

8-5 Enantioselektive Reduktion von Acetessigester

Reaktionstyp: Enzymatische Reduktion

Arbeitstechniken und Methoden: Standardverfahren, Destillation im Membranpumpenvakuum

Geräte: Standardgeräte, Siliconbad, „Spinne“, Glasfilternutsche („Glasfritte“) (Porösität 1 oder 2)

Chemikalien:

Bäckerhefe (50 g) Saccharose (125 g), Acetessigsäureethylester (10 g), Celite® (20 g), Diethylether (250 ml), Natriumchlorid, Natriumsulfat

Hinweise:

- Bäcker-Hefe ist leicht verderblich und muss deshalb stets frisch von der Materialverwaltung besorgt werden.
⇒ Informieren Sie sich deshalb, wer außer Ihnen den Versuch noch durchzuführen hat. Stimmen Sie sich so ab, dass Sie den Versuch möglichst gleichzeitig - d.h. innerhalb von 3 bis 4 Tagen - durchführen können.
⇒ Ermitteln Sie den Gesamtbedarf für die Hefe und geben Sie der Materialverwaltung rechtzeitig - d.h. mindestens 1 Woche vor dem geplanten Versuchsbeginn - Bescheid!
- Der korrekte IUPAC-Name für Acetessigsäureethylester ist Ethyl-acetoacetat.
- Celite® ist das eingetragene Warenzeichen der John-Manville Corp. für Kieselgur verschiedener Korngrößen zur Verwendung als Filtrierhilfsmittel sowie als Füllstoff für Lacke und Kautschuk. Bei Kieselgur handelt es sich um die Siliziumdioxidshalen fossiler Kieselalgen.

Warnhinweise

Kieselgur ist gesundheitsschädlich bei längerer Exposition durch Einatmen. Manche Hersteller vermuten sogar eine mutagene Wirkung. Vermeiden Sie das Einatmen der Stäube. Für die übrigen Chemikalien gelten die im Praktikum praktizierten Standardmaßnahmen.

Ausführung:

Wiegen Sie 75 g Saccharose ab. Zerbröckeln Sie die Hefe (50 g) in einem Becherglas und vermengen Sie mit etwas von der abgewogenen Saccharose. Innerhalb weniger Minuten verflüssigt sich diese Mischung von selbst. Geben Sie diese in einen 1-l-Rundkolben und fügen Sie 400 ml Leitungswasser hinzu. Verwenden Sie einen Teil dieser Menge, um die in dem Becherglas verbliebenen Reste ebenfalls in den Kolben zu spülen. Geben Sie die restliche Saccharose hinzu und verschließen Sie mit einem Gasableitungsrohr, an das eine mit etwas Wasser gefüllte Gaswaschflasche als Blasenähler angeschlossen ist.

Es wird 1 Stunde bei 30 °C gelinde gerührt. (*Großen Magnetrührkern verwenden.*) Anschließend wird mit Acetessigsäureethylester (5 g) versetzt und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. (*Was beobachten Sie?*)

Hinweis: *Da die Mischung nicht leicht entzündlich ist und auch nicht beheizt wird, kann der Kolben im Labor über Nacht gerührt werden. Voraussetzung ist, dass sich im gleichen Abzug keine leicht entzündlichen Chemikalien befinden. Der Abzug darf abends nicht abgeschaltet werden. (Aufdruck auf dem Frontschieber) Stellen Sie eine Plastikschaale unter den Kolben, damit im Falle eines Kolbenbruchs der Inhalt aufgefangen wird und nicht über den Magnetrührer läuft.*

Danach wird mit einer auf 40 °C erwärmten Lösung von 50 g Saccarose in 250 ml Leitungswasser, gefolgt von weiteren 5 g Acetessigsäureethylester versetzt und weitere 50 bis 60 Stunden bei Raumtemperatur gerührt.

Zur Aufarbeitung wird über eine grobe Glasfritte (*Materialverwaltung - achten Sie auf eine passende Größe!*), über Celite abgesaugt. (*Legen Sie in der Glasfritte so viel Celite vor, dass es etwa 2 bis drei Finger dick in der Fritte liegt. Gießen Sie so vorsichtig, dass kein „Loch“ in der*

Celiteschicht entsteht.) Waschen Sie mit 50 ml Wasser nach! Die vereinigten Filtrate werden mit Natriumchlorid gesättigt und mit Diethylether (5 x 100 ml) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abfiltrieren des Trockenmittels wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer weitgehend abgezogen, so dass ein Rückstand von etwa 10 bis 20 ml verbleibt.

Vorsicht: *Bei zu energischen Bedingungen destilliert auch das Produkt bereits im Rotationsverdampfer ab!*

Der Rückstand wird im Membranpumpenvakuum über eine 10-cm-Vigreux-Kolonne destilliert. Informieren Sie sich vor Beginn der Destillation über die Siededaten der Substanz! Bestimmen Sie Druck/Temperatur, Brechungsindex und Ausbeute jeder erhaltenen Fraktion.

Hinweis:

Der Destillationsrückstand lässt sich zur Entsorgung leicht in etwas verd. Natronlauge lösen.

Fragen vor Ausführung des Versuchs:

- 1) Benennen Sie das zu erwartende Produkt stereochemisch korrekt. Wie hängt die Stereoselektivität von der Struktur des Eduktes ab?
- 2) Was versteht man unter den Begriffen
⇒ prochiral
⇒ re-Seite bzw. si-Seite?
Argumentieren Sie mit diesen Begriffen zur Beschreibung der hier ablaufenden Reaktion!
- 3) Warum wird der Acetessigester nicht auf einmal in die Mischung gegeben? (Lesen Sie dazu in der angegebenen Literatur über die konkurrierenden Enzyme der Bäcker-Hefe und informieren Sie sich über die Enzymkinetik nach Michaelis-Menten! Wie sieht nach dieser Kinetik das Diagramm aus, wenn man die Reaktionsgeschwindigkeit gegen die Substratkonzentration aufträgt? Konstruieren Sie zwei solche Diagramme für zwei konkurrierende Enzyme!)
- 4) Was ist das „biologische Reduktionsmittel“ bei der hier durchgeführten Reaktion?
- 5) Welche Vorteile haben solche mit Hilfe von Mikroorganismen durchgeführten Reaktionen? (In diesem Zusammenhang ist vielleicht interessant, dass die von Ihnen hergestellte Substanz im Handel etwa 4000,- €/kg kostet!)
- 6) Warum wird die wässrige Phase bei der Aufarbeitung mit Natriumchlorid gesättigt? (Man spricht bei dieser Technik übrigens auch von „Ausalzen“.)
- 7) Machen Sie Vorschläge zur Überprüfung von Einheitlichkeit und zur Struktursicherung des Produkts

Aufgaben nach Ausführung des Versuchs

- 8) Sichern Sie Einheitlichkeit und Struktur entsprechend Aufgabe 4! Wenn Sie eine Drehwertbestimmung machen sollen, wiegen Sie 10-20 mg auf 2 ml Lösemittel ein. (Es gibt entsprechend kleine Messkölbchen!) Lassen Sie sich im Gebrauch der Analysenwaage einweisen! Verwenden Sie das gleiche Lösemittel wie das, was beim Literaturdrehwert angegeben ist. Verabreden Sie einen Messtermin bei Dr. R. Zimmer – bitte möglichst in Gruppen und nicht jede(r) einzeln.
- 9) Sie haben bei der Reaktionsdurchführung sicher bemerkt, dass die mit Hilfe von Mikroorganismen durchgeführten Reaktionen auch Nachteile haben. Welche sind das?

Literatur:

- Überblick über mikrobielle Katalyse, erwartetes Produkt bei der hier durchgeführten Reaktion: C.J.Sih, C-S. Chen; *Angew.Chem.* **96**,556-565(1984)
- Reaktionsdurchführung: D.Seebach, M.A.Sutter, R.H.Weber, M.F.Züger; *Org.Synth.* **63**,1-9(1985)
- Stereochemische Grundbegriffe:

Beliebige Lehrbücher, z.B. H.R.Christen, F.Vögtle, Organische Chemie, Band II, Otto Salle V.

- Enzymkinetik

Beliebige Lehrbücher der Biochemie, z.B. L.Stryer, Biochemie, Spektrum-Verlag oder S.R.Logan, Grundlagen der chemischen Kinetik, Wiley VCH (braucht man als Chemiker auch für das Hauptstudium)