

**Biotkatalytische Alkenspaltung**

DOI: 10.1002/ange.200601574

**Biokatalytische einstufige Alkenspaltung von Arylalkenen: ein enzymatisches Äquivalent zur reduktiven Ozonisierung\*\***

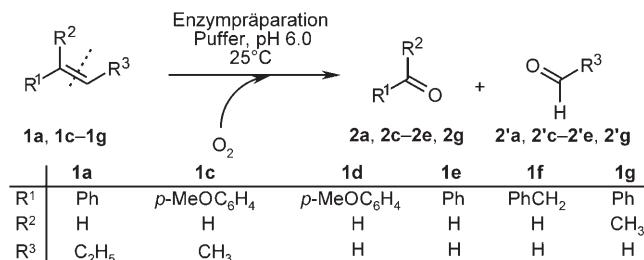
Harald Mang, Johannes Gross, Miguel Lara,  
Christian Goessler, Hans E. Schoemaker,  
Georg M. Guebitz und Wolfgang Kroutil\*

Milde und selektive Oxidationsmethoden sowie neue ökologische und ökonomische chemische Verfahren sind gefragt wie nie zuvor.<sup>[1]</sup> Die Spaltung von Alkenen<sup>[2]</sup> zu den entsprechenden Aldehyden oder Ketonen ist eine häufig verwendete Synthesemethode in der organischen Chemie,<sup>[3]</sup> um 1) Sauerstoff-haltige funktionelle Gruppen in Moleküle einzuführen, 2) komplexe Moleküle in kleinere Bausteine zu teilen und 3) Schutzgruppen zu entfernen.<sup>[3g]</sup> Unter den derzeit verfügbaren Methoden für die oxidative Spaltung von Alkenen wird die reduktive Ozonolyse als die „sauberste“ angesehen.<sup>[4]</sup> Allerdings birgt diese Methode in der Praxis einige Nachteile wie die Notwendigkeit spezieller Ausrüstung (Ozonator) und Tieftemperaturtechnik (normalerweise -78 °C) sowie den zusätzlichen Bedarf an einer stöchiometrischen Menge des Reduktionsmittels (z.B. Dimethylsulfid, Zink, Wasserstoff, Phosphine, ...) für die reduktive Aufarbeitung. Zusätzlich sind spezielle Sicherheitsvorkehrungen zu treffen, um schweren Unfällen durch Explosionen, wie in der Literatur beschrieben,<sup>[5]</sup> vorzubeugen. Für Methoden mit Metallociden als Oxidationsmittel<sup>[6]</sup> werden (mindestens) stöchiometrische Mengen an Salz oder Peroxiden benötigt. Diese Varianten zeigen zudem nur mäßige bis niedrige Chemo-, Regio- und Stereoselektivität. In vielen Fällen ist die

Überoxidation der zunächst entstehenden Aldehyde zu den entsprechenden Säuren eine nur schwer zu unterbindende Nebenreaktion. Die einzige bisher bekannte katalytische Methode mit molekularem Sauerstoff erfordert einen Co<sup>II</sup>-Katalysator<sup>[7]</sup> und ist – bei moderater Selektivität – auf Isoeugenol-Derivate beschränkt.

Kürzlich wurden daher neuartige oder verbesserte Verfahren zur Alkenspaltung publiziert.<sup>[6b-e,i,8]</sup> Enzymatische Alkenspaltung wurde nur 1) als (unerwünschte) Nebenreaktion im analytischen Maßstab mit Peroxidasen,<sup>[9]</sup> 2) mit einer Kombination von Lipoxygenasen und Hydroperoxid-Lyasen für spezielle Substrate<sup>[10]</sup> und 3) im analytischen Maßstab mit einigen substratspezifischen Mono-<sup>[11]</sup> oder Di-oxygenasen<sup>[12]</sup> mit Sauerstoff als Oxidationsmittel<sup>[13]</sup> beobachtet. Nach unserem Wissen wurde noch keine Methode zur biokatalytischen oxidativen Alkenspaltung entwickelt, die im präparativen Maßstab eingesetzt werden kann.

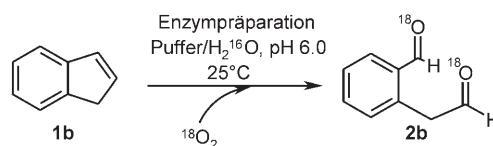
Bei der Suche nach Mikroorganismen, die Alkene in Allylposition oxidieren, hatten wir keinen Erfolg – allerdings bemerkten wir, dass der Pilz *Trametes hirsuta* G FCC 047<sup>[14]</sup> das Substrat (*E*)-1-Phenyl-1-butene (**1a**; Schema 1) abbaut,



**Schema 1.** Biokatalytische Alkenspaltung mit molekularem Sauerstoff. Für **1b**→**2b** siehe Schema 2.

wobei ein unerwartetes Produkt entstand: Benzaldehyd. Um nachzuweisen, dass es sich tatsächlich um eine biokatalytische Reaktion handelt, wurde der Versuch mit einer durch Hitze denaturierten Enzympräparation wiederholt. In diesem Fall wurde kein Umsatz beobachtet, womit es sich tatsächlich um eine biokatalytische Reaktion handelt. Da biokatalytische Umsetzungen zunehmend an Bedeutung für die Synthese gewinnen,<sup>[15]</sup> war es unser Ziel, ein Verfahren für eine neuartige biokatalytische reduktive Ozonisierung zu entwickeln.

Zur Identifizierung der Spaltprodukte wurde mit Inden (**1b**; Schema 2) ein cyclisches Alken eingesetzt, da zu erwarten war, dass sich für dieses Molekül die „beiden“ Spaltprodukte der Biooxidation in einem einzigen Produktmolekül identifizieren lassen. Tatsächlich konnte nach der Umsetzung von **1b** der Dialdehyd **2b** mittels GC/MS und Ver-



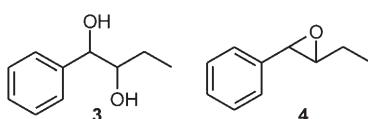
**Schema 2.** Biokatalytische Alkenspaltung von Inden (**1b**) zum Dialdehyd.

[\*] Dr. H. Mang, J. Gross, M. Lara, C. Goessler, Prof. W. Kroutil  
Institut für Chemie, Organische und Bioorganische Chemie  
Kompetenzzentrum Angewandte Biokatalyse  
Universität Graz  
Heinrichstraße 28, 8010 Graz (Österreich)  
Fax: (+43) 316-380-9840  
E-Mail: wolfgang.kroutil@uni-graz.at  
Prof. H. E. Schoemaker  
DSM Research  
Life Science Products  
PO Box 18, 6160 MD Geleen (Niederlande)  
Prof. G. M. Guebitz  
Institut für Umweltbiotechnologie  
Kompetenzzentrum Angewandte Biokatalyse  
Technische Universität Graz  
Petersgasse 12, 8010 Graz (Österreich)

[\*\*] Dieses Projekt wird vom Österreichischen Wissenschaftsfonds (FWF-Projekt P18381) finanziert. Grundlegende Experimente wurden innerhalb des Kompetenzzentrums Angewandte Biokatalyse (unterstützt durch DSM, FFG, SFG, Land Steiermark und Stadt Graz) durchgeführt.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

gleich mit unabhängig synthetisiertem Vergleichsmaterial ausgemacht werden. **1b** schien auch eine ideale Verbindung zu sein, um die Herkunft der beiden eingebauten Sauerstoffatome aufzuklären. Zu diesem Zweck wurden die Experimente mit zellfreiem Extrakt und  $^{18}\text{O}$ -markiertem molekularem Sauerstoff durchgeführt. Die GC-MS-Analyse zeigte, dass die Sauerstoffatome beider Aldehydgruppen markiert waren. Als Gegenprobe wurde das Experiment mit  $^{18}\text{O}$ -markiertem Wasser und  $^{16}\text{O}_2$  wiederholt. In diesem Fall war keines der beiden Sauerstoffatome markiert, womit eindeutig belegt werden konnte, dass die beiden eingebauten Sauerstoffatome aus molekularem  $\text{O}_2$  stammen (Schema 2). Diese Experimente weisen bereits auf eine durch eine Di-oxygenase<sup>[12]</sup> katalysierte, einstufige Reaktion hin; es handelt sich also nicht um einen Stufenprozess wie bei der Spaltung von  $\beta$ -Carotin.<sup>[11]</sup> Für einen zusätzlichen Beleg wurden mögliche Zwischenstufen bei der Umsetzung von (*E*)-1-Phenyl-1-but en (**1a**) wie Diol **3** und Epoxid **4** synthetisiert und umzu-



setzen versucht. Weder **3** noch **4** reagierten allerdings zum Aldehyd, woraus sich schließen lässt, dass diese Verbindungen keine Zwischenstufen bei der Alkenspaltung sind und es sich daher tatsächlich um eine einstufige enzymatische Alkenspaltung mit molekularem Sauerstoff als einzigm Oxidationsmittel handelt (Schema 1). Im Unterschied zu den nichtenzymatischen Methoden kann diese in wässrigem Milieu bei Raumtemperatur ohne zusätzliche Reagentien (ausgenommen Sauerstoff) angewendet werden.

Zum Erreichen hoher Umsätze ist es von Vorteil, wenn die Reaktionsmischung mit Sauerstoff gesättigt ist oder – noch besser – die Reaktion unter erhöhtem Sauerstoffdruck durchgeführt wird. Um einen erhöhten Sauerstoffdruck im Milliliter-Maßstab für Parallel-Versuche zu erzielen, nutzten wir die Katalase-Aktivität, die ebenfalls in der Enzympräparation enthalten war: Nach Zugabe einer Wasserstoffperoxid-Lösung zur Reaktionsmischung in GC-Glasgefäß (1.5 mL) wurden diese schnell dicht verschlossen. Das Wasserstoffperoxid wurde innerhalb von Sekunden durch die Katalase zu Wasser und molekularem Sauerstoff disproportioniert, sodass ein theoretischer Überdruck von 2 bar erzielt wurde. Mit diesem Verfahren konnte der Umsatz von (*E*)-1-Phenyl-1-but en (**1a**) mit zellfreiem Extrakt aus *Trametes hirsuta* G FCC 047 von ursprünglich 10 auf 44 % gesteigert werden (Tabelle 1, Nr. 1). Als noch besseres Substrat erwies sich *trans*-Anethol (**1c**), das mit 83 % Umsatz und exzellenter Chemoselektivität (94 %) zu Anisaldehyd (**2c**) reagierte (Tabelle 1, Nr. 3). Bemerkenswert ist, dass keine Überoxidation des Aldehyds zur Säure festgestellt wurde.

Außer den zweifach substituierten Alkenen werden auch einfach substituierte Phenylalkene wie 4-Methoxystyrol (**1d**) umgesetzt (Tabelle 1, Nr. 4). Ein Ersatz der *para*-Methoxygruppe von **1d** durch Wasserstoff führte nur zu leicht verringerter Aktivität (Styrol (**1e**); Tabelle 1, Nr. 5). Allylbenzol

**Tabelle 1:** Biokatalytische Alkenspaltung mit einer zellfreien Enzympräparation aus *Trametes hirsuta* G FCC 047 in GC-Glasgefäß unter Sauerstoffdruck.

Nr.	Substrat <sup>[a]</sup>	Produkt [%] <sup>[b]</sup>	Chemosel. [%] <sup>[c]</sup>
1	( <i>E</i> )-1-Phenyl-1-but en ( <b>1a</b> )	44	72
2	Inden ( <b>1b</b> )	71	88
3	<i>trans</i> -Anethol ( <b>1c</b> )	83	94
4	4-Methoxystyrol ( <b>1d</b> )	32	89
5	Styrol ( <b>1e</b> )	25	94
6	Allylbenzol ( <b>1f</b> )	<0.1	n.a.
7	<i>o</i> -Methylstyrol	10	>99
8	<i>p</i> -Methylstyrol	26	90
9	<i>p</i> -Aminostyrol	11	>99
10	<i>p</i> -( <i>tert</i> -Butyl)styrol	26	92
11	<i>m</i> -Chlorstyrol	20	88
12	$\alpha$ -Methylstyrol ( <b>1g</b> )	26	>99

[a] 6 g L<sup>-1</sup> Substratkonzentration, 25 °C, pH 6.0. [b] GC-Ausbeute, 24 h Reaktionszeit, Verhältnis von Aldehyd oder Keton zu anfänglicher Substratkonzentration. [c] Verhältnis von Aldehyd oder Keton zu allen neu entstandenen Verbindungen. n.a.: nicht anwendbar.

(**1f**) wurde dagegen nicht umgesetzt, was möglicherweise darauf zurückzuführen ist, dass hier die C=C-Bindung nicht mit dem aromatischen Ring konjugiert ist. Für eine enzymatische Reaktion ist es erstaunlich, dass auch ein sterisch anspruchsvolles *ortho*-substituiertes Styrol-Derivat wie *o*-Methylstyrol (Tabelle 1, Nr. 7) umgesetzt wurde. Bei der Umsetzung von *p*-Aminostyrol (Tabelle 1, Nr. 9) bestach die Reaktion durch die exzellente Chemoselektivität (>99 %); es wurde ausschließlich *p*-Aminobenzaldehyd erhalten, die Aminogruppe blieb unberührt. Je nach Substrat können auch Ketone erhalten werden; so führte die Umsetzung von  $\alpha$ -Methylstyrol (**1g**) vollständig chemoselektiv (>99 %) zu Acetophenon (Tabelle 1, Nr. 12).

Die Löslichkeit der lipophilen Substrate im wässrigen Puffer konnte durch Zusatz von Ethanol [bis zu einer Konzentration von 25 % (v/v)] als Lösungsvermittler verbessert werden. Das Optimum der Aktivität lag bei 15 % (v/v) Ethanol. Im weiteren Verlauf wurde die Substratkonzentration variiert, wobei gezeigt wurde, dass diese für *trans*-Anethol (**1c**) bis zu einer Konzentration von 2.7 mol L<sup>-1</sup> (400 g L<sup>-1</sup>) erhöht werden kann. Die hohe mögliche Substratkonzentration unterstreicht die Eignung dieser Methode für die Synthese. Für eine Reaktion im präparativen Maßstab wurde eine Hydrierapparatur (Parr 3910) zweckentfremdet, um unter einem konstanten Sauerstoffdruck von 2 bar zu arbeiten. Das Substrat *trans*-Anethol (**1c**; 0.6 g) reagierte so mit 81 % Umsatz innerhalb von 24 Stunden.

Die beschriebene Methode zur biokatalytischen Arylkenspaltung ist eine einfache, sichere, unbedenkliche und „grüne“ Alternative zu den nichtenzymatischen Varianten. Es sind weder Spezialapparaturen (Ozonisator) noch zusätzliche Chemikalien (Reduktionsmittel, Salze zur Oxidation) erforderlich, wodurch auch keine weiteren Nebenprodukte zur Entsorgung anfallen. Nur eines der am einfachsten zugänglichen und am wenigsten toxischen Oxidationsmittel, nämlich molekularer Sauerstoff, wird benötigt. Die höchstmögliche erreichbare Atomeffizienz<sup>[16]</sup> zur Alkenspaltung kann nur bei Einsatz von molekularem Sauerstoff erzielt werden, so wie es in dem hier präsentierten Verfahren beschrieben wurde. Das

Repertoire an biokatalytischen Reaktionen für die organische Synthese kann damit um die hier beschriebene biokatalytische Arylalkenspaltung erweitert werden.

## Experimentelles

Biokatalytische Alkenspaltung im präparativen Maßstab unter Sauerstoffdruck: Lyophilisierte Zellen von *Trametes hirsuta* G FCC 047 (3 g) wurden mit Bis-Tris-Puffer (125 mL, 50 mM, pH 6) binnen 30 min auf einem Infors-Schüttler (25 °C, 130 rpm) rehydratisiert [Bis-Tris = 2,2-Bis(hydroxyethyl)iminotris(hydroxymethyl)methan]. Die rehydratisierten Zellen wurden in den Reaktionszylinder (450 mL) der „Hydrierapparatur Parr 3910“ gegeben und mit *trans*-Anethol (**1c**; 0.6 mL, 0.59 g, 3.9 mmol) und EtOH (1.7 mL) versetzt. Der Gasraum wurde mit reinem Sauerstoff gespült, ehe ein Druck von 2 bar O<sub>2</sub> angelegt wurde. Nach 24 h Schütteln bei 22 °C unter konstantem O<sub>2</sub>-Druck (2 bar) wurde das Reaktionsgemisch mit EtOAc (4 × 50 mL) extrahiert und bei jedem Schritt auch zur Verbesserung der Phasentrennung zentrifugiert (8000 Upm, 20 min). Schließlich wurden die Zellen mittels Filtration abgetrennt und noch einmal mit EtOAc (50 mL) „gewaschen“. Die vereinigten Phasen wurden getrocknet (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) und im Vakuum eingeengt. Ein Umsatz von 81 % zu *p*-Anisaldehyd (**2c**) wurde mittels GC bestimmt. Reinigung durch Kieselgel-Chromatographie (50 g Kieselgel, Benzyl-Essigsäureethylester 20:1) führte zu 0.31 g *p*-Anisaldehyd (57 % Ausbeute an isoliertem Produkt).

Eingegangen am 21. April 2006

**Stichwörter:** Alkene · Biokatalyse · Oxidationen · Ozonolyse · Sauerstoff

- [1] a) *Modern Oxidation Methods* (Hrsg.: J.-E. Bäckvall), Wiley-VCH, Weinheim, 2004; b) G.-J. ten Brink, I. W. C. E. Arends, R. A. Sheldon, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 4105–4123; c) R. Noyori, M. Aoki, K. Sato, *Chem. Commun.* **2003**, 1977–1986; d) M. Poliakoff, J. M. Fitzpatrick, T. R. Farren, P. T. Anastas, *Science* **2002**, *297*, 807–810; e) K. Sato, M. Hyodo, M. Aoki, X.-Q. Zheng, R. Noyori, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 2469–2476.
- [2] a) F. E. Kühn, R. W. Fischer, W. A. Herrmann, T. Weskamp in *Transition Metals for Organic Synthesis*, Vol. 2 (Hrsg.: M. Beller, C. Bolm), Wiley-VCH, Weinheim, 2004, S. 427–436; b) D. G. Lee, T. Chen in *Comprehensive Organic Synthesis*, Vol. 7 (Hrsg.: B. M. Trost, I. Fleming), Pergamon, Oxford, 1991, S. 541–591; c) M. Hudlicky, *Oxidation in Organic Chemistry*, ACS Monograph 186, American Chemical Society, Washington, DC, 1990.
- [3] Eine Auswahl an Beispielen: unter Verwendung von Ozon: a) I. Paterson, G. J. Florence, A. C. Heimann, A. C. Mackay, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 1154–1157; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1130–1133; b) A. Wroblewski, K. Sahasrabudhe, J. Aube, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5475–5481; c) X. Peng, D. Bondar, L. A. Paquette, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 9589–9598; mit OsO<sub>4</sub>/NaIO<sub>4</sub>: d) T. E. Nielsen, M. Meldal, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2695–2698; e) S. Takahashi, K. Souma, R. Hashimoto, H. Koshino, T. Nakata, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4509–4515; mit RuCl<sub>3</sub>/NaIO<sub>4</sub>: f) L. G. Arini, P. Szeto, D. L. Hughes, R. A. Stockman, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 8371–8374; mit RuCl<sub>3</sub>/NaIO<sub>4</sub> zur Schutzgruppen-Ab-spaltung: g) B. Alcaide, P. Almendros, J. M. Alonso, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 8693–8695.
- [4] R. A. Berglund in *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, Vol. 6 (Hrsg.: L. A. Paquette), Wiley, New York, 1995, S. 3837–3843.
- [5] a) K. Koike, G. Inoue, T. Fukuda, *J. Chem. Eng. Jpn.* **1999**, *32*, 295–299; b) R. A. Ogle, J. L. Schumacher, *Process Saf. Prog.* **1998**, *17*, 127–133.
- [6] Eines der meistverwendeten Reagentien ist OsO<sub>4</sub>/NaIO<sub>4</sub> (Le-mieux-Johnson-Reagens): a) R. Pappo, D. S. Allen, Jr., R. U. Lemieux, W. S. Johnson, *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 478–479; b) W. Yu, Y. Mei, Y. Kang, Z. Hua, Z. Jin, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3217–3219; andere Reagentien sind: OsO<sub>4</sub>/Oxone: c) B. R. Travis, R. S. Narayan, B. Borhan, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3824–3825; kat. RuCl<sub>3</sub>/NaIO<sub>4</sub> oder Oxone: d) D. Yang, C. Zhang, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4814–4818; Ru-Nanopartikel/NaIO<sub>4</sub>: e) C.-M. Ho, W.-Y. Yu, C.-M. Che, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 3365–3369; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3303–3307; andere Ru-Katalysatoren: f) V. Kogan, M. M. Quintal, R. Neumann, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5039–5042; Chrom(VI): g) J. March, *Advanced Organic Chemistry*, Wiley, New York, 1992, S. 1181; Permanganat: h) D. Arndt, *Manganese Compounds as Oxidizing Agents in Organic Chemistry*, Open Court, LaSalle, IL, 1981, S. 241–246; i) S. Lai, D. G. Lee, *Synthesis* **2001**, 1645–1648; zu Autoxidation siehe: j) R. A. Sheldon, J. K. Kochi, *Metal-Catalyzed Oxidation of Organic Compounds*, Academic Press, New York, 1981; k) Ti-Zeolith mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: W. Adam, A. Corma, A. Martinez, M. Renz, *Chem. Ber.* **1996**, *129*, 1453–1455; Peroxo-wolfram-Komplexe mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: l) A. Haimov, H. Cohen, R. Neumann, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11762–11763.
- [7] R. S. Drago, B. B. Corden, C. W. Barnes, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2453–2454.
- [8] a) A. G. Shoair, R. Mohamed, *Synth. Commun.* **2006**, *36*, 59–64; b) W. P. Griffith, E. Kwong, *Synth. Commun.* **2003**, *33*, 2945–2951; c) A. K. Sinha, B. P. Joshi, R. Acharya, *Chem. Lett.* **2003**, *32*, 780–781.
- [9] Myeloperoxidase und *Coprinus-cinerarius*-Peroxidase mit elektronenarmen Styrol-Derivaten: a) A. Tuynman, J. L. Spelberg, I. M. Kooter, H. E. Schoemaker, R. Wever, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 3025–3030; Meerrettich-Peroxidase mit Phenol als Co-substrat: b) P. R. Ortiz de Montellano, L. A. Grab, *Biochemistry* **1987**, *26*, 5310–5314; Meerrettich-Peroxidase mit Indolen: c) K.-Q. Ling, L. M. Sayre, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 3543–3551; Mutanten der Meerrettich-Peroxidase: d) S.-i. Ozaki, P. R. Ortiz de Montellano, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7056–7064; Chlorperoxidase von *Caldariomyces fumago* mit tert-Butyl-hydroperoxid: e) D. J. Bougioukou, I. Smonou, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 339–342; f) D. J. Bougioukou, I. Smonou, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4511–4514; g) M. Takemoto, Y. Iwakiri, Y. Suzuki, K. Tanaka, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 8061–8064.
- [10] G. Bourrel, J.-M. Nicaud, B. Nthangeni, P. Santiago-Gomez, J.-M. Belin, F. Husson, *Enzyme Microb. Technol.* **2004**, *35*, 293–299.
- [11] Die Spaltung von β-Carotin gelingt mittels Epoxidierung durch eine Monoxygenase zusammen mit einer Hydrolase und weiteren Enzymen: M. G. Leuenberger, C. Engeloch-Jarret, W.-D. Woggon, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2684–2687; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2614–2617.
- [12] Übersichtsartikel: a) T. D. H. Bugg, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 7075–7101; b) M. Sono, M. P. Roach, E. D. Coulter, J. H. Dawson, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2841–2888.
- [13] Quercetin-2,3-dioxygenase aus *Bacillus subtilis*: a) M. R. Schaab, B. M. Barney, W. A. Francisco, *Biochemistry* **2006**, *45*, 1009–1016; Quercetin-2,3-dioxygenase aus *Aspergillus niger*: b) H.-K. Hund, J. Breuer, F. Lingens, J. Hütermann, R. Kappl, S. Fetzner, *Eur. J. Biochem.* **1999**, *263*, 871–878; Indolamin-2,3-dioxygenase und Tryptophan-2,3-dioxygenase aus Säugetieren: c) D. H. Munn, M. Zhou, J. T. Attwood, I. Bondarev, S. J. Conway, B. Marshall, C. Brown, A. L. Mellor, *Science* **1998**, *281*, 1191–1193, zit. Lit.; eine Dioxygenase aus *Acinetobacter johnsonii* ist auf 1,3-Dione beschränkt: d) G. D. Straganz, H. Hofer, W. Steiner, B. Nidetzky, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12202–12203; e) G. Straganz, A. Glieder, L. Brecker, D. W. Ribbons, W. Steiner, *Biochem. J.* **2003**, *369*, 573–581; Lignostilben-α,β-dioxygenase-Isoenzyme spalten verschiedene substituierte Stilben-Derivate: f) S. Kamoda, T. Terada, Y. Saburi, *Biosci. Biotechnol.*

- Biochem.* **1997**, *62*, 2575–2576; g) S. Kamoda, M. Samejima, *Agrie. Biol. Chem.* **1991**, *55*, 1411–1412; h) S. Kamoda, Y. Saburi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1993**, *57*, 931–934; i) S. Kamoda, T. Terada, Y. Saburi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2003**, *67*, 1394–1396; j) S. Kamoda, T. Terada, Y. Saburi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2005**, *69*, 635–637; Häm-abhängige Oxygenasen spalten Doppelbindungen von Kautschuk (Poly(*cis*-1,4-isopren)): k) R. Braaz, P. Fischer, D. Jendrossek, *Appl. Environ. Microbiol.* **2004**, *70*, 7388–7395; Übersichtsartikel zur β-Diketonspaltung: l) G. Grogan, *Biochem. J.* **2005**, *388*, 721–730.
- [14] Hauseigene Stammsammlung.
- [15] H. E. Schoemaker, D. Mink, M. G. Wubbolds, *Science* **2003**, *299*, 1694–1697.
- [16] R. A. Sheldon, *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 1233–1246.