

Enzymatische Reduktion einiger aromatischer Carboxysäuren

I. JEŽO und J. ZEMEK

*Chemisches Institut, Zentrum für Chemische Forschung
der Slowakischen Akademie
der Wissenschaften, CS-842 38 Bratislava*

Eingegangen am 23. Mai 1985

Es wird die Herstellung des Benzaldehyds und einiger seiner Methoxyderivate durch enzymatische Reduktion der zugehörigen Benzoesäuren beschrieben.

The preparation of benzaldehyde and some of its methoxy derivatives via enzymatic reduction of the corresponding benzoic acids is described.

Описано получение бензальдегида и его некоторых метоксипроизводных посредством ферментативного восстановления соответствующих бензойных кислот.

In der Fachliteratur ist eine Reihe von anspruchslosen aber auch komplizierteren Verfahren, üblich als „Namenreaktionen“ bekannt, beschrieben, die auf die Herstellung der aromatischen Aldehyde eingestellt sind (z. B. Blaise-Guerin, Bodroux-Tschitschibabin, Bouveault, Brown, Duff, Étard, Friedmann, Gattermann, Gattermann—Koch, Grosheintz—Fischer, Grundmann, Hass—Bender, Kröhnke, McFadyen—Stevens, Reimer—Tiemann, Rosenmund—Saytzeff, Sommelet, Sonn—Müller, Stephen, Weermann) [1].

Doch keine der obenerwähnten Reaktionen ermöglicht eine direkte Reduktion der aromatischen Carboxysäuren auf die zugehörigen Aldehyde. Im Zusammenhang mit der Lösung eines anderen Problems haben wir uns mit dergleicher Möglichkeit einer Reduktion von Benzoesäure und ihren Methoxyderivaten beschäftigt, wobei es uns gelungen ist eine einfache und relativ schnelle Methode zur Herstellung der gewünschten Produkte auszuarbeiten. Im Grunde steckt dieses Verfahren in der Interaktion der aromatischen Säuren mit Enzymsystemen der Mikroorganismen (isolierte Kultur der *Actinomyces spec.*), die bei anaeroben Bedingungen im Puffermilieu in relativ kurzer Zeit bei 50 °C zur Bildung der gewünschten Produkte in befriedigenden Ausbeuten (ca. 50—68 %) führt. Die Kultur von *Actinomyces spec.* mit fragmentiertem Myzelium in Stangenform, mit dem Inhalt der Asparaginsäure in den Zellenwänden, hydrolysierende die Stärke, nichtreduzierende die Nitrate und produzierende die Katalase, haben wir aus einer mit Benzoesäure konservierten Maisährenkonserve isoliert. Dabei haben wir festgestellt, daß bei Verwendung der Acrylsäurederivate (z. B. Croton- resp.

Zimtsäure) als Ausgangsverbindungen die Reaktion nicht befriedigend (ca. 5—8 % Ausbeuten) verläuft.

Wir vermuten, daß es an dieser Stelle zulässig ist die Ausbeuten der Mikrobiooxidation einiger aromatischer Primäralkohole auf die zugehörigen Aldehyde mittels *Pseudomonas spec.*, *Acetobacter aerogenes*, *Achromobacter parvulus*, *Aspergillus sclerotiorum*, resp. *Penicillium chrysogenum* [2] zu vergleichen. Nur in einem Fall, und zwar bei Anwendung von *Aspergillus sclerotiorum* haben die Ausbeuten des gewünschten Produktes 50 % überschritten. Die Art der Herstellung von Aldehyden durch Reduktion der aromatischen Carboxysäuren mittels *Actinomyces spec.* ist in erwähnten Fällen sichtbar mit relativ größeren Ausbeuten gekennzeichnet und gewinnt damit auch einen präparativen Sinn.

Wir vermuten, daß für die Reduktion der aromatischen Säuren auf die zugehörigen Aldehyde in obenerwähnter Weise ist Dank gewisser Substratspezifität das Enzym Benzaldehyd-Dehydrogenase und zwar entweder Benzaldehyd-NAD-Oxidoreduktase (EC 1.2.1.6) oder Benzaldehyd-NADP-Oxidoreduktase (EC 1.2.1.7) verantwortlich.

Experimenteller Teil

a) Herstellung der Biomasse

Auf einem Nährboden (10 g Pepton, 6 g Rindfleischextrakt, 4 g Glycerin, 5 g NaCl und 1000 cm³ destilliertes Wasser) kultiviert man bei 37 °C unter streng anaeroben Bedingungen die Zellen von *Actinomyces spec.* (wahrscheinlich *A. bovis*). Das durch Zentrifugieren (1500 g_n) gewonnene Produkt (10 g) wäscht man mit destilliertem Wasser durch (2 × 300 cm³) und danach unterwirft es der Lyophilisation. Die lyophilisierten Zellen werden mit Toluol (20 min, 70 °C) permeabilisiert, danach wird das Lösungsmittel mittels Zentrifugieren abgetrennt. Die Toluolrückstände beseitigt man mit einem Gemisch von Äther + Äthanol (100 cm³, Volumenverhältnis = 1 : 1) und schließlich trocknet man das gewonnene Produkt bei Raumtemperatur.

b) Enzymatische Reduktion

In eine Suspension von Biomasse (ad a) (1 g) in 20 cm³ 0,05 M-Phosphatpuffer mit einem Zusatz 10 Vol. % von Methanol (pH = 7,0) wird die gewünschte Säure zugegeben. Nach 12 h Stehen unter anaeroben Bedingungen bei 50 °C wird der unlösliche Anteil abzentrifugiert, der Supernatant wird abgedampft und der gewonnene Aldehyd in üblicher Weise auf das zugehörige 2,4-Dinitrophenylhydrazon übergeführt.

Die Ausbeuten der Reaktion und Schmelzpunkte der 2,4-Dinitrophenylhydrazonen der gewonnenen Aldehyde sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1

Charakteristik der Aldehyde

Aldehyd Ausbeute/%	Gefundener Schmp. (2,4-DNF)/°C	Literatur Schmp. (2,4-DNF)/°C
Benzaldehyd 49,6	240	237 [3] 243—244 [4]
Anisaldehyd 51,3	250—252 (Zersetz.)	253—254 (Zersetz.) [5]
Vanillin 54,2	269—270 (Zersetz.)	271 (Zersetz.) [5]
Veratraldehyd 47,0	257—258	261 [6]
Syringaldehyd 52,4	235	235,5—236,5 [7]
3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd 67,1	241	242 [8]
Crotonaldehyd 5,1	187	190 [9]
Zimtaldehyd 7,6	250—252	253—254 [10]

Schmp. (2,4-DNF) = Schmelzpunkt des 2,4-Dinitrophenylhydrazons.

Literatur

1. Siehe z. B. Krauch, H. und Kunz, W., *Reaktionen der Organischen Chemie*. Hüthig Verlag, Heidelberg 1966.
2. Kieslich, K., *Microbial Transformations of Non-Steroid Cyclic Compounds*, S. 223, 421, 593, 733. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1976.
3. Bergmann, M., *Ber.* 56, 679 (1923).
4. Busch, M., *Ber.* 47, 3277 (1914).
5. Campbell, J., *Analyst* (London) 61, 392 (1936).
6. Strain, H. H., *J. Amer. Chem. Soc.* 57, 760 (1935).
7. Pyle, J. J., Brickmann, L. und Hibbert, H., *J. Amer. Chem. Soc.* 61, 2198 (1939).
8. Imaki, T., Koike, K., Shimizu, S. und Takei, S., *J. Agr. Chem. Soc. Jap.* 20, 289 (1944); *Chem. Abstr.* 1949, 1743d.
9. Hibbert, H., *J. Amer. Chem. Soc.* 37, 1759 (1915).
10. Woods, G. F. und Sanders, H., *J. Amer. Chem. Soc.* 69, 2926 (1947).

Übersetzt von I. Ježo