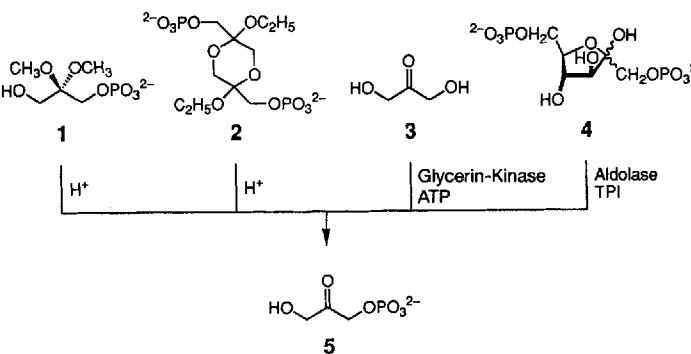


- [1] M. F. Hawthorne, D. C. Young, P. A. Wegner, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1818.
- [2] K. P. Callahan, M. F. Hawthorne, *J. Organomet. Chem.* **1975**, *100*, 97; D. M. Schubert, W. S. Rees, Jr., C. B. Knobler, M. F. Hawthorne, *Pure Appl. Chem.* **1987**, *59*, 869.
- [3] R. N. Grimes in *Comprehensive Organometallic Chemistry*, Vol. 1 (Hrsg.: G. Wilkinson, F. G. A. Stone, E. W. Abel), Pergamon, Oxford, **1982**, S. 459; *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 251.
- [4] M. F. Hawthorne, R. L. Pilling, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 3987.
- [5] M. Stephan, J. H. Davis, Jr., X. Meng, K. J. Chase, J. Hauss, U. Zenneck, H. Pritzkow, W. Siebert, R. N. Grimes, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5214.
- [6] T. Kuhlmann, H. Pritzkow, U. Zenneck, W. Siebert, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 994; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 965.
- [7] M. Enders, B. Gangnus, R. Hettrich, J. Magos-Martin, M. Stephan, H. Pritzkow, W. Siebert, U. Zenneck, *Chem. Ber.* **1993**, *126*, 2197.
- [8] A. Feßnbecker, A. Hergel, R. Hettrich, V. Schäfer, W. Siebert, *Chem. Ber.* **1993**, *126*, 2205.
- [9] Kristallstrukturanalyse von 7: orthorhombisch, *Pbnm*, $a = 10.752(5)$, $b = 14.481(7)$, $c = 15.565(8)$ Å, $V = 2423$ Å 3 , $Z = 4$; 2885 gemessene Reflexe (Vierkreisdiffraktometer, Mo $K\alpha$ -Strahlung, ω -scan), davon 1705 beobachtet ($I > 2\sigma_i$), Verfeinerung gegen F^2 mit allen Reflexen [13] (Fe, C, B anisotrop, H-Atome in berechneten Lagen mit gemeinsamen isotropen Temperatursfaktoren), $R_w = 0.20$, $R = 0.064$ (nur beobachtete Reflexe). Das Molekül hat eine kristallographisch bedingte Spiegelebene, der C_5Me_4 -Ring ist stark fehlgeordnet und wurde als starrer Ring in zwei Lagen verfeinert. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-400452 angefordert werden.
- [10] W. Siebert, M. Bochmann, J. Edwin, C. Krüger, Y.-H. Tsay, *Z. Naturforsch. B* **1978**, *33*, 1410; U. Fenner, Dissertation, Universität Heidelberg, **1992**.
- [11] H. Wadebold, H. Römich, H. Pritzkow, W. Siebert, *Chem. Ber.* **1988**, *121*, 2103.
- [12] a) W. Siebert, *Angew. Chem.* **1985**, *97*, 924; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1985**, *24*, 953; b) H. Wadebold, Dissertation, Universität Marburg, **1982**.
- [13] G. M. Sheldrick, SHELXL 93, Universität Göttingen, **1993**.

daß die essentielle Donorkomponente DHAP **5** kommerziell für präparative Synthesen zu teuer^[14] und in Lösung relativ instabil ist. Die bekannten Verfahren zur chemischen Synthese (saure Hydrolyse des Dimethylacetals **1**, acht Stufen aus 3-Chlor-1,2-propandiol^[15], Gesamtausbeute 17%; Hydrolyse des dimeren Diethylacetals **2**, drei bis fünf Stufen aus Dihydroxyaceton, Phosphorylierung mit Phosphorsäurechlorid-diphenylester^[16a], Phosphoroxychlorid^[16b] oder *O,O'*-Dibenzyl-*N,N*-diethylphosphoramidit^[16c], bis 50% Gesamtausbeute) oder zur enzymatischen Synthese (Phosphorylierung von Dihydroxyaceton **3** durch Glycerin-Kinase/ATP, 83%^[17]; Spaltung von Fructose-1,6-bisphosphat **4** durch FruA/TPI (= Triosephosphat-Isomerase), ca. 100%^[18]) weisen im Hinblick auf Aufwand (vielstufig, teure Reagentien) oder Produktreinheit gravierende Nachteile auf. Wir beschreiben hier ein neues enzymatisches Verfahren, nach dem **5** nahezu verlustfrei aus billigen Ausgangsstoffen in hoher chemischer Reinheit hergestellt und in situ in einer gekoppelten Reaktion in Gegenwart mehrerer DHAP-Aldolasen mit Aldehyden umgesetzt werden kann. Dieses Verfahren erwies sich außerdem zur Synthese von DHAP-Analoga adaptierbar, die in der Phosphatgruppe modifiziert sind und ebenfalls von den Aldolasen als Substrate akzeptiert werden.



Synthese von Dihydroxyacetophosphat (und isosteren Analoga) durch enzymatische Oxidation: Zucker aus Glycerin**

Wolf-Dieter Fessner* und Gudrun Sinerius

Enzymkatalysierte Aldoladditionen sind in der asymmetrischen Synthese breit anwendbar^[11]. Insbesondere die Dihydroxyacetophosphat(DHAP)-Aldolasen, die als kompletter stereochemischer Satz zur Herstellung der jeweils vier möglichen diastereomeren DHAP-Aldehyd-Addukte verfügbar sind (D-Fructose-1,6-bisphosphat-Aldolase = FruA, [EC 4.1.2.13]; D-Tagatose-1,6-bisphosphat-Aldolase = TagA, [EC 4.1.2.-]; L-Fuculose-1-phosphat-Aldolase = FucA, [EC 4.1.2.17]; L-Rhamnulose-1-phosphat-Aldolase = RhuA, [EC 4.1.2.19])^[22], zeichnen sich durch präparative Effizienz, hohe chirale Induktion für zwei Stereozentren und breite Substrattoleranz für die Aldolacceptorkomponente aus. Die Enzyme FucA und RhuA können zudem racemische 2-Hydroxyaldehyde nahezu vollständig kinetisch differenzieren^[3]. Problematisch ist der Umstand,

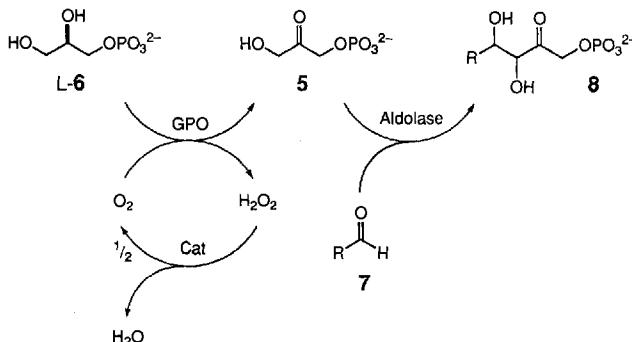
im Stoffwechsel mancher Bakterien wird L-Glycerin-3-phosphat L-6 durch eine flavinabhängige Glycerinphosphat-Oxidase (GPO, [EC 1.1.3.21]) zu DHAP oxidiert^[19]. Anders als bei der Oxidation durch die Glycerinphosphat-Dehydrogenase [EC 1.1.1.8] ist hier keine zusätzliche Cofaktorregenerierung nötig^[10], da der reduzierte Cofaktor FAD(H₂) fest am Enzym gebunden bleibt und rasch durch elementaren Sauerstoff unter Freisetzung von Wasserstoffperoxid reoxidiert wird. Letzteres wird zur indirekten Quantifizierung von Glycerin in optischen Tests genutzt, weshalb die GPO ein gängiges und preiswertes Enzym ist. Die naheliegende Anwendung zur präparativen Herstellung von **5** war unseres Wissens jedoch noch nicht verwirklicht. Wir haben nun gefunden, daß die Oxidation von L-6 in der Tat dann ergiebig und nahezu konkurrenzfrei verläuft, wenn durch Zusatz von Katalase (Cat, [EC 1.11.1.6]) der Aufbau nennenswerter Stationärkonzentrationen des enzymdesaktivierenden Begleitprodukts H₂O₂ verhindert wird (Schema 1). Die GPO oxidiert ausschließlich das L-Enantiomer^[11], das präparativ am besten durch enzymatische Phosphorylierung von Glycerin erhalten wird^[17]. Die Sauerstoffempfindlichkeit der Glycerin-Kinase verhindert allerdings, daß die Phosphorylierung und die Oxidation durch GPO gekoppelt werden können.

In höheren Konzentrationen wirkt **5** als kompetitiver Inhibitor der GPO. Von den sieben kommerziellen Präparationen aus mindestens drei Organismen^[12], die wir näher untersucht haben, zeigten diejenigen aus *Streptococcus*-Spezies die geringste

[*] Prof. Dr. W.-D. Fessner^[14], Dipl.-Chem. G. Sinerius
Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität
Albertstraße 21, D-79104 Freiburg

[+] Neue Adresse: Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule,
Professor-Pirlet-Straße 1, D-52056 Aachen
Telefax: Int. + 241/8888-127

[**] Enzyme in der Organischen Synthese, 7. Mitteilung. Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Fe 244/2-2), den Fonds der Chemischen Industrie und die Wissenschaftliche Gesellschaft Freiburg gefördert. Wir danken den Herren Dr. P. Raso, Boehringer Mannheim GmbH, für die Bereitstellung diverser Enzyme und Dr. W. Deck für ³¹P-NMR-Spektren. – 6. Mitteilung: [3 b].



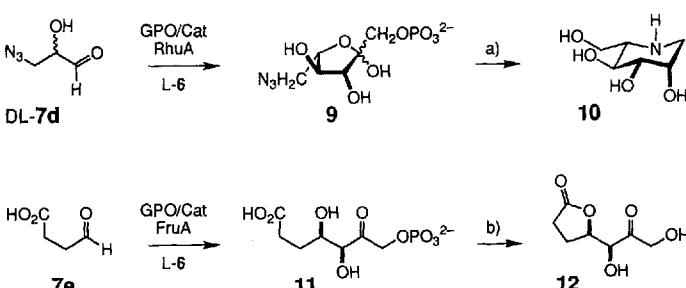
Schema 1. Multienzymatische Synthese von Ketose-1-phosphaten **8** aus L-Glycerin-3-phosphat **L-6**.

Produktinhibition (Restaktivität ca. 20 % bei 100 mM **5**), so daß mit letzteren bis zu dieser Endkonzentration präparativ etwa 90–95 % Umsatz zu von weiteren Komponenten freiem **5** erreicht wird^[13]. In Lösung zeigten diese Enzympräparate auch die höchste Stabilität ($t_{1/2} \geq 3$ d bei 25 °C; 2 U mL⁻¹)^[14], was eine Immobilisierung überflüssig machte, wurden vom Substrat (0.5 M), von organischen Kationen (z.B. Cyclohexylammonium-Ion, 1.0 M) oder von anorganischem Phosphat (0.1 M) nur wenig beeinflußt (Restaktivität jeweils $\geq 70\%$) und wiesen die höchste Toleranz gegen H₂O₂ auf ($t_{1/2} \approx 1.5$ h bei 150 mM). Ein für den Labormaßstab ausreichender Sauerstoffeintrag bei Raumtemperatur war problemlos durch Schwenken oder mechanisches Rühren der Lösung in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft ohne Beeinträchtigung der Enzyme zu gewährleisten. Schema 1 suggeriert zudem, daß auch vorsichtiges Zudosieren von H₂O₂ die Oxygenierung unterhalten kann; dies konnte in der Tat experimentell bestätigt werden.

Eher unerwartet ließ sich die oxidative Herstellung von **5** glatt mit seinem Verbrauch durch enzymkatalysierte Addition an Aldehyd **7** koppeln (Schema 1). Dies umgeht nicht nur die Inhibition der GPO durch **5** und ermöglicht damit einen raschen und quantitativen Umsatz an **L-6**, sondern unterdrückt auch nahezu völlig die Zersetzung des labilen **5**, da dieses nicht akkumuliert. Weder das (begrenzte) Auftreten von H₂O₂ noch die Verwendung sauerstoffgesättigter Lösungen – sogar unter erhöhtem Sauerstoffpartialdruck bis zu 5 bar – führte zur befürchteten Desaktivierung der getesteten DHAP-Aldolasen aus Kaninchenmuskel (FruA) oder *E. coli* (FruA, FucA, RhuA). Die gekoppelten Reaktionen wurden vorzugsweise bei neutralem bis schwach saurem pH durchgeführt, so daß eine ausrei-

chende Stabilität von **5** und eine hohe Umsatzgeschwindigkeit gewährleistet blieben. Verglichen mit den bekannten Verfahren^[6–8] liefert die GPO-Methode in der Regel Addukte **8** von höherem Reinheitsgrad in ähnlichen oder besseren Ausbeuten. Interessant ist dabei die Beobachtung, daß bei Verwendung des Cyclohexylammoniumsalzes von **6** bestimmte Aldoladdukte (z.B. **L-8e**, siehe Tabelle 1) bereits beim Konzentrieren der Produktlösung in hoher Ausbeute und reiner Form kristallisierten, was die Aufarbeitung stark vereinfacht.

Trotz der Empfindlichkeit von Aldehyden gegenüber Oxidation durch Luft war diese Konkurrenzreaktion unter den Versuchsbedingungen weitgehend zu vernachlässigen, was wir unter anderem auf die Hydratisierung der Aldehyde in wässriger Lösung zurückführen. Sowohl mit einfachen (Acetaldehyd **7a**) als auch mit hydroxylierten aliphatischen Aldehyden (Glycolaldehyd **7b**, L-Glycerinaldehyd **7c**) wurden glatt die bekannten Ketosephosphate^[12a] erhalten (Tabelle 1). In der Eintopfreaktion ausgehend von **L-6** und racemischem 3-Azido-2-hydroxypropanal **7d** wurde durch die RhuA erwartungsgemäß kinetisch gesteuert nur der L-konfigurierte Aldehyd zum Addukt **9** umgesetzt^[3a], aus dem durch Dephosphorylierung und Hydrogenolyse das unnatürlich konfigurierte Alkaloid 1-Desoxy-L-mannojirimycin **10** gewonnen wurde (Gesamtausbeute 60 %; Schema 2)^[15].



Schema 2. Chemoenzymatische Synthese von 1-Desoxy-L-mannojirimycin **10** und chiralen γ -Lactonen wie **12**. a) Saure Phosphatase [EC 3.1.3.2], H₂, Pt/C; b) H₃O⁺.

Besonders vorteilhaft ist die GPO-Reaktion bei FruA-katalysierten Umsetzungen von anionischen Aldolacceptoren, da die thermodynamischen Verhältnisse weitaus günstiger sind als beim üblicherweise als Ausgangsmaterial eingesetzten **4**^[1c]. So wurde aus Bernsteinsäuresemialdehyd **7e** und **L-6** in guter Aus-

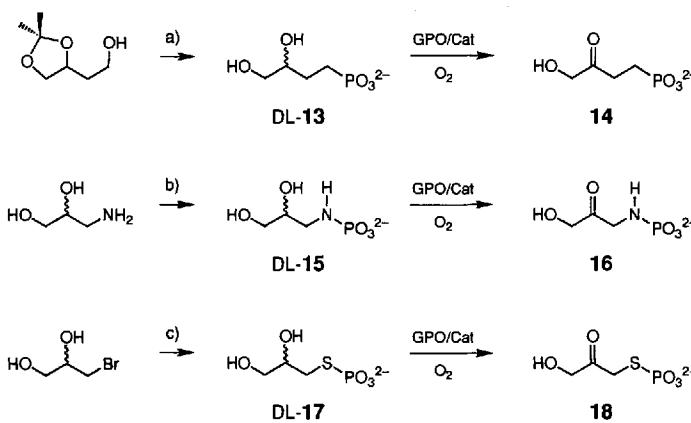
Tabelle 1. Aldolreaktionen gekoppelt mit GPO-katalysierter in-situ-Herstellung von DHAP und dessen Analoga [a].

| Aldehyd | Donor | Aldolase | Produkt | Ausbeute [%] |
|--|--------------|---------------------|---|--------------|
| – [b] | L-6 | FruA _{eco} | D-Fructose-1,6-BP 4 | 95 |
| Acetaldehyd 7a | L-6 | RhuA | 5-Desoxy-L-threo-pentulose-1-P 8a | 70 |
| Glycolaldehyd 7b | L-6 | FruA _{rab} | D-threo-Pentulose-1-P 8b | 84 |
| Glycolaldehyd 7b | L-6 | RhuA | L-threo-Pentulose-1-P 8c | 96 |
| Glycolaldehyd 7b | L-6 | FucA | D-erythro-Pentulose-1-P 8d | 93 |
| L-Glycerinaldehyd 7c | L-6 | RhuA | L-Fructose-1-P 8e | 85 |
| L-Glycerinaldehyd 7c | L-6 | FucA | L-Tagatose-1-P 8f | 86 |
| DL-3-Azido-2-hydroxypropanal 7d | L-6 | RhuA | L-6-Azido-6-desoxy-L-fructose-1-P 9 | 70 |
| Bersteinsäuresemialdehyd 7e | L-6 | FruA _{rab} | (4R,5S)-6-Oxo-4,5,7-trihydroxyheptansäure-7-P 11 | 81 |
| Bersteinsäuresemialdehyd 7e | L-6 | RhuA | (4S,5R)-6-Oxo-4,5,7-trihydroxyheptansäure-7-P ent-11 | 82 |
| L-Glycerinaldehyd 7c | DL-13 | RhuA | 2-Desoxy-L-arabinohexit-3-ulose-1-phosphonat 19 | [c] |
| L-Glycerinaldehyd 7c | DL-15 | RhuA | 1-Desoxy-L-fructose-1-phosphoramidat 20 | [d] |
| L-Glycerinaldehyd 7c | DL-17 | RhuA | 1-Desoxy-L-fructose-1-phosphorothioat 21 | [c] |

[a] Indices: eco = *Escherichia coli*, rab = Kaninchenmuskel; P = Orthophosphatester. Ausbeuteangaben beziehen sich auf isoliertes, durch Ionenaustauschchromatographie gereinigtes, ¹H-NMR-spektroskopisch und dünnenschichtchromatographisch einheitliches Material. [b] Bildung von D-Glycerinaldehyd-3-phosphat durch TPI. [c] 1:1-Gemisch mit D-13 bzw. D-17. [d] Nicht bestimmt.

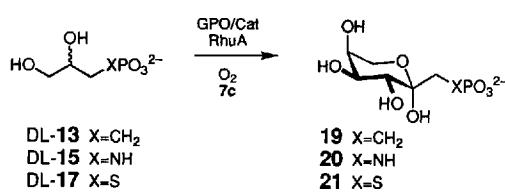
beute das Addukt **11** erhalten (81 %; dagegen nur 40 % aus **4**^[16]), Vorstufe des optisch reinen γ -Lactons **12** (Schema 2; RhuA liefert *ent*-**11/12**, vgl. Tabelle 1), das wegen seiner differenzierten Funktionalisierung als potentieller Vorläufer für eine Reihe biologisch aktiver Verbindungen interessiert.

Die positiven Erfahrungen legten es nahe, die GPO-Methode auch auf die Herstellung von DHAP-Analoga auszudehnen. Frühere Arbeiten mit der Kaninchenmuskel-FruA hatten gezeigt, daß eine Veränderung der freien Hydroxymethylen-Einheit von **5** generell zu völligem Aktivitätsverlust führt, während das durch isosteren Ersatz der phosphorylierten Struktureinheit erhaltene Phosphonat **14** im Assay noch mit 10 % der Geschwindigkeit von **5** umgesetzt wird^[17]. Das Keton **14** war bisher nur vielstufig und wenig ergiebig zugänglich^[18a, d], seine präparative Nutzung auf den Assaymaßstab begrenzt^[18b]. Das zum Diol **6** isostere Phosphonat **13**^[18c, e] ist dagegen auf dem in Schema 3 skizzierten Weg gut erhältlich, ebenso die entsprechenden Phosphoramidat- und Phosphorothioat-Analoga **15**^[19] bzw. **17**.



Schema 3. Chemoenzymatische Synthese von isosteren DHAP-Analoga.
a) Ph_3PBr_2 /Dimethylformamid, $\text{P}(\text{OEt})_3$, Me_3SiBr , H_2O ; b) Lit. [19]; c) wäßrige $\text{Na}_3\text{PO}_3\text{S}$ (pH 8).

Alle drei Verbindungen wurden in der Tat unter GPO-Einwirkung in die korrespondierenden DHAP-Analoga überführt, die aus praktischen Erwägungen (hydrolytische Instabilität^[19] von **15–18**) in situ in einer gekoppelten Aldoladdition zu den Zukerderivaten **19–21** (Tabelle 1) umgesetzt wurden. Die racemi-



schen Vorläufer **13** und **17** wurden erwartungsgemäß nur zu 50 % umgesetzt; die Addukte sind somit bisher nur im Gemisch charakterisiert (Tabelle 2). Die Analyse der Umsetzung von **15/16** war wegen dominanter Konkurrenz durch rasche Hydrolyse der Phosphoramidate und eventuell oxidative Neben- und Folgereaktionen (plausibel über Enamin-Tautomere^[20]) erschwert. Zum eingehenderen Studium des letzteren Systems und um generell die Isolierung der Produkte zu erleichtern wird daher die Synthese der enantiomerenreinen L-Analoga angestrebt.

Tabelle 2. NMR-Daten ausgewählter Verbindungen [a].

- 12: $^1\text{H-NMR}$ (pH 1.0): $\delta = 2.40$ –2.52 (m, 3-H), 2.70 (m, 2-H), 4.51 (d, 5-H), 4.54 (d, 7-H), 4.65 (d, 7-H), 5.12 (dt, 4-H), $J_{3,4} = 6.0$, $J_{4,5} = 2.3$, $J_{7a,7b} = 19.5$; $^{13}\text{C-NMR}$ (pH 1.0): $\delta = 23.14$ (C-3), 28.71 (C-2), 66.40 (C-7), 76.47 (C-4), 81.73 (C-5), 181.84 (C-1), 211.60 (C-6).
 13: $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 1.42$ –1.80 (m, 1-, 2-H), 3.52 (dd, 4-H), 3.62 (dd, 4-H), 3.70 (m, 3-H), $J_{2,4a} = 6.7$, $J_{2,4b} = 3.75$, $J_{4a,4b} = 12.0$; $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 24.90$ (d, C-1), 27.55 (d, C-2), 65.49 (s, C-4), 72.99 (d, C-3); $J_{C-1,P} = 133.1$, $J_{C-2,P} = 2.7$, $J_{C-3,P} = 16.0$; $^{31}\text{P-NMR}$: $\delta = 24.26$.
 14: $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 1.68$ (m, 1-H), 2.67 (m, 2-H), 4.73 (s, 4-H); $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 25.88$ (d, C-1), 32.61 (d, C-2), 67.31 (s, C-4), 203.05 (d, C-3), $J_{C-1,P} = 131.6$, $J_{C-2,P} = 4.1$, $J_{C-3,P} = 13.2$; $^{31}\text{P-NMR}$: $\delta = 24.58$.
 17: $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 2.80$ (ddd, 1-H), 2.90 (ddd, 1-H), 3.61 (dd, 3-H), 3.69 (dd, 3-H), 3.90 (ddd, 2-H), $J_{1a,1b} = 13.5$, $J_{1a,P} = 11.2$, $J_{1b,P} = 12.0$, $J_{1a,2} = 6.7$, $J_{1b,2} = 4.8$, $J_{2,3a} = 6.0$, $J_{2,3b} = 4.5$, $J_{3a,3b} = 11.7$; $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 32.80$ (s, C-1), 64.38 (s, C-3), 72.56 (s, C-2); $^{31}\text{P-NMR}$: $\delta = 16.78$.
 18: $^1\text{H-NMR}$ [b]: $\delta = 3.04$ (d, 1-H), 3.60 (s, 3-H), 3.64 (d, 1-H), 4.56 (s, 3-H), $J_{1,PH_2} = 13.5$, $J_{1,PK_1} = 11.0$, Keton: Hydrat = 6:1; $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 36.06$ (s, C-1), 65.14 (s, C-3), 210.75 (s, C-2); $^{31}\text{P-NMR}$: $\delta = 15.55$ (K).
 19: $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 1.70$ (m, 2-H), 1.98 (m, 1-H); $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 22.25$ (d, C-1), 32.58 (s, C-2), 62.69 (s, C-3), 69.89, 70.46, 71.03 (3s, C-4, -5, -6), 109.36 (s, C-7), $J_{C-1,P} = 133.8$; $^{31}\text{P-NMR}$: $\delta = 25.36$.
 21: $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 2.98$ (dd, 1-H), 3.22 (dd, 1-H); $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 36.95$ (s, C-1), 63.81 (s, C-6), 69.30, 69.75, 70.34 (3s, C-3, -4, -5), 98.96 (s, C-2); $^{31}\text{P-NMR}$: $\delta = 16.77$.

[a] NMR-Spektren wurden nach Ionenaustausch zur Na^+ -Form in D_2O bei pH 7.0 vermessen. $^1\text{H-NMR}$ -Werte (400.1 MHz) bezogen auf Natrium-3-trimethylsilyl-[$^2\text{H}_4$]propionat (TSPNa, $\delta = 0.00$), $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz) auf CH_3CN ($\delta = 1.30$), $^{31}\text{P-NMR}$ (80 MHz) auf D_3PO_4 ($\delta = 0.00$); Kopplungskonstanten in Hz.
 [b] Indices: H = Hydrat, K = Keton.

In den letzten zwei Jahren hat das GPO-Verfahren in unseren Labors die Konkurrenzmethoden zur Generierung von DHAP für fast alle Anwendungsbereiche völlig verdrängen können; darüber hinaus ist insbesondere die Erweiterung des Produktspektrums durch DHAP-Analoga^[21] ein wesentlicher Vorteil dieses Verfahrens.

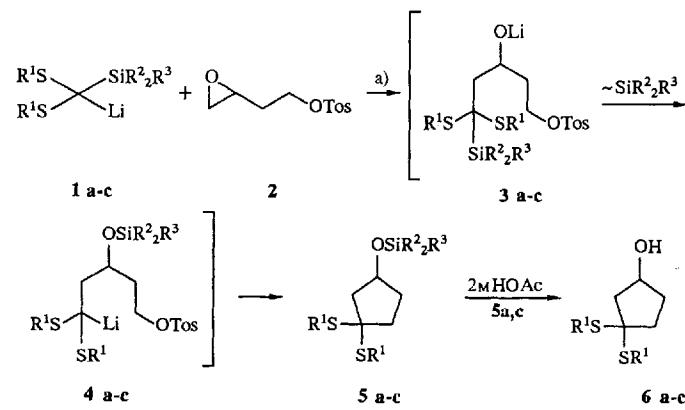
Experimentelles

Eine Lösung von **6** als Bis(cyclohexylammonium)salz (370 mg, 1.0 mmol) und L-Glycerinaldehyd **7c** (110 mg, 1.2 mmol) in 10 mL sauerstoffgesättigtem Wasser wurde bei pH 6.8 mit 70 U GPO, 1000 U Cat und 50 U RhuA versetzt und bei 20 °C in Sauerstoffatmosphäre mit 100 Umdrehungen pro min geschwenkt. Der Umsatz wurde durch enzymatischen Assay auf gebildete DHAP-Äquivalente sowie durch ^1H - und ^{31}P -NMR-Spektroskopie kontrolliert. Nach vollständigem Umsatz wurde über Aktivkohle filtriert, mit 1.0 M ethanolischer Cyclohexylaminlösung auf pH 7.5 eingestellt und am Rotationsverdampfer bei ≤ 20 °C im Vakuum zur Trockene eingegengt. Der feste Rückstand wurde in 0.5 mL Wasser aufgenommen, filtriert und mit 2.5 mL wasserfreiem Ethanol und so viel wasserfreiem Aceton versetzt, bis eine leichte Trübung bestehen blieb. Kristallisation bei 4 °C ergab das Bis(cyclohexylammonium)salz von L-Fructose-1-phosphat **8e** in Form farbloser Nadeln. Chemische Ausbeute 370 mg (85 %).

Eingegangen am 22. Juli 1993 [Z 6226]

- [1] a) E. J. Toone, E. S. Simon, M. D. Bednarski, G. M. Whitesides, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 5365–5422; b) D. G. Drueckhamer, W. J. Hennen, R. L. Pederson, C. F. Barbas, C. M. Gautheron, T. Krach, C.-H. Wong, *Synthesis* **1991**, 499–525; c) W.-D. Fessner, *Kontakte (Darmstadt)* **1992** (3), 3–9; *ibid.* **1993** (1), 23–34.
 [2] a) W.-D. Fessner, G. Sinerius, A. Schneider, M. Dreyer, G. E. Schulz, J. Badia, J. Aguilar, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 596–599; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 555–558; b) W.-D. Fessner, O. Eyrisch, *ibid.* **1992**, *104*, 76–78 bzw. **1992**, *31*, 56–58.
 [3] a) W.-D. Fessner, J. Badia, O. Eyrisch, A. Schneider, G. Sinerius, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 5231–5234; b) W.-D. Fessner, A. Schneider, O. Eyrisch, G. Sinerius, J. Badia, *Tetrahedron Asymmetry* **1993**, *4*, 1183–1192.
 [4] Fluka-Katalogpreise pro mmol DHAP: $\text{Li}_2\text{-5} \cdot \text{H}_2\text{O} = 722$ –DM, $\text{Ba}_1\text{-H-2} = 30$ –DM.
 [5] C. E. Ballou, H. O. L. Fischer, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 1659–1661.
 [6] a) R. L. Colbran, J. K. N. Jones, N. K. Matheson, I. Romeza, *Carbohydr. Res.* **1967**, *4*, 355–358; b) F. Eßlenberger, A. Straub, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 1641–1644; c) R. L. Pederson, J. Esker, C.-H. Wong, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 2643–2648.

- [7] D. C. Crans, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 7019–7027.
 [8] O. Meyerhof, K. Lohmann, *Biochem. Z.* **1934**, *271*, 89–110; vgl. W.-D. Fessner, C. Walter, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 643–645; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 614–616.
 [9] Die GPO aus *Streptococcus faecium* ist ein Homodimer aus Untereinheiten mit einem Molekulargewicht von 65 000 mit je einem Mol FAD; Michaelis-Konstante K_m (L-6) = 26 mM, spezifische Aktivität 65 U/mg⁻¹: a) T. W. Esders, C. A. Michiru, *J. Biol. Chem.* **1979**, *254*, 2710–2715; b) A. Claiborne, *ibid.* **1986**, *261*, 14398–14407.
 [10] W.-D. Fessner, G. Sinerius, *Bioorg. Med. Chem.*, im Druck.
 [11] a) In Einklang mit der biochemischen Literatur wird die durch den Bezug zu L-Glycerinaldehyd-3-phosphat definierte Stereonotation beibehalten. b) Im Assay wurde die Aktivität der GPO durch D-6 oder das positionsisomere Glycerin-2-phosphat nur geringfügig beeinträchtigt. Dies legt nahe, daß anstelle von enantiomerenreinem L-6 alternativ auch das preiswerte kommerzielle Racemat oder handelsübliche Gemische der 1(2)-Monophosphate eingesetzt werden können.
 [12] Es wurden kommerzielle Glycerinphosphat-Oxidasen aus *Streptococcus*, *Pediococcus* und *Aerococcus* sowie einem nicht näher spezifizierten Mikroorganismus der Firmen Asahi, Boehringer Mannheim, Sigma und Toyobo untersucht.
 [13] 5 kann in Form der bei pH 3–4 und –78 °C eingefrorenen Produktlösung oder als lyophilisiertes Salz gelagert werden, dessen Zusammensetzung durch Wahl des eingesetzten Salzes von L-6 vorbestimbar ist.
 [14] In Einklang mit den meist hohen Bindungskonstanten für FAD-abhängige Enzyme wird die Stabilität der Oxidasen durch Zusatz von FAD im Bereich von 1–1000 μM nicht nennenswert verbessert.
 [15] K. K.-C. Liu, T. Kajimoto, L. Chen, Z. Zhong, Y. Ichikawa, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6280–6289.
 [16] G. Puttkammer, Diplomarbeit, Universität Freiburg **1990**.
 [17] N. Bischofsberger, H. Waldmann, T. Saito, E. S. Simon, W. Lees, M. D. Bednarski, G. M. Whitesides, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 3457–3465; M. D. Bednarski, E. S. Simon, N. Bischofsberger, W.-D. Fessner, M.-J. Kim, W. Lees, T. Saito, H. Waldmann, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 627–635.
 [18] a) H. B. F. Dixon, M. J. Sparkes, *Biochem. J.* **1974**, *141*, 715–719; b) D. Stribling, *ibid.* **1974**, *141*, 725–728; c) P. R. Adams, R. Harrison, T. D. Inch, *ibid.* **1974**, *141*, 729–732; d) S. L. Goldstein, D. Braksmaier, B. E. Tropp, R. Engel, *J. Med. Chem.* **1974**, *17*, 363–364; e) J. Kabak, L. DePhilippe, R. Engel, B. Tropp, *ibid.* **1972**, *15*, 1074–1075.
 [19] R. Duncan, D. G. Druickhamer, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 1733–1736.
 [20] J. E. Hodge, B. E. Fisher, *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, *2*, 99–107.
 [21] Vorteilhaft scheint das Verfahren auch für die regiospezifische Einführung von Isotopenmarkierungen mit markierten Glycerinvorstufen.



Schema 1. a: R¹ = R² = R³ = Me; b: R¹ = R² = Me, R³ = tBu; c: R¹ + R¹ = (CH₂)₃, R² = R³ = Me. Tos = 4-MeC₆H₄SO₂. a) –78 → –50 °C.

anschließende 1,4-C → O-Silylwanderung (1,4-Brook-Umlagerung)^[7, 9] zu 4 generiert ein neues Carbanion, das in einer S_{Ni}-Reaktion den Toluolsulfonatrest verdrängt. Aus den Trimethylsilylderivaten 5a, c können dann unter sauren Bedingungen die Alkohole 6 freigesetzt werden.

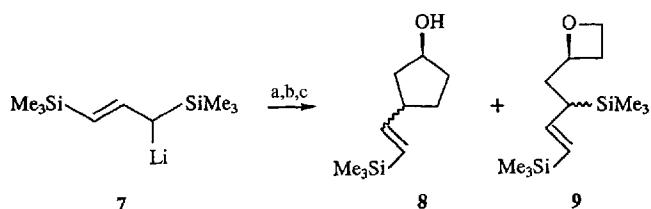
Tabelle 1. Reaktanten, Ausbeuten und ausgewählte spektroskopische Daten der Produkte.

| Silyl-Verb. | Epoxid | Produkt | Ausbeute [%] | ¹ H-NMR [a] δ(CHO) | ¹³ C-NMR [b] δ(CHO); δ(C3) |
|-------------|--------|---------|--------------|----------------------------------|--|
| 1a | 2 | 6a | 80 | 4.43 (m) | 73.36; 63.14 |
| 1b | 2 | 5b | 46 | 4.38 (quin; J = 6.2) | 72.95; 60.21 |
| 1c | 2 | 6c | 65 | 4.37 (m) | 73.27; 53.67 |
| 7 | (S)-2 | 8 [c] | 55 | 4.30 (m) | 73.8; 63.8 73.7; 62.3 |
| 1a | 10 [d] | 11 [e] | 49 | 4.21 (dt, J = 8.8, 2.8) | 73.71; 68.19 |

[a] ¹H-NMR-Spektren: 400 MHz, CDCl₃, TMS, J(H,H) [Hz]. [b] ¹³C-NMR-Spektren: 100 MHz, CDCl₃. [c] Diastereomerengemisch (ca. 1:1), [g]_D = –26.7 (c = 1.04, CHCl₃, 20 °C). [d] Diastereomerenrein, Schmp. 101 °C. [e] Diastereomerenrein, Schmp. 71 °C.

Die glatte Bildung von 5b zeigt, daß sich auch die sterisch anspruchsvolle *tert*-Butyldimethylsilylgruppe problemlos umlager^[10] und so bei weiteren Umsetzungen als stabile Schutzgruppe dienen kann. Allerdings wird hier durch Cyclisierung von 3b auch ein Oxetan (<10 %) gebildet.

Nach dem gleichen Prinzip kann das Lithiumderivat 7 eines 1,3-disilylierten Propens mit aus L-Äpfelsäure hergestelltem (S)-2^[11] zum optisch aktiven Diastereomerengemisch (1:1) 8 umgesetzt werden, wobei im zweiten Schritt die Umlagerung der allylischen Trimethylsilylgruppe zu einem wenig stabilisierten



Schema 2. a) (S)-2. b) [12]Krone-4, –78 → 0 °C, ca. 2 h, DC-Kontrolle. c) 2 M HOAc/MeOH.

Cyclopentanole durch eine Silicium-induzierte Reaktionskaskade **

Michael-Ralph Fischer, Andreas Kirschning,
Tycho Michel und Ernst Schaumann*

Die Herstellung chiraler Cyclopentanderivate ist Bestandteil vieler Naturstoffsynthesen.^[11] Unter den vielfältigen Synthesemöglichkeiten sind besonders die Chemie der Trimethylenmethanäquivalente^[2, 3], Ringerweiterungen von Drei-^[4] und Vierringen^[5] sowie radikalische Cyclisierungen^[6] zu nennen.

Aufbauend auf unsere Arbeiten zur Cyclopropansynthese durch Homo-Peterson-Reaktion^[7] haben wir jetzt einen einfachen Zugang auch zu optisch aktiven Cyclopentanen entwickelt. Dabei werden die Lithiumderivate 1a–c der leicht erhältlichen silylierten Thioacetale^[8] mit dem Epoxitytoluolsulfonat 2 zu den Silylthern 5a–c umgesetzt (Schema 1, Tabelle 1). Offenbar greift das Carbanion von 1 chemo- und regioselektiv das unsubstituierte Epoxid-C-Atom in 2 an, wobei 3 entsteht; eine

[*] Prof. Dr. E. Schaumann, M.-R. Fischer, Dr. A. Kirschning, Dipl.-Chem. T. Michel
Institut für Organische Chemie der Universität
Leibnizstraße 6, D-38678 Clausthal-Zellerfeld
Telefax: Int. + 5323/72-2858

[**] Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert.