

Stereospezifische Hydrierungen mit Wasserstoffgas und Mikroorganismen als Katalysatoren^{**}

Von *Helmut Simon, Bernhard Rambeck, Hironobu Hashimoto, Helmut Günther, Gerhard Nohynek und Helmut Neumann*^[*]

Es gibt zahlreiche Mikroorganismen, die Wasserstoffgas entwickeln^[1]. Bisher scheint nie versucht worden zu sein, unter Umkehrung der zur Wasserstoffbildung führenden Reaktionskette mit Mikroorganismen Hydrierungen mit Wasserstoffgas durchzuführen. Wir verwendeten auf Crotonat gezogenes *Clostridium kluyveri*^[2], um zahlreiche α,β -ungesättigte Carbonsäuren zu hydrieren, und *Bacillus polymyxa* (NRC-9035)^[3], um aus α -Hydroxyketonen Diole oder aus α -Oxosäuren α -Hydroxyketone und Diole zu erhalten.

Tabelle 1. Beispiele für Säuren (1), die mit *Clostridium kluyveri* und Wasserstoffgas hydriert wurden. v_{rel} = relative Geschwindigkeit.

Säure	(1)				v_{rel}
	R ¹	R ²	R ³		
Tiglinsäure	CH ₃	CH ₃	H	1.0	
Angelicasäure [a]	CH ₃	H	CH ₃	0.2	
Acrylsäure	H	H	H	3.2	
Methacrylsäure	CH ₃	H	H	2.0	
Dimethylacrylsäure	H	CH ₃	CH ₃	0.2	
E-2-Pentensäure	H	C ₂ H ₅	H	1.0	
E-2-Hexensäure	H	n-C ₃ H ₇	H	0.9	
Sorbinsäure	H	n-C ₃ H ₈	H	1.0	
Fumarsäuremono- äthylester	H	C ₂ H ₅ O ₂ C	H	0.6	
E-3-Furfuryl- acrylsäure	H		H	1.0	
E-3-(2-Thienyl)- acrylsäure	H		H	1.3	
Zimtsäure [a]	H	C ₆ H ₅	H	0.9	
E- α -Methylzimtsäure [a]	CH ₃	C ₆ H ₅	H	0.7	
Z- α -Chlor- α - methoxyzimtsäure [a]	OCH ₃	C ₆ H ₄ Cl	H	0.8	
Z- α -Brom- α - methoxyzimtsäure [a]	OCH ₃	C ₆ H ₄ Br	H	0.8	
1-Cyclohexenebcarbonsäure		-(CH ₂) ₄	H	0.1	

[a] Siehe Text.

Tabelle 1 zeigt die relativen Hydriergeschwindigkeiten von je 0.1 mmol ungesättigter Carbonsäure durch 80 mg *Clostridium* (Trockensubstanz) in 3 ml 0.1 M Phosphatpuffer (pH = 7.0) bei 35 °C und 1 atm Wasserstoffgas. Die Absolutgeschwindigkeit der Hydrierung beträgt ca. 40 μ mol/h für Tiglinat. Bei 35 °C sind solche Zellen in Gegenwart von Tetracyclin 60–100 h aktiv. Die mit [a] bezeichneten Verbindungen in Tabelle 1 wurden auch im 2- bis 10-mmol-Maßstab hydriert. Soweit die Produkte bekannt sind, wurde ihre vollständige stereospezifische Hydrierung festgestellt.

Dieses Hydrierverfahren erlaubt in weitem Umfang die präparative Gewinnung von Verbindungen, die nur aufgrund der stereospezifischen Substitution von H durch D und/oder T chiral werden. Die in D₂O-Puffer gewonnene [2,3-D₂]Hydrozimtsäure zeigt als Natriumsalz in Wasser ($c=0.076$ g/ml) $[\alpha]_{D}^{25} = -7.0$.

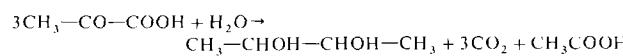
[*] Prof. Dr. H. Simon, Dipl.-Chem. B. Rambeck, Dr. H. Hashimoto, Dr. H. Günther, Dipl.-Chem. G. Nohynek und H. Neumann
Lehrstuhl für Organische Chemie und Biochemie der Technischen Universität

8 München 2, Arcisstraße 21

[**] Diese Arbeit wurde vom Bundesministerium für Forschung und Technologie unterstützt. Herrn H. Leichmann und Frl. S. Klüpfel danken wir für sehr geschickte Mitarbeit und Herrn Prof. H. Machleidt, Fa. Dr. Karl Thomae, für zahlreiche Zimtsäurederivate.

Aus *cis*-Dideuterio-acrylsäure^[4] lässt sich in HTO (3S)[3-D, 3-T]Propionsäure gewinnen. Dies Verfahren dürfe eines der einfachsten sein, um im präparativen Maßstab chirale Methylgruppen zu erhalten.

Pyruvat und Acetoin sind Zwischenprodukte der Fermentation von D-Glucose zu (2R,3R)-Butandiol durch *Bacillus polymyxa*. Nach der Summengleichung



sollte auch die Bildung von 2,3-Butandiol aus Pyruvat möglich sein. Pyruvat oder 2-Oxobutyrat werden in einer Stickstoffatmosphäre jedoch nahezu ausschließlich – unter Wasserstoffentwicklung – oxidativ decarboxyliert. Unter 90 atm Wasserstoffdruck laufen dagegen folgende Reaktionen, katalysiert durch *B. polymyxa*, ab (Ausbeuten in Klammern):

Pyruvat	→ (2R,3R)-Butandiol	(65 %)
(R,S)-Acetoin	→ <i>erythro</i> - und <i>threo</i> -Butandiol	(100 %)
2-Hydroxy-3-pentanon	→ Pentandiol	(100 %)
(R,S)-Propionin	→ <i>erythro</i> - und <i>threo</i> -Hexandiol	(60 %)
2-Oxobutyrat	→ Hexandiol	(20 %)

Es wurden z. B. 11.0 g (100 mmol) Natriumpyruvat mit 20 g *B. polymyxa* (Trockengewicht) in einem Autoklaven in 150 ml 0.05 M Phosphatpuffer (pH = 6.7) für 25 h bei 35 °C belassen.

Eingegangen am 19. Juni 1974 [Z 63a]

CAS-Registry-Nummern:

Tiglinsäure: 80-59-1 / Angelicasäure: 565-63-9 / Acrylsäure: 79-10-7 / Methacrylsäure: 79-41-4 / Dimethylacrylsäure: 541-47-9 / E-2-Pentensäure: 13991-37-2 / E-2-Hexensäure: 13419-69-7 / Sorbinsäure: 110-44-1 / Fumarsäuremonoäthylester: 2459-05-4 / Zimtsäure: 621-82-9 / E- α -Methylzimtsäure: 1895-97-2 / Z-p-Chlor- α -methoxyzimtsäure: 52217-00-2 / Z-p-Brom- α -methoxyzimtsäure: 52217-01-3 / 1-Cyclohexencarbonsäure: 636-82-8 / Natriumpyruvat: 113-24-6 / (R,S)-Acetoin: 52217-02-4 / *erythro*-2,3-Butandiol: 5341-95-7 / *threo*-2,3-Butandiol: 35007-63-7 / 2-Hydroxy-3-pentanon: 5704-20-1 / 2,3-Pentandiol: 42027-23-6 / (R,S)-Propionin: 52217-03-5 / *erythro*-3,4-Hexandiol: 22520-39-4 / *threo*-3,4-Hexandiol: 52217-04-6 / Natrium-2-oxo-butyrat: 2013-26-5 / 3,4-Hexandiol: 922-17-8.

[1] C. T. Gray u. H. Gest, *Science* 148, 186 (1965).

[2] H. U. Bergmeyer, G. Holz, H. Klotzsch u. G. Lang, *Biochem. Z.* 338, 114 (1963). Wir danken Herrn Dr. G. Holz, Fa. C. F. Boehringer, Tutzing, für Zellmaterial zur Weiterzucht.

[3] H. Katzenelson u. A. G. Lochhead, *Can. J. Res.* 22 C, 273 (1944); G. A. Adams u. J. D. Leslie, *ibid.* 24 F, 107 (1946).

[4] R. K. Hill u. G. R. Newkome, *J. Org. Chem.* 34, 740 (1969).

Stereospezifische Hydrierung von (R)- oder (S)-2-Äthyl-4-phenylallencarbonsäure zu *cis*- bzw. *trans*-2-Äthyl-4-phenyl-3-butensäure mit *Clostridium kluyveri*^{**}

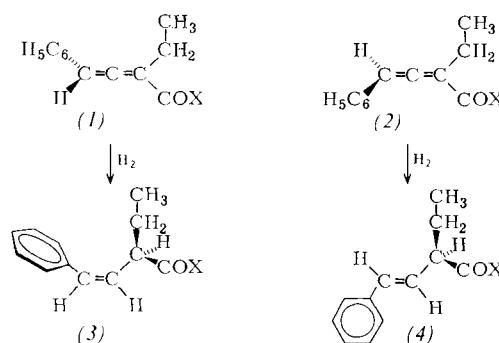
Von *Bernhard Rambeck* und *Helmut Simon*^[*]

Eine Hydrierung mit Wasserstoffgas und Mikroorganismen^[1] ist auch bei 2,4-disubstituierten Allencarbonsäuren^[2] wie 4-Äthyl-2-methyl-, 2-Äthyl-4-methyl- und 2-Äthyl-4-phenylallencarbonsäuren möglich. Sie wurde an (R)- und (S)-2-Äthyl-4-phenylallencarbonsäure (2-Äthyl-4-phenyl-2,3-butadiensäure) (1) und (2) näher studiert.

[*] Dipl.-Chem. B. Rambeck und Prof. Dr. H. Simon
Lehrstuhl für Organische Chemie und Biochemie der Technischen Universität
8 München 2, Arcisstraße 21

[**] Diese Arbeit wurde vom Bundesministerium für Forschung und Technologie unterstützt. Wir danken Herrn Dr. P. Rauschenbach für die Analysen mit dem Hochdruckflüssigkeits-Chromatographen, Herrn Dr. H. Günther und Frl. S. Klüpfel für die Zucht von *C. kluyveri* und Herrn H. Leichmann für sehr interessierte Mitarbeit.

Enzymatische Umsetzungen von enantiomeren Molekülen ohne Asymmetriezentrum wurden bisher noch kaum untersucht. Werden 1.0 mmol des Racemats (1), (2) als Natriumsalz mit 1.2 g (bezogen auf Trockensubstanz) *C. kluveri* in 25 ml



X = OII oder SCoA (Thioester mit Coenzym A)

0.1 M Phosphatpuffer (pH = 7.0) bei 35°C unter 1 atm Wasserstoffgas geschüttelt, so entstehen zwei Produkte, (3) und (4), quantitativ und in gleichen Mengen. Die Hydrierung von (1) und (2) in getrennten Ansätzen verläuft gleich schnell. Aus den Daten von (3) und (4) in Tabelle 1 und der Tatsache, daß die Hydrierung von (4) sowie die von einem 1:1-Gemisch von (3) und (4) mit Chlorotris(triphenylphosphan)rhodium das gleiche optisch aktive Produkt ergeben, läßt sich die Struktur von (3) und (4) ableiten. Die Drehung der Natriumsalze der Hydrierungsprodukte von (3) und (4) in Wasser (c = 0.0038 bzw. 0.0058 g/ml) beträgt $[\alpha]_D^{25} = -31^\circ$ bzw. -29° . Durch die chirale Verdrillung des π -Systems von (3) wird die optische Aktivität stark erhöht. Bei 350 nm beträgt die spezifische Drehung schon fast -2500° .

Tabelle 1. Einige Daten der bei der Hydrierung aus (1) und (2) oder dem Racemat (1), (2) erhaltenen Produkte.

UV (Na-Salze in D_2O) λ_{max} (ε)
Retentionzeit bei Hochdrucksäulenchromatographie bezogen auf (1), (2)
 $[\alpha]_D^{25}$ der Na-Salze ($c = 0.038$ g/ml D_2O)
 $[\alpha]_D^{25}$ der freien Säuren ($c = 0.014$ g/ml $CHCl_3$)
Kopplungskonstanten J der vinylischen Protonen im NMR-Spektrum

Ob (3) und (4) in der R- oder S-Konfiguration vorliegen, kann man noch nicht mit Sicherheit sagen. Weder (3) noch (4) sind in der Literatur beschrieben. Die R-Konfiguration läßt sich jedoch sehr wahrscheinlich machen. Bei einigen Derivaten von 2-Methylcarbonsäuren wie 2-Methyl-3-butenoat, 2-Methylbutyrat und 2-Methylhydrocinnamat zeigt jeweils die Verbindung mit R-Konfiguration eine negative Drehung. Bei den beiden erstgenannten Verbindungen bewirkt der Übergang vom Natriumsalz in Wasser zur freien Säure in Chloroform wie bei (3) und (4) (vgl. Tabelle 1) eine Verschiebung der Drehung zu stärker negativen Werten. Da (1) die cis-Verbindung (3) und (2) die trans-Verbindung (4) ergibt und unter der Voraussetzung, daß die R-Konfiguration in (3) und (4) vorliegt, erfolgt die Wasserstoffaddition trans. Dies entspricht der trans-Addition durch die Butyryl-CoA-Dehydrogenase^[4]. Es ist erstaunlich, daß beide Enantiomere gleich rasch gebildet werden, insbesondere auch wegen der sterisch sehr ungünstigen cis-Konfiguration von (3).

Eingegangen am 19. Juni 1974 [Z 63b]

CAS-Registry-Nummern:
(1): 52216-94-1 / (2): 52340-23-5 / Racemat (1), (2): 52248-51-8

(3): 52216-95-2 / (3) (Na-Salze): 52216-96-3 / (4): 52216-97-4 /
(4) (Na-Salze): 52216-98-5.

[1] H. Simon, B. Rambeck, H. Hashimoto, H. Günther, G. Nohynek u. H. Neumann, Angew. Chem. 86, 675 (1974); Angew. Chem. internat. Edit. 13, Nr. 9 (1974).

[2] Wir danken den Herren Prof. G. Kresze und Dr. W. Runge für Diskussion und die Allencarbonsäuren (Synthese nach [3]).

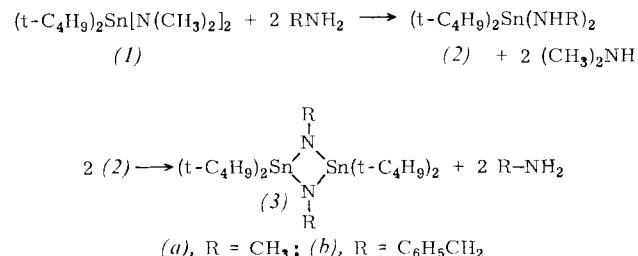
[3] G. Kresze, W. Runge u. E. Ruch, Liebigs Ann. Chem. 756, 112 (1972); G. Kresze u. W. Runge, noch unveröffentlicht.

[4] H. J. LaRoche, M. Kellner, H. Günther u. H. Simon, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 352, 399 (1971).

1,3,2,4-Diazadistannetidine, die ersten viergliedrigen Cyclostannazane

Von Dieter Hänssgen und Inge Pohl^[1]

Die Sonderstellung der tert.-Butylzinn-Element-Verbindungen^[1,2] zeigt sich u.a. bei der Einwirkung von Di-tert.-butylstannyl-bis(dimethylamin) (1) auf überschüssiges Methyl- oder Benzylamin. Im Gegensatz zu anderen Diorganostannyl-bis(dialkylaminen), die zu Cyclotristannazanen reagieren^[3], entsteht aus (1) das Stannyldamin (2), das bei 100 bis 130°C unter Abspaltung von Alkylamin zu den neuartigen 1,3,2,4-Diazadistannetidinen (3a) bzw. (3b) kondensiert. (3a) und



(3b) bilden farblose, hydrolyseempfindliche Kristalle, die sich gut in aromatischen und aliphatischen Kohlenwasserstoffen lösen.

Während aus (3a) z.B. mit Benzonitril durch 1,2-dipolare Addition unter Ringerweiterung der achtgliedrige Heterocyclus (4) entsteht ($\text{Fp} = 220^\circ\text{C}$), bilden sich mit schwefelhaltigen Heterokumulen wie Schwefelkohlenstoff oder Phenylisothiocyanat das Dithiadistannetan (5) und Isothiocyanat bzw. Carbodiimid.

Zusammensetzung und Struktur von (3a), (3b) und (4) wurden durch Elementaranalyse, Molekulargewichtsbestimmung (kryoskopisch in Benzol) sowie IR-, $^1\text{H-NMR}$ - und Massenspektren gesichert.

Massenspektren (Auswahl) (m/e): (3a): 526 (Molekül-Ion); 469, 412, 355, 298 (rel. Int. 100%), entsprechend $M - 1$, 2, 3 bzw. 4 $t\text{-C}_4\text{H}_9$; 269 Sn—N(CH₃)—Sn. (3b): 678 (Molekül-Ion); 621, 564 (rel. Int. 100%), 507, 450, entsprechend $M - 1$,

[*] Dr. D. Hänssgen und cand. chem. I. Pohl

Anorganisch-Chemisches Institut der Universität
53 Bonn, Max-Planck-Straße