

men in Intervallen, die von 30 s (Beginn) bis 15 min (Ende) variierten, aliquote Teile von 30 µL und versetzten diese in einer Eppendorf-Pipette mit 30 µL gesättigter Kaliumchloridlösung. Nach einer Inkubationszeit von 1.75 min bei 273 K, in deren Verlauf die Monoaquakomplexe in Monochlorverbindungen überführt werden [12], wurden die Proben in flüssigen Stickstoff getaucht und bis zur Analyse bei 77 K gehalten. Die Kühlung auf 77 K ist wichtig, da noch bei 193 K, der Temperatur von Trockeneis, die einfach koordinierten Spezies **I1** und **I2** trotz Überschuß an KCl in das Chelat **C** überführt werden. Da die späteren HPLC-Analysen sehr zeitraubend sind und so einige Proben über mehrere Tage aufbewahrt werden müssen, kann diese langsame Umwandlung die relativen Konzentrationen signifikant verändern.

Für die HPLC-Analysen benutzten wir einen Spectra-Physics-SP-8800-Chromatographen mit einer Nucleosil-C18-Säule (250 × 4.6 mm ID, 5 µm, 100 Å; Macherey Nagel). Die Standardarbeitsbedingungen waren: Mobile Phase: Ammoniumacetatpuffer (Merck; 0.01 M, pH = 4.70) und Acetonitril (Merck) (95:5 v/v); Flußrate 0.8 mL min<sup>-1</sup>; T = 298 K. Die Detektion erfolgte bei 255 nm. Bei dieser Wellenlänge nimmt die Absorption des Reaktionsgemisches im Verlauf der Reaktion um 4% ab, wobei die Abnahme in etwa mit der Bildung des Chelats **C** korreliert. Die durch Peak-Integration ermittelte Konzentration von **C** wurde deshalb mit dem Faktor 1.04 korrigiert.

Wir identifizierten die Monoaddukte durch enzymatischen Abbau der entsprechenden Fraktionen mit der Exonuclease Venu-Phosphodiesterase (VPD, Sigma). VPD spaltet das 5'-Monoaddukt (**I2**) in *cis*-[PtCl(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>(TpG-N7)] und dpG, während das 3'-Monoaddukt (**I1**) nicht angegriffen wird [13].

## Anhang

Die Integration der Differentialgleichungen, durch die die Kinetik des Reaktionssystems aus Schema 1 beschrieben wird, ergibt zur Zeit *t* für die Konzentrationen [**N**], [**I1**], [**I2**] und [**C**] die folgenden Ausdrücke (*W* = Überschuß an *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> bezogen auf das Oligonucleotid **N**):

$$[N] = \frac{W}{e^{(k_1 t + A)W} - 1}$$

$$A = \frac{\ln(W/[N]_0 + 1)}{W}; k_1 = k_{11} + k_{12}; W = [Pt] - [N]$$

$$[I1] = k_{11} e^{-k_{21} t} \int [N]([N] + W) e^{k_{21} t} dt$$

$$[I2] = k_{12} e^{-k_{22} t} \int [N]([N] + W) e^{k_{22} t} dt$$

$$[C] = [N]_0 - [N] - [I1] - [I2]$$

Die Integrale in den Gleichungen für [**I1**] und [**I2**] wurden für Zeitabstände von 1 s numerisch gelöst. Zur Optimierung wurde das Lot durch den Meßpunkt auf die Tangente der errechneten Kurve gefällt (*p* in Abb. 3). Wir bevorzugten diese Methode, anstatt den vertikalen Abstand (*v* in Abb. 3) zu verwenden, der die Differenz zwischen berechneten und experimentell bestimmten Konzentrationen wiedergibt. Diese Näherung bezieht sich auf den experimentellen Fehler von Zeit und Konzentration und ist nur dann sinnvoll, wenn die Skaleneinteilung beider Variablen entsprechend der Meßgenauigkeit gewählt wird. Die Näherungsfunktion lautet:

$$F = [\sum_i (p_i^N)^2] + [\sum_i (p_i^1)^2] + [\sum_i (p_i^2)^2] + [\sum_i (p_i^C)^2] \quad (1)$$

Dabei sind *p<sub>i</sub><sup>\*</sup>* die durch Fällen des Lotes ermittelten Abweichungen der Meßwerte *i* von der errechneten Kurve, bestimmt durch *p<sub>i</sub><sup>\*</sup>* =

