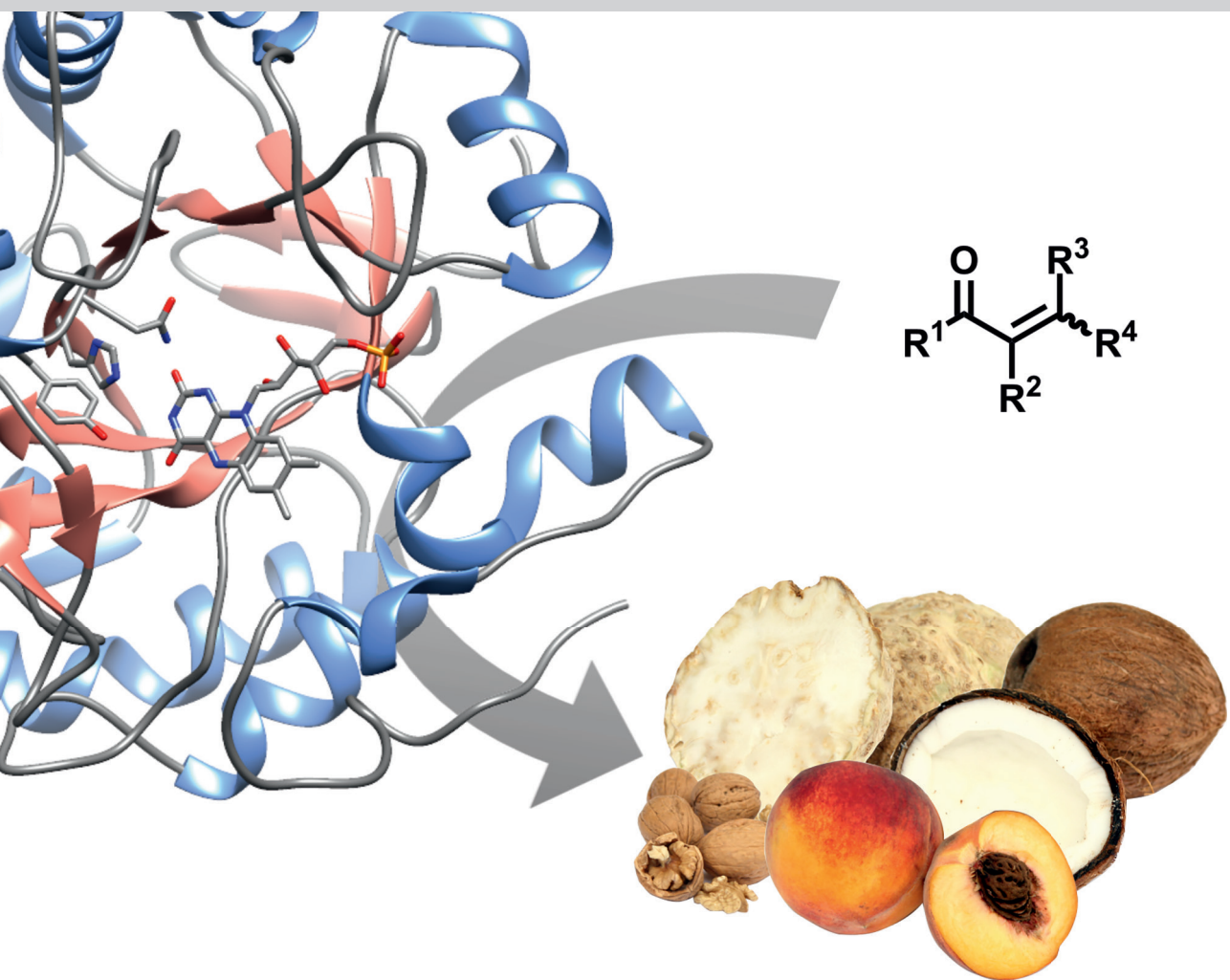


Chemoenzymatische Synthesemethoden – Zugang zur duftenden Welt der Chemie und darüber hinaus

