

- allen unabhängigen Reflexen konvergierte bei $R(F)/wR(F^2) = 0.064/0.190$, $GOF = 1.06$, $w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.1086P)^2]$, $P = [\max(F_o^2/0) + 2F_c^2]/3$. max./min. Restelektronendichte $0.62/-0.69 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$. Dabei wurden alle Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert, mit Ausnahme der C-Atome des koordinierten Moleküls Et_2O , die als Fehlordnungsmo-
dell in zwei Alternativen behandelt wurden. H11, H21 und H31 wurden mit individuellen isotropen Auslenkungsparametern frei verfeinert. Eines der beiden interstitiellen Hexanmoleküle konnte befriedigend verfeinert werden, das zweite verhinderte durch massive Fehlordnung eine sinnvolle Verfeinerung. Es wurde daher von der Strukturfaktorenberechnung ausgeschlossen (Routine SQUEEZE^[8] in PLATON^[9]). Restraints wurden für die Bindungen zwischen den fehlgeordneten Ether- und Hexanatomen angewendet. Verwendete Programme: SHELXS-97 (Strukturlösung),^[10] SHELXL-97 (Strukturverfeinerung),^[10] ORTEP-III (Moleküldarstellungen).^[11]
- [8] P. van der Sluis, A. L. Spek, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1990**, *46*, 194–201.
- [9] A. L. Spek, *PLATON*, A Multipurpose Crystallographic Tool, Utrecht University (Niederlande), **2000**. Siehe auch: A. L. Spek, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1990**, *46*, C34.
- [10] G. M. Sheldrick, *SHELXS-97*, *SHELXL-97*; Programs for the Determination of Crystal Structures, Universität Göttingen, **1997**.
- [11] C. K. Johnson, M. N. Burnett, *ORTEP-III* (Version 1.0.2), Rep. ORNL-6895, Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN (USA), **1996**. Windows-Version: L. J. Farrugia, University of Glasgow, Glasgow, Schottland, **1999**.
- [12] Die kristallographischen Daten (ohne Strukturaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Strukturen wurden als „supplementary publication no.“ CCDC-148258 (**3**) und -148259 (**4**) beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB21EZ (Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).
- [13] Für ein reguläres Oktaeder gilt $\tau = 60^\circ$, für ein trigonales Prisma $\tau = 0^\circ$: K. R. Dymock, G. J. Palenik, *Inorg. Chem.* **1975**, *14*, 1220–1222.
- [14] M. N. S. Hill, W. Clegg, K. Izod, P. O'Shaughnessy, *Organometallics* **2000**, *19*, 4531–4535; F. Paul, D. Carmichael, L. Ricard, F. Mathey, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1204–1206; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1125–1127; M. D. Fryzuk, X. Gao, S. J. Rettig, *Can. J. Chem.* **1995**, *73*, 1175–1180; G. Lin, W.-T. Wong, *Polyhedron* **1994**, *13*, 3027–3030; P. B. Hitchcock, M. F. Lappert, I. A. MacKinnon, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1015–1017; H. Schmidbauer, U. Deschler, B. Zimmer-Gasser, D. Neugebauer, U. Schubert, *Chem. Ber.* **1980**, *113*, 902–911.
- [15] Im tmeda-Analogon von **2** ist die Na-P-Bindung $2.945(4) \text{ \AA}$ lang.^[6]
- [16] J. Cioslowski, P. Piskorz, M. Schimeczek, G. Boche, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2612–2615.
- [17] Die Synthese von Alkylcalcaten(ii) mit $[\text{CaO}_2\text{C}]^-$ und $[\text{CaC}_3]^-$ -Kern wurde beschrieben.^[3c]
- [18] Das bisher einzige strukturell charakterisierte Diorganocalcat(ii) ist der π -Komplex $[\text{Ca}(\text{cod})_2]^{2-}$ (cod = Cyclooctadien-Dianion): S. A. Kinsley, A. Streitwieser, Jr., A. Zalkin, *Organometallics* **1985**, *4*, 52–57.
- [19] Eine ähnliche Ligandenspaltung wurde für den Phosphidliganden $[2\text{-MeOC}_6\text{H}_4\text{PR}]^-$ ($\text{R} = \text{CH}(\text{SiMe}_3)_2$) bei Reaktion mit CaI_2 und YbI_2 beobachtet und auf eine C-O-Bindungsaktivierung infolge der Koordination an die Metallzentren und anschließenden nucleophilen Angriff des Phosphido-P-Atoms am Methoxy-C-Atom unter Bildung des Methylphosphans zurückgeführt: K. Izod, W. Clegg, S. T. Liddle, *Organometallics* **2000**, *19*, 3540–3643; W. Clegg, K. Izod, S. T. Liddle, P. O'Shaughnessy, J. M. Sheffield, *Organometallics* **2000**, *19*, 2090–2096. Es sollte allerdings erwähnt werden, dass das Phosphan-P-Atom in **1** weniger nucleophil als ein Phosphido-P-Atom ist und dass in dem genannten Beispiel die Ligandenspaltung auch durch das Iodidion unter Bildung von MeI erfolgen könnte, das dann die Phosphidgruppe methylieren könnte.
- [20] Kristallstrukturdaten von **4**: $\text{C}_{100}\text{H}_{108}\text{Ca}_4\text{O}_8\text{P}_4$, $M_r = 1722.06$, tetragonal, Raumgruppe $I4_1/a$ (Nr. 88), $a = b = 25.091(9)$, $c = 14.050(9) \text{ \AA}$, $V = 8845(7) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$, $\rho_{\text{ber}} = 1.293 \text{ g cm}^{-3}$, $\mu(\text{MoK}\alpha) = 3.74 \text{ cm}^{-1}$, $F(000) = 3648$, $T = 183(2) \text{ K}$. Enraf-Nonius-CAD4, graphitmonochromatisierte $\text{MoK}\alpha$ -Strahlung, $\lambda = 0.71069 \text{ \AA}$, ω -Scans, $\Delta\omega = 0.8^\circ$, $((\sin \theta)/\lambda)_{\text{max}} = 0.50 \text{ \AA}^{-1}$, hkl -Bereich: ± 25 , ± 25 , $+14$. Von 10451 gemessenen Reflexen waren 2369 unabhängig ($R_{\text{int}} = 0.122$) und 1380 beobachtet mit $I > 2\sigma(I)$. Die Verfeinerung von 302 Parametern gegen F^2 von allen unabhängigen Reflexen konvergierte bei $R(F)/wR(F^2) = 0.046/0.104$, $GOF = 1.01$, $w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0456P)^2 + 10.2187P]$, $P = [\max(F_o^2/0) + 2F_c^2]/3$. max./min. Restelektronendichte $0.22/-0.26 \text{ e } \text{\AA}^{-3}$. Dabei wurden alle Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert. Einige der H-Atome, einschließlich dem an C1, wurden mit isotropen Auslenkungsparametern frei verfeinert.
- [21] K. M. Fromm, *Chem. Commun.* **1999**, 1659–1660; V. C. Arunasalam, I. Baxter, S. R. Drake, M. B. Hursthouse, K. M. A. Malik, D. J. Otway, *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 5295–5306; A. I. Yanovsky, N. Y. Turova, E. P. Turevskaya, V. G. Kessler, Y. T. Struchkov, *Zh. Neorg. Khim.* **1993**, *38*, 779–783; N. Y. Turova, E. P. Turevskaya, V. G. Kessler, A. I. Yanovsky, Y. T. Struchkov, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 21–23.
- [22] H. H. Karsch, M. Reisky, *Eur. J. Inorg. Chem.* **1998**, 905–911.
- [23] Auch Calciumphosphide weisen ähnliche Ca-P-Bindungslängen auf: M. Westerhausen, *Coord. Chem. Rev.* **1998**, *176*, 157–210, zit. Lit.; M. Westerhausen, M. H. Digeser, W. Schwarz, *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 521–527.

Erste synthetische Anwendung einer Monooxygenase unter indirekter elektrochemischer NADH-Regenerierung**

Frank Hollmann, Andreas Schmid* und Eberhard Steckhan†

In memoriam Eberhard Steckhan

Eine der großen Herausforderungen bei der Einbindung von Monooxygenasen in In-vitro-Produktionsverfahren ist die effektive Regenerierung der benötigten Coenzyme (NAD(P)H). Die etablierten In-vitro-Verfahren zur Regenerierung von Nicotinamid-Coenzymen für den Einsatz von Monooxygenasen als Produktionsenzyme beruhen fast ausschließlich auf der enzymgekoppelten Coenzymregenerierung unter Verwendung der Formiat-Dehydrogenase^[1, 4c] (für NADH bzw. NADPH) sowie der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase^[2] (für NADPH). Darüber hinaus wurden proteinfreie Redoxmediatoren entwickelt und erfolgreich mit NAD(P)H-abhängigen Dehydrogenasen^[3] in sauerstofffreien Medien angewandt. Der Vorteil besteht darin, dass lediglich das Produktionsenzym und ein Mediator benötigt werden, während die Elektrode als reagensfreier Lieferant von Redoxäquivalenten dient.

Wir berichten hier erstmalig über die Anwendung einer isolierten Monooxygenase, gekoppelt mit dem von uns entwickelten enzymfreien, selektiven und effektiven Verfahren der indirekten elektrochemischen NAD(P)H-Regenerie-

[*] Dr. A. Schmid, Dipl.-Chem. F. Hollmann

Institut für Biotechnologie

ETH Hönggerberg

8093 Zürich (Schweiz)

Fax: (+41) 1-633-1051

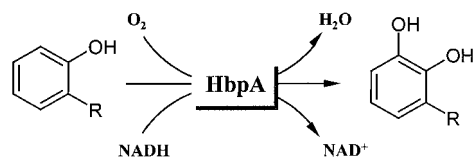
E-mail: andreas.schmid@biotech.biol.ethz.ch

Prof. Dr. E. Steckhan†

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn

[**] Diese Arbeit wurde von der BASF AG gefördert. Wir danken der DEGUSSA AG für Chemikalienspenden.

zung. Als Testenzym benutzten wir, stellvertretend für die Klasse flavinabhängiger Monooxygenasen, die 2-Hydroxybiphenyl-3-monooxygenase (HbpA, E.C. 1.14.13.44) aus *P. azelaica*, die NADH als Coenzym benötigt.^[4] Das Homotetramer mit einer Gesamtmasse von 256 kDa katalysiert entsprechend Schema 1 die selektive *ortho*-Hydroxylierung einer Reihe α -substituierter Phenolderivate. Unseres Wissens ist kein chemisches Pendant mit ähnlicher Selektivität bekannt.



Schema 1. Selektive *ortho*-Hydroxylierung α -substituierter Phenole durch die 2-Hydroxybiphenyl-3-monooxygenase. R = Alkyl (Et, Pr, *i*Pr), Aryl (Ph, 2-HOC₆H₄), Hal (F, Cl, Br).

Zur Regenerierung des Coenzym NADH verwendeten wir die von uns entwickelten [Cp*Rh(bpy)Cl]Cl-Komplexe (Cp* = C₅Me₅; bpy = 2,2'-Bipyridin). Die nach elektrochemischer Reduktion bei –750 mV (vs. Ag/AgCl_{ges.}) oder aber auch chemisch mit Formiat gebildeten Hydridorhodiumkomplexe überführen NAD(P)⁺ schnell und quantitativ in die enzymatisch aktive 1,4-NAD(P)H-Form^[3, 5] (Schema 2). Ein Vergleich der Reaktionsgeschwindigkeiten (Tabelle 1) mit reduziertem Coenzym und mit chemischer Regenerierung (Schema 2B) belegt die Effizienz des vorgeschlagenen Regenerationssystems. In den von uns durchgeführten elektrodienzymatischen Prozessen wird kathodisch der Hydridorhodiumkomplex gebildet und regeneriert (Schema 2A).

Die indirekte elektrochemische NADH-Regenerierung wurde cyclovoltammetrisch untersucht. Bereits bei Protonenkonzentrationen kleiner 10^{–8} M (pH 8) ist aufgrund der Bildung des Hydridorhodiumkomplexes kein Oxidationspeak mehr festzustellen. In Gegenwart von NAD⁺ lassen sich auch bei hohen Potentialvorschubgeschwindigkeiten starke Peakstromerhöhungen (katalytische Effekte) feststellen (Abbildung 1). Das Reduktionspeakpotential der verwendeten

Tabelle 1. Vergleich der Geschwindigkeiten dc/dt der Bildung von 2,3-Dihydroxybiphenyl mit reduziertem Coenzym (NADH) und unter chemischer sowie elektrochemischer NADH-Regenerierung.^[a]

Regenerationsart	HbpA [U]	dc/dt [$\mu\text{mol min}^{-1}$]	rel. Aktivität ^[b] [%]
keine ^[c]	2.24	2.09	93.3
chemisch ^[d]	2.60	2.33	89.6
elektrochemisch ^[e]	19 ^[f]	1.83	9.65 ^[f]

[a] Bedingungen: Kaliumphosphatpuffer (50 mM, pH 7.5, gesättigt mit O₂); $T = 25^\circ\text{C}$; [Cp*Rh(bpy)] = 0.5 mM; [2-Hydroxybiphenyl] = 0.8 mM. [b] Produktivität relativ zur eingesetzten HbpA-Menge. [c] [NADH] = 1.0 mM. [d] [NAD⁺] = 1.09 mM; [HCOONa] = 150 mM. [e] [NAD⁺] = 1.0 mM; Druckluftstrom 10 cm³ min^{–1}; [2-Hydroxybiphenyl] = 2 mM; [FAD] = 20 μM ; $U = -750$ mV (vs. Ag/AgCl_{ges.}). [f] Aufgrund der schnellen HbpA-Inaktivierung (siehe Text) wurden hohe Enzymmengen eingesetzt; geschwindigkeitslimitierend ist der Druckluftstrom.

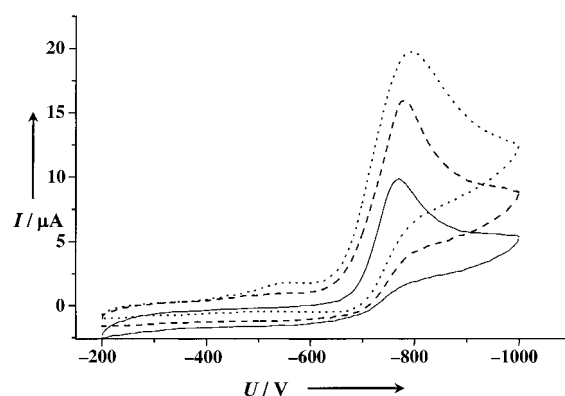
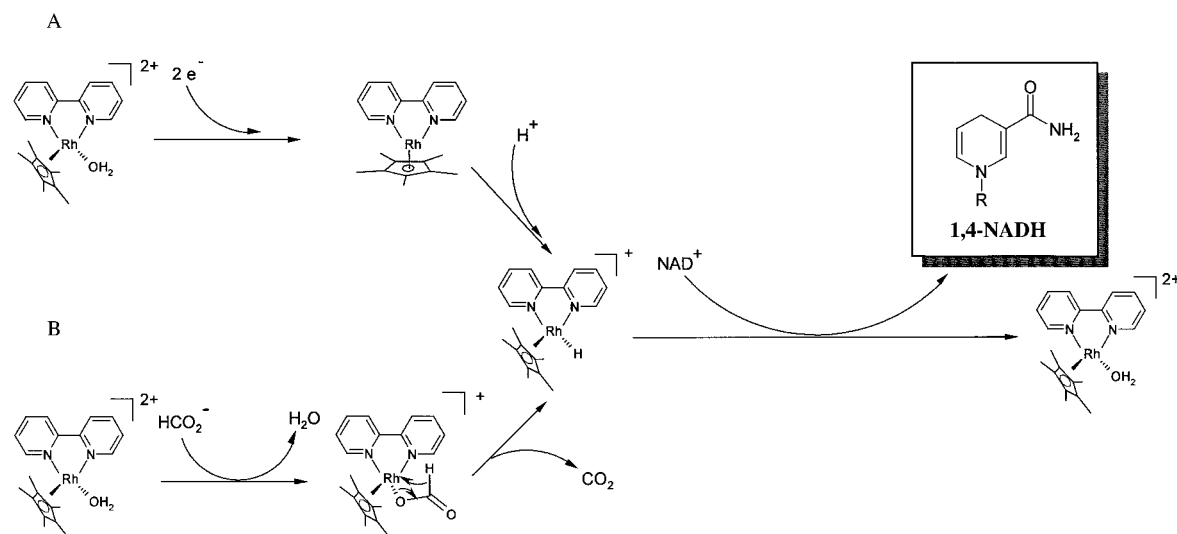


Abbildung 1. Katalytische Effekte von [Cp*Rh(bpy)Cl]Cl (5×10^{-4} M in 0.1 TRIS/HCl-Puffer, pH 7.5; TRIS = Tris(hydroxymethyl)aminomethan) in Gegenwart von NAD⁺ in verschiedenen Konzentrationen (0 (—), 5×10^{-4} (---) und 1×10^{-3} M (---)); Vorschubgeschwindigkeit $v = 81$ mV s^{–1}; entgaste Lösungen.

Rhodiumkomplexe liegt mit –750 mV (vs. Ag/AgCl_{ges.}) deutlich positiver als das erste Reduktionspotential von NAD⁺ (–920 mV vs. gesättigte Kalomelektrode (SCE)),^[6] sodass die Inaktivierung aufgrund direkten Elektronentransfers auf NAD⁺ vernachlässigbar ist.



Schema 2. Indirekte elektrochemische (A) und chemische NADH-Regenerierung (B).

Der Einfluss molekularen Sauerstoffs auf die einzelnen Komponenten des Systems wurde intensiv untersucht. Dabei zeigte sich, dass Sauerstoff die NADH-Bildung sowohl durch den chemisch als auch durch den elektrochemisch gebildeten Hydridorhodiumkomplex inhibiert. Wie aus Abbildung 2 deutlich wird, geht bei einem Sauerstoffeintrag von beispielsweise $10 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ die NADH-Bildungsgeschwindigkeit von 1.1 auf $0.27 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ zurück. Bei einem Eintrag von $15 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ entsteht kein NADH mehr. Die Inhibition ist allerdings reversibel, nach Unterbrechung des Sauerstoffstromes erreichen NADH-Bildungsgeschwindigkeit und NADH-Konzentration ihre Maximalwerte.

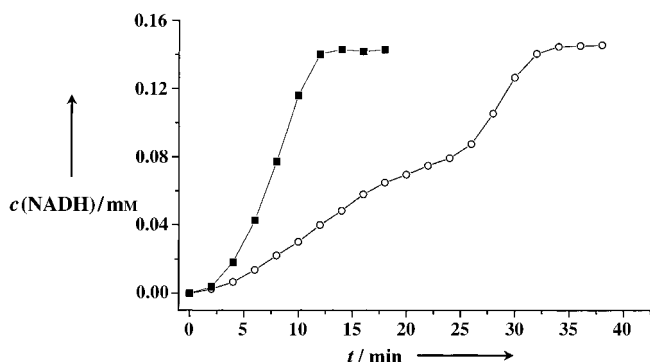
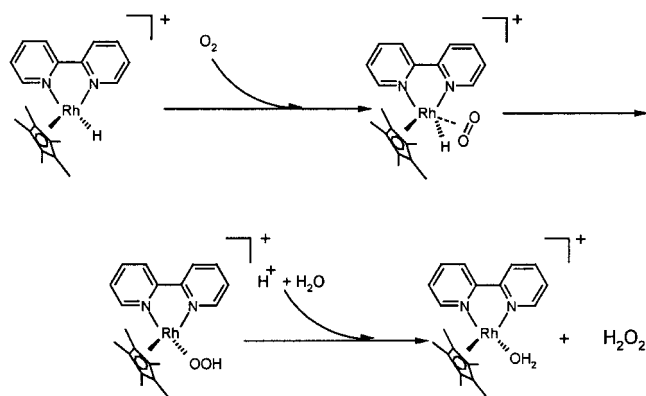


Abbildung 2. Einfluss von O_2 auf die NADH-Bildung unter indirekter elektrochemischer Regenerierung mit $[\text{Cp}^*\text{Rh}(\text{bpy})\text{Cl}]\text{Cl}$ (0.1 mM in 50 mM Kaliumphosphatpuffer, $\text{pH } 7.5$) (■ ohne Drucklufteintrag; ○ Drucklufteintrag $10 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ bis $t = 25 \text{ min}$).

Als Produkt der Reaktion des Hydridorhodiumkomplexes mit molekularem Sauerstoff konnten wir Wasserstoffperoxid nachweisen, dessen Bildung wir wie in Schema 3 angegeben postulieren.^[7] Darüber hinaus wird Wasserstoffperoxid bei dem anliegenden Potential auch durch direkte kathodische Sauerstoffreduktion gebildet. Während der enzymatischen Umsetzungen disproportioniert es bei Zusatz von Catalase in O_2 und H_2O .



Schema 3. Postulierter Mechanismus der Reaktion zwischen molekularem Sauerstoff und dem Hydridorhodiumkomplex.

Bei enzymatischen Umsetzungen ohne externe Sauerstoffzufuhr stagniert der Umsatz infolge einer Verarmung des Mediums an gelöstem Sauerstoff bereits nach kurzer Zeit (typischerweise bei Produktkonzentrationen zwischen 0.2 und

0.4 mM). Mit erneuter Sauerstoffzufuhr setzt die Produktbildung wieder ein. Dabei werden Produktivitäten von bis zu $1.1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($204 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) erreicht. Die vom Mediator erreichten Wechselzahlen liegen hierbei bei 11 h^{-1} .

Wie Vergleichsexperimente unter homogener chemischer Bildung des Hydridorhodiumkomplexes zeigen, ist die Reaktionsgeschwindigkeit nicht durch den heterogenen Ladungstransfer an der Kathode limitiert, sondern durch die kompetitive Hemmung des Redoxkatalysators aufgrund der Konkurrenzreaktion mit molekularem Sauerstoff. Unter analogen Umsatzbedingungen werden jeweils ähnliche Umsatzgeschwindigkeiten erzielt (z. B. 0.673 und $0.668 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ beim elektrochemischen bzw. chemischen Verfahren, einem Drucklufteintrag von ca. $8 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ und einem Gesamtumsatz von 100 bzw. 95%).

Die geringe Langzeitstabilität der bisherigen elektroenzymatischen Umsetzungen kann auf die Verfahrensweise zurückgeführt werden. Durch den heterogenen Sauerstoffeintrag wird das Enzym mittelfristig inaktiviert. Darüber hinaus adsorbiert HbpA an der Elektrode und ist dort hohen H_2O_2 -Konzentrationen ausgesetzt. So liegen die Halbwertszeiten von gelöster HbpA in Phosphatpuffer und unter den Bedingungen der indirekten chemischen Regenerierung im Bereich von 30 – 40 h (je nach Drucklufteintragsgeschwindigkeit), während unter Elektrolysebedingungen (in Abhängigkeit von Enzymmenge und Elektrodenmasse) nach etwa 2 h keine Aktivität mehr nachweisbar ist.

In dem von uns angestrebten kontinuierlichen elektroenzymatischen Verfahren wird das Gesamtsystem durch Immobilisierung des Produktionsenzym in einen elektrochemischen und einen enzymatischen Teil kompartimentiert. Eine Sauerstoffdosierung unmittelbar vor der enzymatischen Reaktion trägt auch der ambivalenten Rolle des molekularen Sauerstoffs Rechnung, der einerseits Substrat der Monooxygenasenreaktion ist und sich andererseits negativ auf die Regenerierungsreaktion auswirkt. In Vorversuchen konnte die Produktbildungsdauer unter indirekter elektrochemischer NADH-Regenerierung auf über 8 Stunden und damit um den Faktor >2.5 gesteigert werden.

Wir konnten somit erstmalig eine durch eine flavinabhängige Monooxygenase katalysierte Umsetzung unter indirekter elektrochemischer NADH-Regenerierung durchführen. Die erreichten Produktivitäten liegen bereits unter nichtoptimierten Umsatzbedingungen mit $204 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ bei ca. 50% der des bereits optimierten fermentativen ($390 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$)^[8] sowie der des In-vitro-Verfahrens unter enzymatischer NADH-Regenerierung ($405 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$).^[4c]

Experimentelles

Die Rhodiumkomplexe wurden nach der Methode von Kölle und Grätzel hergestellt.^[9]

Als Enzymquelle werden Zellen des rekombinanten Bakteriums *E. coli* JM101 [pHBP461] verwendet.^[8] Aus dem Rohextrakt wird das Enzym durch Expanded-Bed-Chromatographie aufgereinigt und angereichert.^[4c] Die enzymatische Aktivität wird UV-spektroskopisch anhand der NADH-Absorptionsbande bei 340 nm bestimmt.^[4a]

Cyclovoltammogramme werden mit einem BAS-100B/W-Analyser (Bioanalytical Systems) in einer ungeteilten Zelle mit einer Glaskohlenstoffarbeits Elektrode ($\varnothing = 3 \text{ mm}$) und einer Pt-Gegenelektrode aufgenommen.

Als Referenzelektrode dient eine Ag/AgCl_{ges.}-Schlauchelektrode (Cypress Systems). Die elektroenzymatischen Umsetzungen werden in einer thermostatisierten Elektrolysezelle durchgeführt. Als Kathode dient hierbei eine zylindrische Kohlefilzelektrode (Volumen ca. 27 cm³). Durch Ummantelung der Platingelektrode mit einem Dialyseschlauch (Ausschlussgewicht 10 kDa) werden Bedingungen einer geteilten Zelle erreicht. Das Kathodenpotential von –750 mV wird gegen eine Ag/AgCl_{ges.}-Schlauchelektrode eingestellt. In 100 mL Kaliumphosphatpuffer (50 mM, pH 7.5) sind das oxidierte Coenzym NAD⁺ (0.2 mM), [Cp*Rh(bpy)Cl]Cl (0.1 mM), FAD (20 µM), Catalase (250 000 U), HbpA (19 U) sowie 2-Hydroxybiphenyl (2 mM) gelöst. Sauerstoff wird als Druckluft eingetragen; dabei wird vor jeder Umsetzung der Drucklufteintrag so eingestellt, dass die NAD⁺-Reduktionsgeschwindigkeit maximal wird.

Die Reaktion wird HPLC-chromatographisch (RP-18-Säule, Methanol/Wasser (0.1 % H₃PO₄) (60/40)) verfolgt. Es werden keine Nebenprodukte gefunden. Das Produkt wird nach Sublimation durch NMR sowie MS identifiziert.

Eingegangen am 27. Juni 2000 [Z15343]

- [1] a) W. Hummel, E. Schmidt, C. Wandrey, M.-R. Kula, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1986**, 25, 175–185; b) R. Rissom, U. Scharz-Linek, M. Vogel, V. I. Tishkov, U. Kragl, *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, 15, 2523–2526.
- [2] C.-H. Wong, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 4890–4899.
- [3] a) D. Westerhausen, S. Herrmann, W. Hummel, E. Steckhan, *Angew. Chem.* **1992**, 104, 1496–1498; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, 31, 1529–1531; b) R. Ruppert, S. Herrmann, E. Steckhan, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 52, 6583–6586.
- [4] a) W. A. Suske, M. Held, A. Schmid, T. Fleischmann, A. G. Wubbolts, H.-P. E. Kohler, *J. Biol. Chem.* **1997**, 272(39), 24257–24265; b) W. A. Suske, W. J. H. van Berkel, H.-P. E. Kohler, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 33355–33365; c) A. Schmid, *J. Mol. Cat. B* **2000**, im Druck; d) A. Schmid, H.-P. Kohler, K.-H. Engesser, *J. Mol. Cat. B* **1998**, 5, 311–316.
- [5] a) E. Steckhan, S. Herrmann, R. Ruppert, E. Dietz, M. Frede, E. Spika, *Organometallics* **1991**, 10, 1568–1577; b) R. Ruppert, S. Herrmann, E. Steckhan, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 1150–1151; c) H. C. Lo, O. Buriez, J. B. Kerr, R. H. Fish, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 1524–1527; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1429–1432.
- [6] C. O. Schmackel, K. S. V. Santhanam, P. J. Elvin, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 5083–5092.
- [7] N. N. Greenwood, A. Earnshaw, *Chemie der Elemente*, 1. Aufl., VCH, Weinheim, **1988**, S. 798–831.
- [8] M. Held, A. Schmid, H.-P. E. Kohler, W. A. Suske, B. Witholt, M. G. Wubbolts, *Biotechnol. Bioeng.* **1999**, 62, 641–648.
- [9] U. Kölle, S.-S. Kang, P. Infelta, P. Comte, M. Grätzel, *Chem. Ber.* **1989**, 122, 1869–1880.

Die ungewöhnliche Photochemie von Dendrimeren mit Anthracen als Kern**

Derong Cao und Herbert Meier*

Monodisperse Dendrimere bilden ein Brückenglied zwischen nieder- und hochmolekularen Verbindungen und zeichnen sich daher durch eine Reihe von besonderen Eigenschaften aus.^[1] Ziel dieser Arbeit war, die Photochemie und Photophysik von Anthracen als Kern einer dendritischen Struktur zu studieren. Dazu wurden in 9- und 10-Position von Anthracen Dendrone vom Fréchet-Typ^[2] fixiert. Die nucleophile Substitution der Halogenatome in 9,10-Bis(chlormethyl)- oder 9,10-Bis(brommethyl)anthracen **2** gelingt mit den 3,5-dialkoxysubstituierten Benzylalkoholen **1a–c** im alkalischen Medium unter Phasentransferbedingungen in Reinausbeuten zwischen 66 und 30 % (Schema 1). Mit zunehmendem Verzweigungsgrad wird die Reaktion weniger ergiebig.^[3] Zum Vergleich mit den Dendrimeren **3a–c** haben wir die methoxysubstituierte Verbindung **3d** analog hergestellt.

Die ¹H- und ¹³C-NMR-Daten der Dendrimere **3a–c** sind in Tabelle 1 aufgelistet; sie unterscheiden sich, abgesehen von denen der Methoxygruppen, wenig von den Werten der Modellverbindung **3d**. Besonders charakteristisch sind die chemischen Verschiebungen der Oxymethylengruppen (α bis ϵ , Schema 1 und Tabelle 1). Für ihre chemischen Verschiebungen $\delta(^1\text{H})$ gilt: $\alpha > \epsilon > \delta > \gamma > \beta$; beim $\delta(^{13}\text{C})$ -Wert dagegen ist der der β -OCH₂-Gruppe der größte und der der α -OCH₂-Gruppe der kleinste: $\beta > \epsilon \approx \delta \approx \gamma > \alpha$.

Dendrone vom Fréchet-Typ wurden gewählt, um den „Antenneneffekt“^[4,5] zu studieren. In erster Näherung kann man die Elektronenübergänge in den Dendrimeren **3a–c** in räumlich getrennten Bereichen lokalisieren: im Anthracenkern A, in den mittleren, Alkoxygruppen tragenden Benzolringen B_m und in den peripheren Benzolringen B_p. Die entsprechenden Anregungsenergien [$E(S_1) - E(S_0)$] nehmen von außen nach innen ab, daher sollte ein effizienter Singulett-Energietransfer B_p → B_m → A möglich sein. Der Beweis dieser Hypothese gelang durch Messung der Fluoreszenzquantenausbeuten Φ_F . Bei der Anregungswellenlänge $\lambda = 260$ nm und Raumtemperatur ist in Dichlormethan Φ_F von **3a** um den Faktor 2.24 und von **3b** sogar um den Faktor 2.57 größer als von unsubstituiertem Anthracen.^[6] Lösungen, die sowohl Anthracen als auch den „Arm“ **1a** oder **1b** jeweils in gleicher Stoffmengenkonzentration enthalten wie die Messlösungen von **3a** bzw. **3b**, zeigen dagegen keinerlei Verstärkungseffekt. Ein intermolekularer Energietransfer

[*] Prof. Dr. H. Meier

Institut für Organische Chemie der Johannes-Gutenberg-Universität
Duesbergweg 10–14, 55099 Mainz (Deutschland)

Fax: (+49) 6131-392-5396

E-mail: hmeier@mail.uni-mainz.de

Dr. D. Cao

Guangzhou Institute of Chemistry

Chinese Academy of Sciences

Guangzhou (China)

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. Für wertvolle Diskussionen danken wir Herrn Prof. Dr. H. Bouas-Laurent, Universität Bordeaux.