. Cyr, T. Inaba, *Drug Metab. Dispos.* **1994**, *22*, 849–857; b) J. Hilbert, E. Radwanski, R. Weglein, V. Luc, G. Perentesis, S. Symchowicz, N. Zampaglione, *J. Clin. Pharmacol.* **1987**, *27*, 694–698; c) D. R. Taft, G. R. Iyer, L. Behar, R. V. Digregorio, *Drug Metab. Dispos.* **1997**, *25*, 1215–1218; d) G. A. Johnson, K. J. Barsuhn, J. M. McCall, *Drug Metab. Dispos.* **1983**, *11*, 507–508; e) J. M. Pereillo, M. Maftouh, A. Andrieu, M. F. Uzabiaga, O. Fedeli, P. Savi, M. Pascal, J. M. Herbert, J. P. Maffrand, C. Picard, *Drug Metab. Dispos.* **2002**, *30*, 1288–1295; f) J. E. Patrick, T. Kosoglou, K. L. Stauber, K. B. Alton, S. E. Maxwell, Y. Zhu, P. Statkevich, R. Iannucci, S. Chowdhury, M. Affrime, M. N. Cayen, *Drug Metab. Dispos.* **2002**, *30*, 430–437; g) R. O. Davies, H. J. Gomez, J. D. Irvin, J. F. Walker, *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1984**, *18*, 215S–229S; h) H. S. Smith, *Mayo Clin. Proc.* **2009**, *84*, 613–624; i) M. Hermann, H. Christensen, J. L. Reubaert, *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *382*, 1242–1249; j) V. N. Hirani, J. L. Raucy, J. M. Lasker, *Drug Metab. Dispos.* **2004**, *32*, 1462–1467.
- [5] C.-M. Loi, D. A. Smith, D. Dalvie, *Drug Metab. Dispos.* **2013**, *41*, 933–951.
- [6] a) A. F. Stepan, D. P. Walker, J. Bauman, D. A. Price, T. A. Baillie, A. S. Kalgutkar, M. D. Aleo, *Chem. Res. Toxicol.* **2011**, *24*, 1345–1410; b) A. S. Kalgutkar, I. Gardner, R. S. Obach, C. L. Shaffer, E. Callegari, K. R. Henne, A. E. Mutlib, D. K. Dalvie, J. S. Lee, Y. Nakai, J. P. O'Donnell, J. Boer, S. P. Harriman, *Curr. Drug Metab.* **2005**, *6*, 161–225.
- [7] D. A. Smith, R. S. Obach, *Chem. Res. Toxicol.* **2009**, *22*, 267–279.
- [8] Eine ausgezeichnete Übersicht, die für den Einsatz der Biotransformation für einen ähnlichen Zweck wirbt, findet sich bei A. Fura, Y.-Z. Shu, M. Zhu, R. L. Hanson, V. Roongta, W. G. Humphreys, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 4339–4351.
- [9] F. Li, F. J. Gonzalez, X. Ma, *Acta Pharm. Sin. B* **2012**, *2*, 118–125.
- [10] R. L. Walsky, R. S. Obach, *Drug Metab. Dispos.* **2004**, *32*, 647–660.
- [11] G. S. Walker, T. F. Ryder, R. Sharma, E. B. Smith, A. Freund, *Drug Metab. Dispos.* **2011**, *39*, 433–440.
- [12] T. Zhang, Y. Liu, X. Yang, G. E. Martin, H. Yao, J. Shang, R. M. Bugianesi, K. P. Ellsworth, L. M. Sonatore, P. Nizner, E. C. Sherer, S. E. Hill, I. W. Knemeyer, W. M. Geissler, P. J. Dandliker, R. Helmy, H. B. Wood, *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 1818–1829.
- [13] a) K. Schroer, M. Kittelmann, S. Lütz, *Biotechnol. Bioeng.* **2010**, *106*, 699–706; b) F. P. Guengerich, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2002**, *1*, 359–366.
- [14] J. Genovino, D. Sames, B. B. Touré, *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 3066–3069.
- [15] K. P. Cusack, H. F. Koolman, U. E. W. Lange, H. M. Peltier, I. Piel, A. Vasudevan, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 5471–5483.
- [16] Eine Übersicht zur Literatur über Biotransformation für das Jahr 2015: T. A. Baillie, D. Dalvie, I. M. C. M. Rietjens, S. C. Khojasteh, *Drug Metab. Rev.* **2016**, *48*, 113–138.
- [17] R. B. Vail, M. J. Homann, I. Hanna, A. Zaks, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, *32*, 67–74.
- [18] J. Kiebist, W. Holla, J. Heidrich, M. Poraj-Kobielska, M. Sandvoss, R. Simonis, G. Gröbe, J. Atzrodt, M. Hofrichter, K. Scheibner, *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 4324–4332.
- [19] Aktuelle Übersichtsartikel: a) J. M. Behrendorff, W. Huang, E. M. Gillam, *Biochem. J.* **2015**, *467*, 1–15; b) R. Fasan, *ACS Catal.* **2012**, *2*, 647–666.
- [20] X. Ren, J. A. Yorke, E. Taylor, T. Zhang, W. Zhou, L.-L. Wong, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 15039–15047.
- [21] W. Li, J. L. Josephs, G. L. Skiles, W. G. Humphreys, *Drug Metab. Dispos.* **2008**, *36*, 721–730.
- [22] H. Zhang, D. Zhang, W. Li, M. Yao, C. D'Arizenzo, Y.-X. Li, W. R. Ewing, Z. Gu, Y. Zhu, N. Murugesan, W.-C. Shyu, W. G. Humphreys, *Drug Metab. Dispos.* **2007**, *35*, 795–805.
- [23] a) Übersichtsartikel über enzymatische C-H-Funktionalisierung: J. C. Lewis, P. S. Coelho, F. H. Arnold, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2003–2021; b) Übersichtsartikel über enzymatische Hydroxylierung von Arenen: R. Ullrich, M. Hofrichter, *Cell. Mol. Life Sci.* **2007**, *64*, 271–293.
- [24] a) M. Costas, M. P. Mehn, M. P. Jensen, L. Que, Jr., *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 939–986; b) J. Bernadou, B. Meunier, *Adv. Synth. Catal.* **2004**, *346*, 171–184; c) D. A. Alonso, C. Nájera, I. M. Pastor, M. Yus, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 5274–5284; d) M. C. Feiters, A. E. Rowan, R. J. M. Nolte, *Chem. Soc. Rev.* **2000**, *29*, 375–384; e) S. R. Bell, J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9640–9641; f) J. Yoon, S. A. Wilson, Y. K. Jang, M. S. Seo, K. Nehru, B. Hedman, K. O. Hodgson, E. Bill, E. I. Solomon, W. Nam, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1257–1260; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 1283–1286; g) K. Ray, F. F. Pfaff, B. Wang, W. Nam, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 13942–13958; h) C.-M. Che, J. S. Huang, *Chem. Commun.* **2009**, 3996–4015.
- [25] a) B. B. Brodie, J. Axelrod, P. A. Shore, S. Udenfriend, *J. Biol. Chem.* **1954**, *208*, 731–739; b) B. B. Brodie, J. Axelrod, P. A. Shore, S. Udenfriend, *J. Biol. Chem.* **1954**, *208*, 741–750.
- [26] a) E. Boyland, M. Kimura, P. Sims, *Biochem. J.* **1964**, *92*, 631–638; b) M. M. T. Khan, R. S. Shukla, A. P. Rao, *Inorg. Chem.* **1989**, *28*, 452–458; c) M. Blanchard, C. Bouchoule, G. Djanevey-Boundjou, P. Canesson, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 2177–2178.
- [27] G. A. Hamilton, R. J. Workman, L. Woo, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 3390–3391.
- [28] R. Slavik, J.-U. Peters, R. Giger, M. Bürkler, E. Bald, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 749–752.
- [29] M. A. Masood, E. Farrant, I. Morao, M. Bazin, M. Perez, M. E. Bunnage, S.-A. Fancy, T. Peakman, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 723–728.
- [30] M. A. Masood, M. Bazin, M. E. Bunnage, A. Calabrese, M. Cox, S.-A. Fancy, E. Farrant, D. W. Pearce, M. Perez, L. Hitzel, T. Peakman, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 1255–1262.
- [31] M. J. Bazin, H. Shi, J. Delaney, B. Kline, Z. Zhu, C. Kuhn, F. Berlioz, K. A. Farley, G. Fate, W. Lam, G. S. Walker, L. Yu, M. P. Pollastrini, *Chem. Biol. Drug Des.* **2007**, *70*, 354–359.
- [32] Q. Michaudel, G. Journot, A. Regueiro-Ren, A. Goswami, Z. Guo, T. P. Tully, L. Zou, R. O. Ramabhadran, K. N. Houk, P. S. Baran, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 12091–12096; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 12287–12292.
- [33] a) E. M. Simmons, J. F. Hartwig, *Nature* **2012**, *483*, 70–73; b) B. Li, M. Driess, J. F. Hartwig, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 6586–6589.
- [34] Ein anderes Beispiel einer Dioxiran-begünstigten Oxidation eines biologisch aktiven Moleküls: P. A. Wender, M. K. Hilinski, A. V. W. Mayweg, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 79–82.
- [35] M. Poraj-Kobielska, M. Kinne, R. Ullrich, K. Scheibner, G. Kayser, K. E. Hammel, M. Hofrichter, *Biochem. Pharmacol.* **2011**, *82*, 789–796.
- [36] K. Zhang, B. M. Shafer, M. D. Demars II, H. A. Stern, R. Fasan, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 18695–18704.
- [37] U. S. H. Svensson, M. Ashton, *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1999**, *48*, 528–535.

- [38] a) P. E. Gormisky, M. C. White, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 14052–14055; b) M. A. Bigi, S. A. Reed, M. C. White, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 9721–9726; c) M. A. Bigi, S. A. Reed, M. C. White, *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 216–222; d) M. S. Chen, M. C. White, *Science* **2007**, *318*, 783–787; e) M. S. Chen, M. C. White, *Science* **2010**, *327*, 566–571.
- [39] M. Landwehr, L. Hochrein, C. R. Otey, A. Kasravian, J.-E. Bäckwall, F. H. Arnold, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6058–6059.
- [40] MetaSite ist eine Software, die die Positionen für einen Angriff und die Selektivität der Isoformen der wichtigsten humanen Cytochrome vorhersagt: a) G. Cruciani, E. Carosati, B. De Boeck, K. Ethirajulu, C. Mackie, T. Howe, R. Vianello, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6970–6979; b) M. Trunzer, B. Faller, B. Zimmerlin, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 329–335.
- [41] Über 30 Metabolite wurden bei der entsprechenden analytischen Durchmusterung der Biotransformationen gefunden, von denen manche weniger als 4% ausmachten.
- [42] a) T. Newhouse, P. S. Baran, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3362–3374; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 3422–3435; b) M. C. Bryan, B. Dillon, L. G. Hamann, G. J. Hughes, M. E. Kopach, E. A. Peterson, M. Pourashraf, I. Raheem, P. Richardson, D. Richter, H. F. Sneddon, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 6007–6021; c) T. Cernak, K. D. Dykstra, S. Tyagarajan, P. Vachalb, S. W. Krskab, *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 546–576.
- [43] T. J. Ritchie, S. Macdonald, *J. Drug Discovery Today* **2009**, *14*, 1011–1020.
- [44] a) F. Lovering, *Med. Chem. Commun.* **2013**, *4*, 515–519; b) F. Lovering, J. Bikker, C. Humblet, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6752–6756.