Ceyda Kumru



Forschungszentrum Jülich GmbH
Institut für Bio- und Geowissenschaften
IBOC – Bioorganische Chemie

Chemoenzymatische Synthesemethoden – Zugang zur duftenden Welt der Chemie und darüber hinaus

Ceyda Kumru

Bioorganische Chemie an der Heinrich-Heine-Universität
im Forschungszentrum Jülich

Band 38

ISBN 978-3-95806-446-1

Inhaltsverzeichnis

1	ZUSAMMENFASSUNG	6
2	EINLEITUNG	15
3	KENNTNISSTAND.....	20
3.1	Aroma- und Duftstoffe.....	20
3.2	γ-Butyrolactone 1	25
3.2.1	Wichtige Vertreter der γ -Butyrolacton-Aromastoffe	28
3.3	Michael-Addukte 2	37
3.4	Chemie der Alkene.....	47
3.4.1	Michael-Systeme.....	47
3.4.2	Darstellung von Michael-Verbindungen 111	47
3.4.3	Michael-Addition	53
3.4.4	Redoxreaktionen an Alkenen und Carbonylgruppen	55
3.5	Oxidoreduktasen	62
3.5.1	Enreduktasen	62
3.5.2	Alkoholdehydrogenasen	65
3.5.3	Laccasen	69
3.5.4	Cofaktorregenerierung	74
4	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	78
4.1	Aufgabenstellung und Ziele	78
4.2	Chemoenzymatische Synthese von γ-Butyrolactonen 1	82
4.2.1	Substratsynthese	82
4.2.2	Darstellung von Referenzverbindungen	103
4.2.3	Enzymscreening	106
4.2.4	Reduktion der α,β -ungesättigten γ -Ketoester 7a–i mit Enreduktasen	116
4.2.5	Enzymkaskade zur Darstellung von γ -Butyrolactonen 1	122
4.3	Laccase-katalysierte Arylierungsreaktionen.....	145
4.3.1	2-Methylchromenon (10a).....	145
4.3.2	Cyclopentenon-Derivate 10b–e	150
4.3.3	γ -Butenolid-Derivat 10f.....	158
4.3.4	Cyclohexenon-Derivate 10g–j	162
5	AUSBLICK	176
5.1	γ-Butyrolactone 1	176
5.2	Michael-Addukte 2	180

6	EXPERIMENTALTEIL	184
6.1	Materialien und Methoden.....	184
6.1.1	Geräte und Materialien	184
6.1.2	Allgemeine Versuchsbedingungen	188
6.1.3	Chemikalien	188
6.1.4	Lösungsmittel	188
6.1.5	Chromatographische Trennverfahren	188
6.1.6	Analytik	189
6.1.7	Zusammensetzung der Puffer, Medien und Stammlösungen	190
6.2	Allgemeine chemische und biochemische Vorschriften	191
6.2.1	Titration von <i>n</i> -Butyllithium	191
6.2.2	Herstellung chemisch kompetenter Zellen	192
6.2.3	Isolierung von Plasmid-DNA	192
6.2.4	Transformation chemisch kompetenter Zellen und Kultivierung	192
6.2.5	Zellaufschluss	194
6.2.6	Reinigung der Enreduktasen mittels Affinitätschromatographie	194
6.2.7	Gefriertrocknung von Enzymen	195
6.2.8	Aktivitätsbestimmung von Enzymen	195
6.2.9	Screening von Enzymen	196
6.2.10	Bestimmung der <i>Michaelis-Menten</i> - und Reaktionskinetik	197
6.3	Analytische Daten zur Synthese der γ-Butyrolactone 1.....	199
6.3.1	Allgemeine Vorschrift zur Synthese der Oxoalkyl-Phosphonsäurediethylester (5)	199
6.3.2	Vorschrift zur Synthese des 1-Butyl,1-ethyl-2-acetat-phosphonsäurediethylesters (5m)	210
6.3.3	Vorschrift zur Synthese des Pentylphosphonsäurediethylesters 4d (<i>Michaelis-Arbuzov</i> Reaktion) ..	211
6.3.4	Vorschrift zur Synthese des 1-Methyl-2-oxoethan-phosphonsäurediethylesters (5j)	212
6.3.5	Vorschrift zur Synthese des 1-(1,3-Dioxolan-2-yl)ethyl-phosphonsäurediethylesters (5k)	213
6.3.6	Allgemeine Vorschrift zur Synthese der α,β -ungesättigten γ -Ketoester (7) (<i>HWE</i> -Reaktion)	214
6.3.7	Vorschriften zur Synthese der Exomethylen-Verbindung (7o)	233
6.3.8	Vorschrift zur Synthese des 2-Oxohexansäureethylesters (6a)	237
6.3.9	Vorschrift zur Synthese der α,β -ungesättigten und gesättigten Alkohole (<i>rac</i>)-187 und (<i>rac</i>)-9 und der Butenolide (<i>rac</i>)-186 nach <i>Luche</i>	238
6.3.10	Synthese von racemischen Referenzverbindungen	249
6.3.11	Enzymatische Reduktion mit Enreduktasen	249
6.3.12	Vorschrift zur Synthese der γ -Butyrolactone 1	259
6.3.13	Vorschrift zur Derivatisierung der γ -Butyrolactone 1h-i	274
6.4	Analytische Daten zu den Arylierungsprodukten	276
6.4.1	Vorschrift zur Synthese des 2-Methyl-4-oxo-4 <i>H</i> -chromen-3-carbonsäuremethylesters (10a)	276
6.4.2	Vorschriften zur Synthese der Me-substituierten Cyclopentenon-Derivate 10b-c	277
6.4.3	Vorschrift zur Synthese der Cyclohexenon-Derivate 10g-j	281
6.4.4	Vorschriften zur Synthese des Butenolid-Derivats 10f	287

6.4.5	Racemische Referenzen	290
6.4.6	Asymmetrische Reduktion mit Enreduktasen.....	296
6.4.7	<i>Michael</i> -Addukte 2.....	300
7	LITERATURVERZEICHNIS	304
8	ANHANG	327
8.1	Vektorkarten	327
8.1.1	NcrZM	327
8.1.2	Opr1	328
8.1.3	TsER.....	329
8.1.4	YqjM-Mutanten.....	330
8.1.5	ADH-R.....	331
8.1.6	Ssl1	332
8.1.7	PhosDH.....	333

Die Chiralität ist ein wesentlicher Bestandteil des Lebens und mit chiralen Verbindungen können biologische Systeme spezifisch adressiert werden, um gezielte Wirkungen zu erzielen. Daher werden chiralen Verbindungen nicht nur in der Pharmazie, sondern beispielsweise auch in der Agrar- und Lebensmittelchemie eine große Bedeutung zugeschrieben. Um den Bedarf an chiralen Verbindungen zu decken sind stereoselektive Synthesemethoden gefragt. Enzyme als Biokatalysatoren sind aufgrund ihrer bekannten Chemo-, Stereo- und Regioselektivität sehr gut geeignete Werkzeuge um chirale Verbindungen unter milden Reaktionsbedingungen herzustellen.

In dieser Arbeit wurden chemoenzymatische Methoden zur stereoselektiven Synthese von γ -Butyrolactonen und α -arylierten *Michael*-Addukten etabliert. Die Enreduktase wurde als Schlüsselenzym mit weiteren Oxidoreduktasen kombiniert. Somit konnte ausgehend von aktivierten Alkenen Verbindungen mit zwei definierten Stereozentren gebildet und die Grenzen der Enzyme aufgezeigt werden.