

Ein-Topf-Reaktionskaskaden durch Kombination einer eingekapselten Decarboxylase mit Metathese zur Synthese biobasierter Antioxidantien

Álvaro Gómez Baraibar[†], Dennis Reichert[†], Carolin Mügge, Svenja Seger, Harald Gröger und Robert Kourist*

Abstract: Die Kombination von Enzymen mit herkömmlichen Katalysatoren ermöglicht die Verbindung hoher Selektivität ersterer mit der Vielseitigkeit letzterer. Eine große Herausforderung dieses Ansatzes besteht in den sehr unterschiedlichen optimalen Reaktionsbedingungen beider Katalysatortypen. Hier kombinieren wir eine Cofaktor-freie Decarboxylase mit einem [Ru]-Metathesekatalysator zur Herstellung hochwertiger Antioxidantien aus biobasierten Vorstufen. Da geeignete [Ru]-Komplexe keine zufriedenstellende Aktivität unter wässrigen Bedingungen zeigten, erforderte die Reaktion ein organisches Lösungsmittel, das seinerseits die enzymatische Aktivität erheblich senkte. Durch das Einkapseln des Enzyms in einer Gelmatrix konnte die Decarboxylierung in reinem organischen Lösungsmittel durchgeführt werden, und nach einem intermediären Trocknungsschritt war die Metathese leicht möglich. Eine sequenzielle Ein-Topf-Reaktionskaskade nach diesem Muster lieferte das Antioxidans 4,4'-Dihydroxy-stilben in 90 % Gesamtausbeute.

Chemoenzymatische Reaktionskaskaden rücken in den Fokus der aktuellen Forschung, da sie die Vorteile zweier katalytischer Felder vereinen können.^[1] Es sind bereits verschiedene Kaskaden erfolgreich eingesetzt worden, z.B. für die Synthese von Aminosäuren,^[2] die dynamischen kinetischen Racematspaltung von sekundären Alkoholen,^[3] oder die Bildung von Polymeren.^[4] Kürzlich wurde bereits über die Verbindung von enzymatischen Reaktionen mit wassertoleranten Metathesekatalysatoren durch Kombination von Ruthenium-Katalysatoren mit P450-Monoxygenasen und Hydrolasen berichtet.^[5,6] Die Kompatibilität beider Katalysatortypen ist essenziell für den Erfolg einer solchen Kombination. Besonders in Bezug auf das Lösungsmittel ist es oft schwierig, für beide Katalysatoren vereinbare Reaktionsbedingungen zu etablieren. Einerseits sind Kaskaden in wässrigem Medium oder einem Zweiphasensystem auf wasser-

stabile Katalysatoren beschränkt – dies schließt bereits zahlreiche Metathesekatalysatoren von der Anwendung in chemoenzymatischen Reaktionskaskaden aus. Andererseits benötigt man für eine Durchführung der Kaskade in reinem organischen Lösungsmittel Enzyme mit guter Aktivität unter wasserfreien Bedingungen. Da nur wenige Enzymklassen rein organische Lösungsmittel tolerieren, ist dieser Ansatz nicht generell anwendbar. Einen pragmatischen Kompromiss bietet eine sequenzielle, räumlich und zeitlich getrennte Reaktion mit einem Schritt zur Extraktion und Aufarbeitung des intermediären Reaktionsprodukts. Während diese Strategie oft die einfachste Lösung des Kompatibilitätsproblems darstellt, ist sie für instabile Intermediate ungünstig. Aufwändige Aufarbeitungsschritte führen außerdem zu einem starken Lösungsmittel- und Ressourcenverbrauch. Der Schutz von Enzymen durch Einschlussimmobilisierung bietet eine wässrige Mikroumgebung für das Enzym und gewährleistet gleichzeitig hydrophobe Bedingungen für den Metallkatalysator. Diese Technik ermöglicht es somit, beide Katalysatortypen unter ihren jeweils optimalen Bedingungen zu nutzen, wodurch sie zu einer einfachen und robusten Methode avanciert.^[7]