- [45] H. Su, D. W. Boulton, A. Barros, Jr., L. Wang, K. Cao, S. J. Bonacorsi, Jr., R. A. Iyer, W. G. Humphreys, L. J. Christopher, *Drug Metab. Dispos.* **2012**, *40*, 1345–1356.
- [46] a) E. McNeill, J. Du Bois, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 10202–10204; b) E. McNeill, J. Du Bois, *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 1810–1813.
- [47] a) B. D. Dangel, J. A. Johnson, D. Sames, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8149–8150. b) Ein Beispiel für die selektive Oxidation einer primären C–H-Bindung findet sich in M. Lee, M. S. Sanford, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 12796–12799; c) A. M. Adams, J. Du Bois, H. A. Malik, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 6066–6069; d) J. M. Howell, K. Feng, J. R. Clark, L. J. Trzepkowski, M. C. White, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 14590–14593.
- [48] J. C. Lewis, S. M. Mantovani, Y. Fu, C. D. Snow, R. S. Komor, C. H. Wong, F. H. Arnold, *ChemBioChem* **2010**, *11*, 2502–2505.
- [49] a) K. Moriyama, M. Takemura, H. Togo, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 2414–2417; b) K. C. Nicolaou, P. S. Baran, Y.-L. Zhong, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3183–3185; c) V. N. Telvekar, K. A. Sasane, *Synth. Commun.* **2012**, *42*, 1325–1329; d) A. Shaabani, P. Mirzaei, S. Naderia, D. G. Lee, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 11415–11420; e) J. Liu, X. Zhang, H. Yi, C. Liu, R. Liu, H. Zhang, K. Zhuo, A. Lei, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 1–6; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 1–1; f) J. De Houwer, K. A. Tehrani, B. U. W. Maes, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 2745–2748; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 2799–2802; g) H. Sterckx, J. De Houwer, C. Mensch, I. Caretti, K. A. Tehrani, W. A. Herrebout, S. Van Doorslaer, B. U. W. Maes, *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 346–357; h) H. R. Lucas, L. Li, A. A. N. Sarjeant, M. A. Vance, E. I. Solomon, K. D. Karlin, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3230–3245; i) S.-J. Li, Y.-G. Wang, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8013–8015; j) Y. Bonvin, E. Callens, I. Larrosa, D. A. Henderson, J. Oldham, A. J. Burton, A. G. M. Barrett, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4549–4552; k) B. M. Choudary, A. D. Prasad, V. Bhuma, V. Swapna, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 5841–5844; l) H. Wójtowicz, G. Soroko, J. Młochowski, *Synth. Commun.* **2008**, *38*, 2000–2010.
- [50] Dieser Aufsatz beschränkt sich auf die C–O-Bindungsknüpfung bei der Bildung von Alkoholen und Ketonen. Benzylische C–H-Methoxylierungen und Veresterungen, die für einfache Substrate bekannt sind, wurden in dieser Liste nicht berücksichtigt, obwohl sie wertvoll als Schutzgruppen für die Angriffsstellen des Stoffwechsels sind oder Benzylalkohole durch Esterspaltung erzeugen können.
- [51] M. A. Larsen, C. V. Wilson, J. F. Hartwig, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 8633–8643.
- [52] A. A. Toutov, W.-B. Liu, K. N. Betz, A. Fedorov, B. M. Stoltz, R. H. Grubbs, *Nature* **2015**, *518*, 80–84.
- [53] a) A. K. Cook, M. S. Sanford, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 3109–3118; b) M. H. Emmert, A. K. Cook, Y. J. Xie, M. S. Sanford, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 9409–9412; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 9581–9584.
- [54] N. Raghavan, D. Zhang, M. Shu, J. Zeng, L. Christopher, *Drug Metab. Dispos.* **2005**, *33*, 203–208.
