



Kooperative Katalyse nicht-kompatibler Katalysatoren durch Kompartimentierung: Wacker-Oxidation und enzymatische Reduktion in einem Eintopf-Verfahren im wässrigen Medium**

Hirofumi Sato, Werner Hummel und Harald Gröger*

In memoriam Erwin Flaschel

Abstract: Eine Wacker-Oxidation unter Verwendung von $\text{CuCl}/\text{PdCl}_2$ als Katalysatorsystem wurde erfolgreich mit einer enzymatischen Ketonreduktion zur enantioselektiven Umwandlung von Styrol in 1-Phenylethanol in einem Eintopf-Verfahren kombiniert, obwohl beide im wässrigen Medium verlaufende Reaktionen aufgrund der Enzymdeaktivierung durch Cu-Ionen nicht miteinander kompatibel sind. Die Machbarkeit als Eintopf-Verfahren wurde durch Kompartimentierung der beiden Reaktionen erreicht. Die Durchführung der Wacker-Oxidation im inneren Bereich einer Polydimethylsiloxan-Hülse erlaubt nur die Diffusion des organischen Substrats und Produkts in den Außenbereich, in dem die Biotransformation stattfindet. Somit werden die für das Enzym nachteiligen Cu-Ionen vom Reaktionsmedium der Biotransformation ferngehalten. In diesem Eintopf-Verfahren, welches formal einer asymmetrischen Hydrierung von Alkenen entspricht, werden eine Reihe von 1-Arylethanol mit hohen Umsätzen und 98–99 % ee gebildet. Zudem wurde das Katalysatorsystem für die Wacker-Oxidation 15-mal wiederverwendet, ohne signifikanten Rückgang an Umsatz.

Enantioselektive Eintopf-Verfahren haben vielfache Aufmerksamkeit als sowohl nachhaltige wie auch ökonomische Produktionsmethoden erfahren.^[1] Eine der besonderen Herausforderungen auf diesem Gebiet ist die Kombination von chemischen und enzymatischen Reaktionen. Oftmals werden Enzyme durch vom chemischen Schritt stammende Komponenten deaktiviert, sodass sie nicht miteinander kompatibel sind.^[2] Aus synthetischer und vor allem industrieller Sicht wäre allerdings die Kombination von chemischen, insbesondere metallischen Katalysatoren und Biokatalysatoren im Eintopf-Verfahren wertvoll für die Entwicklung effizienter

Herstellungswege zu enantiomerenreinen Verbindungen.^[2] Bislang gibt es nur wenige Beispiele für Kombinationen chemokatalytischer und enzymatischer Reaktionen im wässrigen Medium, die von anderen und unserer Arbeitsgruppe entwickelt wurden.^[2–4] Darüber hinaus sind durch solche chemoenzymatischen Eintopf-Verfahren auch Zugänge zu sogenannten „dream reactions“, für welche bislang keine effizienten Katalysatoren vorhanden sind, denkbar, indem anstelle eines einzelnen Katalysators ein „Katalysatorsystem“ bestehend aus zusammenwirkend fungierenden Chemo- und Biokatalysatoren verwendet wird.

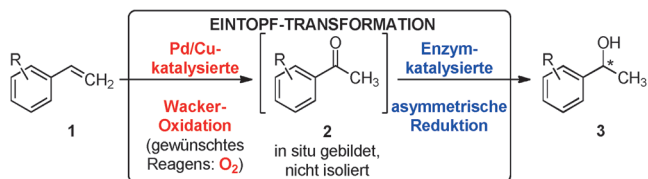
Solch ein chemoenzymatisches Eintopf-Verfahren von aktuellem Interesse ist die enantioselektive Umwandlung von Styrol bzw. dessen substituierten Derivaten zu den entsprechenden 1-Phenylethanol. Diese Transformation entspricht einer asymmetrischen Hydrierung eines Styrols und gilt als „dream reaction“ in der organischen Chemie. Bislang gibt es keine effizienten Chemokatalysatoren für diese Reaktion.^[5–8] Allerdings berichtete kürzlich die Arbeitsgruppe um Faber über das erste Beispiel einer solchen effizienten asymmetrischen direkten Hydratisierung basierend auf der Verwendung von Decarboxylasen als Katalysator und Styrolen mit einem benötigten *p*-Hydroxy-Substituenten als hierfür geeignete Substrate.^[7] Als Alternative haben wir früher ein Zweistufen-Eintopf-Verfahren für die direkte Umwandlung von Styrolen zu den entsprechenden chiralen sekundären Alkoholen durch Kombination von Wacker-Tsuji-Oxidation mit Benzochinon als Oxidationsmittel und Reduktion mit einer Alkoholdehydrogenase (ADH) aus *Lactobacillus kefir* entwickelt.^[4g] Obwohl diese Methode allgemein im Hinblick auf das Substratspektrum ist, kann ein Nachteil in dem Bedarf von stöchiometrischen Mengen an Benzochinon gesehen werden. Die Anwendung der „klassischen“ Reaktionsbedingungen für die Wacker-Oxidation mit molekularem Sauerstoff als Oxidationsmittel (entsprechend dem in Schema 1 gezeigten Verfahren) würde eine attraktivere, ökonomisch bevorzug-