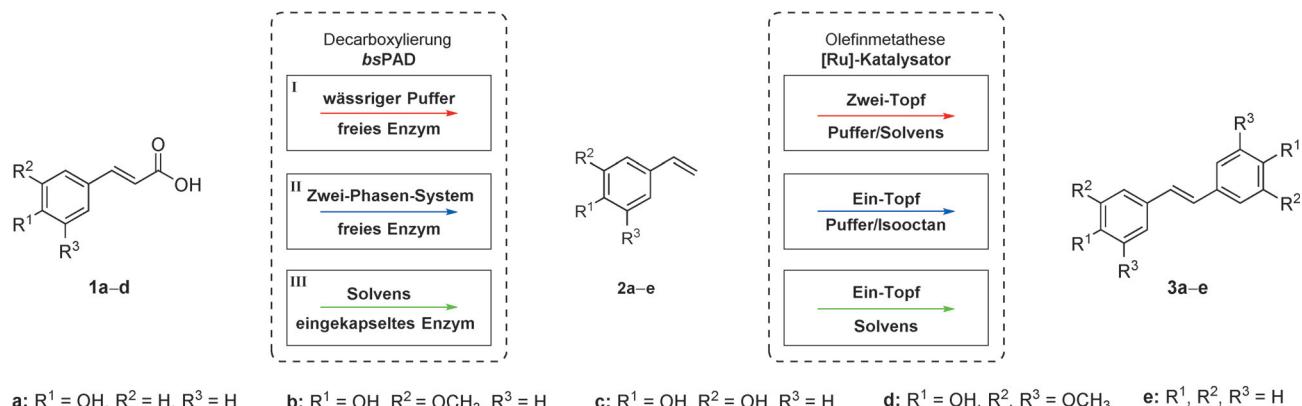
Resveratrol und seine Analoga stehen aufgrund ihrer biologischen Aktivität als Antioxidantien, sowie ihrer entzündungshemmenden, antidiabetischen und krebsvorbeugenden Wirkung im Fokus aktueller Forschung.^[8,9] Die natürliche Synthese von Resveratrol ist aufgrund des Bedarfs an CoA-Derivaten für einen In-vitro-Prozess zu teuer.^[8] Weiterhin ist das benötigte Enzym, die Resveratrol-Synthase, spezifisch für die Produktion von 3,4',5-Trihydroxystilben. Analoge Antioxidantien, wie 4,4'-Dihydroxy-*trans*-stilben (**3a**), sind mit diesem System nicht zugänglich. Interessanterweise wurde für **3a** eine vierfach höhere antioxidative Wirkung als für Resveratrol gefunden und zusätzlich die Inhibition von Wachstum und Metastasenbildung verschiedener Krebszellen beschrieben.^[9,10] Bekannte Wege für die Synthese von 4,4'-disubstituierten Stilben-Derivaten beinhalten unter anderem Wittig- oder McMurry-Reaktionen in aufwändigen, mehrstufigen Ansätzen.^[11] Die Olefinmetathese ist eine effiziente Reaktion zur Bildung von C-C-Doppelbindungen und insbesondere für die Synthese komplexer Biomoleküle geeignet.^[12]

Ein chemoenzymatischer Ansatz unter Verwendung der Metathese erschien daher als eleganter Syntheseweg für nichtnatürliche symmetrische Stilben-Derivate (Schema 1). Für den ersten Schritt der Kaskade nutzten wir die Cofaktor-freie Phenolsäure-Decarboxylase aus *Bacillus subtilis* (*bsPAD*), die *para*-Cumarsäure (**1a**) zum entsprechenden *para*-Vinylphenol (**2a**) umsetzt, das direkt als Substrat für

[*] Dr. Á. Gómez Baraibar,^[†] D. Reichert,^[†] Dr. C. Mügge, S. Seger, Prof. Dr. R. Kourist
Nachwuchsgruppe für Mikrobielle Biotechnologie
Ruhr-Universität Bochum
Universitätsstraße 150, 44780 Bochum (Deutschland)
E-Mail: Robert.Kourist@rub.de

Prof. Dr. H. Gröger
Lehrstuhl für Organische Chemie I
Fakultät für Chemie, Universität Bielefeld
Universitätsstraße 25, 33615 Bielefeld (Deutschland)

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.
 Hintergrundinformationen und die Identifikationsnummer (ORCID) eines Autors sind unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201607777> zu finden.



