

Versuche zur Racematspaltung von Konduramin-Analogen durch enzymatische Umesterung in organischen Lösungsmitteln

Experiments on the Optical Resolution of Conduramine Analogs by Enzymatic Transesterification in Organic Solvents

Günter Kresze und Mahmud Sabuni

Organisch-Chemisches Institut der Technischen Universität München, Lichtenbergstraße 4, D-8046 Garching, Bundesrepublik Deutschland

Z. Naturforsch. **42c**, 446–448 (1987); received November 20, 1986

Dedicated to Professor Helmut Simon on the occasion of his 60th birthday

Conduramines, Enzymatic Transesterification, Optical Resolution

A series of 1-amino-2-cyclohexene-3-ols is subjected to an enzymatic transesterification by the system lipase on silica/tributyrin (Klibanov-method). Thereby, an optical resolution of 1r-benzoyl-amido-5t,6c-dimethoxy-1-cyclohexene-4c-ol is achieved. Advantages and disadvantages of this method are discussed.

Im Rahmen unserer Arbeiten zur Synthese von Streptaminanalogen zur Verwendung als Mutasyntone [1] bei der Darstellung von Aminoglykosiden interessieren uns neben asymmetrischen Synthesen [2, 3] auch die Möglichkeiten zur Gewinnung optisch-aktiver Zwischenprodukte durch Biokonversionen.

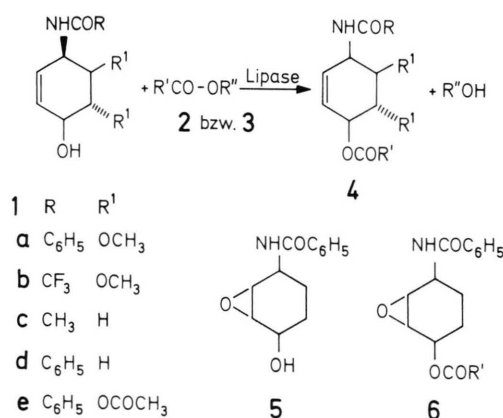
Wir berichten hier über Ergebnisse bei der enzymatischen Umesterung von 1-Amino-2-cyclohexen-4-ol-Derivaten (**1**) nach dem von Klibanov [4] beschriebenen Verfahren. Dabei geht man von chiralen, racemischen Alkoholen aus und arbeitet in einem Zweiphasensystem Wasser–Tributyrin (**2**) bzw. Wasser–Propionsäuremethylester (**3**). Das Enzym bleibt in der wäßrigen Phase und behält so seine

aktive Konformation; die Substrate, Matrixester und Alkohole befinden sich in der organischen Phase. Vorteilhaft für unsere Zwecke ist die Verwendung organischer Lösungsmittel für die in Wasser schwerlöslichen **1** und die Möglichkeit des Einsatzes präparativer Mengen an Edukt.

Die Umsetzungen wurden gaschromatographisch verfolgt und bei einem Umsatz von 50% unterbrochen, im Fall von **1a** tritt nach 25% Umsatz zunehmend Hydrolyse des entstandenen Esters **4a** auf. Die Ergebnisse sind in Tab. I zusammengestellt; die Bestimmung des Enantiomeren-Überschusses erfolgt nach den früher [2b] beschriebenen Methoden.

In der Literatur ist die Abhängigkeit des Enantiomeren-Überschusses bei der enzymatischen Hydrolyse von Estern bzw. bei der Umesterung vom Substituentenmuster am Chiralitätszentrum beschrieben [4b, 5, 6]. In unserem Fall war nur bei der 5.6-Dimethoxyverbindung **1a** eine befriedigende optische Spaltung zu erzielen. Ein Fehlen der zur Hydroxylgruppe nachbarständigen Substituenten (**1c**, **1d**), eine Acetoxygruppe als Nachbarsubstituent (**1e**) bzw. eine Epoxidfunktion als Nachbargruppe (**5**) führte nur zu geringen optischen Ausbeuten, oder es trat keine Reaktion ein. **2** war in unseren Beispielen trotz schwierigerer Aufarbeitung besser geeignet als **3**.

Zusammenfassend kann man sagen, daß – anders als bei den von Klibanov meist untersuchten offenkettigen Verbindungen – im Fall der Cyclohexenol-derivate eine deutliche Abhängigkeit der Möglichkeit zur enzymatischen Umesterung von der Detailstruktur des Substrats besteht. Die Abhängigkeit



Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, D-7400 Tübingen
0341–0382/87/0400–0446 \$ 01.30/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition “no derivative works”). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Tab. I. Versuche zur enzymatischen Racemattrennung bei Konduraminderivaten.

Edukt [mmol]	Matrixester [Vol. in ml]	Immobilisiertes Enzym [Menge in g]	Reaktionsdauer [h]	Produkt [mmol]	Ester 4 Konfiguration ^a	e.e [%]	Rückgewonnener Alkohol [mmol]	Konfiguration ^a
1 , 8,65	2 , 14	1,65	45	4a , 1,7	R	92	1a , 6	S 26
1a , 3,60	3 , 6	0,70	120			keine Reaktion		
1b , 5,65	3 , 7	0,82	120			keine Reaktion		
1c , 21,95	3 , 17	2,00	32	4c , 9,6	S	6	1c , 7,8	R 7
1d , 10,82	2 , 14	1,65	90	4d , 4,5	S	6	1d , 5	R 9
1e , 7,35	2 , 30	3,60	67			keine Reaktion		
1e , 3,00	3 , 30	3,60	24			keine Reaktion		
5 , 4,28	3 , 10	1,20	42	6 , 1,8	^b	6 ^c	5 , 2	^b 6 ^c

^a Am C₍₄₎, Bestimmung vgl. Diss. M. Sabuni, TU München 1987.^b Konfiguration noch nicht ermittelt.^c Bestimmung durch Derivatisieren mit 3,3,3-Trifluor-2-methoxy-2-phenylpropionylchlorid und gaschromatographische Trennung mit Diastereomeren.

vom Matrixester war schon von Klivanov [4b] erwähnt worden, wir haben dies bestätigen müssen. Die Vorteile der Methode bei positivem Ausfall der Spaltung liegen in der Gewinnung *beider* Antipoden, zumindest eines davon in sehr guter optischer Ausbeute, ein Nachteil in unserem Fall war die schwierige Abtrennung des Matrixesters.

Wir danken der DFG (Sonderforschungsbereich 145) und dem Fonds der Chemie für die Unterstützung dieser Arbeit.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Umesterung

Immobilisierung des Enzyms [4a]: Chromosorb (Sigma 100–200) wird mit Filterpapier getrocknet (Gewichtszunahme 0,23 g/g Chromosorb). Anschließend werden 67 mg Lipasepulver (Sigma, No. L-1754; EG 3.1.1.3) pro g Chromosorb mit dem Adsorbat gut vermischt und 5 h bei Raumtemperatur stehengelassen. Aus den Alkoholen **1a–1e** bzw. dem Epoxidalkohol **5** wird eine gesättigte Lösung in Tributyrin (**2**) bzw. Propionsäuremethylester (**3**), die vorher mit 0,1 M wäßrigem Phosphatpuffer (pH 8) gesättigt wurden, hergestellt. Pro ml Matrixester werden 117 mg immobilisiertes Enzym zugesetzt und die Suspension bei Raumtemperatur geschüttelt. Proben werden in regelmäßigen Abständen gezogen, im Hochvakuum bei 130 °C der Matrixester abdestilliert und der Rückstand in Ether aufgenommen. Die Bestimmung der **1** und **4** erfolgt gaschromatographisch (vgl. Tab. II). Nach Beendigung der Reaktion (s. Tab. I) wird der Matrixester im Hochvakuum

weitgehend abdestilliert und im Rückstand die überschüssigen Alkohole **1** bzw. **5** von den Estern **4** durch HPLC getrennt (Packungsdruck 8 bar, Elutionsgeschwindigkeit 5 ml/min, Kieselgel Merck H 60, Korngröße 10–40 µ). Ihre vollständige Trennung wird durch ¹H-NMR und GC geprüft.

Während sämtliche Alkohole und **4b–4e** durch Flüssigkeitschromatographie rein isoliert werden, ist der Ester **4a** mit Dibutyrin verunreinigt. Deshalb werden diese Estermischungen vollständig verseift.

Die Ester **4** werden mit 0,5-prozentiger Na-Methanollösung in absol. Methanol 30 min gerührt, dann werden das Lösungsmittel und der entstandene Buttersäuremethylester abdestilliert und der Rückstand in Methanol durch Behandlung mit dem Kationenaustauscher Janssen entionisiert.

Nach Abdestillieren des Methanols werden der ölige Rückstand mit CHCl₃ aufgenommen und das Glycerin mit Wasser ausgeschüttelt, die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am HV abgezogen.

Tab. II. R_F-Werte und Retentionsindizes.

4a/1a	0,25/0,03	EA/Hexan (1:2)	2471/2171
4c/1c	0,29/0,09	EA/EtOH (95:5)	1743/1546
4d/1d	0,68/0,36	EA/EtOH (95:5)	2338/2013
6/5	0,56/0,45	EA/EtOH (95:5)	2375/2128

GC: Carlo-Erba-Fractovap-2350, OV-1-Kapillarsäule, Temperaturprogramm: 80 °C (1 min), 80–280 °C (6 min). EA = Ethylacetat.

Die Retentionsindizes sind auf Alkane C_{10–30} bezogen.

- [1] J. Distler, K. Klier, W. Piendl, O. Werbitzky, A. Böck, G. Kresze und W. Piepersberg, *FEMS Microbiol. Lett.* **30**, 145 (1985).
- [2] a) M. Sabuni, G. Kresze und H. Braun, *Tetrahedron Lett.* **25**, 5377 (1984);
b) H. Braun, K. Klier, G. Kresze, M. Sabuni, O. Werbitzky und J. Winkler, *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 1360.
- [3] a) H. Felber, G. Kresze, H. Braun und A. Vasella, *Tetrahedron Lett.* **25**, 5381 (1984);
b) H. Felber, G. Kresze, R. Prewo und A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **69**, 1137 (1986).
- [4] a) B. Cambou und A. M. Klibanov, *J. Am. Chem. Soc.* **106**, 2687 (1984);
b) G. Kirchner, M. P. Scollar und A. M. Klibanov, *J. Am. Chem. Soc.* **107**, 7072 (1985).
- [5] M. Schneider, N. Engel und H. Boensmann, *Angew. Chem.* **96**, 54 (1984).
- [6] H. Ziffer, K. Kawai, M. Kasay, M. Imuta und C. Froussios, *J. Org. Chem.* **48**, 3017 (1983).