[*] Dr. H. Sato, Prof. Dr. W. Hummel, Prof. Dr. H. Gröger
Fakultät für Chemie, Universität Bielefeld
Universitätsstraße 25, 33615 Bielefeld (Deutschland)
E-Mail: harald.groeger@uni-bielefeld.de

Dr. H. Sato
Biomaterial and Commodity Chemical Research Division
Osaka Municipal Technical Research Institute
1-6-50 Morinomiya, Joto-ku, Osaka 536-8553 (Japan)

[**] Wir danken dem deutschen Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) für die Unterstützung im Rahmen des Projekts „Biotechnologie 2020 +, Nächste Generation biotechnologischer Verfahren“ (Förderkennzeichen 031A184A).

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201409590> zu finden.

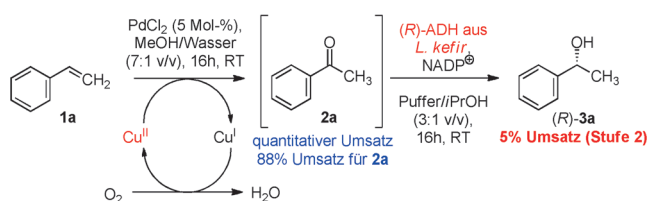


Schema 1. Kombination von Wacker-Oxidation und enzymatischer Reduktion ohne Isolierung der Zwischenstufe in einem Eintopfverfahren.

tere und „grünere“ Alternative darstellen. Als Katalysator ist hierfür Palladiumchlorid und Kupferchlorid geeignet.

Allerdings ergaben einleitende Untersuchungen in unserem Arbeitskreis bedauerlicherweise eine starke Inhibierung der enzymatischen Reduktion in Gegenwart von Kupfersalzen, sodass eine effiziente Kombination beider Reaktionen zu einem Eintopf-Tandem-Prozess in Wasser damit nicht realisierbar war.^[4g,9] Im Folgenden berichten wir über eine Strategie zur Überwindung dieser Limitierung, welche zudem ein generelles Konzept zur Kombination inkompatibler chemo- und biokatalytischer Reaktionen in wässrigen Medien zu Eintopf-Prozessen darstellt.

Um ein detailliertes Verständnis des Einflusses von Metallen, insbesondere Cu-Ionen, auf das Enzym zu erhalten, untersuchten wir erneut die Eintopf-Synthese von **3a** unter Kombination der Wacker-Oxidation mit PdCl₂/CuCl und der enzymatischen Reduktion (Schema 2). Während ein quanti-

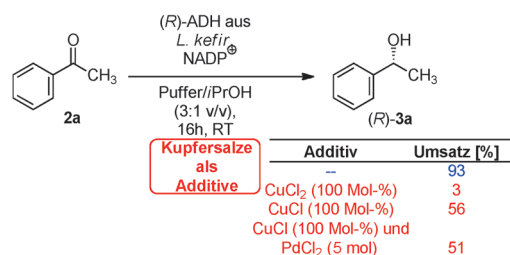


Schema 2. Kombination von Wacker-Oxidation und enzymatischer Reduktion unter „Standard“-Eintopf-Prozessbedingungen.

tativer Umsatz unter Ausbildung des Ketons **2a** mit 88 % für den Wacker-Oxidationsschritt festgestellt wurde (bei Verwendung von durch einen Gummiballon bereitgestelltem O₂, siehe Hintergrundinformationen), wurde für die enzymatische Reduktion von **2a** zur **3a** ein enttäuschend niedriger Umsatz von lediglich 5 % beobachtet, was ebenfalls unsere einleitenden Ergebnisse bestätigte.