Schema 1. Chemoenzymatische Reaktionskonzepte für die Synthese von 4,4'-Dihydroxystilben-Derivaten durch Kombination von enzymatischer Decarboxylierung verschiedener Hydroxyzimtsäuren mit einer [Ru]-katalysierten Metathese.

eine nachfolgende Olefinmetathese genutzt werden kann. Aufgrund ihres häufigen Vorkommens in Lignocellulose, Weizen- und Reis-Kleie sowie in Abfällen der Zuckerherstellung, sind Hydroxyzimtsäure-Derivate attraktive Ressourcen für biobasierte Polymere und andere Materialien.^[13] Da die Olefinmetathese keine in der Natur vorkommende Reaktion darstellt, sind für die zweite Stufe chemische Katalysatoren notwendig. Die Kombination beider Reaktionen in einem Reaktionsgefäß umgeht die Isolierung und Aufreinigung der instabilen und reaktiven Vinylphenol-Intermediate. Da diese Stoffe zu Polymerisierung neigen,^[14] vereinfacht die Reaktionsführung in einer Kaskade die Synthese erheblich, indem auf aufwendige Schutzgruppenoperationen verzichtet werden kann. Hier stellen wir eine Kombination von enzymatischer Decarboxylierung und Olefinmetathese in einer zweistufigen Ein-Topf-Reaktion in organischem Lösungsmittel vor, die durch Einschluss des Biokatalysators ermöglicht wird.

Die Cofaktor-freie Phenolsäure-Decarboxylase aus *B. subtilis* (*bsPAD*) ist bereits als robuster Biokatalysator für die Transformation der Hydroxyzimtsäuren **1a–c** bekannt.^[15] Nach Klonierung aus genomischer DNA, Expression und Reinigung wurden 40 mg partiell aufgereinigter *bsPAD* aus 1 g Zellpellet isoliert. Die Hydroxyzimtsäuren **1a–c** wurden effizient durch das Enzym in Kaliumphosphatpuffer (KPi, 50 mM, pH 6.0, 30 °C) mit einer spezifischen Aktivität von 312 ± 40 (**1a**), 188 ± 2 (**1b**) und 129 ± 4 U mg⁻¹ (**1c**) umgesetzt. Es zeigte sich, dass *bsPAD* auch Sinapinsäure (**1d**) mit 1.0 ± 0.3 U mg⁻¹ als Substrat nutzen konnte. Da diese Aktivität zu gering für die vorgesehene Kaskade war, wurde **1d** von weiteren Untersuchungen ausgeschlossen.

Um geeignete Katalysatoren für die Metathese in einer kooperativen Reaktionskaskade zu finden, wurden verschiedene Ruthenium-Komplexe (**C1–C7**) anhand der Synthese von **3a** aus **2a** evaluiert. Die Bildung von Stilben (**3e**) aus Styren (**2e**) diente als Vergleichsreaktion (Tabelle S1). Die Katalysatoren wurden basierend auf bekannten Synthesewegen von Polyhydroxystilben-Derivaten^[16] sowie ihrer Toleranz gegenüber Luft und nicht getrockneten Lösungsmitteln, wie Ethylacetat und 2-Propanol, ausgewählt.^[17] Für die Reaktion wurden Dichlormethan (DCM) und Tetrahydro-

furan (THF) als Standard-Lösungsmittel genutzt. Außerdem wurden die Reaktionen in 2-Methyl-Tetrahydrofuran (2-MeTHF) als umweltverträgliches alternatives Lösungsmittel aus erneuerbaren Quellen^[18] und in Methyl-*tert*-butylether (MTBE), was auch zur Extraktion genutzt wurde, durchgeführt. Bemerkenswert ist, dass sich die spezifische Aktivität der [Ru]-Katalysatoren gegenüber den beiden Substraten **2a** und **2e** erheblich unterscheidet (Tabelle S1, Nr. 2–8): Vor allem Katalysatoren mit hoher Aktivität gegenüber **2e**, wie **C5**, zeigten einen schlechten Umsatz von **2a** und umgekehrt. Unter Verwendung des Grubbs-Katalysators der zweiten Generation (**C1**) konnte die Metathese in wasserfreien Lösungsmitteln und unter anaeroben Bedingungen durchgeführt werden. Katalysator **C2** zeigte zusätzlich eine zufriedenstellende Aktivität gegenüber **2a** in verschiedenen Lösungsmitteln mit Umsätzen von 40 % in 2-MeTHF bis 67 % in MTBE unter aeroben Bedingungen (Tabelle S1, Nr. 3). Basierend auf diesen Ergebnissen wurden die Katalysatoren **C1** und **C2** für die kooperative chemoenzymatische Reaktionskaskade gewählt. Aufgrund zu geringer Umsätze wurde DCM als Metathese-Lösungsmittel von weiteren Studien ausgeschlossen. Die direkte Kreuzkupplung von *para*-Cumarsäure (**1a**) durch eine Metathese-Reaktion wurde unter den gewählten Bedingungen nicht beobachtet, wodurch die Notwendigkeit einer Decarboxylierung vor der Metathese unterstrichen wird. Eine mögliche Ursache könnte eine ungünstige Gleichgewichtslage durch die Bildung nichtflüchtiger Fumarsäure als Beiproduct sein, während das Gleichgewicht der Umsetzung der Vinylphenole durch entweichendes Ethylen vollständig auf die Produktseite verschoben wird.

Nachdem die Einzelschritte der enzymatischen und der chemischen Reaktionen zuverlässig etabliert worden waren, erfolgte die Kombination beider Katalysatoren in einer chemoenzymatischen Kaskade. Für die Umsetzung wurden drei verschiedene Verfahren in Betracht gezogen (Schema 1): eine sequenzielle Zwei-Topf-Reaktion mit einem Aufarbeitungsschritt (**I**), die Kombination der beiden Schritte in einem Zwei-Phasen-ein-Topf-System (**II**) und die sequenzielle Ein-Topf-Reaktion mit eingekapseltem Enzym in organischem Lösungsmittel, einem intermediären Trocknungsschritt und anschließender Olefinmetathese (**III**).

Eine einfache sequenzielle Zwei-Topf-Kaskade unter Verwendung von freiem Enzym in wässrigem Puffer (**I**) hat den Vorteil, dass sowohl der enzymatische Schritt als auch die Metathese unter den individuell optimierten Bedingungen durchgeführt werden können. Als erster Schritt wurde daher die Decarboxylierung in Phosphatpuffer mit 100 mg Substrat **1a–c** durchgeführt, was zu einem vollständigen Umsatz innerhalb von 18–24 h führte. Die Vinylderivate **2a–c** konnten anschließend nach Extraktion mit MTBE in Ausbeuten von 80% bis 95% (Tabelle 1, Nr. 1–4) gewonnen werden. Die Tendenz der Intermediate **2a–c** zur spontanen Polymerisierung verringert ihre Lagerstabilität erheblich und erfordert eine sofortige Weiterverarbeitung im nächsten Schritt. Da in ¹H-NMR-Spektren der extrahierten Fraktionen keine Ausgangsstoffe **1a–c** nachgewiesen wurden, konnte die nachfolgende Metathese direkt angeschlossen werden, ohne dass eine Zwischenreinigung notwendig war. Dafür wurde der [Ru]-Katalysator **C1** als Feststoff hinzugefügt und die zweite Reaktion unter optimierten Bedingungen durchgeführt. Im ersten Versuch konnte **3a** trotz hohen Umsatzes (79%) nur in einer Ausbeute von 10% isoliert werden. Nachdem die Reaktionslösung vor der Aufreinigung mit 20 Mol-% Diethylenglykolmonovinylether zur Komplexierung des [Ru]-Katalysators

versetzt worden war, konnte die Gesamtausbeute an isoliertem **3a** auf 46% in THF (Nr. 1) und 58% in 2-MeTHF (nach 95% Umsatz von **2a**, Nr. 4) erhöht werden. Obwohl eine effektive enzymatische Umwandlung des Methoxyderivats **1b** beobachtet wurde, wurde **2b** zum entsprechenden Stilben **3b** mit nur 68% Umsatz und 27% Ausbeute in der zweiten Stufe isoliert (Eintrag 2). Die Synthese von **3c** erwies sich unter allen angewendeten Bedingungen als Herausforderung, da **2c** keinen messbaren Umsatz mit **C1** zeigte (Nr. 3).

Obwohl vielversprechende Gesamtumsätze für **3a** und **3b** erreicht wurden, erforderte die sequenzielle Kaskade eine sorgfältige Handhabung der Reaktionsintermediate **2a–c**. Wir vermuteten, dass eine direkte Ein-Topf-Kaskade dieses Problem umgehen könnte und außerdem die Durchführung der Reaktion im größeren Maßstab vereinfachen würde. Deshalb untersuchten wir zunächst die Möglichkeit eines klassischen Zwei-Phasen-Systems (Schema 1, **II**) in einem Puffer und 2,2,4-Trimethylpentan (Isooctan).^[5] Während die enzymatische Decarboxylierung unter diesen Bedingungen mit vollständigem Umsatz einer 5-mm-Lösung **1a** in 20 Minuten reibungslos verlief, verhinderte die Instabilität der untersuchten Metathesekatalysatoren gegen Wasser und Luft

Tabelle 1: Produktausbeuten für die sequenzielle Zwei-Topf-Kaskade (oben) und Ein-Topf-Kaskade (unten) zur Synthese von polyhydroxylierten Stilben-Derivaten.

Nr.	I	Umsatz ^[a] [%]	Ausbeute 2 ^[b] [%]		Metathese- Solvans	[Ru]	Umsatz ^[c] [%]	Ausbeute 3 ^[d] [%]		Gesamtausbeute [%]
			[mg]	[mg]				[mg]	%]	
1	a	> 99	95	70	THF	C1	59	49	30	46
2	b	> 99	80	62	THF	C1	68	27	15	21
3	c	> 99	93	70	THF	C1	0	0	0	0
4	a	> 99	87	64	2-MeTHF	C1	95	67	38	58
5	a	> 99	95	70	MTBE	C1	44	33	20	31
6	a	> 99	91	67	MTBE	C2	85	78	46	71
7	a	> 99	—	—	MTBE	C1	73	—	39	60
8	a	> 99	—	—	MTBE	C2	95	—	58	90
9	b	> 99	—	—	MTBE	C2	76	—	25	36
10	c	> 99	—	—	MTBE	C2	n.d. ^[e]	—	25 ^[e]	ca. 37 ^[e]

[a] Umsatz von **1** zu **2** anhand DC bestimmt. [b] Ausbeute an isoliertem Produkt nach der Transformation von 100 mg **1a–c** mit 20 mg Rohzellenextrakt in Kaliumphosphatpuffer (50 mM, pH 6.0, 30°C) und Extraktion mit MTBE. [c] Umsatz von **2** zu **3** durch ¹H-NMR-Spektroskopie bestimmt.

[d] Ausbeute an isoliertem Produkt nach Metathese der Vinylderivate **2a–c** mit 5 Mol-% [Ru] Katalysator. Für das Ein-Topf-Verfahren (unten) wurde die Lösung vor der Zugabe des [Ru]-Katalysators mit wasserfreiem MgSO₄ getrocknet. [e] Umwandlung konnte aufgrund überlappender Signale nicht ermittelt werden, Produkt wurde mit ca. 68% Reinheit (HPLC) isoliert.

einen vollständigen Umsatz der Vinylderivate im nächsten Schritt. Selbst mit dem recht stabilen Katalysator **C2** wurde nicht mehr als 20% Umsatz erreicht.

Aus diesen Ergebnissen wurde deutlich, dass ein effektive Metathese Reaktionsbedingungen mit geringer Wasseraktivität erfordert, wohingegen *bsPAD* keine Aktivität in den verwendeten hydrophoben Lösungsmitteln aufwies. Eine chemoenzymatische Ein-Topf-Kaskade in einer nichtwässrigen Umgebung konnte nur durch eine Erhöhung der Enzymstabilität erreicht werden. Somit wurde die Kaskade in einer zweistufigen Ein-Topf-Kaskade (Schema 1, **III**) unter Verwendung von MTBE als Lösungsmittel für beide Reaktionen durchgeführt. Ansorge-Schumacher et al. entwickelten kürzlich Polyvinylalkohol(PVA/PEG)-Kryogele,^[20] die einen Einschluss des Enzyms in einer wässrigen Umgebung ermöglichen. So konnte die Decarboxylierung von **1a–c** in reinem organischen Lösungsmittel durchgeführt werden (Abbildung 1). Nach Einschluss von *bsPAD* als Rohzellex-

wasserfreiem MgSO₄ wurden ausreichend „trockene“ Bedingungen für die Metathese erhalten. Anschließend wurde Katalysator **C1** hinzugefügt, und nach 4 Stunden Reaktionsdauer war ein Umsatz von 73 % **2a** zu **3a** mit einer Gesamtausbeute von 60 % erreicht (Tabelle 1, Nr. 7). Eine analoge, sequentielle Zwei-Topf-Kaskade mit MTBE als Extraktionsmittel und anschließender Zugabe des Katalysators **C1** ergab einen deutlich geringeren Umsatz von **2a** (44 %, Nr. 5) nach 4 h, was die Vorteile einer Ein-Topf-Kaskade mit PVE/PEG-Gelkapseln zur Kompartimentalisierung unterstreicht. Im Katalysator-Screening zeigte zudem der [Ru]-Komplex **C2** eine hohe Aktivität gegenüber **2a**. Daher wurde die Ein-Topf-Kaskade im nächsten Schritt unter Verwendung von 5 Mol-% **C2** für die Homodimerisierung von **2a–c** wiederholt. So wurden nach 4 h Reaktionszeit 95 % Umsatz von **2a** und eine Gesamtausbeute von 90 % **3a** erreicht (Nr. 8). Weiterhin führte die Verwendung von **C2** zu einer erhöhten Bildung von **3b** (76%). Obwohl nicht in reiner Form isolierbar (68 % Reinheit nach Flash-Chromatographie), bot dieses Katalysatorsystem auch Zugriff auf **3c**, was durch **C1** nicht erreicht werden konnte.

Obwohl chemoenzymatische Reaktionskaskaden eine Überlappung von Substratspektren und die gegenseitige Verträglichkeit der Katalysatoren und Reaktionsbedingungen erfordern, konnten wir zeigen, dass eine zweistufige Ein-Topf-Kaskade mit einem intermediären Trocknungsschritt die Synthese der polysubstituierten Stilben-Derivate **3a–c** aus biobasiertem Ausgangsmaterialien ermöglicht. Durch Kompartimentalisierung konnte der sequentielle Einsatz eines Enzyms mit geringer Stabilität in organischen Medien und Metathesekatalysatoren mit geringer Toleranz gegenüber Wasser ermöglicht werden. Die Überwindung der gegenseitigen Unvereinbarkeit verschiedener Katalysatortypen und ihrer Reaktionsbedingungen ist eine wesentliche Aufgabe bei der Entwicklung von Konzepten für robuste Ein-Topf-Reaktionskaskaden, die Probleme wie die Isolierung instabiler Zwischenprodukte umgeht und Zwischenextraktionsschritte reduziert. In diesem Zusammenhang erwiesen sich Polyvinylalkohol-Kryogele als einfaches und praktisches Hilfsmittel für die Anwendung der Decarboxylase in organischen Medien. Ein wesentlicher Vorteil liegt darin, dass die Partikel nach Abschluss der Reaktion durch Filtration abgetrennt werden können. Aufgrund der einfachen Anwendbarkeit mit zellfreien Extrakten ist dies eine elegante Möglichkeit, um Enzyme mit geringer Toleranz gegenüber organischen Lösungsmitteln in weiteren Reaktionskaskaden anzuwenden. Trotz der intrinsischen Herausforderungen, die sich durch die Metathesereaktion ergeben, demonstrieren die erzielten hohen Umsätze bei einer Substratkonzentration von 3 g L⁻¹ im 100-mg-Maßstab eindrucksvoll die Möglichkeit, eingekapselte Enzyme in einem Topf mit herkömmlichen Katalysatoren zu kombinieren.

Danksagung

Dem Ministerium für Innovation, Wissenschaft und Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen (PtJ-TRI/1411ng006) wird für die finanzielle Unterstützung gedankt.

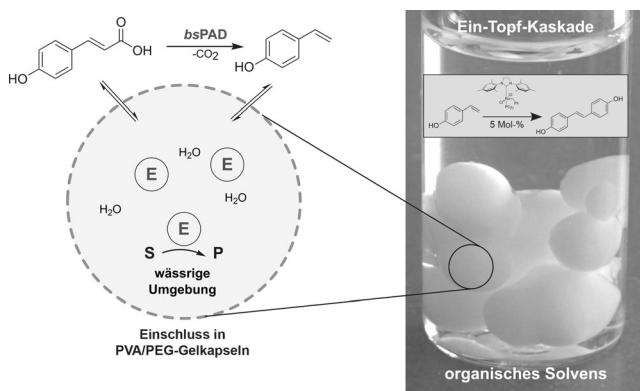


Abbildung 1. Einschluss von *bsPAD* in PVA/PEG-Gelkapseln ermöglicht die Kombination der enzymatischen Decarboxylierung und anschließender Metathese in MTBE. Das Enzym wird in einer wässrigen Umgebung eingeschlossen, während die Substrate (**1a–c**) und Produkte (**2a–c**) frei durch das Gel diffundieren können.

trakt wurde 39 % der enzymatischen Aktivität im Vergleich zur gleichen Menge freiem Rohzellextrakt aufrechterhalten, wobei 62 % dieser Aktivität auch nach der fünften Verwendung derselben Kapseln beibehalten wurden (Abbildung S1). Die Leistung des eingekapselten Enzyms wurde anschließend in verschiedenen organischen Lösungsmitteln getestet (Tabelle S2). Dabei wurde deutlich, dass unpolare Lösungsmittel wie MTBE oder Isooctan bessere Ergebnisse zeigten, als die mit Wasser mischbaren Lösungsmittel THF oder 2-MeTHF. Da sich Isooctan als ungeeignetes Medium für die Metathese von **2a** herausstellte, wurde MTBE als guter Kompromiss für beide Reaktionen ausgewählt.

Die Decarboxylierung von 100 mg **1a** mit *bsPAD*, eingeschlossen in PVA/PEG-Gelkapseln, erreichte > 99 % Umsatz nach 24 h unter Verwendung von 1 g Kapseln in 30 mL MTBE. Aufgrund ihrer Größe (ca. 3 mm Durchmesser) können die Kapseln nach der Reaktion leicht aus dem Medium entfernt werden, sodass nur das Substrat für die Metathese zurückbleibt. Durch Trocknung der Lösung mit

Stichwörter: Biobasierte Antioxidantien · Biokatalyse · Decarboxylierungen · Kompartimentalisierung · Metathese

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 14823–14827
Angew. Chem. **2016**, *128*, 15043–15047

- [1] H. Gröger, W. Hummel, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2014**, *19*, 171–179.
- [2] a) C. Simons, U. Hanefeld, I. W. C. E. Arends, T. Maschmeyer, R. A. Sheldon, *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 471–475; b) A. Berkessel, F. Cleemann, S. Mukherjee, T. N. Müller, J. Lex, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 807–811; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 817–821.
- [3] B. Martín-Matute, M. Edin, K. Bogár, F. B. Kaynak, J.-E. Bäckvall, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8817–8825.
- [4] B. A. C. van As, P. Thomassen, B. Kalra, R. A. Gross, E. W. Meijer, A. R. A. Palmans, A. Heise, *Macromolecules* **2004**, *37*, 8973–8977.
- [5] C. 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.
- [6] K. Tenbrink, M. Seßler, J. Schatz, H. Gröger, *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 2363–2367.
- [7] a) M. T. Mwangi, M. B. Runge, K. M. Hoak, M. D. Schulz, N. B. Bowden, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6780–6788; b) H. Sato, W. Hummel, H. Gröger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 4488–4492; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 4570–4574.
- [8] M. Li, K. R. Kildegaard, Y. Chen, A. Rodriguez, I. Borodina, J. Nielsen, *Metab. Eng.* **2015**, *32*, 1–11.
- [9] M. Savio, D. Ferraro, C. Maccario, R. Vaccarone, L. D. Jensen, F. Corana, B. Mannucci, L. Bianchi, Y. Cao, L. A. Stivala, *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 19973.
- [10] G.-J. Fan, X.-D. Liu, Y.-P. Qian, Y.-J. Shang, X.-Z. Li, F. Dai, J.-G. Fang, X.-L. Jin, B. Zhou, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2360–2365.
- [11] a) K. C. Nicolaou, M. W. Härter, J. L. Gunzner, A. Nadin, *Liebigs Ann.* **1997**, 1283–1301; b) J. E. McMurry, M. P. Fleming, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 4708–4709.
- [12] R. H. Grubbs, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7117–7140.
- [13] I. Barbara, A. L. Flourat, F. Allais, *Eur. Polym. J.* **2015**, *62*, 236–243.
- [14] a) K. Kodaira, Y. Ōnishi, K. Ito, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1980**, *1*, 427–431; b) R. Sovish, *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 1345–1347.
- [15] J.-F. Cavin, V. Dartois, C. Divié, *Appl. Environ. Microbiol.* **1998**, *64*, 1466–1471.
- [16] K. Ferré-Filmon, L. Delaude, A. Demonceau, A. F. Noels, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3319–3325.
- [17] a) K. Skowerski, C. Wierzbicka, G. Szczepaniak, Ł. Gułajski, M. Bieniek, K. Grela, *Green Chem.* **2012**, *14*, 3264–3268; b) A. Kozłowska, M. Dranka, J. Zachara, E. Pump, C. Slugovc, K. Skowerski, K. Grela, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 14120–14125; c) M. S. Sanford, J. A. Love, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6543–6554; d) K. Skowerski, P. Kasprzycki, M. Bieniek, T. K. Olszewski, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 7408–7415; e) K. Grela, S. Harutyunyan, A. Michrowska, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4038–4040; *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 4210–4212; f) K. Skowerski, G. Szczepaniak, C. Wierzbicka, Ł. Gułajski, M. Bieniek, K. Grela, *Catal. Sci. Technol.* **2012**, *2*, 2424.
- [18] V. Pace, P. Hoyos, L. Castoldi, P. Domínguez de María, A. R. Alcantara, *ChemSusChem* **2012**, *5*, 1369–1379.
- [19] a) W. Liu, P. J. Nichols, N. Smith, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 6103–6105; b) H. Katayama, H. Urushima, T. Nishioka, C. Wada, M. Nagao, F. Ozawa, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 4513–4515; *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 4687–4689.
- [20] T. Hischer, S. Steinsiek, M. B. Ansorge-Schumacher, *Biocatal. Biotransform.* **2009**, *24*, 437–442.

Eingegangen am 10. August 2016

Online veröffentlicht am 18. Oktober 2016