- [55] J. S. Scott, A. M. Birch, K. J. Brocklehurst, A. Broo, H. S. Brown, R. J. Butlin, D. S. Clarke, Ö. Davidsson, A. Ertan, K. Goldberg, S. D. Groombridge, J. A. Hudson, D. Laber, A. G. Leach, P. A. MacFaul, D. McKerrecher, A. Pickup, P. Schofield, P. H. Svensson, P. Sörme, J. Teague, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 5361–5379.
- [56] M. A. Larsen, J. F. Hartwig, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 4287–4299.
- [57] C. Cheng, J. F. Hartwig, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 592–595.
- [58] C. Cheng, J. F. Hartwig, *Science* **2014**, *343*, 853–857.
- [59] a) P. R. Ortiz de Montellano, J. J. De Voss, *Substrate Oxidation by Cytochrome P450 Enzymes. Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry*, 3. Aufl., Academic/Plenum, New York, **2005**; b) F. P. Guengerich, *Curr. Drug Metab.* **2001**, *2*, 93–115.
- [60] a) Aktueller Übersichtsartikel über aerobe Oxidation von Aminen: M. T. Schümperli, C. Hammond, I. Hermans, *ACS Catal.* **2012**, *2*, 1108–1117; b) Ru-katalysierte Oxidation einfacher Amine: D. Milstein, Y. Ben-David, J. R. Khusnutdinova, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 2998–3001; c) Rh-katalysierte N-Dealkylierung von Aminen an einfachen Substraten: Z. Ling, L. Yun, L. Liu, B. Wu, X. Fu, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 4214–4216.
- [61] Eisenkatalysierte Oxidation einfacher tertiärer Amine zu Formamiden mit FeCl_3 , Picolinsäure und PhCO_3fBu : C. J. Legacy, A. Wang, B. J. O'Day, M. H. Emmert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 14907–14910; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 15120–15123.
- [62] Ein frühes Beispiel für die Oxidation einfacher Amine: a) S.-I. Murahashi, T. Naota, H. Taki, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1985**, 613–614; b) S.-I. Murahashi, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2443–2465; *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2670–2693; c) S.-I. Murahashi, *Proc. Jpn. Acad. Ser. B* **2011**, *87*, 242–253.
- [63] N. F. Goldshleger, M. B. Tyabin, A. E. Shilov, A. A. Shtainman, *Russ. J. Phys. Chem. USSR* **1969**, *43*, 1222–1223.
- [64] C. Yuan, Y. Liang, T. Hernandez, A. Berriochoa, K. N. Houk, D. Siegel, *Nature* **2013**, *499*, 192–196.
- [65] Y. Cao, L. Wang, Z. Lin, F. Liang, Z. Pei, J. Xua, Q. Gu, *Med. Chem. Commun.* **2014**, *5*, 1736–1743.
- [66] a) F. Yang, K. Rauch, K. Kettelhoit, L. Ackermann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 1–5; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 1–1; b) G. Shan, X. Yang, L. Ma, Y. Rao, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 13070–13074; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 13247–13251; c) Y.-H. Zhang, J.-Q. Yu, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 14654–14655; d) F. Péron, C. Fossey, J. S.-d. O. Santos, T. Cailly, F. Fabis, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 7507–7513; e) S.-Z. Sun, M. Shang, H.-L. Wang, H.-X. Lin, H.-X. Dai, J.-Q. Yu, *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 8843–8848; f) C. Huang, N. Ghavtadze, B. Chattopadhyay, V. Gevorgyan, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 17630–17633; g) D. Kalyani, M. S. Sanford, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4149–4152; h) X. Chen, X.-S. Hao, C. E. Goodhue, J.-Q. Yu, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6790–6791; i) T. Yamaguchi, E. Yamaguchi, N. Tada, A. Itoh, *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 2017–2021; j) L. V. Desai,

- H. A. Malik, M. S. Sanford, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1141–1144; k) A. R. Dick, K. L. Hull, M. S. Sanford, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2300–2301; l) A. J. Roering, L. V. A. Hale, P. A. Squier, M. A. Ringgold, E. R. Wiederspan, T. B. Clark, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3558–3561; m) E. M. Simmons, J. F. Hartwig, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 17092–17095; n) J. Gallardo-Donaire, R. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 9350–9353.
- [67] a) T. Gul, R. Bischoff, H. P. Permentier, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2015**, *70*, 58–66; b) U. Jurva, L. Weidolf, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2015**, *70*, 92–99; c) U. Karst, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2476–2478; *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 2530–2532.
- [68] K. G. Madsen, J. Olsen, C. Skonberg, S. H. Hansen, U. Jurva, *Chem. Res. Toxicol.* **2007**, *20*, 821–831.
- [69] E. Nouri-Nigjeh, H. P. Permentier, R. Bischoff, A. P. Bruins, *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 5519–5525.
- [70] U. Jurva, H. V. Wikstrom, A. P. Bruins, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2002**, *16*, 1934–1940.
- [71] T. Johansson, L. Weidolf, U. Jurva, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2007**, *21*, 2323–2331.
- [72] A. P. Tomilov, I. N. Chernykh, *Pharm. Chem. J.* **1994**, *28*, 34–41.
- [73] E. Nouri-Nigjeh, H. P. Permentier, R. Bischoff, A. P. Bruins, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 7625–7633.
- [74] A. Khera, N. Hu, *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405*, 6009–6018.
- [75] T. Yuan, H. P. Permentier, R. Bischoff, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2015**, *70*, 50–57.
- [76] E. Schneider, D. S. Clark, *Biosens. Bioelectron.* **2013**, *39*, 1–13.
- [77] R. Stalder, G. P. Roth, *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 1119–1123.
- [78] a) D. J. Waldon, Y. Teffera, A. E. Colletti, J. Liu, D. Zurcher, K. W. Copeland, Z. Zhao, *Chem. Res. Toxicol.* **2010**, *23*, 1947–1953; b) J. R. Kenny, J. L. Maggs, X. Meng, D. Sinnott, S. E. Clarke, B. K. Park, A. V. Stachulski, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2816–2825.
- [79] M. Gunduz, U. A. Argikar, A. Kamel, K. Colizza, J. L. Bushee, A. Cirello, F. Lombardo, S. Harriman, *Drug Metab. Dispos.* **2012**, *40*, 2074–2080.
- [80] W. Liu, J. T. Groves, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 1727–1735.
- [81] A. Rentmeister, F. H. Arnold, R. Fasan, *Nat. Chem. Biol.* **2009**, *5*, 26–28.
- [82] X. Huang, W. Liu, H. Ren, R. Neelamegam, J. M. Hooker, J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 6842–6845.
- [83] a) W. Liu, X. Huang, J. T. Groves, *Nat. Protoc.* **2013**, *8*, 2348–2354; b) W. Liu, J. T. Groves, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 6024–6027; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 6140–6143; c) W. Liu, X. Huang, M.-J. Cheng, R. J. Nielsen, W. A. Goddard III, J. T. Groves, *Science* **2012**, *337*, 1322–1325; d) W. Liu, J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 12847–12849.
- [84] F. O'Hara, A. C. Burns, M. R. Collins, D. Dalvie, M. A. Ornelas, A. D. N. Vaz, Y. Fujiwara, P. S. Baran, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 1616–1620.
- [85] P. Xu, S. Guo, L. Wang, P. Tang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 5955–5958; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 6065–6068.
- [86] T. V. Bright, F. Dalton, V. L. Elder, C. D. Murphy, N. K. O'Connor, G. Sandford, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 1135–1142.
- [87] T. Furuya, A. S. Kamlet, T. Ritter, *Nature* **2011**, *473*, 470–477.

Eingegangen am 15. März 2016,
veränderte Fassung am 8. Juni 2016
Online veröffentlicht am 10. Oktober 2016
Übersetzt von Dr. Burkard Neuß, Jülich