Als nächstes untersuchten wir, welche der Metallkomponenten am kritischsten für das Enzym im Hinblick auf dessen Deaktivierung ist. Für die Untersuchung des Einflusses von Kupferionen auf die ADH wurde die enzymatische Reduktion in Gegenwart solcher Metallionen durchgeführt. Wir fokussierten uns auf Kupfer als die angenommene kritische Metallkomponente, da wir in unseren früheren Untersuchungen^[4g,9] fanden, dass PdCl₂ keine negative Auswirkung auf die Enzymreduktion hatte. Bei der Durchführung der Enzymreduktion in Gegenwart einer Kupferkomponente zeigte sich eine moderate bis starke Unterdrückung der Biotransformation mit Umsätzen von nur 3 %, 56 % bzw. 51 % in Gegenwart von CuCl₂ (100 Mol-%), CuCl (100 Mol-%) bzw. einer Mischung aus CuCl (100 Mol-%) und PdCl₂ (5 Mol-%) als Additiv (Schema 3). Im Gegensatz dazu wurde für die enzymatische Reduktion ein hoher Umsatz von 93 % in Abwesenheit solcher Kupferzusätze gefunden.

Um dennoch eine Kombination der Pd- und Cu-katalysierten Wacker-Oxidation und der enzymatischen Reduktion zu erreichen, betrachteten wir eine Strategie der Kompartimentierung als am vielversprechendsten. Solch eine Kompartimentierung sollte die Durchführung beider Reaktionen, obwohl nicht miteinander kompatibel, dennoch als Eintopf-



Schema 3. Die Auswirkung von Kupferionen auf die enzymatische Reduktion.

synthese erlauben. Für die Kompartimentierung der Katalysatoren stellen deren Trennung durch eine Membran oder durch Einschluss in einen festen Träger in einer Weise, dass diese nicht miteinander in Kontakt treten können, attraktive Optionen dar. Als besonders vielversprechend für unser Ziel betrachteten wir die von der Arbeitsgruppe um Bowden entwickelte Methode der „Standort-Isolierung“ („site-isolation“) von Chemokatalysatoren mithilfe von Hüllen aus Polydimethylsiloxan (PDMS).^[10] Die hydrophoben Eigenschaften der PDMS-Membran ermöglichen dabei den Transport des im Innenraum gebildeten Acetophenons durch die Membran in den Außenraum, um dort in Gegenwart des Enzyms zu reagieren (Abbildung 1). Im Gegensatz dazu

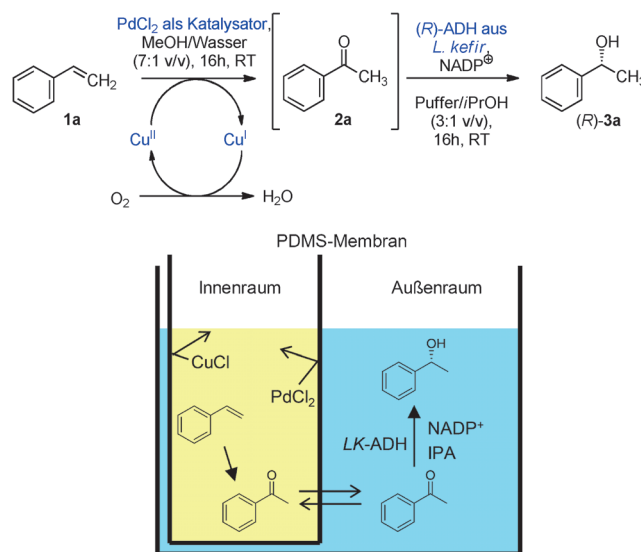


Abbildung 1. Konzept der „site-isolation“ von Katalysatoren unter Einsatz einer PDMS-Hülle zur Kombination von Wacker-Oxidation und enzymatischer Reduktion (LK-ADH: Alkoholdehydrogenase aus *L. kefir*; IPA: Isopropylalkohol).

würden die Katalysatoren im Innenraum (PdCl₂, CuCl) sowie Außenraum (Enzym, Co-faktoren) in ihren jeweiligen Bereichen zurückgehalten werden, sodass deren ungewünschte Wechselwirkung miteinander vermieden würde. In ihren Pionierarbeiten verwendete die Arbeitsgruppe um Bowden^[10] ein hydrophobes Lösungsmittel im Außenraum zur Extraktion einer Reihe von organischen hydrophoben Zwischenstufen aus dem Innenraum in den Außenraum. Wir stellten uns vor, dass dieses Kompartimentierungskonzept auch für

wässrige Phasen (mit signifikantem Wasseranteil) sowohl im Innen- als auch Außenraum sowie zudem für Biokatalysatoren geeignet sein könnte. Die Triebkraft zum Passieren der PDMS-Membran würde aus dem Konzentrationsgradienten von (im Innenraum gebildeten) Acetophenon zwischen den Phasen des Innen- und Außenraums resultieren.

Zudem sollte das Recycling des im Innenraum der PDMS-Hülse befindlichen Katalysatorsystems der Wacker-Oxidation möglich sein, da hydrophile Spezies wie Metallionen (als Katalysatorkomponenten der Wacker-Oxidation) und Enzyme durch die PDMS-Membran Standort-isoliert und somit zurückgehalten werden würden. Im Folgenden berichten wir über eine Methode zur Standort-Isolierung von $\text{PdCl}_2/\text{CuCl}$ und der ADH aus *L. kefir* durch eine PDMS-Hülse sowie das Recycling der Metall-Katalysatoren entsprechend dem in Abbildung 1 gezeigten Konzept als erstes Beispiel eines chemoenzymatischen Eintopf-Verfahrens in Wasser unter Kompartimentierung von wasserlöslichen Katalysatoren.

Als Erstes wurden unterschiedliche Eintopf-Konzepte für die gewünschte Kaskade bestehend aus der einleitenden Wacker-Oxidation von Styrol als Modellsubstrat im Innenraum und der enzymatischen Reduktion des in situ gebildeten Acetophenons im Außenraum (wobei beide Reaktionen bei Raumtemperatur verlaufen)^[11] getestet (Abbildung 2, Abbildung 3). Nachdem optimierte Reaktionsbedingungen für die Extraktion des Acetophenons in den Außenraum als auch für die dortige enzymatische Reduktion gefunden wurden (Daten nicht dargestellt), wurde ein Eintopf-Verfahren unter gleichzeitiger Wacker-Oxidation und enzymatischer Reduktion untersucht (Abbildung 2). Entsprechend wurde Styrol,

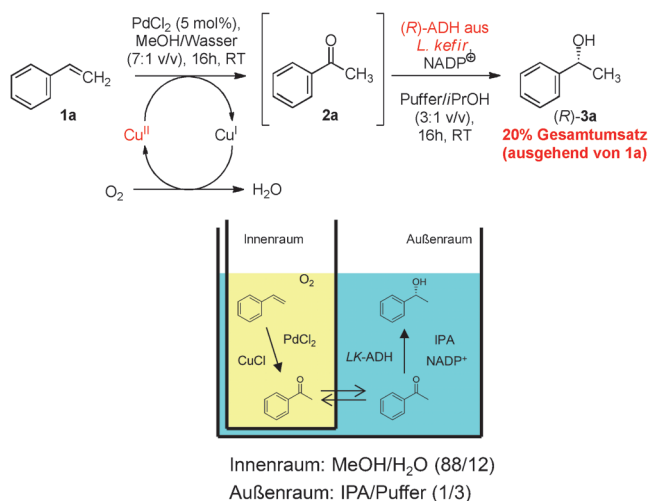


Abbildung 2. Chemoenzymatisches Eintopf-Verfahren im „simultanen Modus“.

1a, in einem Lösungsmittelgemisch aus Methanol und Wasser (Verhältnis 7:1) als optimiertes Lösungsmittel^[10b] für die Wacker-Oxidation gelöst und die Lösung in eine PDMS-Hülse (Innenraum) gegeben. Die PDMS-Hülse wurde in ein mit wässrigem Puffer, Isopropylalkohol, einer Alkoholdehydrogenase aus *Lactobacillus kefir* als Katalysator und NADP^+

als Cofaktor gefülltes Gefäß eingesetzt (Abbildung 2). In dem daraus resultierenden, im „simultanen Modus“ verlaufenden Verfahren erfolgt die Wacker-Oxidation im Innenraum sowie die enzymatische Reduktion im Außenraum gleichzeitig. Das gebildete Acetophenon wird in den Außenraum extrahiert und durch das Enzym zum Alkohol (*R*)-**3a** reduziert. Allerdings stellte sich heraus, dass die Wacker-Oxidation im Innenraum hierbei nicht effizient verlief und zu lediglich 20 % Umsatz führte (Abbildung 2).

Als Ursache hierfür fanden wir, das Methanol als Lösungsmittelkomponente für die Wacker-Oxidation auch in den Außenraum extrahiert und der für eine effiziente Wacker-Oxidationsreaktion benötigte Methanolgehalt im Innenraum dadurch reduziert wurde.

Um das Auswaschen des Methanols zu unterdrücken, wurde ein alternativer Eintopf-Prozess basierend auf der Durchführung von Wacker-Oxidation und enzymatischer Reduktion in nachgeschalteter Weise („sequenzieller Modus“) untersucht. In diesem Verfahren wird die Puffer/Isopropylalkohol-Lösung mit ADH und Cofaktor erst nach Komplettierung der einleitenden, im Innenraum erfolgenden Wacker-Oxidation in den Außenraum hinzugefügt (Abbildung 3).

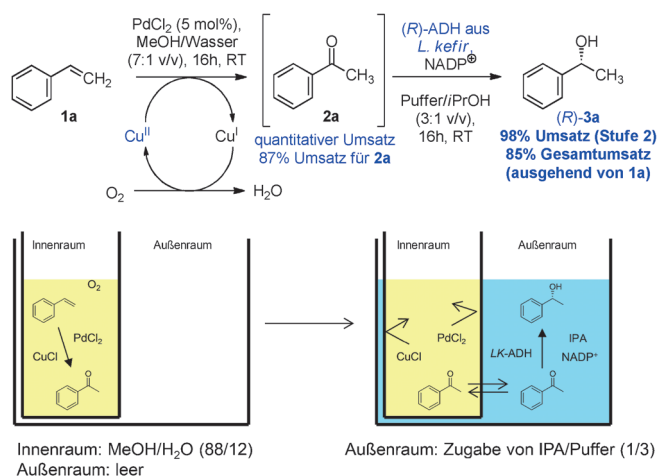
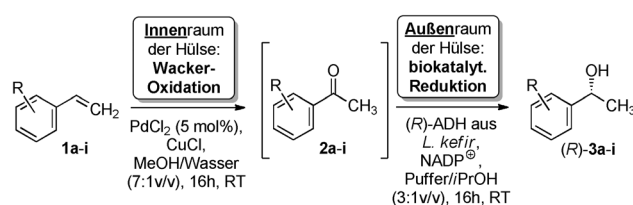


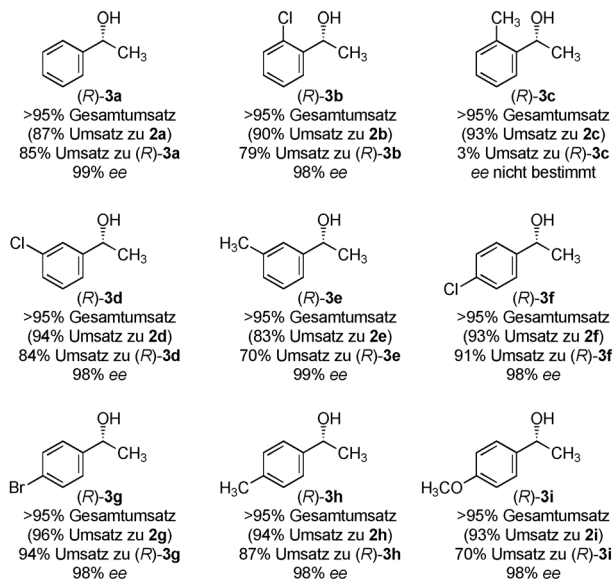
Abbildung 3. Chemoenzymatisches Eintopf-Verfahren im „sequenziellen Modus“.

Erfreut stellten wir fest, dass mithilfe dieser Eintopf-Methode das angereicherte Acetophenon erfolgreich mit einem exzellenten Umsatz auch für den zweiten Reaktionsschritt von 98 % und einem hohen, auf die Bildung des Produkts (*R*)-**3a** bezogenen Gesamtumsatz von 85 % (ausgehend von **1a**) zum 1-Phenylethanol (*R*)-**3a** umgesetzt wurde. Es sei angemerkt, dass dieses Ergebnis auch die hohe Effizienz der Diffusion des in situ gebildeten Ketons **2a** durch die PDMS-Hülse vom Innenraum in den Außenraum unterstreicht: Im Detail wurden nach dem erfolgten Eintopf-Verfahren 83 % 1-Phenylethanol, (*R*)-**3a**, und 2 % an **2a** im Außenraum gefunden sowie 2 % an (*R*)-**3a** im Innenraum.

Nach der erfolgreichen Entwicklung einer Eintopf-Verfahrensweise für die Kombination einer Wacker-Oxidation mit molekularem Sauerstoff und einer enzymatischen Re-



Synthesebeispiele



Schema 4. Substratspektrum der kombinierten Wacker-Oxidation und enzymatischen Reduktion in einem Eintopf-Verfahren unter Katalysatorkompartimentierung.

duktion des in situ gebildeten Wacker-Oxidationsprodukts **2a** zur Herstellung des Alkohols (*R*)-**3a** untersuchten wir die Substratbreite dieser Methode (Schema 4). Erfreulicherweise zeigte sich, dass nahezu alle untersuchten Styrole **1** (mit Ausnahme von 2-Methylstyrol, **1c**) effizient mit hohen Umsätzen (über zwei Stufen) und exzellenten Enantioselektivitäten zu den Alkohol-Produkten **3** umgesetzt wurden. Somit ist diese Methode für zahlreiche Substrate mit verschiedenen Substituenten an der Aren-Einheit in **1** geeignet, insbesondere wenn diese Substituenten in der *meta*- und *para*-Position sind. Zum Beispiel wurden sämtliche der verwendeten 3- und 4-substituierte Styrole mit Halogen-, Alkyl- und Alkoxy-Substituenten zu den entsprechenden Acetophenonen **2** und anschließend 1-Phenylethanolen (*R*)-**3** mit hohen Umsätzen und exzellenten Enantioselektivitäten umgesetzt.

Eine hohe Enantioselektivität wurde auch für das sterisch gehinderte 2-substituierte 1-Phenylethanol (*R*)-**3b** mit 98% bei 79% Umsatz bezogen auf die Bildung des Produkts über zwei Schritte erzielt. Eine Ausnahme beim breiten Substratspektrum stellt allerdings die Umsetzung des 2-Methyl-substituierten Styrols (**1c**) zum Produkt **3c** dar: Zwar verläuft die Wacker-Oxidation von **1c** auch in diesem Fall erfolgreich, das daraus resultierende Keton **2c** wird allerdings kaum vom Enzym umgesetzt (3% Umsatz).

Als nächstes fokussierten wir uns auf die Wiederverwendung des Katalysatorsystems der Wacker-Oxidation (Abbildung 4). Erfreulicherweise wurde bei der einfach durchführ-

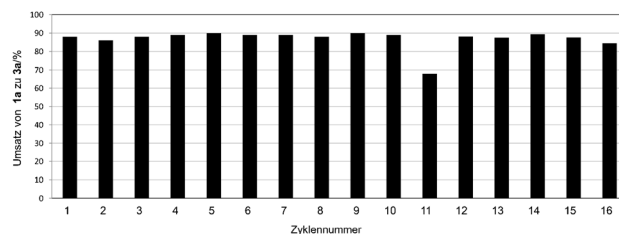
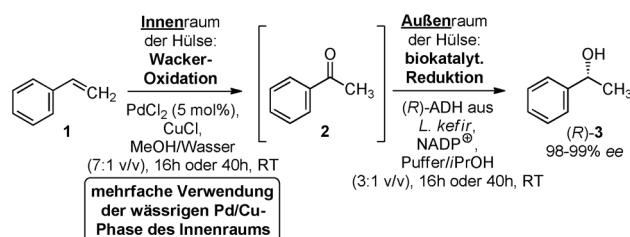


Abbildung 4. Recycling der wässrigen Innenraum-Phase (die Reaktionszeit lag aus labororganisatorischen Gründen in einigen Reaktionen bei 40 h, siehe Hintergrundinformationen).

baren Wiederverwendung der (wässrigen) Phase des Innenraums der PDMS-Hülse über weitere 15 Zyklen (welche über einen Zeitraum von 60 Tagen durchgeführt wurden!) keine signifikante Abnahme des Umsatzes und keinen Rückgang der Enantioselektivität bei der Eintopf-Synthese des Alkohols **3a** ausgehend vom Substrat **1a** (welches bei jedem neuen Zyklus gemeinsam mit Methanol als Kosolvens zugegeben wurde)^[12] beobachtet. Dies weist darauf hin, dass das im Innenraum befindliche Pd/Cu-Katalysatorsystem der Wacker-Oxidation auch nach mehrfachem Recycling nicht deaktiviert wird und dass die ionischen Komponenten im Innenraum nicht die PDMS-Membran durchdringen.

Zusammenfassend eröffnete der Einsatz eines Palladium/Kupfer-basierten Katalysatorsystems für die Wacker-Oxidation im Innenraum einer PDMS-Hülse die Kombination dieser Reaktion mit einer enzymatischen Reduktion in einem Eintopf-Verfahren, obwohl Kupferchlorid das Enzym in hohem Maße deaktiviert. Diese Eintopf-Methode unter Kompartimentierung der Metall- und Enzym-Katalysatoren ermöglichte eine glatte sequentielle Umwandlung einer Vielzahl von Styrolen **2** zu 1-Phenylethanolen (*R*)-**3** mit hohen Gesamtumsätzen und 98–99% ee. In diesem Eintopf-Verfahren verlaufen beide Reaktionen in einem wässrigem Medium, wobei eine aufwändige Isolierung der Keton-Zwischenstufen durch den Transport des hydrophoben Ketons **2** durch die PDMS-Membran in die Lösung des Außenraums unter Zurückhaltung der Metallkomponenten im Innenraum vermieden werden kann. Der teure Pd-Katalysator kann einfach zurückgewonnen und in mindestens 15 Zyklen wiederverwendet werden, wobei er über einen Zeitraum von mindestens 60 Tagen aktiv bleibt.

Stichwörter: Chirale Alkohole · Eintopf-Verfahren · Enzymkatalyse · Polydimethylsiloxan · Wacker-Oxidation

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 4488–4492
Angew. Chem. **2015**, *127*, 4570–4574

- [1] a) Übersichtsartikel zu Tandem-Verfahren unter Kombination von Metall-katalysierten Reaktionen: H. Clavier, H. Pellissier, *Adv. Synth. Catal.* **2012**, 354, 3347–3403; b) Übersichtsartikel zu biosynthetischen Tandemprozessen: T. Dairi, T. Kuzuyama, M. Nishiyama, I. Fujii, *Nat. Prod. Rep.* **2011**, 28, 1054–1086.
- [2] Übersichtsartikel: a) C. A. Denard, J. F. Hartwig, H. Zhao, *ACS Catal.* **2013**, 3, 2856–2864; b) H. Gröger, W. Hummel, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2014**, 19, 171–179; c) H. Gröger, W. Hummel in *Cascade Biocatalysis* (Hrsg.: S. Riva, W.-D. Fessner), Wiley-VCH, Weinheim, **2014**, Kap. 19, S. 427–456.
- [3] a) M. Makkee, A. P. G. Kieboom, H. van Bekkum, J. A. Roels, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1980**, 930–931; b) J. V. Allen, J. M. J. Williams, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 1859–1862; c) A. L. E. Larsson, B. A. Persson, J. E. Bäckvall, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 1211–1212; *Angew. Chem.* **1997**, 109, 1256–1258; d) J. H. Choi, Y. H. Kim, S. H. Nam, S. T. Shin, M. J. Kim, J. Park, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2373–2376; *Angew. Chem.* **2002**, 114, 2479–2482; e) A. Berkessel, M. L. Sebastian-Ibarz, T. N. Müller, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 6567–6570; *Angew. Chem.* **2006**, 118, 6717–6720; f) L. K. Tahlén, D. Zhao, J.-B. Sortais, J. Paetzold, C. Hoben, J.-E. Bäckvall, *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 3403–3410; g) A. Berkessel, I. Jurkiewicz, R. Mohan, *ChemCatChem* **2011**, 3, 319–330; h) V. Köhler, Y. M. Wilson, M. Dürrenberger, D. Gishlieri, E. Churakova, T. Quinto, L. Knörr, D. Häussinger, F. Hollmann, N. J. Turner, T. R. Ward, *Nat. Chem.* **2013**, 5, 93–99; i) C. Simons, U. Hanefeld, I. W. C. E. Arends, T. Maschmeyer, R. A. Sheldon, *Top. Catal.* **2006**, 40, 35–44; j) A. Boffi, S. Cacchi, P. Ceci, R. Cirilli, G. Fabrizi, A. Prastaro, S. Niembro, A. Shafir, A. Vallribera, *ChemCatChem* **2011**, 3, 347–353; k) D. A. Denard, H. Huang, M. J. Bartlett, L. Lu, Y. Tan, H. Zhao, J. F. Hartwig, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 465–469; *Angew. Chem.* **2014**, 126, 475–479.
- [4] a) E. Burda, W. Hummel, H. Gröger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 9551–9554; *Angew. Chem.* **2008**, 120, 9693–9696; b) K. Baer, M. Krauß, E. Burda, W. Hummel, A. Berkessel, H. Gröger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 9355–9358; *Angew. Chem.* **2009**, 121, 9519–9522; c) E. Burda, W. Bauer, W. Hummel, H. Gröger, *ChemCatChem* **2010**, 2, 67–72; d) K. Tenbrink, M. Seßler, J. Schatz, H. Gröger, *Adv. Synth. Catal.* **2011**, 353, 2363–2367; e) G. Rulli, N. Duangdee, K. Baer, W. Hummel, A. Berkessel, H. Gröger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 7944–7947; *Angew. Chem.* **2011**, 123, 8092–8095; f) S. Borchert, E. Burda, J. Schatz, W. Hummel, H. Gröger, *J. Mol. Catal. B* **2012**, 84, 89–93; g) I. Schnapperelle, W. Hummel, H. Gröger, *Chem. Eur. J.* **2012**, 18, 1073–1076; h) G. Rulli, M. Heidlinde-mann, A. Berkessel, W. Hummel, H. Gröger, *J. Biotechnol.* **2013**, 168, 271–276; i) M. Heidlinde-mann, G. Rulli, A. Berkessel, W. Hummel, *ACS Catal.* **2014**, 4, 1099–1103.
- [5] Für Metall-katalysierte Additionen von Sauerstoff-Nukleophilen an Alkene, siehe: L. Hintermann, *Top. Organomet. Chem.* **2010**, 31, 123–155.
- [6] Für „indirekte“ mehrstufige Synthesestrategien zur Umwandlung von Styrol in 1-Phenylethanol, siehe: a) F. Zhang, Q.-H. Fan, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 4470–4474; b) M. McCarthy, M. W. Hooper, P. J. Guiry, *Chem. Commun.* **2000**, 1333–1334.
- [7] C. Wuensch, J. Gross, G. Steinkellner, K. Gruber, S. M. Glueck, K. Faber, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 2293–2297; *Angew. Chem.* **2013**, 125, 2349–2353.
- [8] Für die asymmetrische enzymatische Hydratisierung nicht-aktivierter Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen der Ölsäure, siehe: a) J. Jin, P. C. Oskam, S. K. Karmee, A. J. J. Staathof, U. Hanefeld, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 8588–8590; b) J. Jin, U. Hanefeld, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 2502–2510.
- [9] I. Schnapperelle, Diplomarbeit, Universität Erlangen-Nürnberg, **2010**.
- [10] a) M. B. Runge, M. T. Mwangi, A. L. Miller II, M. Perring, N. B. Bowden, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 935–939; *Angew. Chem.* **2008**, 120, 949–953; b) M. T. Mwangi, M. B. Runge, K. M. Hoak, M. D. Schulz, N. B. Bowden, *Chem. Eur. J.* **2008**, 14, 6780–6788; c) A. L. Miller II, N. D. Bowden, *Adv. Mater.* **2008**, 20, 4195–4199; d) A. L. Miller II, N. B. Bowden, *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 4834–4840.
- [11] Als Reaktionstemperatur wählten wir Raumtemperatur (als relativ niedrige Reaktionstemperatur) zur Unterdrückung von bei höheren Temperaturen zu erwartenden ungewünschten Effekten wie das Entweichen von Styrol aus dem Reaktionsgemisch aufgrund von dessen Flüchtigkeit sowie der Enzym- und Cofaktordeaktivierung.
- [12] Bezüglich des Recyclings weiterer Komponenten wurde der Versuch, Methanol wiederzuverwenden, aufgrund dessen niedrigen Preises und guter Verfügbarkeit nicht gemacht. Dagegen ist das Recycling der ADH und des Cofaktors eine prinzipiell interessante Option für zukünftige Arbeiten, obwohl zu diesem Zweck eine veränderte Aufarbeitung notwendig wäre. Im gegenwärtigen Verfahren basierend auf einer extraktiven Aufarbeitung wäre das Recycling von Enzym und Cofaktor zu aufwändig und würde zudem möglicherweise zu einer erheblichen Enzymdeaktivierung führen. Zusätzlich ist bei dem vorliegenden Verfahren zu berücksichtigen, dass die Herstellung der ADH auf effizientem und ökonomisch attraktivem Wege mithilfe eines rekombinanten Stamms erfolgen kann, sodass die mehrfache Wiederverwendung der ADH keine Aufgabe von höchster Priorität ist.

Eingegangen am 30. September 2014
Online veröffentlicht am 20. Februar 2015