

- [10] D. Belluš, H.-C. Mez, G. Rihs, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1974, 884.
 [11] a) M. G. Bauwell, B. Halton, *Aust. J. Chem.* 32 (1979) 849, 2689; b) E. Vogel, W. Püttmann, W. Duchatsch, T. Schieb, H. Schmickler, J. Lex, *Angew. Chem.* 98 (1986) 727; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 25 (1986) 720; c) U. H. Brinker, H. Wüster, G. Maas, *Angew. Chem.* 99 (1987) 585; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 26 (1987) 577.
 [12] a) D. Davalin, P. J. Garatt, *J. Am. Chem. Soc.* 87 (1975) 6883; b) D. Davalin, P. J. Garatt, M. M. Mansuri, *ibid.* 100 (1978) 980; c) C. J. Seward, K. P. C. Vollhardt, *Tetrahedron Lett.* 1975, 4539.
 [13] V. Schomaker, K. N. Trueblood, *Acta Crystallogr. Sect. B* 24 (1968) 63.

Tris(2,2'-bipyridyl-5-sulfonsäure)rhodium(III), ein verbesserter Redoxkatalysator für die lichtinduzierte und die elektrochemisch initiierte enzymatische Reduktion von Carbonylverbindungen**

Von Marlene Franke und Eberhard Steckhan*

Viele enzymkatalysierte Reduktionen benötigen reduzierte Nicotinamid-Cofaktoren wie NADH oder NADPH als Reduktionsäquivalente. Auch in der Photosynthese spielen Nicotinamid-Cofaktoren eine bedeutende Rolle bei der Übertragung und Speicherung von Reduktionsäquivalenten. Um solche Reaktionen in biotechnologischen Prozessen oder für die Umwandlung und Speicherung von Sonnenenergie nutzen zu können, ist es notwendig, einfache und effektive chemische, insbesondere auch photochemische Methoden zur Regeneration der Cofaktoren zu entwickeln und diese möglichst in situ mit einer NAD(P)H-abhängigen Enzymreaktion zu koppeln. Am häufigsten wird die enzymkatalysierte Regeneration angewendet^[1]. Ein solcher Prozeß ist, wenn auch in der Technik oft weit entwickelt^[2], nicht optimal, da man meist mit je zwei Enzymen, Substraten und Produkten zu arbeiten hat. Das günstigste, auch technisch genutzte Verfahren verwendet Formiat-Dehydrogenase mit Formiat als Donor; dabei entsteht CO₂ als gasförmiges, nicht störendes Produkt^[2]. Es bleibt aber trotzdem von prinzipieller Bedeutung, alternative Methoden zu entwickeln, die ohne ein zweites Enzymsystem arbeiten. Hierfür kommen elektrochemische und photochemische Verfahren in Frage. Das schwer zu lösende Problem der nichtenzymatischen NADH-Regeneration besteht darin, daß Systeme gefunden werden müssen, die in der Lage sind, entweder *gleichzeitig* zwei Elektronen oder aber ein Hydrid-Ion auf NAD⁺ zu übertragen. Bei einer Einelektronenübertragung entsteht nämlich ein NAD-Radikal, das zu enzyminaktivem (NAD)₂ dimerisiert. Für die elektrochemische Regeneration kommen daher nur indirekte Verfahren^[3] in Frage. In einigen Arbeitsgruppen wurde gezeigt, daß die indirekte elektrochemische

NADH-Regeneration auch mit elektrochemisch erzeugten Einelektronenüberträgern möglich ist. Allerdings wird dazu erneut ein zusätzliches Enzymsystem benötigt^[4-6], das von den meist verwendeten Viologen-Radikalkationen in zwei Schritten zwei Elektronen übernehmen und diese dann gemeinsam auf NAD⁺ übertragen kann. Aussichtsreicher ist da der Versuch, intakte Mikroorganismen für die elektromikrobielle Reduktion zu verwenden^[6,7]. Auch für die besonders interessante photochemische in-situ-Regeneration von NAD(P)H wurden bisher nur Elektronenrelaisverbindungen verwendet, die Einelektronenüberträger sind und daher aus den eben genannten Gründen eines zusätzlichen Enzyms wie Ferredoxin-Reduktase oder Liponamid-Dehydrogenase bedürfen^[8]. Als Sensibilisatoren dienen in diesen Fällen [Ru(bpy)₃]²⁺ oder Zink(II)-meso-tetramethylpyridiniumporphyrin und als Donoren (NH₄)₃EDTA (EDTA = Ethylendiamintetraacetat) oder 2-Mercaptoethanol.

Wir hatten bereits früher gezeigt, daß auf ein zusätzliches Enzym oder den Einsatz von Mikroorganismen bei der indirekten elektrochemischen und photochemischen Regeneration verzichtet werden kann, wenn man elektrochemisch oder photochemisch erzeugte und regenerierte Zweielektronen- oder Hydridüberträger verwendet. Das ursprünglich als Redoxkatalysator bzw. Elektronenrelais benutzte Tris(2,2'-bipyridyl)rhodium(III) [Rh(bpy)₃]³⁺^[9] wies jedoch einige Nachteile auf. So führte das relativ negative Potential des Rhodiumkomplexes (−0.92 V vs. SCE) dazu, daß geringe Anteile (NAD)₂ durch direkte Reduktion von NAD⁺ an der Kathode entstanden. Außerdem wurde die Elektrodenoberfläche durch einen schwerlöslichen intermediären Rhodiumkomplex passiviert. Diese Probleme konnten wir durch Verwendung von Bipyridyl-5-sulfonsäure als Ligand L lösen. Die Sulfonsäure-Einheit in [Rh(L)₃]³⁺ sorgt für eine bessere Wasserlöslichkeit des Komplexes und seiner Zwischenstufen und verschiebt das Reduktionspotential um fast 200 mV zu positiveren Werten (*E*_p = −0.73 V vs. Ag/AgCl). Die NAD-Dimerisierung kann daher bei der elektrochemischen Reduktion dieses Komplexes in Gegenwart von NAD⁺ vollständig vermieden werden. Weitere Verbesserungen erbrachten ein Zusatz von Tetraethylenglycol und das Arbeiten mit relativ hohen Substratkonzentrationen. Wir elektrolysierten ein System, das aus 0.332 mmol des Komplexes [Rh(L)₃]³⁺, 0.15 mmol NAD⁺, 10.7 mg Pferdeleber-Alkohol-Dehydrogenase (HLADH) (16 Einheiten bezogen auf das System Ethanol/Acetaldehyd), 25.6 mmol Cyclohexanon sowie 3 mL Tetraethylenglycol in 80 mL Tris-H₂SO₄-Puffer von pH 7.4 bestand (Abb. 1). Bei einem Po-

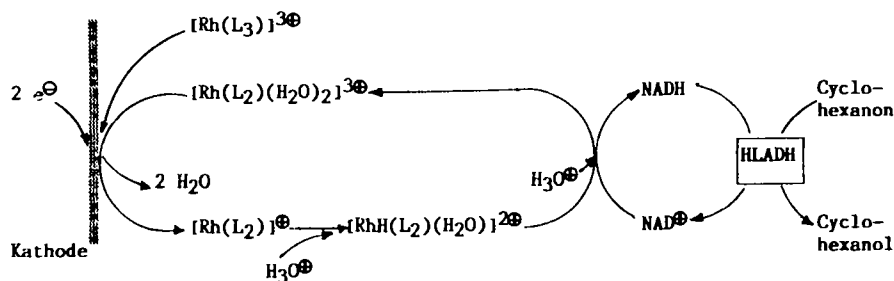


Abb. 1. Reaktionsschema der elektrochemisch initiierten enzymatischen Reduktion von Cyclohexanon, katalysiert durch Pferdeleber-Alkohol-Dehydrogenase und mit Tris(2,2'-bipyridyl-5-sulfonsäure)rhodium(III) [Rh(L)₃]³⁺ als Redoxkatalysator.

[*] Prof. Dr. E. Steckhan, Dipl.-Chem. M. Franke
 Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität
 Gerhard-Domagk-Straße 1, D-5300 Bonn

[**] Diese Arbeit wurde vom Minister für Wissenschaft und Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert.

tential von −0.73 V vs. Ag/AgCl konnten wir nach 33 Tagen 15.2 mmol Cyclohexanol nachweisen. Das entspricht 101 Cyclen bezogen auf NAD⁺ und 46 Cyclen bezogen auf den Rhodiumkomplex. Dabei wirkt offenbar ein intermediärer Hydridorhodiumkomplex als Hydrid-Ionen-Über-

träger. Nach einer Induktionsperiode von einigen Tagen bleibt die Umsatzgeschwindigkeit mit ungefähr 0.73 mmol Cyclohexanon/Tag entsprechend 4.9 Cyclen/Tag bezogen auf NAD^\oplus und 2.2 Cyclen bezogen auf den Redoxkatalysator 20 Tage konstant.

Photochemisch läßt sich NADH entsprechend in situ regenerieren, wenn man $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2\oplus}$ als Sensibilisator und 2,2,2-Nitrilotriethanol (Triethanolamin, TEOA) als Donor verwendet. Entgegen unseren früheren Befürchtungen stören die oxidativen Abbauprodukte von TEOA nicht. Auf diese Weise gelingt es, Carbonylverbindungen unter HLADH-Katalyse in Gegenwart katalytischer Mengen Coenzym kontinuierlich zu reduzieren (Abb. 2).

Sowohl Versuche ohne Belichtung als auch solche mit Belichtung, jedoch unter Verzicht auf jeweils eine der angegebenen Komponenten, waren negativ. Die photochemisch initiierte Enzymreaktion (Tabelle 1) ist mit 11 bis 12 Cyclen pro Tag bezüglich $[\text{Rh}(\text{L}_3)]^{3\oplus}$ um den Faktor fünf schneller als die indirekte elektrochemische Coenzym-Regeneration.

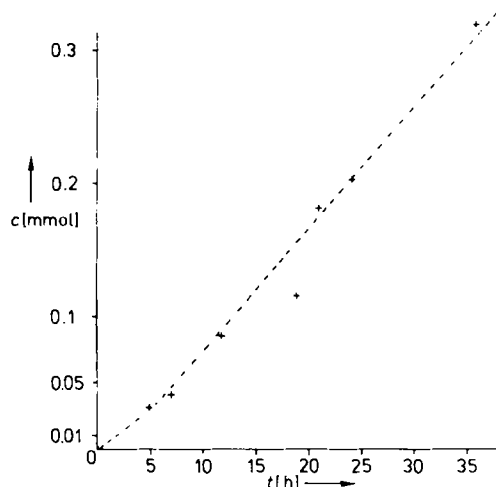


Abb. 3. Zeitlicher Verlauf der lichtinduzierten enzymatischen Reduktion von Cyclohexanon mit $[\text{Rh}(\text{L}_3)]^{3\oplus}$ als Elektronenrelais (Reaktionsbedingungen gemäß Tabelle 1, Nr. 2). c = Menge an gebildetem Cyclohexanol.

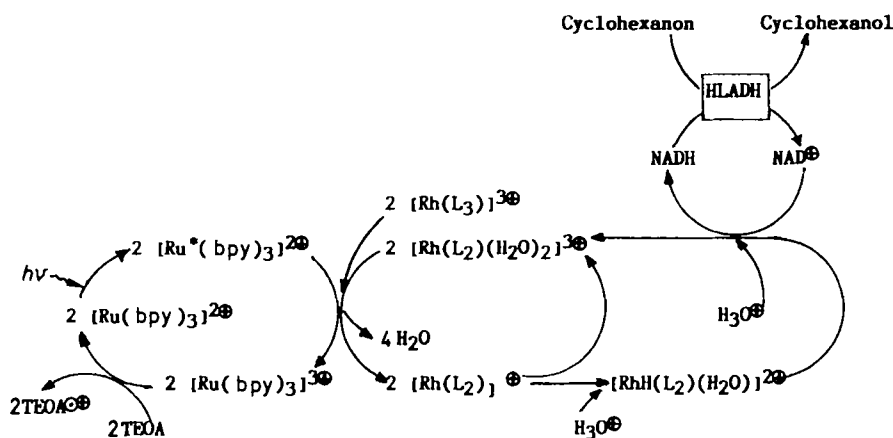


Abb. 2. Reaktionsschema der lichtinduzierten enzymatischen Reduktion von Cyclohexanon mit $[\text{Rh}(\text{L}_3)]^{3\oplus}$ als Elektronenrelais.

Tabelle 1. Ergebnisse der lichtinduzierten enzymatischen Reduktion von Cyclohexanon unter Verwendung von Tris(2,2'-bipyridyl-5-sulfonsäure)rhodium(III) als Elektronenrelais [a].

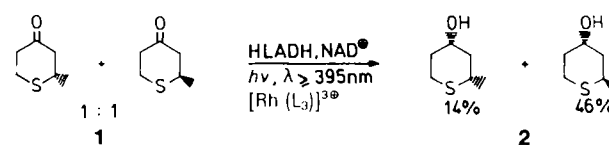
Nr.	t [h]	Cyclohexanon [mmol]	Einsatz $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2\oplus}$ [mmol]	$[\text{Rh}(\text{L}_3)]^{3\oplus}$ [mmol]	NAD^\oplus [mmol]	Produkt Cyclohexanol [mmol]	Cyclen bzgl. $\text{NADH} [\text{Rh}(\text{L}_3)]^{3\oplus}$
1	24	5.1	0.003	0.0114	0.022	0.128	6.0
2	24	5.1	0.0026	0.0167	0.032	0.204	6.3
	36	5.1	0.0026	0.0167	0.032	0.320	10.0

[a] In 50 mL TEOA (0.42 M)/Tris- H_2SO_4 -Puffer von pH 7.4; Belichtung mit einem 250W-Diaprojektor, nur $\lambda \geq 395 \text{ nm}$ benutzt; Verwendung fanden 8.8 mg (15 Einheiten, Nr. 1) und 3.6 mg (6 Einheiten, Nr. 2) HLADH.

Den zeitlichen Verlauf der Photolyse zeigt Abbildung 3. An der nach 36 Stunden noch linearen Zunahme an Cyclohexanol mit der Zeit erkennt man, daß zu diesem Zeitpunkt die Aktivität des Systems noch voll erhalten ist.

Da bekannt war, daß $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{3\oplus}$ Oxalat oxidiert^[10], wurde versucht, statt Nitrilotriethanol als effektivem Donor zum Abfangen dieses Ru^{III} -Komplexes Ammoniumoxalat oder -formiat zu verwenden, da diese CO_2 als inertes Oxidationsprodukt liefern. UV-spektroskopische Messungen haben jedoch ergeben, daß die photochemisch initiierte Rh^{I} -Erzeugung in diesen Fällen zu langsam abläuft.

Die von uns eingesetzten Rhodiumkomplexe zeichnen sich gegenüber anderen dadurch aus, daß sie in reduzierter Form Carbonylverbindungen nicht direkt reduzieren, so daß die Stereospezifität des Enzyms voll genutzt werden kann. Um dies unter den Bedingungen der Photolyse zu überprüfen, haben wir statt Cyclohexanon racemisches 2-Methylthiacyclohexan-4-on **1** verwendet. Ausgehend von 0.003 mmol $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2\oplus}$, 0.174 mmol $[\text{Rh}(\text{L}_3)]^{3\oplus}$, 0.21 mmol NAD^\oplus , 17 Einheiten HLADH sowie 3.34 mmol **1** in 50 mL TEOA (0.42 M)/Tris- H_2SO_4 -Puffer von pH 7.4 konnten nach 24 Stunden (40% Umsatz) 1.34 mmol der beiden diastereomeren Alkohole **2** isoliert werden (Schema 1). Dies entspricht 6.4 regenerativen Cyclen bezo-



Schema 1. Ausbeuten bezogen auf Umsatz (40%).

gen auf das Coenzym und 7.7 Cyclen bezogen auf den Rhodiumkomplex. Bei der Flash-Chromatographie der diastereomeren Alkohole (Laufmittel *n*-Hexan/Ether = 3/7,

anschließend 5/5) eluierte man zunächst 0.61 mmol des (2*R*,4*S*)-Alkohols und anschließend 0.19 mmol des (2*S*,4*S*)-Alkohols mit spezifischen Drehwerten $[\alpha]_D$ von +12° bzw. +3.8°; dies entspricht einer optischen Reinheit $p = 0.81$ für den *trans*-Alkohol und 0.95 für den *cis*-Alkohol (Schema 1). Diese Ergebnisse sind im Rahmen der Meßgenauigkeit identisch mit denen, die man bei der enzymkatalysierten Regeneration des Coenzym erhält^[11]. Damit ist nachgewiesen, daß bei der beschriebenen photochemischen Regeneration von NADH in Gegenwart von Pferdeleber-Alkohol-Dehydrogenase die Stereospezifität des Enzyms erhalten bleibt und eine direkte Reduktion der Carbonylverbindung durch den reduzierten Rhodiumkomplex unter Umgehung des Enzymsystems ausgeschlossen werden kann.

Auf der Basis dieser Ergebnisse sollten nun Komplexe als Elektronenrelais oder Redoxkatalysatoren entwickelt werden, die eine wesentlich schnellere Umsetzung ermöglichen.

Eingegangen am 3. August,
veränderte Fassung am 2. Oktober 1987 [Z 2386]

CAS-Registry-Nummern:

Cyclohexanon: 108-94-1 / Cyclohexanol: 108-93-0 / [Rh (L₁)]³⁺: 112424-19-8.

- [1] J. B. Jones, J. F. Beck in J. B. Jones, C. J. Sih, D. Perlman (Hrsg.): *Applications of Biochemical Systems in Organic Chemistry, Part 1*, Wiley-Interscience, New York 1976, S. 370-376; J. B. Jones in R. Porter, S. Clark (Hrsg.): *Enzymes in Organic Synthesis*, Pitman, London 1985, S. 3; G. M. Whitesides, *ibid.*, S. 76.
- [2] C. Wandrey, R. Wichmann, A. F. Bückmann, M. R. Kula, *Umschau* 84 (1984) 88; C. Wandrey, R. Wichmann, W. Berke, M. Morr, M. R. Kula in: *Eur. Congr. Biotechnol. (Third), Vol. 1*, Verlag Chemie, Weinheim 1984, S. 239; C. Wandrey, R. Wichmann in A. I. Laskin (Hrsg.): *Enzymes and Immobilized Cells in Biotechnology*, Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA, USA 1985, S. 177; M. R. Kula, C. Wandrey, *Methods Enzymol.* 136 (1986).
- [3] E. Steckhan, *Angew. Chem.* 98 (1986) 681; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 25 (1986) 683; *Top. Curr. Chem.* 142 (1987) 1.
- [4] M. Ito, T. Kuwana, *J. Electroanal. Chem.* 32 (1971) 415.
- [5] R. DiCosimo, C.-H. Wong, L. Daniels, G. M. Whitesides, *J. Org. Chem.* 46 (1981) 4622.
- [6] H. Simon, H. Günther, J. Bader, W. Tischer, *Angew. Chem.* 93 (1981) 897; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 20 (1981) 861; H. Simon, H. Günther, J. Bader, S. Neumann in R. Porter, S. Clark (Hrsg.): *Enzymes in Organic Synthesis*, Pitman, London 1985, S. 97; H. Simon, J. Bader, H. Günther, S. Neumann, I. Thanos, *Angew. Chem.* 97 (1985) 541; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 539.
- [7] H. Skopan, H. Günther, H. Simon, *Angew. Chem.* 99 (1987) 139; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 26 (1987) 128.
- [8] D. Mandler, I. Willner, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 5352; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1986, 805.
- [9] R. Wienkamp, E. Steckhan, *Angew. Chem.* 94 (1982) 786; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 21 (1982) 782; *Angew. Chem. Suppl.* 1982, 1739; *ibid.* 95 (1983) 508 bzw. 22 (1983) 497.
- [10] I. Rubinstein, A. J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.* 103 (1981) 5007.
- [11] J. Davies, J. B. Jones, *J. Am. Chem. Soc.* 101 (1979) 5405.

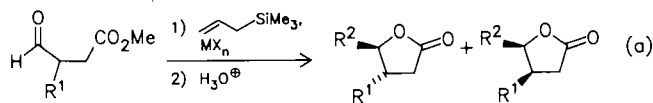
Ein neuer Weg zu *trans*-substituierten γ -Lactonen**

Von Thomas Kunz und Hans-Ulrich Reißig*

Professor Klaus Hafner zum 60. Geburtstag gewidmet

Die Addition von Nucleophilen an chirale Carbonylverbindungen (Cram/anti-Cram-Selektivität) zählt zu den bestuntersuchten Reaktionen der Organischen Chemie. Neue Reagentien, die eindeutig chelat- oder nichtchelatgesteuert angreifen, sorgten jüngst für neue Impulse^[1]. Carbonylverbindungen mit funktionellen Gruppen in α - oder

β -Position – meist geschützten Hydroxygruppen – wurden intensiv untersucht. Dies gilt nicht für γ -funktionalisierte Verbindungen^[2]. Wir berichten hier über die chemo- und diastereoselektiven Additionen von Organometallreagentien an die Formylgruppe der leicht erhältlichen chiralen γ -Oxocarbonsäuremethylester **1**^[3], die – nach Ringschluß – γ -Lactone mit einem hohen Überschuß an *trans*-Isomer^[4] liefern.



$R^2 = \text{Allyl}$

1a, $R^1 = \text{Me}$

1b, $R^1 = i\text{Pr}$

1c, $R^1 = \text{Ph}$

2a

2b

2c

3a

3b

3c

Bei der Reaktion von Allyltrimethylsilan mit **1a** in Gegenwart von Lewis-Säuren^[5] ist die Diastereoselektivität mit dem zweizähligen Titantrichlorid als Säure am größten (*trans*:*cis* = 63:37); TiCl_4 ist auch bei **1b** und **1c** der selektivste Promotor (*trans*:*cis* > 90:10) [Gl. (a), Tabelle 1].

Tabelle 1. Reaktion der Aldehyde **1** mit Allyltrimethylsilan in Gegenwart von Lewis-Säuren MX_n (Komplexierung bei ca. 20°C, Zugabe des Nucleophils bei -78°C, Erwärmen auf Raumtemperatur, Behandeln mit Säure).

1	MX_n	Ausb. [%]	2 : 3 [a, b]
a	1 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	62	52 : 48
a	2 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	65	59 : 41
a	1 SnCl_4	92	58 : 42
a	1 HfCl_4	80	59 : 41
a	1 ZrCl_4	78	62 : 38
a	1 TiCl_4	99	63 : 37
a	2 TiCl_4	93	65 : 35
b	1 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	45	75 : 25
b	1 ZrCl_4	63	87 : 13
b	1 TiCl_4	69	92 : 8
c	1 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	75	70 : 30
c	1 ZrCl_4	68	85 : 15
c	1 TiCl_4	63	93 : 7

[a] Isomerenverhältnis und -zuordnung durch Hochfeld-¹H-NMR-Spektroskopie (vgl. [4] und [12]). [b] Produktverhältnis nach Kugelrohrdestillation (Reinheit ca. 90-97%); Chromatographie lieferte Proben für befriedigende Elementaranalysen.

Das Verhältnis **2a**:**3a** ist unabhängig davon, ob ein oder zwei Äquivalente TiCl_4 verwendet werden^[6]. Wir werten dies als Hinweis auf die Bildung des Siebenring-Chelats **8**, in das *beide* Carbonylgruppen von **1** und *ein* Molekül TiCl_4 einbezogen sind^[7]. Für diese Chelatbildung sprechen auch die spektroskopischen Daten – insbesondere die deutliche Tieffeldverschiebung der Signale beider Carbonyl-C-Atome im ¹³C-NMR-Spektrum von **1a**· TiCl_4 ^[8]. Das angreifende Nucleophil nähert sich **8** bevorzugt von der sterisch weniger abgeschirmten Seite (*trans* zu R^1), was zum *trans*-substituierten Lacton **2** führt. Die Flexibilität des Siebenrings läßt nur mäßige Diastereoselektivitäten für $R^1 = \text{Me}$ zu, während die größeren Substituenten $R^1 = i\text{Pr}$ und Ph (**1b**, **1c**) den *cis*-Angriff auf **8** fast vollständig blockieren.

Mit $\text{MeTiCl}_3 \cdot (\text{OEt}_2)_2$ statt Allyltrimethylsilan/ TiCl_4 als Reagens resultieren die entsprechenden Lactone **4** und **5** fast im gleichen *trans*/*cis*-Verhältnis [Gl. (b), Tabelle 2].

[*] Prof. Dr. H.-U. Reißig, Dipl.-Chem. T. Kunz
Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule
Petersenstraße 22, D-6100 Darmstadt

[**] Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie und durch die Karl-Winnacker-Stiftung (Hoechst AG) gefördert.