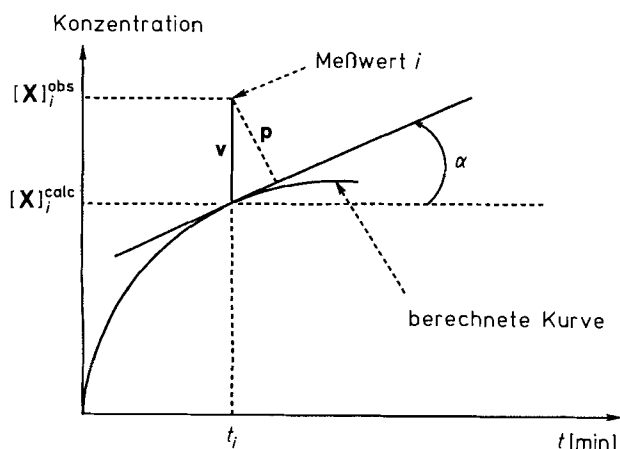


Abb. 3. Zwei Abstände, durch die die Beziehung zwischen Meßwert und berechneter Kurve ausgedrückt werden kann; *p* ist die Normale zur Kurve durch den Meßpunkt. In linearer Näherung ist *p* = *v* cos *α*. Die Variablen sind in Einheiten skaliert, die mit deren systematischen Meßfehlern korrelieren. Während *v* nur die Ungenauigkeit der Konzentrationsmessung wiedergibt, berücksichtigt *p* den Fehler beider Variablen.

$\{[X]_i^{\text{obs}} - [X]_i^{\text{calc}}\} \cos \alpha = \{[X]_i^{\text{obs}} - [X]_i^{\text{calc}}\} (1 + \tan^2 \alpha)^{-1/2}$  mit  $\tan \alpha = \{d[X]_i^{\text{calc}}/dt\}_i \{s(t)/s([X])\}_i$ . [*X*]<sub>i</sub><sup>obs</sup> und [*X*]<sub>i</sub><sup>calc</sup> sind die beobachteten bzw. errechneten Konzentrationen des Produkts **X** zur Zeit *t<sub>i</sub>*; *s(t)* und *s*[*X*] wurden entsprechend der Fehler bei der Bestimmung von Zeit und relativen Konzentrationen als 4 s und 2% der Ausgangskonzentration an Oligonucleotid geschätzt. Die Teilsummen in Gleichung (1) wurden in der zweiten Potenz eingebracht, damit nicht eine Kurve durch das Programm wesentlich schlechter angepaßt wird als die anderen. Zur Optimierung benutzten wir einen „grid-search“-Algorithmus [14].

Eingegangen am 14. Mai 1992 [Z 5348]

CAS-Registry-Nummern:

**N**, 34727-11-2; **C**, 144017-98-1; **I1**, 144041-54-3; **I2**, 144017-99-2; *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 52241-26-6; *cis*-[PtCl(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)]<sup>+</sup>, 53861-42-0.

- [1] A. Laoui, J. Kozelka, J. C. Chottard, *Inorg. Chem.* **1988**, *27*, 2751–2753.
- [2] A. Eastman, *Biochemistry* **1983**, *22*, 3927–3933.
- [3] A. Eastman, *Biochemistry* **1985**, *24*, 5027–5032.
- [4] A. Eastman, M. A. Barry, *Biochemistry* **1987**, *26*, 3303–3307.
- [5] A. Eastman, N. Schulte, *Biochemistry* **1988**, *27*, 4730–4734.
- [6] A. M. J. Fichtinger-Schepman, P. H. M. Lohman, J. Reedijk, *Nucleic Acids Res.* **1982**, *10*, 5345–5356.
- [7] A. M. J. Fichtinger-Schepman, J. L. van der Veer, J. H. J. Den Hartog, P. H. M. Lohman, J. Reedijk, *Biochemistry* **1985**, *24*, 707–713.
- [8] A. Pullman, C. Zakrzewska, D. Perahia, *Int. J. Quantum Chem.* **1979**, *16*, 395–403.
- [9] Als Vergleichsverbindung wurde das fünffach koordinierte Zwischenprodukt unter der Annahme verwendet, daß sich die Struktur des Übergangszustands hiervon nicht wesentlich unterscheidet.
- [10] Es wurde folgende Näherung durchgeführt:  $\epsilon_{254}\{d(TGG)\} \approx \epsilon_{254}\{d(T)\} + 2\epsilon_{254}\{d(pG)\}$ ;  $\epsilon_{254}\{d(T)\}$  und  $\epsilon_{254}\{d(pG)\}$  wurden an Sigma-Produkten unter Berücksichtigung des analytisch bestimmten Wassergehaltes als 5850 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> bzw. 8160 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> gemessen.
- [11] Y. N. Kukushkin, S. C. Dhara, *Indian J. Chem.* **1970**, *8*, 184–185.
- [12] Es ist notwendig, die Monoaqua-Produkte (**I**, **X** = H<sub>2</sub>O) in Monochlorverbindungen (**I**, **X** = Cl) umzuwandeln, da die Chelatbildung sonst während der HPLC-Analyse weitergeht, wodurch die Trennung unvollständig wird. Dazu sollte die Temperatur mindestens 1.75 min bei 293 K gehalten werden. Längere Inkubationen vermeidet man besser, da die Chelatbildungen bei dieser Temperatur nicht ausreichend unterdrückt werden.
- [13] K. Inagaki, Y. Kidani, *Inorg. Chim. Acta* **1985**, *106*, 187–191.
- [14] J. A. McCammon, S. C. Harvey, *Dynamics of Proteins and Nucleic Acids*, Cambridge University Press, Cambridge, **1987**, S. 48.

## Formiat-getriebene, nicht-enzymatische NAD(P)H-Regeneration bei der durch Alkohol-Dehydrogenasen katalysierten stereoselektiven Reduktion von 4-Phenyl-2-butanon\*\*

Von Dorothee Westerhausen, Sabine Herrmann, Werner Hummel und Eberhard Steckhan\*

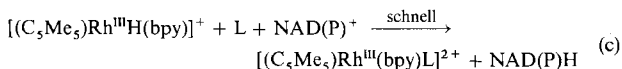
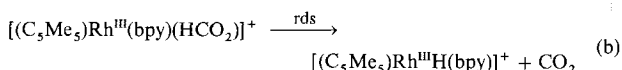
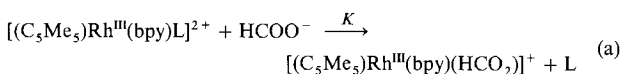
Biotransformationen organischer Verbindungen durch Enzyme oder Mikroorganismen sind aufgrund ihrer Stereoselektivität inzwischen weit verbreitet. Die Anwendung von Redoxenzymen in Synthesen ist wegen der Notwendigkeit zur Cofaktorregeneration bisher jedoch relativ eingeschränkt geblieben. Für Reduktionen mit NAD(P)H-abhängigen Enzymen wurden enzymgekoppelte Regenerationssysteme entwickelt. Dabei wird entweder ein Regenerationssystem wie Formiat-Dehydrogenase (FDH)<sup>(1)</sup> für NADH-abhängige Produktionsenzyme oder das Produktionsenzym

[\*] Prof. Dr. E. Steckhan, Dipl.-Chem. D. Westerhausen, Dr. S. Herrmann  
Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität  
Gerhard-Domagk-Straße 1, W-5300 Bonn 1  
Priv.-Doz. Dr. W. Hummel  
Institut für Enzymtechnologie der Universität Düsseldorf  
in der KFA Jülich GmbH  
Postfach 2050, Wilhelm-Johnen-Straße, W-5170 Jülich

[\*\*] Diese Arbeit wurde vom Bundesministerium für Forschung und Technologie (0319410A) sowie von der BASF Aktiengesellschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken der BASF AG und der DEGUSSA AG für Chemikalienspenden sowie Frau Professor M.-R. Kula, Düsseldorf, und Herrn Professor Dr. C. Wandrey, Jülich, für Unterstützung.

selbst, wie im Falle der NADPH-abhängigen Alkohol-Dehydrogenase aus *Thermoanaerobium brockii* (TBADH)<sup>[2]</sup>, verwendet.

Wir entwickelten ein nicht-enzymatisches Regenerationssystem für NADH und NADPH, das auf der Verwendung von  $[(C_5Me_5)Rh^{III}(bpy)(H_2O)]Cl_2$  und ähnlichen Komplexen als homogenen Redoxkatalysatoren basiert und entweder die Elektrode<sup>[3, 5, 6]</sup> oder Formiat<sup>[4, 5]</sup> als Donor nutzt. Der Reaktionsmechanismus der Formiat-getriebenen NAD(P)H-Regeneration wird durch die Gleichungen (a)–(c) beschrieben (rds = geschwindigkeitsbestimmender Schritt). Schlüsselschritt ist der Hydridtransfer vom intermediären Hydridorhodiumkomplex auf  $NAD(P)^+$  [Gl. (c)], der mit hoher Geschwindigkeit und vollständiger Selektivität abläuft. Es wird ausschließlich enzymaktives  $NAD(P)H$ <sup>[3–6]</sup> gebildet.



Hier beschreiben wir die Formiat-getriebene, nicht-enzymatische NAD(P)H-Regeneration für die durch Alkohol-Dehydrogenasen (ADH) katalysierte stereoselektive Reduktion von Carbonylverbindungen. In einem ersten Modellsystem wurde die Pferdeleber-ADH (HLADH)-katalysierte Reduktion von Hexanal durch in-situ-Regeneration von NADH mit Formiat als Donor und  $[(C_5Me_5)Rh(bpy-5-OAc)(H_2O)]Cl_2$  als Homogenkatalysator (Tabelle 1) untersucht.

Tabelle 1. Ergebnisse der enzymatischen Reduktion von Hexanal mit Formiat-getriebener in-situ-Regeneration von NADH [a].

c (Hexanal) [mM]	t [h]	c (Hexanal) [mM]	Cyclenzahlen für Redox-Kat.	NAD
100.0	0	0	0	0
92.8	1	7.2	14	7
84.6	3	15.4	31	15
57.2	5	42.8	86	43
1.0	24	99.0	198	99
0	30	100.0	200	100

[a] Konzentrationen:  $HCOONa = 0.1$  M, Aldehyd =  $0.1$  M,  $NAD^+ = 1$  mM,  $[(C_5Me_5)Rh(bpy-5-OAc)(H_2O)]Cl_2 = 0.5$  mM, HLADH = 21 Units (Acetaldehyd/Ethanol); in 50 mL  $0.1$  M Na-Phosphat-Puffer, pH 7.5;  $T = 25^\circ C$ ; Argonatmosphäre; gaschromatographische Analyse.

Mit einem Formiat(0.1 M)-zu-Substrat(0.1 M)-Verhältnis von 1:1, 21 U HLADH (Acetaldehyd/Ethanol), 1 Mol-%  $NAD^+$  und 0.5 Mol-% Redoxkatalysator wurde nach 6 h ein Umsatz von 50 % erreicht, vollständiger Umsatz nach ca. 30 h. Ein ähnliches Ergebnis erhielten wir mit Butanal als Substrat. Wir haben dann entsprechend Abbildung 1 diese Methode auf das prochirale Keton 4-Phenyl-2-butanon übertragen. Dabei haben wir vier Enzyme im Hinblick auf Umsatz und Stereoselektivität bei der nicht-enzymatischen Cofaktorregeneration verglichen. Zwei der Enzyme, HLADH und TBADH, sind kommerziell erhältlich, die beiden anderen, Phenylethanol-Dehydrogenase (PhEDH) aus *Lactobacillus kefir*<sup>[7]</sup> und eine Sekundäralkohol-Dehydroge-

nase (S-ADH) aus *Rhodococcus* sp.<sup>[8]</sup>, wurden erst kürzlich isoliert. Hefealkohol-Dehydrogenase wurde nicht zum Vergleich herangezogen, da sie nur äußerst schleppend das Substrat reduziert. HLADH und S-ADH sind NADH-abhängige Enzyme, während die beiden anderen NADPH-abhängig sind.

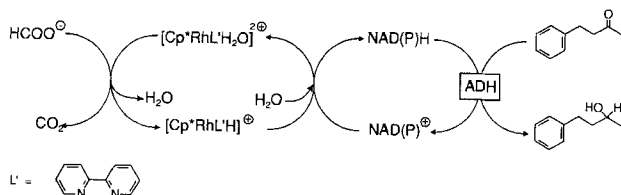


Abb. 1. Enzymatische Reduktion von 4-Phenyl-2-butanon unter in-situ-Cofaktorregeneration mit  $[(C_5Me_5)Rh(bpy)(H_2O)]Cl_2$  als Redoxkatalysator und Formiat als Donor.

Unter Standardbedingungen wurden 10 mL eines  $KP_i$ -Puffers (0.1 M, pH 7) benutzt, der den oxidierten Cofaktor (1 mM),  $[(C_5Me_5)Rh(bpy)(H_2O)]Cl_2$  (0.5 mM), Natriumformiat (0.066 M) und 4-Phenyl-2-butanon (0.033 M) enthielt. Wegen der schlechten Löslichkeit des Ketons im wässrigen Puffersystem bildete sich eine Suspension. Der Reaktionsfortschritt ließ sich gaschromatographisch auf einer HP-1-Glaskapillare verfolgen. Der Enantiomerenüberschuß wurde nach Veresterung des Alkohols mit Acetanhydrid auf einer  $\beta$ -Cyclodextrinphase (50 m, FS-Cyclodex beta-I/P, CS-Chromatographie Service GmbH) ebenfalls gaschromatographisch bestimmt.

Der in Abbildung 2 dargestellte Reaktionsablauf zeigt, daß PhEDH, S-ADH und HLADH unter Batch-Bedingungen nach 24 h zu einem Umsatz zwischen 76 und 90 % bei  $30^\circ C$  führen. TBADH erreicht bei  $30^\circ C$  einen Umsatz von 24 %, während sie bei  $60^\circ C$  wesentlich schneller und effizienter reagiert und nach 5 h bereits 75 % Umsatz erreicht. Nach ersten Untersuchungen enthält die verwendete TBADH-Präparation eine NADPH-inaktivierende Nebenaktivität. Diese scheint sich bei niedrigeren Temperaturen stärker auszuwirken und zu dem geringen Umsatz bei  $30^\circ C$  zu führen.

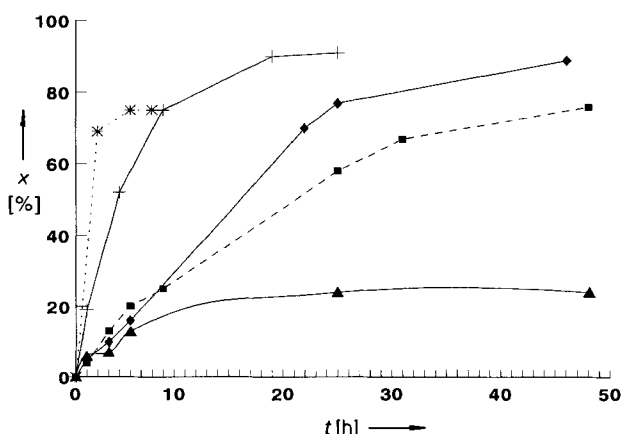


Abb. 2. Abhängigkeit des Umsatzes x von der Zeit t der enzymatischen Reduktion von 4-Phenyl-2-butanon mit in-situ-Cofaktorregeneration mit HLADH bei  $30^\circ C$  (+), TBADH bei  $30^\circ C$  (▲), TBADH bei  $60^\circ C$  (\*), PhEDH bei  $30^\circ C$  (■) und S-ADH bei  $30^\circ C$  (◆) [Bedingungen: 4-Phenyl-2-butanon: 33 mM;  $HCOONa$ : 66 mM;  $NAD(P)^+ = 1$  mM;  $[(C_5Me_5)Rh(bpy)(H_2O)]Cl_2$ : 0.5 mM; in 10 mL  $0.1$  M  $KP_i$ -Puffer von pH 7; bei  $30^\circ C$  und  $60^\circ C$  (nur im Falle von TBADH); HLADH: 9 U (bezogen auf 4-Phenyl-2-butanon); TBADH: 5 U (4-Phenyl-2-butanon); PhEDH: 20 U (4-Phenyl-2-butanon); S-ADH: 20 U (4-Phenyl-2-butanon)].

Die Werte für die Enantiomerenüberschüsse *ee* und die Umsätze bei 30, 38 und 60 °C (Tabelle 2) zeigen, daß die gleichen *ee*-Werte wie bei anderen Regenerationsverfahren beobachtet werden: TBADH und S-ADH erreichen mindestens 99%, HLADH 96% für den (*S*)-Alkohol. PhEDH liefert bevorzugt den (*R*)-Alkohol (96% *ee*). Die hohen En-

Tabelle 2. Umsatz *x* und Enantiomerenüberschuß *ee* bei der enzymatischen Reduktion von 4-Phenyl-2-butanon mit Formiat-getriebener redoxkatalytischer in-situ-Cofaktorregeneration [a].

Enzymaktivität [U] [b]	Cofaktor-Konz. [mM]	<i>T</i> [°C]	<i>t</i> [h] [c]	<i>x</i> [%]	<i>ee</i> [%]
HLADH [9]	NAD <sup>+</sup> [1]	30	24	90	96 ( <i>S</i> )
HLADH [9]	NAD <sup>+</sup> [1]	38	24	75	96 ( <i>S</i> )
TBADH [5]	NADP <sup>+</sup> [1]	30	24	24	>99 ( <i>S</i> )
TBADH [5]	NADP <sup>+</sup> [1]	38	24	45	>99 ( <i>S</i> )
TBADH [5]	NADP <sup>+</sup> [1]	60	5	75	>99 ( <i>S</i> )
PhEDH [20]	NADP <sup>+</sup> [1]	30	45	76	96 ( <i>R</i> )
PhEDH [20]	NADP <sup>+</sup> [1]	38	24	81	96 ( <i>R</i> )
S-ADH [20]	NAD <sup>+</sup> [1]	30	43	89	>99 ( <i>S</i> )

[a] Bedingungen wie in Abb. 2. [b] Einheiten immer bezüglich 4-Phenyl-2-butanon. [c] Zeit, von der an die Änderung des Umsatzes nicht mehr signifikant war.

antiomerenüberschüsse bestätigen überzeugend, daß die Reaktion selektiv über das Enzym verläuft und kein direkter Hydridtransfer vom intermediären Hydridorhodiumkomplex auf das Keton erfolgt. Dies trifft nicht nur für ein Formiat/Substrat-Verhältnis von 2:1, sondern sogar für ein Verhältnis von 15:1 zu. Nur im Falle von HLADH haben wir für ein Formiat/Substrat-Verhältnis von 15:1 einen etwas geringeren Enantiomerenüberschuß beobachtet. Der direkte Hydridtransfer vom Hydridokomplex auf das Keton in Abwesenheit von Cofaktor und Enzym führt bei 25 °C nach 52 h nur zu einem Umsatz von 7%, bei 30 °C steigt der Umsatz nach 45 h auf 13%. Selbst bei 60 °C kann der direkte Hydridtransfer nicht mit der enzymatischen Reaktion konkurrieren, wie der Enantiomerenüberschuß von 99% bei der Verwendung von TBADH zeigt. Für alle untersuchten Enzyme gilt, daß der höchste Umsatz bereits für ein Formiat/Substrat-Verhältnis von 2:1 erreicht wird. Im Falle von äquimolaren Konzentrationen ist der Umsatz nach der gleichen Zeit etwa 30% niedriger. Eine eventuelle Enzyminhibierung durch den Rhodiumkomplex können wir nach eingehenden Untersuchungen ausschließen. Dazu haben wir die vier Enzyme mit dem Rhodiumkomplex (0.5 mM) bei 30 °C 5 min, 1 h, 8 h und 24 h vorinkubiert, dann die Anfangsreaktionsgeschwindigkeiten gemessen und mit denen in Abwesenheit des Rhodiumkomplexes verglichen. Es wurde keinerlei Beeinflussung beobachtet. Die Reaktionsgeschwindigkeit unter Anwendung unserer nicht-enzymatischen Cofaktorregeneration war unter sonst gleichen Bedingungen gewöhnlich höher als bei Verwendung der Regenerationsmethode der gekoppelten Substrate unter Verwendung von Ethanol (HLADH) oder Isopropylalkohol (TBADH, PhEDH) als Cosubstrate. So wurde beispielsweise mit HLADH in Gegenwart von Ethanol als Cosubstrat bei 25 °C nach 24 h ein Umsatz von nur 33% erzielt.

Die Temperaturabhängigkeit des Umsatzes unterscheidet sich für die vier Enzyme: Während HLADH und S-ADH bereits bei 30 °C das Umsatzoptimum erzielen, hat PhEDH ihr Optimum bei 35 °C und TBADH bei 60 °C. Im Falle von HLADH untersuchten wir ferner den Einfluß von Dioxan als Cosolvens. Während ein Zusatz von bis zu 5% Dioxan den Umsatz nur geringfügig erniedrigt, sinkt der Umsatz bei höheren Konzentrationen stark. Der Enantiomerenüberschuß hingegen bleibt fast unverändert.

Wir werden dieses System nun in einem Enzymmembranreaktor unter Verwendung der von uns synthetisierten wasserlöslichen hochmolekularen Rhodiumkomplexen als Redoxkatalysatoren einsetzen<sup>[5, 6, 9]</sup>.

Eingegangen am 22. Juni 1992 [Z 5420]

- [1] C. Wandrey, R. Wichmann, A. F. Bückmann, M.-R. Kula, *Umschau* **1984**, 84, 88–91; C. Wandrey, R. Wichmann, W. Berke, M. Morr, M.-R. Kula, *Prepr. 3rd Eur. Congr. Biotechnol.* **1984**, 239–244; C. Wandrey, R. Wichmann in *Enzymes and Immobilized Cells in Biotechnology* (Hrsg.: A. I. Laskin), Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA, USA, **1985**, S. 177–208; M.-R. Kula, C. Wandrey, *Methods Enzymol.* **1986**, 136, 9–21; D. Vasic-Racki, M. Jonas, C. Wandrey, W. Hummel, M.-R. Kula, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1989**, 31, 215–222; H. Schütte, J. Floßdorf, H. Sahm, M.-R. Kula, *Eur. J. Biochem.* **1976**, 62, 151–160; Z. Shaked, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 7104–7108.
- [2] T. R. Röthig, K. D. Kulbe, F. Bückmann, G. Carrea, *Biotechnol. Lett.* **1990**, 12, 353–356; E. Keinan, E. K. Hafeli, K. K. Seth, R. Lamed, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 162–169.
- [3] R. Ruppert, S. Herrmann, E. Steckhan, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 6583–6586.
- [4] R. Ruppert, S. Herrmann, E. Steckhan, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 1150–1151.
- [5] E. Steckhan, S. Herrmann, R. Ruppert, E. Dietz, M. Frede, E. Spika, *Organometallics* **1991**, 10, 1568–1577.
- [6] E. Steckhan, M. Frede, S. Herrmann, R. Ruppert, E. Spika, E. Dietz, *DEHEMA-Monographien* **1992**, 125, 723–752.
- [7] W. Hummel, *Biotechnol. Lett.* **1990**, 12, 403–408; W. Hummel, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1990**, 34, 15–19; C. W. Bradshaw, W. Hummel, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 1532–1536.
- [8] W. Hummel, unveröffentlicht.
- [9] E. Steckhan, S. Herrmann, R. Ruppert, J. Thömmes, C. Wandrey, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 445–447; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 388–390.

## Molekulares Schalten durch Elektronenübertragung – das Spiroperimidin/Chinonimin-System\*\*

Von Josef Salbeck, Vitaly N. Komissarov, Vladimir I. Minkin und Jörg Daub\*

Bausteine für molekulare Informationsspeicher, Sensoren und Schalter enthalten Teilstrukturen mit Bi- oder Multistabilitäten, wobei funktionellen Farbstoffen herausragende Bedeutung zukommt<sup>[1, 2]</sup>. Nach bisherigen Untersuchungen zeigt Spiroperimidin **1** photochromes Verhalten mit photochemischer Hinreaktion zu Chinonimin **2** ( $\lambda_{\max} = 615$  nm) und thermischer Rückreaktion **2** → **1** (Schema 1)<sup>[3]</sup>. Im folgenden berichten wir über reversible Umlagerungen **1/2** unter elektrochemischer Aktivierung.

Das Cyclovoltammogramm von **1** (Abb. 1 a) zeigt ein irreversibles Reduktionssignal [ $E_p^r = -2150$  mV vs Ferrocen (Fc)] mit zwei deutlich zu positiven Potentialen verschobenen Rückoxidationssignalen ( $E_p^{o1}$  und  $E_p^{o2}$ ) und einem ausgeprägten Überkreuzungseffekt (Pfeil) von Reduktions- und Oxidationskennlinie (trace-crossing). Ein derartiger Kurvenverlauf verweist auf die Stabilität und Reaktivität der Radikalanionen und ist auf eine homogen ablaufende Disproportionierung des Radikalanions **1**<sup>•–</sup> zurückzuführen<sup>[4]</sup>.

[\*] Prof. Dr. J. Daub, Dr. J. Salbeck  
Institut für Organische Chemie der Universität  
Universitätsstraße 31, W-8400 Regensburg

Prof. Dr. V. I. Minkin, Dr. V. N. Komissarov  
Institut für Physikalische und Organische Chemie der Universität  
Rostov on Don (Rußland)

[\*\*] Diese Arbeit wurde vom Bundesministerium für Forschung und Technologie und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert.