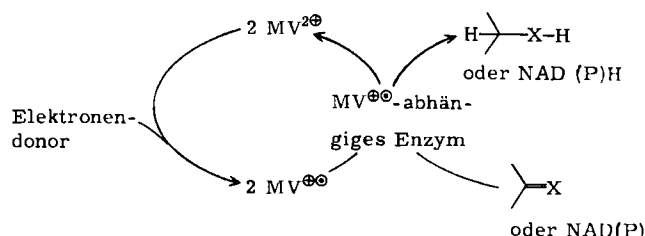


# Stereospezifische Reduktionen mit Wasserstoffgas, modifizierten Metallkatalysatoren, Methylviologen und Enzymen oder Mikroorganismen\*\*

Von Iordanes Thanos und Helmut Simon\*

Mit Reduktasen, die Elektronen von reduzierten Viologen wie Methylviologen ( $MV^{2+}$ ) aufnehmen können, lassen sich zahlreiche 2-Enoate und 2-Oxocarboxylate stereospezifisch reduzieren<sup>[1-3]</sup>. Dabei wird das in katalytischen Mengen vorhandene Methylviologen im Kreis geführt (Schema 1).



Schema 1. Methylviologen ( $MV^{2+}$ ) ist das *N,N'*-Dimethyl-4,4'-bipyridin Dikation.

$MV^{2+}$  haben wir bisher auf drei Wegen reduziert<sup>[1]</sup>: 1) Mit Wasserstoffgas in Kombination mit einer Hydrogenase, 2) mit Formiat in Kombination mit einer Formiat-Dehydrogenase und 3) elektrochemisch.

Wir haben nun gefunden, daß man Methylviologen und andere Viologene auch mit Palladium, Platin oder Raney-Nickel und Wasserstoffgas reduzieren kann, wenn man diese Katalysatoren mit fluorhaltigen Tensiden wie Zonyl®-FSC modifiziert<sup>[4,5]</sup>. In Gegenwart der so vorbehandelten Katalysatoren werden 2-Enoate oder 2-Oxocarboxylate von Wasserstoffgas nicht reduziert. Fügt man katalytische Mengen  $MV^{2+}$  und entsprechende Enzyme zu, so verläuft die Reduktion ausschließlich enzymatisch. Abbildung 1 zeigt ein typisches Ergebnis. Tiglinat **1a** wird durch Palladium und Wasserstoff rasch reduziert. Mit dem Tensid vorbehandeltes Palladium vermag im Verlauf von 25 h keine Wasserstoffaufnahme von **1a** zu bewirken. Werden

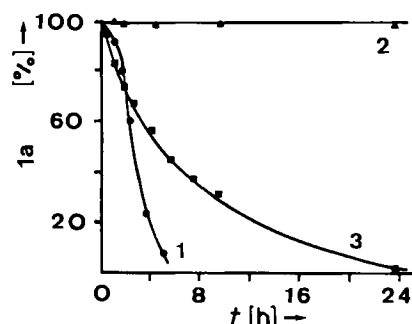


Abb. 1. Geschwindigkeit der Hydrierung von Tiglinat **1a** unter gleichen Bedingungen (80 mM **1a** in 10 mL 0.1 M Kaliumphosphatpuffer (pH 6.5) und 4 mM Methylviologen unter  $H_2$  bei Raumtemperatur geschüttelt), jedoch in Gegenwart verschiedener Katalysatoren. Kurve 1: 12 mg Palladium auf Kohle; Kurve 2: 12 mg modifiziertes Palladium auf Kohle und 12  $\mu$ L Zonyl®-FSC; Kurve 3: wie Kurve 2, jedoch zusätzlich 0.4 mg ( $\approx$  6 Einheiten) Enoat-Reduktase. Die Reaktionen wurden gaschromatographisch verfolgt.

einem solchen Ansatz  $MV^{2+}$  und Enoat-Reduktase zugegeben, so entsteht enantiomerenreines (*R*)-2-Methylbutyrat **2a**. Damit ergeben sich besonders einfache Systeme, die nur ein Enzym enthalten und den größeren Aufwand der elektrochemischen Zelle vermeiden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wurden die in die organische Phase überführten Produkte **2a** und **2b** nach Helmchen<sup>[6]</sup> mit (*R*)-2-Amino-2-phenylethanol

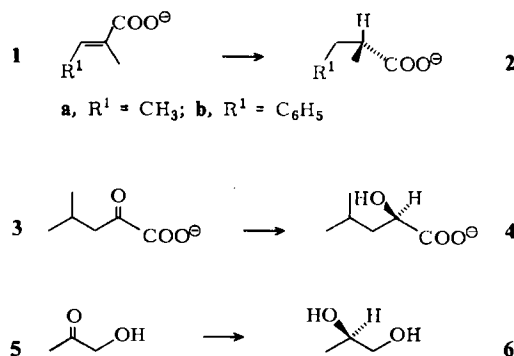


Tabelle 1. Reduktion der Substrate **1a**, **1b**, **3** und **5** mit  $H_2$ , modifizierten Metallkatalysatoren, Methylviologen und Biokatalysatoren (weitere experimentelle Bedingungen siehe Legende zu Abb. 1; Enzyme siehe [1]).

Versuch Nr.	Ansatzvolumen [mL]	Substrat [mM]	Produkt [% ee]	MV [mM]	Katalysator [mg]	Biokatalysator	Bemerkungen
1	10	<b>1a</b> (80)	<b>2a</b> (>97)	4	Pd [a] (12.2)	Enoat-Reduktase	$\geq$ 98% Produkt nach 15 h
2	3	<b>1b</b> (80)	<b>2b</b> (>97)	4	Pd [a] (27)	1.5 Einh. Enoat-Reduktase	
3	3.2	<b>1b</b> (70)	<b>2b</b> (>97)	3	Pt [b] (10)	1.5 Einh. Enoat-Reduktase	
4	3.2	<b>1b</b> (70)	<b>2b</b> (>97)	3	Ni [c] (10)	2 $\times$ 1.5 Einh. Enoat-Reduktase	
5	50	<b>3</b> (100)	<b>4</b> (>95)	4	Pd [a] (30)	2-Oxocarboxylat-Reduktase	>98% Produkt nach 50 h
6	10	<b>5</b> (100)	<b>6</b> [d]	3	Pd [a] (7)	140 mg <i>Candida utilis</i>	nach 9 h bei 25°C 90% 1,2-Propandiol

[a] Palladium auf Kohle, Gewichtsverhältnis 1:10, modifiziert mit Zonyl®-FSC. Gewichtsangabe inklusive Träger. [b] Nach Reduktion von  $PtO_2$  durch  $H_2$  mit Zonyl®-FSC modifiziert. [c] Raney-Nickel wurde mit Zonyl®-FSC modifiziert und nach drei Wochen verwendet. [d] ee-Wert dieses Materials nicht bestimmt. Der Hefestamm bildet jedoch (2*R*)-1,2-Propandiol **6** mit ee > 95% [1].

[\*] Prof. Dr. H. Simon, Dr. I. Thanos

Organisch-chemisches Institut der Technischen Universität München  
Lichtenbergstraße 4, D-8046 Garching

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Sonderforschungsbereich 145), der BASF und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Der Firma Costenoble, D-6236 Eschborn/Ts., danken wir für Zonyl®-Proben. Wir danken Frau C. Filser für engagierte technische Assistenz und Herrn A. S. Paxinos für Diskussionen.

nol umgesetzt; das ungereinigte Reaktionsgemisch wurde durch Umkehrphasen-HPLC untersucht, oder es wurde die Drehung der isolierten Produkte gemessen. In jedem Fall konnte bei der Chromatographie der Diastereomeren gemische, die in Kontrollversuchen durch Umsetzung von *rac*-**2a** und *rac*-**2b** mit (*R*)-2-Amino-2-phenylethanol erhalten wurden, Basislinientrennung erzielt werden.

Bei den bisher von uns verwendeten Verfahren<sup>[1,3]</sup> führt Enoat-Reduktase zu Produkten vom Typ **2a** und **2b** mit einem Enantiomerenüberschuß (*ee*) > 96–98%. (*ee* > 96% bedeutet, daß *ee* praktisch 100% sein kann.) Die Versuche 1–5 zeigen, daß der Enantiomerenüberschuß der chiralen Säuren sehr hoch ist. Dabei ist es unerheblich, ob modifiziertes Pd, Pt oder Raney-Nickel verwendet werden.

Die mit Zonyl®-FSC vorbehandelten Katalysatoren reduzieren Methylviologen mit ähnlicher Geschwindigkeit wie nicht vorbehandelte. Jedoch ist Methylviologen, z. B. in Gegenwart von vorbehandeltem Palladium, mehr als 500mal stabiler als in Gegenwart von unmodifiziertem Palladium. Das modifizierte Palladium greift auch das Pyridinnucleotidsystem nicht an. Nicht modifizierte Katalysatoren zerstören NAD(P) in einer Wasserstoffatmosphäre in ca. einer Stunde. Dies ist sehr wichtig, falls mit Methylviologen enzymatisch NAD(P)H gebildet wird, das dann durch eine entsprechende Reduktase verbraucht wird. Versuch 6 zeigt, daß es möglich ist, Hefe für Bioreduktionen über die modifizierten Katalysatoren und Methylviologen an Wasserstoffgas zu koppeln.

Bei den Versuchen in Tabelle 1 wurde zum Teil absichtlich relativ wenig Biokatalysator verwendet, um zu zeigen, daß die Systeme befriedigende Langzeitstabilitäten haben und daß die chiralen Produkte nicht racemisieren.

Wir sehen für die modifizierten Metallkatalysatoren folgende Anwendungsmöglichkeiten: 1) Ein-Enzym-Systeme mit einfacher Regenerierung billiger Mediatoren. 2) Ankoppeln vieler Mikroorganismen, die keine Hydrogenase haben, an Wasserstoffgas. Dies ist möglich, da viele Organismen enzymatisch NAD und/oder NADP mit MV<sup>2+</sup> reduzieren können<sup>[1,7]</sup>. 3) Beschleunigung der Wasserstoffaufnahme bei der Hydrierung von Substraten mit Hydrogenase-haltigen Organismen, wenn die Hydrogenaseaktivität limitierend ist.

Es ist von Vorteil, daß man den Verlauf der Reduktion durch den leicht beobachtbaren Wasserstoffverbrauch kontinuierlich verfolgen kann. Schließlich ist die Herstellung von reduziertem Methylviologen mit Wasserstoff und modifiziertem Palladium oder Platin bei präparativen enzymatischen Arbeiten den Verfahren mit Dithionit<sup>[8]</sup>, Zink<sup>[9]</sup> oder nicht modifiziertem Platin mit Wasserstoff als Reduktionsmittel weit überlegen. Bei der präparativen Anwendung dieser Verfahren würden Sulfit- bzw. Zink-Ionen in hohen Konzentrationen in die Systeme eingebracht werden; sowohl das Viologen als auch das Pyridinnucleotid sind in Gegenwart von unmodifiziertem Metall nur kurze Zeit stabil.

Eingegangen am 30. Dezember 1985 [Z 1607]

[1] H. Simon, J. Bader, H. Günther, S. Neumann, I. Thanos, *Angew. Chem.* 97 (1985) 541; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 539.

[2] H. Simon, H. Günther, J. Bader, S. Neumann, *Ciba Found. Symp.* 111 (1985) 97.

[3] H. Simon, J. Bader, H. Günther, S. Neumann, I. Thanos in A. I. Laskin et al. (Hrsg.): „Enzyme Engineering 7“, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 434 (1984) 171.

[4] **Arbeitsvorschrift:** In 20 mL 0.1 M Phosphatpuffer (pH 7) werden 60 mg Palladium auf Kohle (10% Palladium) oder 100 mg Platin oder 100 mg Raney-Nickel mit 120 µL Zonyl®-FSC [5] versetzt, nachdem vorher die Lösung von gelöstem Sauerstoff durch Begasen mit Wasserstoff befreit worden war. Unter Wasserstoff wird 15 h bei 35°C geschüttelt. Danach werden 2 mL 1 M Tris/HCl-Lösung (pH 7) zugesetzt. – Vor der Anwendung kann der Katalysator abzentrifugiert und in feuchtem Zustand im Arbeitspuffer, der ca. 30 ppm Zonyl®-FSC enthält, aufgenommen werden.

[5] Zonyl®-FSC ist ein Tensid der Zusammensetzung  $R_1(\text{CH}_2)_2\text{S}(\text{CH}_2)_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3 \text{CH}_3\text{SO}_3^-$  mit  $R_1 = \text{F}(\text{CF}_2)_{6-16}$ .

[6] G. Helmchen, G. Nill, D. Flockerzi, W. Schühle, M. S. K. Youssef, *Angew. Chem.* 91 (1979) 64; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 18 (1979) 63.

[7] J. Bader, H. Günther, S. Nagata, H. J. Schuetz, M. L. Link, H. Simon, *J. Biotechnol.* 1 (1984) 95.

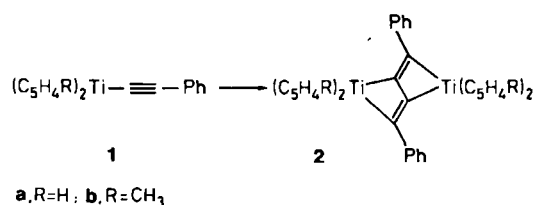
[8] K. Tsukahara, R. G. Wilkins, *J. Am. Chem. Soc.* 107 (1985) 2632. (In dieser Arbeit werden keine Enzyme verwendet, doch werden Kinetik und Literatur der Reduktion von Viologen durch Dithionit ausführlich behandelt.)

[9] P. A. Trudinger, *Anal. Biochem.* 36 (1970) 222.

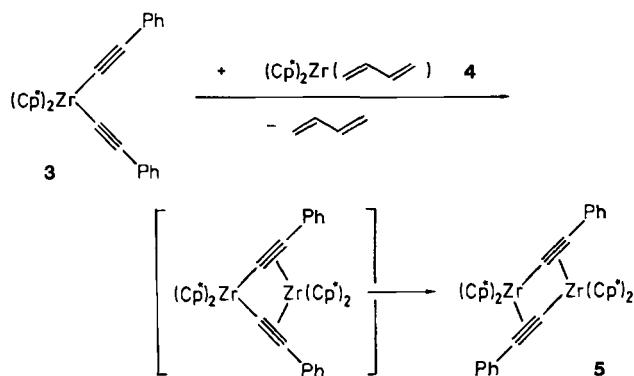
## Ungewöhnliche Verbrückung der Metallzentren im dimeren Bis(η-methylcyclopentadienyl)-phenylethynylzirconium\*\*

Von Gerhard Erker\*, Wolfgang Frömberg, Richard Mynott, Barbara Gabor und Carl Krüger

Die besonderen Bindungsverhältnisse gewinkelter Metallocene  $[\text{Cp}_2\text{M}]$  führen bei der Wechselwirkung mit organischen  $\pi$ -Systemen oft zu sehr ungewöhnlichen Komplexgeometrien<sup>[1]</sup>. Teuben und de Liefde Meijer beobachteten, daß (Phenylethynyl)titanocen **1a** noch unter den Herstellungsbedingungen spontan dimerisiert<sup>[2]</sup>. Am Methylcyclopentadienyl-Analogon **1b** klärten Stucky et al. röntgeno-



graphisch die ungewöhnliche CC-verknüpfte Struktur des stabilen zweikernigen Reaktionsproduktes **2b** auf<sup>[3]</sup>. Wir haben versucht, den entsprechenden Zirconiumkomplex auf einem ähnlichen Weg herzustellen. Dabei stellten wir überraschenderweise fest, daß in diesem System der Austausch des 3d-Elementes Titan gegen das 4d-Element Zirkonium den neuartigen Strukturtyp **5** begünstigt ( $\text{Cp}^* = \eta\text{-C}_5\text{H}_4\text{CH}_3$ ).



Bei der Umsetzung der Zirconocen-Derivate **3**<sup>[4]</sup> und **4**<sup>[5]</sup> bei Raumtemperatur bildete sich unter Abspaltung von Butadien langsam die schwerlösliche Verbindung **5**. Schon das IR-Spektrum zeigt, daß es sich bei **5** und **2** um ver-

\* Prof. Dr. G. Erker [\*], Dipl.-Chem. W. Frömberg, Dr. R. Mynott, Ing. grad. B. Gabor, Prof. Dr. C. Krüger  
Max-Planck-Institut für Kohlenforschung  
Kaiser-Wilhelm-Platz 1, D-4330 Mülheim a. d. Ruhr

[\*] Neue Adresse: Institut für Organische Chemie der Universität, Am Hubland, D-8700 Würzburg

\*\* Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert.