

Enzym-katalysierte Reaktionen, 7¹⁾

Enantioselektive Veresterung racemischer Cyanhydrine und enantioselektive Hydrolyse oder Umesterung racemischer Cyanhydrinester mittels Lipasen

Franz Effenberger*, Beate Gutterer, Thomas Ziegler, Elisabeth Eckhardt und Reiner Aichholz

Institut für Organische Chemie der Universität Stuttgart,
Pfaffenwaldring 55, D-7000 Stuttgart 80

Eingegangen am 28. Juni 1990

Key Words: Cyanohydrins and cyanohydrin esters, optically active / Resolutions, kinetic enzyme-catalyzed

Enzyme-Catalyzed Reactions, 7¹⁾. – Enantioselective Esterification of Racemic Cyanohydrins and Enantioselective Hydrolysis or Transesterification of Cyanohydrin Esters by Lipases

Pure cyanohydrin enantiomers (*S*)-1/(*R*)-1 and their *O*-acyl derivatives (*R*)-3/(*S*)-3 are obtained from three different lipase-catalyzed reactions: i) enantioselective hydrolysis of aliphatic and aromatic racemic cyanohydrin esters **3**, ii) enantioselective acylation of racemic cyanohydrins **1**, iii) enantioselective transesterification of **3** with primary alcohols. Both the cyanohydrin esters and the free cyanohydrins (which are prone to racemization) are isolated as enantiomers with high optical

purity on a preparative scale. Hydrolysis of the racemic butyrates **3b,e** with *Candida cylindracea* lipase and *Pseudomonas* sp. lipase, respectively, for example, affords the free (*S*)-cyanohydrins (*S*)-2-hydroxypentanenitril [(*S*)-**1a**] and (*S*)-mandelonitrile [(*S*)-**1b**] in high yield with 97 and 96% ee, respectively. (*S*)-**1a** is obtained with the same optical purity by *Candida* sp. lipase-catalyzed transesterification of **3b** with 1-octanol.

Die mit (*R*)-Oxynitrilase (EC 4.1.2.10) katalysierte Addition von HCN an Aldehyde zu (*R*)-Cyanhydrinen gelingt beim Arbeiten in organischen Lösungsmitteln mit sehr hohen optischen Ausbeuten^{1,2)}. Als Substrate für diese Addition sind sowohl aliphatische als auch aromatische Aldehyde geeignet²⁾; lediglich bei Aldehyden mit basischen Zentren (z. B. Nicotinaldehyd) oder mit besonders großen sterischen Anforderungen (z. B. Pivalaldehyd) ist die chemische Addition auch in organischen Lösungsmitteln nicht zu unterdrücken, so daß in diesen Fällen nur unbefriedigende optische Ausbeuten erreicht werden²⁾.

(*S*)-Cyanhydrine sind bei der mit (*S*)-Oxynitrilase (EC 4.1.2.11) katalysierten Addition von HCN an aromatische Aldehyde in organischen Lösungsmitteln in vergleichbar hohen optischen Ausbeuten zugänglich^{2,3)}, dagegen wird die Addition von HCN an aliphatische Aldehyde durch (*S*)-Oxynitrilase nicht katalysiert³⁾.

Im Zusammenhang mit Untersuchungen von Folgereaktionen optisch reiner Cyanhydrine waren wir jedoch auch an den Umsetzungen von (*S*)-Cyanhydrinen, die über die direkte enzymkatalysierte Addition von HCN an Aldehyde nicht erhalten werden können, interessiert. Wir bemühten uns deshalb um deren Darstellung mittels anderer enzymatischer Methoden.

In der vorliegenden Arbeit berichten wir zusammenfassend über die enantioselektive Hydrolyse oder enantioselektive Umesterung racemischer Cyanhydrinester und über die enantioselektive Veresterung racemischer Cyanhydrine mittels Lipasen.

Über Lipase-katalysierte Esterspaltungen und Esterbildungen zur Darstellung optisch aktiver Alkohole und optisch aktiver Carbonsäuren wurde in letzter Zeit häufig berichtet⁴⁾. Auch zur Darstellung optisch aktiver Cyanhydrine wurden Lipase-katalysierte

Reaktionen schon beschrieben, wobei am häufigsten die enantioselektive Hydrolyse racemischer Cyanhydrinester angewendet wurde⁵⁾. Im letzten Jahr wurde über Lipase-katalysierte Veresterungen racemischer Cyanhydrine und über Umesterungen racemischer Cyanhydrinester in organischen Lösungsmitteln berichtet: Wong et al.⁶⁾ beschreiben die enantioselektive Veresterung racemischer Cyanhydrine mit Vinylacetat, Bevinakatti et al.⁷⁾ die enantioselektive Umesterung von Cyanhydrinacetaten mit aliphatischen Alkoholen.

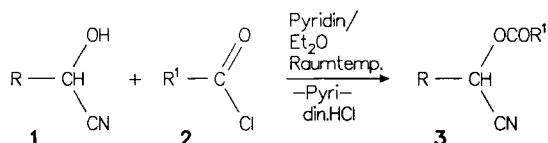
Enantioselektive Hydrolyse racemischer Cyanhydrinester

Bei der enantioselektiven Hydrolyse racemischer Cyanhydrinester zur Gewinnung optisch reiner Cyanhydrine⁵⁾ wurden in der Regel nur sehr spezielle Substrate, die von besonderer praktischer Bedeutung sind, eingesetzt; in anderen Fällen konnte nur das Enantiomer des nicht gespaltenen Esters, nicht jedoch das des freien Cyanhydrins isoliert werden^{5b)}. Eine Ausnahme bilden die Arbeiten von Ohta et al.^{5c)} und von Hirohara et al.^{5d)}. Ohta et al.^{5c)} führten eine Racematspaltung verschiedener 1-Cyanalkylacetate mit *Candida-tropicalis*-Lipase zu (*S*)-Cyanhydrinen und (*R*)-Cyanhydrinestern durch, wobei die optischen Ausbeuten stark variierten. Die Autoren berichten außerdem, daß *Candida-tropicalis*-Lipase auch die Hydrolyse aromatischer Cyanhydrinacetate, wie z. B. Mandelsäurenitrilacetat – allerdings nur mit geringer Enantioselectivität – katalysieren würde. Hirohara et al.^{5d)} beschreiben die Darstellung des für Pyrethroid-Insektizide wichtigen (*S*)-*m*-Phenoxymandelsäurenitrils über Lipase-katalysierte Racematspaltungen des entsprechenden Cyanhydrinacetats mit Enantiomerenüberschüssen > 93%.

Wir haben nun in umfassender Weise die Hydrolyse racemischer Cyanhydrinester in Abhängigkeit von der Struktur der zugrundeliegenden Aldehyde, der Acylreste und ver-

schiedener Lipasen untersucht. Hierzu haben wir zunächst racemische Ester **3** von 2-Hydroxypentannitril (**1a**) – als Beispiel für einen aliphatischen Vertreter – und von 2-Hydroxy-2-phenylethannitril (**1b**) – als Beispiel für einen aromatischen Vertreter – mit jeweils verschiedenen Acylgruppen dargestellt. Dabei mußte auf eine sorgfältige Reinigung der Ester **3** – insbesondere im Hinblick auf nicht umgesetzte Ausgangsverbindungen **1** – geachtet werden.

Schema 1



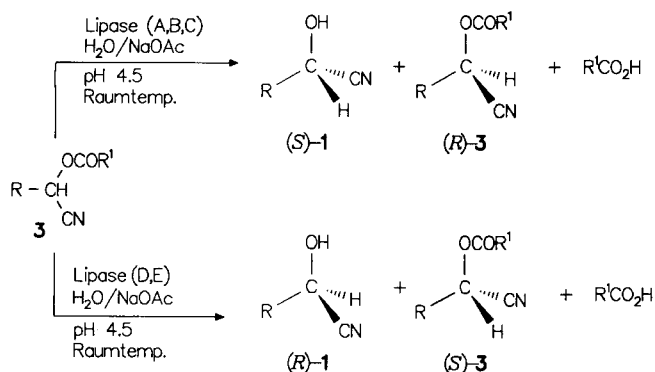
1a: R = C₃H₇
1b: R = Ph

2, 3	R	R'	2, 3	R	R'
a	C ₃ H ₇	CH ₃	e	Ph	C ₃ H ₇
b	C ₃ H ₇	C ₃ H ₇	f	Ph	C ₅ H ₁₁
c	C ₃ H ₇	C ₅ H ₁₁	g	C ₃ H ₇	PhCH ₂
d	Ph	CH ₃	h	C ₃ H ₇	Ph[CH ₂] ₂

Die enantioselective Hydrolyse der so dargestellten racemischen Cyanhydrinester **3** führten wir bei pH 4.5 im allgemeinen in Natriumacetat-Pufferlösungen bei Raumtemperatur mit den in den Tabellen 1, 2 aufgeführten Lipasen durch, nachdem Vorversuche gezeigt hatten, daß Umsatz und Enantiomereausbeuten nicht von der Pufferkapazität abhängen und höhere Temperaturen sowie längere Reaktionszeiten – ohne merkliche Umsatzsteigerungen – zur Racemisierung und Zersetzung der Cyanhydrine führen.

Unter den angeführten Bedingungen erfolgt die enantioselective Spaltung des Racemats in Abhängigkeit vom eingesetzten Enzym entweder zum (*S*)- oder zum (*R*)-Cyanhydrin (Schema 2, Tabellen 1, 2). Die Umsetzungen wurden bei konstantem pH durchgeführt, wobei der Umsatz zunächst anhand der Menge der freigesetzten Carbonsäure ti-

Schema 2



Lipasen A–E sowie R, R' siehe Tabellen 1, 2

Tab. 1. Enantioselective Hydrolyse racemischer Cyanhydrinester **3** bei Raumtemperatur und pH 4.5 mit Lipasen in 0.01–0.2 M Natriumacetat-Puffer zu (*S*)-Cyanhydrinen (*S*)-**1** und (*R*)-Cyanhydrinestern (*R*)-**3**. Lipasen: Lipase aus *Pseudomonas fluorescens* (A), Lipase PS (B) und Lipase P (C)

3	R	R'	Lipase (U/mmol)	Zeit (Umsatz) ^{a)} (h) (%)	Produkte [ee (%)] ^{b)}
3a	C ₃ H ₇	CH ₃	A (430)	2.5 (36)	(<i>S</i>)- 1a [39] (<i>R</i>)- 3a [15]
3b	C ₃ H ₇	C ₃ H ₇	A (430) B (40mg)	3 (46) 1.25 (65)	-
3c	C ₃ H ₇	C ₅ H ₁₁	A (430) ^{c)}	1.25 (27) 4 (50)	-
3d	Ph	CH ₃	A (430)	4.5 (37)	(<i>S</i>)- 1b [67] (<i>R</i>)- 3d [71]
3e	Ph	C ₃ H ₇	A (860) B (40mg) C (1200)	7.5 (44) 14 (49) 14 (50)	(<i>S</i>)- 1b [93] (<i>R</i>)- 3e [95] (<i>R</i>)- 1b [89] (<i>R</i>)- 3e [97] (<i>S</i>)- 1b [80] (<i>R</i>)- 3e [98]
3e^{d)}			C (1200)	2.5 (41)	(<i>S</i>)- 1b [97] (<i>R</i>)- 3e [86]
3f	Ph	C ₅ H ₁₁	A (430) ^{e)}	7 (25)	(<i>S</i>)- 1b [68] (<i>R</i>)- 3f [48]
3g	C ₃ H ₇	Bz1	C (1200)	24 (20)	(<i>S</i>)- 1b [16] ^{e)}

^{a)} ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt (s. exp. Teil). – ^{b)} Mittels Kapillar-GC bestimmt (s. exp. Teil). – ^{c)} In 0.02 M Kaliumchlorid-Lösung. – ^{d)} Präparativer Ansatz (s. exp. Teil). – ^{e)} ee-Werte konnten mittels Kapillar-GC nicht bestimmt werden.

Tab. 2. Enantioselective Hydrolyse racemischer Cyanhydrinester **3** bei Raumtemperatur und pH 4.5 mit Lipasen in 0.01–0.2 M Natriumacetat-Puffer zu (*R*)-Cyanhydrinen (*R*)-**1** und (*S*)-Cyanhydrinestern (*S*)-**3**. Lipasen: Lipase aus *Candida cylindracea* (D) und Lipase AY (E)

3	Lipase (U/mmol)	Reakt.-Zeit (h)	Umsatz % ^{a)}	Produkte [ee (%)] ^{b)}
3a	D (120) D (120)	26 14	64 48	(<i>R</i>)- 1a [77] (<i>S</i>)- 3a [40] (<i>R</i>)- 1a [46]
3b	D (700) ^{d)} D (590) ^{e)} E (1800)	4.5 3 4	47 54 54	(<i>R</i>)- 1a [83] (<i>S</i>)- 3b [83] (<i>R</i>)- 1a [80] (<i>S</i>)- 3b [96] (<i>R</i>)- 1a [66] (<i>S</i>)- 3b [79]
3c	D (700) ^{d)}	5	72	(<i>R</i>)- 1a [45] (<i>S</i>)- 3c [84]
3d	D (24)	26	-	
3e	D (580)	4.75 21	22 65	(<i>R</i>)- 1b [77] (<i>S</i>)- 3e [23] (<i>R</i>)- 1b [42] (<i>S</i>)- 3e [89]
3f	D (580) ^{d)}	11	27	(<i>R</i>)- 1b [25] (<i>S</i>)- 3f [13]
3g	E (1800)	9	15	(<i>R</i>)- 1a [86] ^{c)}
3h	E (1800)	4	21	(<i>R</i>)- 1a [76] ^{c)}

^{a)} ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt. – ^{b)} Mittels Kapillar-GC bestimmt. – ^{c)} ee-Wert konnte mittels Kapillar-GC nicht bestimmt werden. – ^{d)} In 0.02 M Kaliumchlorid-Lösung. – ^{e)} Präparativer Ansatz.

trimetisch verfolgt und nach Abbruch der Reaktion exakt ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt wurde. Zur Bestimmung der Enantiomereausbeuten der als Gemisch vorliegenden chiralen Cyanhydrine und Cyanhydrinester wurde zunächst das freie Cyanhydrin zum entsprechenden Propionat umgesetzt, wobei – wie Vergleichsversuche zeigten – keinerlei Racemisierung erfolgt. Über eine mit Permethy-

β-cyclodextrin belegte Säule ist die kapillargaschromatographische Trennung der Enantiomeren möglich; ihre absolute Zuordnung erfolgte durch Koinjektion von enantiomerenreinen, über (*R*)-Oxynitrilase zugänglichen (*R*)-Derivaten.

Die in Tab. 1 aufgeführten Ergebnisse zeigen, daß die Lipase aus *Pseudomonas fluorescens* [Fluka] (A), die Lipase PS [Amano] (B) und die Lipase P [Amano] (C) zu einer enantioselektiven Hydrolyse der (*S*)-Cyanhydrinester führen, wobei besonders gute Ergebnisse mit aromatischen Substraten erzielt wurden. Die Lipase aus *Candida cylindracea* [Sigma] (D) und die Lipase AY [Amano] (E) erwiesen sich dagegen bei aliphatischen Substraten als besonders geeignet für eine enantioselektive Hydrolyse der (*R*)-Cyanhydrinester (Tab. 2).

Die besten Ergebnisse erhielten wir jeweils mit den Butyraten: Aus dem aromatischen Cyanhydrinester **3e** resultierte in Gegenwart von *Pseudomonas-fluorescens*-Lipase nach 7.5 Stunden Reaktionsdauer bei 44proz. Umsatz (*S*)-Mandelsäurenitril [(*S*)-**1b**] neben dem (*R*)-Cyanhydrinester (*R*)-**3e** mit optischen Ausbeuten von 93 bzw. 95% ee, in Gegenwart der Lipasen P und PS nach jeweils 14 Stunden Reaktionsdauer bei ca. 50proz. Umsatz das Cyanhydrin (*S*)-**1b** mit optischen Ausbeuten von 80–89% ee neben dem Cyanhydrinester (*R*)-**3e** mit 97–98% ee (Tab. 1). Aus dem aliphatischen Cyanhydrinester **3b** entstand in Gegenwart von *Candida-cylindracea*-Lipase nach 4.5 Stunden Reaktionsdauer bei 47proz. Umsatz das (*R*)-Cyanhydrin (*R*)-**1a** neben dem (*S*)-Cyanhydrinester (*S*)-**3b** mit jeweils 83% ee (Tab. 2).

Im Falle einer hochselektiven Reaktion kann theoretisch eine quantitative Racematspaltung bei einem Umsatz von 50% erreicht werden. Wir erhielten die besten optischen Ausbeuten bei der Herstellung der freien Cyanhydrine bei Umsätzen bis zu 50% und bei der Herstellung der Cyanhydrinester bei Umsätzen über 50%.

Bei der am Beispiel des aromatischen Cyanhydrinesters **3e** in präparativem Maßstab durchgeführten enantioselektiven Hydrolyse mittels der Lipase P konnten wir nach säulenchromatographischer Trennung (*S*)-Mandelsäurenitril [(*S*)-**1b**] mit einem ee-Wert von 97% mit 76% Ausbeute und den (*R*)-Cyanhydrinester (*R*)-**3e** mit einem ee-Wert von 86% mit quantitativer Ausbeute isolieren (die Ausbeuten beziehen sich auf die eingesetzte Menge an racemischem Ester **3e**). Außerdem kann das Enzym in Lösung auch mehrfach verwendet werden; das aus **3e** nach annähernd gleicher Reaktionszeit mit wiederverwendeter Lipase erhaltene (*S*)-Cyanhydrin (*S*)-**1b** zeigte denselben hervorragenden ee-Wert von 97%, allerdings verringerte sich der Umsatz bei der zweiten Verwendung des Enzyms von 40.7 auf 34.5% (s. exp. Teil). Bei einem präparativen Ansatz wurde bei vergleichbarer optischer Reinheit und chemischer Ausbeute eine wesentlich kürzere Reaktionszeit benötigt als bei den analytischen Untersuchungen.

Bei der am Beispiel des aliphatischen Cyanhydrinesters **3b** in präparativem Maßstab durchgeführten enantioselektiven Hydrolyse mittels *Candida-cylindracea*-Lipase erhielten wir nach chromatographischer Aufarbeitung den (*S*)-Cyanhydrinester (*S*)-**3b** und ein Gemisch aus (*R*)-**1a**/Buttersäure.

Die Entfernung der Buttersäure aus diesem Gemisch erfolgte durch Veresterung mittels Chlortrimethylsilan/Methanol⁸⁾ zu Buttersäure-methylester, wobei – wie Vergleichsversuche zeigten – keine Racemisierung erfolgt. Nach Säulenchromatographie über SiO₂ wurde das (*R*)-Cyanhydrin (*R*)-**1a** mit einem ee-Wert von 80% in 84proz. Ausbeute isoliert (bezogen auf eingesetztes racemisches **3b**). Eine mehrfache Verwendung der eingesetzten Lipase war hier nicht möglich, da ungefähr die doppelte Reaktionszeit erforderlich wurde wie bei der analytischen Untersuchung und Produkte mit um 20–30% schlechteren ee-Werten resultierten (s. exp. Teil).

Um auch das (*S*)-Cyanhydrin (*S*)-**1a** zu erhalten, haben wir den gleichzeitig entstehenden Cyanhydrinester (*S*)-**3b** (ee = 96%, Ausb. 82%) mit der unspezifisch spaltenden Lipase PS (vgl. Tab. 1) hydrolysiert und aus dem hierbei entstehenden Gemisch (*S*)-**1a**/Buttersäure die Buttersäure wie vorstehend beschrieben entfernt. Auf diesem Wege gelang es, auch das Cyanhydrin (*S*)-**1a** mit hoher Enantiomerenreinheit (96% ee) in 62proz. Ausbeute (bezogen auf eingesetztes racemisches **3b**) zu isolieren.

Mit der vorstehend beschriebenen Enzym-katalysierten Esterspaltung gelingt es nun, nicht nur gezielt enantioselektiv aliphatische und aromatische Cyanhydrinester herzustellen, sondern es können auch die zur Racemisierung neigenden freien Cyanhydrine mit Enantiomerenausbeuten bis zu 98% erhalten werden.

Enantioselektive Veresterung racemischer Cyanhydrine

Über die Vorteile Enzym-katalysierter Umsetzungen in organischen Lösungsmitteln gegenüber denen in wäßrigem Medium ist schon berichtet worden^{2,4a,c,6)}. Bei Veresterungen wirkt sich das Arbeiten in organischen Lösungsmitteln besonders günstig auf die Gleichgewichtskonzentrationen aus.

Wong et al.⁶⁾ berichten, daß bei der mit *Pseudomonas*-sp.-Lipase katalysierten enantioselektiven Veresterung verschiedener aliphatischer racemischer Cyanhydrine mit Vinylacetat in organischen Lösungsmitteln bei einem bestimmten Grad der Umsetzung entweder das Cyanhydrin oder das Cyanhydrinacetat mit meist hoher Enantiomerenausbeute (90–98% ee) erhalten werden kann. Auch Racematspaltungen sekundärer Alkohole über die Veresterung mit Carbonsäure-(trihalogenethyl)estern sind bekannt⁹⁾.

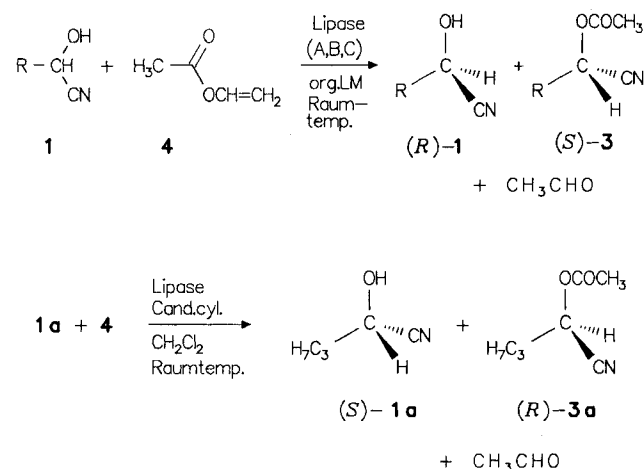
Die Übertragung dieser Methode auf unsere Umsetzungen der racemischen Cyanhydrine **1a,b** in Gegenwart von *Pseudomonas-fluorescens*- oder *Candida-cylindracea*-Lipase in organischen Lösungsmitteln mit Trifluoethyl-acetat oder -butyrat führten jedoch nicht zum Erfolg.

Wir haben daher die Enzym-katalysierte Veresterung racemischer aliphatischer und aromatischer Cyanhydrine **1** mit Vinylacetat (**4**) in Abhängigkeit von Enzym und organischem Lösungsmittel untersucht. Der Umsatz wurde gaschromatographisch verfolgt und nach Abfiltrieren des Enzyms sowie Entfernen des Lösungsmittels ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt. Die ee-Werte der im Reaktionsgemisch vorliegenden Cyanhydrine und Cyanhydrinacetate wurden wie vorstehend beschrieben, nach Derivatisierung des freien Cyanhydrins zum Cyanhydrinpropionat, kapillargaschromatographisch bestimmt. Nachdem wir in puffer-

gesättigtem Dichlormethan als Lösungsmittel bei ungefähr gleich bleibenden ee-Werten einen höheren Umsatz erzielen als in absolutem Dichlormethan, haben wir die in Tab. 3 aufgeführten Acetylierungen vorwiegend in puffergesättigten Lösungsmitteln durchgeführt.

Unter den angegebenen Bedingungen zeigten die verwendeten Enzyme dieselbe Spezifität wie bei der enantioselektiven

Schema 3



1a	1b	1i	1k	1l
3a	3d	3i	3k	3l
R: C ₃ H ₇	Ph	Ph[CH ₂] ₂	Benzol[1,3]- dioxol-5-yl-	4-Hydroxy- 3-methoxy- phenyl-

Lipasen A–C siehe Tab.3

Tab. 3. Enantioselektive Veresterung racemischer Cyanhydrine **1** mit Vinylacetat (**4**) bei 30°C mit Lipasen in organischen Lösungsmitteln zu den Cyanhydrinen (*R*)- bzw. (*S*)-**1** und den Cyanhydrinacetaten (*S*)- bzw. (*R*)-**3**. Lipasen: Lipase aus *Pseudomonas fluorescens* (A), Lipase PS (B), Lipase P (C) und Lipase aus *Candida cylindracea* (D)

1	Li- pase (U/ mmol)	Lö- sungs- mittel ^{a)}	Zeit	Um- satz d % ^{b)}	Produkte [ee(%)] ^{c)}
1a	A (1260)	CH ₂ Cl ₂	4	52	(<i>R</i>)-1a [33] (<i>S</i>)-3a [55]
1b	A (1260)	CH ₂ Cl ₂	7	51	(<i>R</i>)-1b [80] (<i>S</i>)-3d [68]
			16	35	(<i>R</i>)-1b [47] (<i>S</i>)-3d [77]
	B (20mg) C (1260)	THF ^{d)}	14	32	(<i>R</i>)-1b [33] (<i>S</i>)-3d [89]
			1	51	(<i>R</i>)-1b [74] (<i>S</i>)-3d [80]
1i	A (800)	CH ₂ Cl ₂	4	43	(<i>R</i>)-1b [66] (<i>S</i>)-3d [88]
			9 ^{e)}	45	(<i>R</i>)-1i [86] (<i>S</i>)-3i [95]
1k	A (1260)	CH ₂ Cl ₂	10	50	(<i>R</i>)-1k [98] (<i>S</i>)-3k [92]
1l	A (1260)	CH ₂ Cl ₂	9	44	(<i>R</i>)-1l [50] (<i>S</i>)-3l [79]
1a	D (1160)	CH ₂ Cl ₂	20	12	(<i>S</i>)-1a [8] (<i>R</i>)-3a [55]
1b	D (1160)	CH ₂ Cl ₂	8	-	-

^{a)} Mit 0.01 M Natriumacetatpuffer (pH 4.5) gesättigt. — ^{b)} ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt. — ^{c)} Mittels Kapillar-GC bestimmt. — ^{d)} Mit 0.15% Natriumacetatpuffer (pH 4.5). — ^{e)} Bei 20°C.

Hydrolyse racemischer Cyanhydrinester (siehe vorstehend): mit der Lipase aus *Pseudomonas fluorescens*, der Lipase PS und der Lipase P erfolgte stets eine enantioselektive Reaktion des (*S*)-Enantiomeren unter Bildung des entsprechenden (*S*)-Cyanhydrinacetats (*S*)-**3** (Tab. 3). Die besten Enantiomereausbeuten erhielten wir bei den Umsetzungen des racemischen aromatischen Cyanhydrins **1k** mit **4** in Gegenwart von *Pseudomonas-fluorescens*-Lipase: Der ee-Wert von (*R*)-**1k** betrug 98%, der von (*S*)-**3k** 92%. Bei der Veresterung der aromatischen Cyanhydrine **1b** und **1l** entstanden Produkte von geringerer Enantiomerenreinheit.

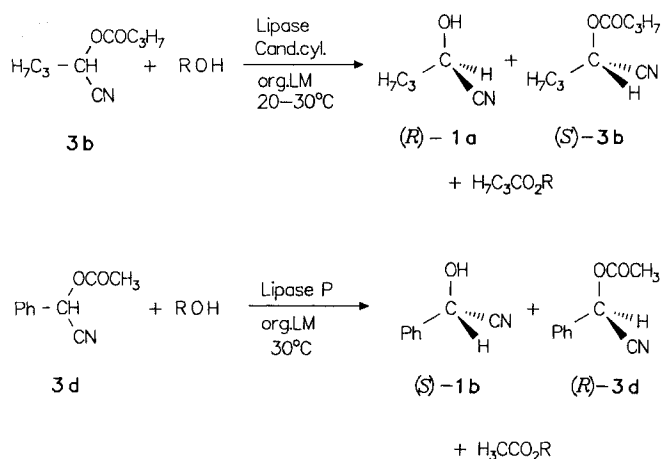
Die Umsetzungen der aliphatischen Cyanhydrine **1a** und **1i** mit *Pseudomonas-fluorescens*-Lipase führten nur bei **1i** zu guten Enantiomereausbeuten [(*R*)-**1i** ee = 86%, (*S*)-**3i** ee = 95%] — vergleichbar mit den Ergebnissen von Wong et al.⁶⁾ In Gegenwart von *Candida-cylindracea*-Lipase, die sich bei der Hydrolyse racemischer aliphatischer Cyanhydrinester als geeigneter erwiesen hatte (siehe Tab. 2), resultierten nur mit **1a** nach langer Reaktionszeit (20 Tage) bei 30°C und einem Umsatz von 12% das (*S*)-Cyanhydrin (*S*)-**1a** und das (*R*)-Cyanhydrinacetat (*R*)-**3a** mit jeweils schlechter Enantiomereausbeute; racemisches Mandelsäurenitril (**1b**) ging unter diesen Bedingungen keine Umsetzung ein (Tab. 3).

Enantioselektive Umesterung racemischer Cyanhydrinester mit primären Alkoholen

Als weitere Methode zur enantioselektiven Darstellung von (*R*)- und (*S*)-Cyanhydrinen bot sich noch die Enzymkatalysierte Umesterung racemischer Ester an, die kürzlich von Bevinakatti et al.⁷⁾ beschrieben wurde. Wir untersuchten die Umsetzungen der racemischen aliphatischen und aromatischen Cyanhydrinester **3b** und **3d** mit verschiedenen primären Alkoholen in Gegenwart der *Candida-cylindracea*-Lipase und der Lipase P in verschiedenen organischen Lösungsmitteln bei 20–30°C.

Aufgrund unserer bisherigen Ergebnisse setzten wir den aliphatischen Ester **3b** mit *Candida-cylindracea*-Lipase und

Schema 4



R = CH₃, C₄H₉, C₈H₁₇, PhCH₂

Tab. 4. Enantioselektive Umesterung racemischer Cyanhydrinester **3** mit primären Alkoholen in organischen Lösungsmitteln **3b** mit Lipase aus *Candida cylindracea* (D) bzw. Lipase AY (E) zu (R)-Cyanhydrin (R)-**1a** und (S)-Cyanhydrinester (S)-**3b**. **3d** mit Lipase P (C) zu (S)-Cyanhydrin (S)-**1b** und (R)-Cyanhydrinester (R)-**3d**

Lipase (U/ mmol)/ [Alkohol] [Lipase]	Lösungs- mittel	Zeit (Temp.) [Umsatz] d (°C) [%]	Produkte	
			(R)- 1a [ee (%)] ^c	(S)- 3b [ee (%)] ^c
3b D (1200)/				
[MeOH]	Hexan	15 (30) [-]		
[BuOH]	Hexan	5 (20) [45]	(R)- 1a [85]	(S)- 3b [63]
[BuOH]	Hexan ^{a)}	5 (20) [42]	(R)- 1a [86]	(S)- 3b [57]
[BuOH]	Hexan ^{a)}	8 (30) [61]	(R)- 1a [75]	(S)- 3b [90]
[BuOH]	DIPE ^{e)}	3 (30) [47]	(R)- 1a [60]	(S)- 3b [80]
[BuOH]	DIPE	1 (30) [20]	(R)- 1a [89]	(S)- 3b [23]
[OctOH]	Hexan ^{a)}	5 (30) [54]	(R)- 1a [92]	(S)- 3b [94]
E (2400)/				
[OctOH]	Hexan ^{e)}	4 (30) [55]	(R)- 1a [65]	(S)- 3b [97]
3d C (1200)/				
[BuOH]	CH ₂ Cl ₂ ^{a)}	9 (30) [15]	(S)- 1b [97]	(R)- 3d [18]
[BuOH]	Hexan ^{a)}	7 (30) [52]	(S)- 1b [93]	(R)- 3d [89]
[OctOH]	CH ₂ Cl ₂ ^{a)}	7 (30) [16]	(S)- 1b [98]	(R)- 3d [20]
[OctOH]	Hexan ^{a)}	7 (30) [45]	(S)- 1b [97]	(R)- 3d [85]
C (1800)/				
[Bz10H]	CH ₂ Cl ₂ ^{a)}	6 (30) [26]	(S)- 1b [98]	(R)- 3d [36]
C (1260)/				
[Bz10H]	Hexan ^{a)}	7 (30) [45]	(S)- 1b [77]	(R)- 3d [72]

^{a)} 3 M Überschuß. — ^{b)} ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt. — ^{c)} Mittels Kapillar-GC bestimmt. — ^{d)} Mit 0,01 N Natriumacetatpuffer (pH 4,5) gesättigt. — ^{e)} Diisopropylether. — ^{f)} Präparativer Ansatz.

den aromatischen Cyanhydrinester **3d** mit der Lipase P um, wobei aus **3b** das (R)-Cyanhydrin (R)-**1a** sowie der (S)-Cyanhydrinester (S)-**3b** entstanden und aus **3d** das (S)-Cyanhydrin (S)-**1b** sowie der (R)-Cyanhydrinester (R)-**3d**. Bei der Umsetzung von **3b** mit *Candida-cylindracea*-Lipase in Methanol erfolgte keine Reaktion (Denaturierung des Enzyms); mit 1-Octanol wurde gegenüber 1-Butanol eine deutlich höhere Selektivität der Reaktion beobachtet: In Hexan als Lösungsmittel erhielten wir (R)-**1a** und (S)-**3b** mit jeweils hohem Enantiomerenüberschuß [ee = 92 bzw. 94%].

Die Umsetzungen von **3d** führten in Gegenwart der Lipase P mit 1-Butanol bzw. 1-Octanol in Hexan bei mittleren Umsätzen zu Produkten mit vergleichbar guter optischer Ausbeute: Das (S)-Cyanhydrin (S)-**1b** zeigte ee-Werte von 93–97% und der (R)-Cyanhydrinester (R)-**3d** von 85–89%. Bei den Umsetzungen in Dichlormethan bildeten sich die Cyanhydrine (S)-**1b** stets mit hoher optischer Reinheit (97–98% ee), es konnten jedoch nur geringe Umsätze erzielt werden (Tab. 4).

Bevinakatti et al.⁷⁾ erhielten dagegen bei ihren Umsetzungen von **3d** mit Butanol in Diisopropylether bei 30°C in Gegenwart von *Candida-cylindracea*-Lipase (R)-Mandelsäurenitril [(R)-**1b**] mit deutlich schlechteren ee-Werten (ee = 77% nach 38proz. Umsatz bzw. ee = 44% nach 54proz. Umsatz) neben dem (S)-Cyanhydrinester (S)-**3d** und in Gegenwart von Schweinepankreas-Lipase (S)-Mandelsäurenitril [(S)-**1b**] ebenfalls mit schlechter optischer Ausbeute (ee = 67% nach 40% Umsatz) neben dem (R)-Cyanhydrinester (R)-**3d**; die ee-Werte bestimmten die Autoren jeweils über den Drehwert, die Ester isolierten sie in Substanz mit 70–90% Ausbeute nach säulenchromatographischer Aufarbeitung über Kieselgel.

Bei der präparativen Umsetzung des aliphatischen Esters **3b** mit 1-Octanol in Gegenwart der Lipase AY in Hexan konnten wir nach 4tägiger Reaktionszeit bei 30°C aus dem resultierenden Gemisch von (S)-**3b** [ee = 97%] und (R)-**1a** [ee = 65%] nach Chromatographie auf Kieselgel den (S)-Cyanhydrinester (S)-**3b** in hoher Enantiomerenreinheit (ee = 97%) mit 92% Ausbeute isolieren. Eine Trennung des (R)-Cyanhydrins (R)-**1a** von 1-Octanol gelang nicht. Bei Versuchen, nach beendeter Reaktion die abgetrennte Lipase nach Waschen und Trocknen erneut einzusetzen, zeigte sich zwar keine Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit, jedoch eine geringere Enzymselektivität, so daß hier eine mehrfache Verwendung des Enzyms ausscheidet.

Diskussion der Ergebnisse

Die in dieser Arbeit beschriebenen Methoden der enantioselektiven Esterspaltung und Umesterung racemischer Cyanhydrinester sowie der enantioselektiven Veresterung racemischer Cyanhydrine mittels Lipasen bieten einen weiteren Zugang zu enantiomerenreinen Cyanhydrinen und Cyanhydrinestern mit zum Teil hohen optischen Ausbeuten. Mit der Lipase aus *Pseudomonas fluorescens*, der Lipase PS und der Lipase P, erfolgt bei allen drei Reaktionstypen stets eine selektive Reaktion der (S)-Enantiomeren, während mit der Lipase aus *Candida cylindracea* und der Lipase AY die selektive Reaktion der (R)-Enantiomeren beobachtet wird. So können jetzt — je nach Wahl der Methode — freie chirale Cyanhydrine gezielt dargestellt werden: Die (S)-Cyanhydrine entstehen sowohl bei der Hydrolyse als auch der Umesterung der racemischen Ester **3** mit *Pseudomonas*-sp.-Lipase, wohingegen bei der Veresterung der racemischen Cyanhydrine **1** mit *Pseudomonas*-sp.-Lipase die (R)-Cyanhydrine erhalten werden. Die Umsetzungen mit *Candida-cylindracea*-Lipase verlaufen mit umgekehrter Selektivität.

Ergänzend zu unseren früheren Arbeiten mittels (R)- und (S)-Oxynitrilase^{2,3)} ist uns über die mit *Candida-cylindracea*-Lipase katalysierte Hydrolyse bzw. Umesterung des racemischen Cyanhydrinesters **3b** jetzt auch die präparative Darstellung aliphatischer (S)-Cyanhydrine am Beispiel des (S)-2-Hydroxypentannitrils [(S)-**1a**] mit ee-Werten von 95–97% gelungen. Die Hydrolyse des racemischen Butyrats des Mandelsäurenitrils (**3e**) mit *Pseudomonas*-sp.-Lipase führte zu (S)-Mandelsäurenitril [(S)-**1b**] mit demselben hohen Enantiomerenüberschuß (97% ee) wie bei den Umsetzungen mit (S)-Oxynitrilase³⁾.

Wir danken dem Bundesministerium für Forschung und Technologie für die Unterstützung dieser Arbeit sowie der Firma Amano für kostenlose Überlassung der Lipasen. Außerdem gilt unser Dank Herrn Dipl. Chem. U. Bölz und Frau C. Kiess für die Bestimmungen der Enantiomerenreinheit.

Experimenteller Teil

¹H-NMR: Varian T 60, Bruker WP 80, TMS als int. Standard. — Drehwerte: Perkin-Elmer-Polarimeter 241. — Gaschromatographie für Umsatzbestimmungen: Hewlett-Packard, Modell 5700 A mit Flammenionisationsdetektor, Spectra-Physics Minigrator. Trägergas: 30 ml/min Stickstoff, Glassäulen: 2,3 m × 2 mm. Phasen OV 225/3% auf Chromosorb W. Temperaturprogramm: 100–250°C,

8°/min. — Präparative Säulenchromatographie: Glassäulen verschiedener Dimensionen, gepackt mit Kieselgel, 0.032–0.063 mm (Fa. Baker). — Kapillargaschromatographie zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses ee: Glaskapillaren, 20 m, belegt mit Permethylen-β-cyclodextrin (10% im Gemisch mit 90% OV 1701) nach Lit.¹⁰. — pH-Konstanthalter: Fa. Metrohm. — Lipasen: Lipase aus *Pseudomonas fluorescens* (A) [Fa. Fluka], Lipase PS (*Pseudomonas* spezie) (B) [Fa. Amano], Lipase P (*Pseudomonas* spezie) (C) [Fa. Amano], Lipase aus *Candida cylindracea* (D) [Fa. Sigma, Typ VII], Lipase AY (*Candida* spezie) (E) [Fa. Amano].

Acylierung racemischer Cyanhydrine 1

Allgemeines: Zu Pyridin und Cyanhydrin **1** in absol. Diethylether läßt man unter Eiskühlung das Carbonsäurechlorid **2** tropfen und rührt ca. 12 h bei Raumtemp. Dann wird das Reaktionsgemisch mit Wasser, 0.5 N NaOH, ges. Natriumhydrogensulfat-Lösung und nochmals mit Wasser ausgeschüttelt, die Etherphase mit Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand i. Vak. fraktionierend destilliert.

2-Acetoxy-pentannitril (3a): Aus jeweils 0.120 mol 2-Hydroxypentannitril (**1a**) (11.89 g), Acetylchlorid (**2a**) (9.42 g) und Pyridin (9.49 g) in 180 ml absol. Diethylether Ausb. 10.1 g (60%), Sdp. 84°C/8 Torr (Lit.¹¹) 76–80°C/2–5 Torr. — ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.8–1.15 (m, 3H, CH₃CH₂), 1.2–2.1 (m, 4H, [CH₂]₂), 2.15 (s, 3H, CH₃CO), 5.35 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H, CH). [Lit.^{5e} ¹H-NMR (CCl₄)]. C₇H₁₁NO₂ (141.2) Ber. C 59.55 H 7.85 N 9.92 Gef. C 59.44 H 7.86 N 9.64

2-(Butyryloxy)pentannitril (3b): Aus jeweils 0.100 mol **1a**, (9.91 g), Butyrylchlorid (**2b**) (10.66 g) und Pyridin (7.91 g) in 100 ml absol. Diethylether Ausb. 14.66 g (87%), Sdp. 110°C/16 Torr. — ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.85–1.2 (m, 6H, 2 CH₃), 1.25–2.1 (m, 6H, 3 CH₂), 2.25–2.55 (m, 2H, COCH₂), 5.36 (t, *J* = 6.2 Hz, 1H, CH).

C₉H₁₃NO₂ (169.2) Ber. C 63.88 H 8.94 N 8.28
Gef. C 64.05 H 9.00 N 8.09

2-(Hexanoyloxy)pentannitril (3c): Aus jeweils 100 mmol **1a** (9.21 g), Hexanoylchlorid (**2c**) (13.46 g) und Pyridin (7.91 g) in 100 ml absol. Diethylether Ausb. 9.85 g (50%), Sdp. 125°C/12 Torr. — ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.68–1.19 (m, 6H, 2 CH₃), 1.19–2.15 (m, 10H, 5 CH₂), 2.18–2.6 (m, 4H, 2 CH₂), 5.39 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH).

C₁₁H₁₉NO₂ (197.3) Ber. C 66.97 H 9.71 N 7.10
Gef. C 66.80 H 9.81 N 6.95

2-Acetoxy-2-phenylethannitril (3d): Aus jeweils 100 mmol Mandelsäurenitril (2-Hydroxy-2-phenylethannitril) (**1b**) (13.3 g), **2a** (7.86 g) und Pyridin (7.91 g) in 100 ml absol. Diethylether Ausb. 14.4 g (82%), Sdp. 132°C/10 Torr (Lit.¹²) 127–129°C/8 Torr. — ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.16 (s, 3H, CH₃), 6.43 (s, 1H, CH), 7.48 (s, 5H, Ph). [Lit.¹² ¹H-NMR (CCl₄)].

2-(Butyryloxy)-2-phenylethannitril (3e): Aus jeweils 100 mmol **1b** (13.3 g), **2b** (10.66 g) und Pyridin (7.91 g) in 100 ml absol. Diethylether Ausb. 12.37 g (61%), Sdp. 95°C/0.001 Torr. — ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.77–1.12 (m, 3H, CH₃), 1.36–2.02 (m, 2H, CH₂CH₃), 2.26–2.58 (m, 2H, COCH₂), 6.52 (s, 1H, CH), 7.53 (s, 5H, Ph).

C₁₂H₁₃NO₂ (203.2) Ber. C 70.91 H 6.45 N 6.89
Gef. C 71.08 H 6.36 N 6.62

2-(Hexanoyloxy)-2-phenylethannitril (3f): Aus jeweils 100 mmol **1b** (13.3 g), **2c** (13.46 g) und Pyridin (7.91 g) in 100 ml absol. Diethylether Ausb. 17.0 g (74%), Sdp. 116°C/0.001 Torr. — ¹H-NMR

(CDCl₃): δ = 0.65–1.07 (m, 3H, CH₃), 1.07–1.96 (m, 6H, 3 CH₂), 2.2–2.58 (s, 5H, Ph).

C₁₄H₁₇NO₂ (231.3) Ber. C 72.70 H 7.40 N 6.05
Gef. C 72.82 H 7.53 N 6.03

2-(Phenylacetoxy)pentannitril (3g): Aus 4.96 g (50 mmol) **1a**, 9.25 g (60 mmol) Phenylacetylchlorid (**2g**) und 4.75 g (60 mmol) Pyridin in 100 ml absol. Diethylether Ausb. 8.61 g (79%), Sdp. 98°C/10⁻² Torr. — ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.7–1.15 (m, 3H, CH₃), 1.15–2.0 (m, 4H, 2 CH₂), 3.6 (s, 2H, CH₂Ph), 5.2 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H, CH), 7.18 (s, 5H, Ph).

C₁₃H₁₅NO₂ (217.3) Ber. C 71.68 H 6.96 N 6.45
Gef. C 71.95 H 7.00 N 6.36

2-(3-Phenylpropionyloxy)pentannitril (3h): Aus 2.48 g (25 mmol) **1a**, 5.54 g (30 mmol) 3-Phenylpropionylchlorid (**2f**) und 2.38 g (30 mmol) Pyridin in 100 ml absol. Diethylether Ausb. 4.23 g (73%), Sdp. 86°C/10⁻³ Torr. — ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.8–1.1 (m, 3H, CH₃), 1.2–2.0 (m, 4H, 2 CH₂), 2.5–3.1 (m, 4H, 2 CH₂), 5.3 (t, *J* = 6.2 Hz, 1H, CH), 7.23 (s, 5H, Ph).

C₁₄H₁₇NO₂ (231.3) Ber. C 72.70 H 7.41 N 6.06
Gef. C 72.87 H 7.52 N 5.86

Enantioselektive Hydrolyse racemischer Cyanhydrinester (zu den Tabellen 1, 2)

Allgemeines: Zu der mit Essigsäure auf pH 4.5 eingestellten Lösung des Enzyms in 25 ml Puffer (= 0.01–0.02 M CH₃CO₂Na) oder in 0.02 M KCl-Lösung wurden unter kräftigem Rühren 0.5 mmol Ester (= 70.6 mg **3a**, 84.6 mg **3b**, 98.6 mg **3c**, 87.6 mg **3d**, 101.6 mg **3e**, 109.6 mg **3f**, 108.6 mg **3g**, 115.6 mg **3h**) gegeben, wobei eine Emulsion entstand. Die Umsetzungen wurden am pH-Konstanthalter durchgeführt. Nach der in Tab. 1 angegebenen Reaktionszeit wurde das Reaktionsgemisch mit Diethylether ausgeschüttelt, der Extrakt mit Natriumsulfat getrocknet und nach Entfernen des Lösungsmittels im Rotationsverdampfer der Umsatz im Rückstand ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt.

Zur Bestimmung der Enantiomerenausbeute [ee] wurden 5 µl des Rückstandes mit 5 µl Pyridin, 20 µl Propionylchlorid und 500 µl Dichlormethan in einem „Reacti Vial“ (1 ml) 2 h auf 80°C erwärmt und anschließend über eine Kieselgelsäule (3 cm × 0.5 cm) mit 3 ml Dichlormethan eluiert. Im Eluat wurden die ee-Werte der enantiomeren 2-(Acyloxy)alkannitrile nebeneinander kapillargaschromatographisch bestimmt.

Präparative Hydrolyse von 3e: Wie vorstehend beschrieben wurden 400 mg (ca. 12000 U) Lipase P, 400 ml 0.01 M Natriumacetatpuffer (pH 4.5) und 2.03 g (10.0 mmol) **3e** am pH-Konstanthalter 2.5 h bei Raumtemp. umgesetzt. Nach entsprechender Aufarbeitung wurde die wäßrige Phase im Rotationsverdampfer von gelöstem Diethylether befreit und bei pH 4.5 erneut mit 10 mmol **3e** 3 h bei Raumtemp. umgesetzt. Die jeweiligen Bestimmungen von Umsatz und Enantiomerenausbeuten erfolgten wie vorstehend beschrieben.

	Reakt.-zeit h	Umsatz (%)	Produkte	
			(S)- 1b [ee (%)]	(R)- 3e [ee (%)]
1. Spaltung	2.5	40.7	97.1	84.3
2. Spaltung	3	34.5	97.3	56.3

Präparative Aufarbeitung: Das nach der 1. Spaltung nach Entfernen des Ethers erhaltene Produktgemisch wurde rasch über eine Kieselgelsäule chromatographiert, zunächst mit Dichlormethan und anschließend mit Diethylether. Nach Einengen der 1. Fraktion im Rotationsverdampfer blieben 1.01 g (100%) (R)-**3e** zurück, [α]_D²⁰ = +7.04 (c = 2.5, CHCl₃), ee = 85.6% (mittles Kapillar-GC

bestimmt). Die 2. Fraktion – ein Gemisch aus (*S*)-**1b** und Buttersäure – wurde nochmals über Kieselgel mit Diethylether/Petroläther (3:9) chromatographiert, Ausb. nach Einengen des Eluats im Rotationsverdampfer 0.51 g (76%) (*S*)-**1b**, $[\alpha]_D^{20} = -46.9$ ($c = 5$, CHCl_3), $ee = 97.3\%$ (Kap. GC-bestimmt).

Präparative Hydrolyse von 3b: Wie vorstehend beschrieben wurden 550 mg (5900 U) Lipase aus *Candida cylindracea*, 400 ml 0.01 M Natriumacetatpuffer (pH 4.5) und 1.69 (10.0 mmol) **3b** am pH-Konstanthalter 3 h bei Raumtemp. umgesetzt. Nach entsprechender Aufarbeitung wurde die wäßrige Phase im Rotationsverdampfer von gelöstem Diethylether befreit und bei pH 4.5 erneut mit 10 mmol **3b** 5.75 h bei Raumtemp. umgesetzt. Die jeweiligen Bestimmungen von Umsatz und Enantiomerausbeuten erfolgten wie vorstehend beschrieben.

	Reakt.-zeit h	Umsatz (%)	Produkte	
			(<i>R</i>)- 1a [ee (%)]	(<i>S</i>)- 3b [ee (%)]
1. Spaltung	3	54.0	80.0	96.0
2. Spaltung	5.75	47.1	59.2	50.4

Präparative Aufarbeitung: Das nach der 1. Spaltung nach Entfernen des Ethers erhaltene Produktgemisch wurde rasch über eine Kieselgelsäule zunächst mit Dichlormethan und anschließend mit Diethylether chromatographiert. Nach Einengen der 1. Fraktion im Rotationsverdampfer blieben 0.69 g (82%) (*S*)-**3b** zurück, die in Gegenwart von 200 ml 0.01 M Natriumacetatpuffer (pH 4.5) mit 400 mg Lipase PS 3 h bei 25°C umgesetzt wurden. Das resultierende Gemisch aus (*S*)-**1a** und Buttersäure wurde mit 2 ml Chlortrimethylsilan in 20 ml absol. Methanol 20 min bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde zunächst im Rotationsverdampfer, dann bei 5 Torr eingengt und der Rückstand über Kieselgel mit Petroläther/Ethylacetat (3:7) chromatographiert. Ausb. nach Einengen des Eluats 0.31 g (62%) (*S*)-**1a**, $[\alpha]_D^{20} = -21.4$ ($c = 2.1$, CHCl_3), $ee = 96\%$ (Kap. GC-bestimmt). – Die mit Diethylether eluierte 2. Fraktion – 750 mg eines Gemisches aus (*R*)-**1a** und Buttersäure – wurde wie vorstehend beschrieben von der Buttersäure befreit. Ausb. nach Einengen des Eluats 0.39 g (80%) (*R*)-**1a**, $[\alpha]_D^{20} = +20.2$ ($c = 2$, CHCl_3), $ee = 80.0\%$ (mittels Kapillar-GC bestimmt) [Lit.¹⁾ $[\alpha]_D^{20} = +13.1$ ($c = 5$, CHCl_3), $ee = 96\%$ (mittels Kapillar-GC über (*R*)(+)-MTPA-Derivat bestimmt)].

Enantioselektive Veresterung von Cyanhydrinen 1 mit Vinylacetat (4) (zu Tab. 3)

Allgemeines: Es wurden jeweils 0.5 mmol **1** [= 49.5 mg 2-Hydroxypentannitril (**1a**), 66.5 mg Mandelsäurenitril (**1b**), 80.6 mg 2-Hydroxy-4-phenylbutannitril (**1i**), 95.5 mg 2-(Benzo[1,3]dioxol-5-yl)-2-hydroxyethannitril (**1k**) bzw. 96.6 mg 2-Hydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)ethannitril (**1l**)] in 5 ml Lösungsmittel mit 400 μl **4** und Lipase umgesetzt (Reaktionszeit und -temp., Menge und Art der Lipase s. Tab. 3). Anschließend wurde die Lipase abfiltriert, mit Diethylether nachgewaschen, das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer entfernt und der Umsatz im zurückbleibenden Reaktionsgemisch ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt. – Die Bestimmung der Enantiomerausbeute [ee] erfolgte wie vorstehend beschrieben mit 5 μl des von Lipase und Lösungsmittel befreiten Reaktionsgemisches.

Enzymkatalysierte enantioselektive Umsetzung von racemischen Cyanhydrinestern 3 mit primären Alkoholen (zu Tab. 4)

Allgemeines: Es wurden jeweils 0.5 mmol **3** [= 70.6 mg 2-(Butyryloxy)pentannitril (**3b**) bzw. 87.6 mg 2-Acetoxy-2-phenylethannitril (**3d**)] in 5 ml Lösungsmittel mit 1.5 mmol Alkohol (= 111 mg 1-Butanol, 195 mg 1-Octanol, 163 mg Benzylalkohol) und Lipase

wie bei der Veresterung der (*R,S*)-Cyanhydrin **1** beschrieben umgesetzt. Aufarbeitung wie dort (Reaktionszeit und -temp., Menge und Art der Lipase s. Tab. 4).

Präparative Umsetzung von 3b und 1-Octanol: 2.35 g (15.0 mmol) **3b**, 6.2 g (45.7 mmol) *n*-Octanol, 100 ml Hexan [mit 0.01 N Natriumacetatpuffer (pH 4.5) gesättigt] und 1.2 g (ca. 36000 U) Amano-AY-Lipase (*Candida* sp.) wurden bei 30°C gerührt. Nach 4 d wurde die Lipase abfiltriert, mit Diethylether nachgewaschen und das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer entfernt. Im zurückbleibenden Reaktionsgemisch wurde der Umsatz ¹H-NMR-spektroskopisch mit ca. 55% und die Enantiomerausbeute der gebildeten Produkte (*R*)-**1a** ($ee = 65\%$) und (*S*)-**3b** ($ee = 97\%$) wie üblich bestimmt. Das Produktgemisch wurde über eine Kieselgelsäule zunächst mit Chloroform chromatographiert, die erste Fraktion – ein Gemisch aus Buttersäure-butylester und **3b** – wurde nochmals über Kieselgel mit Ethylacetat/Petroläther (1:9) chromatographiert. Die hierbei erhaltene erste Fraktion – Buttersäure-butylester – wurde abgetrennt und die zweite Fraktion im Rotationsverdampfer eingengt. Ausb. 1.16 g (92%) (*S*)-**3b**, $[\alpha]_D^{20} = -86.99$ ($c = 2.775$, CHCl_3), $ee = 97\%$ (mittels Kapillar-GC bestimmt).

CAS-Registry-Nummern

1a: 73683-31-5 / (*R*)-**1a:** 10021-63-3 / (*S*)-**1a:** 107537-99-5 / **1b:** 613-88-7 / (*R*)-**1b:** 10020-96-9 / (*S*)-**1b:** 28549-12-4 / **1i:** 121054-03-3 / (*R*)-**1i:** 120999-41-9 / **1k:** 86215-81-8 / (*R*)-**1k:** 10017-05-7 / **1l:** 66233-07-6 / (*R*)-**1l:** 129313-28-6 / **2a:** 75-36-6 / **2b:** 141-75-3 / **2c:** 142-61-0 / **2f:** 645-45-4 / **2g:** 103-80-0 / **3a:** 119401-09-1 / (*R*)-**3a:** 119477-91-7 / (*S*)-**3a:** 129313-21-9 / **3b:** 129265-86-7 / (*S*)-**3b:** 129313-22-0 / **3c:** 129265-87-8 / (*S*)-**3c:** 129313-23-1 / **3d:** 119718-87-5 / (*R*)-**3d:** 119718-89-7 / (*S*)-**3d:** 119718-88-6 / **3e:** 129265-88-9 / (*R*)-**3e:** 129313-26-4 / (*S*)-**3e:** 129313-24-2 / **3f:** 129265-89-0 / (*R*)-**3f:** 129313-27-5 / (*S*)-**3f:** 129313-25-3 / **3g:** 129265-90-3 / **3h:** 129265-91-4 / (*S*)-**3i:** 123356-14-9 / (*S*)-**3k:** 129313-29-7 / (*S*)-**3l:** 129313-30-0 / **4:** 108-05-4 / Lipase: 9001-62-1 / 1-Octanol: 111-87-5

¹⁾ 6. Mitteilung: T. Ziegler, B. Hörsch, F. Effenberger, *Synthesis* **1990**, 575.

²⁾ F. Effenberger, T. Ziegler, S. Förster, *Angew. Chem.* **99** (1987) 491; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **26** (1987) 458.

³⁾ F. Effenberger, B. Hörsch, S. Förster, T. Ziegler, *Tetrahedron Lett.* **31** (1990) 1249.

⁴⁾ ^{4a)} A. M. Klibanov, *Acc. Chem. Res.* **23** (1990) 114. – ^{4b)} M. Dickinson, P. D. I. Fletcher, *Enzyme Microb. Technol.* **11** (1989) 55. – ^{4c)} C.-S. Chen, C. J. Sih, *Angew. Chem.* **101** (1989) 711; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **28** (1989) 695. – ^{4d)} D. H. G. Crout, M. Christen in *Modern Synthetic Methods 1989* (R. Scheffold, Ed.), Bd. 5, S. 1, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 1989. – ^{4e)} H. G. Davies, R. H. Green, D. R. Kelly, S. M. Roberts, *Bio-transformations in Preparative Chemistry*, Academic Press, London 1989.

⁵⁾ ^{5a)} N. Matsuo, N. Ohno, *Tetrahedron Lett.* **26** (1985) 5533. – ^{5b)} A. van Almsick, J. Buddrus, P. Hönicke-Schmidt, K. Laumen, M. P. Schneider, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 1391. – ^{5c)} H. Ohta, Y. Miyamae, G. Tsuchihashi, *Agric. Biol. Chem.* **50** (1986), 3181, und **53** (1989) 215, 218. – ^{5d)} H. Hirohara, S. Mitsuda, E. Ando, R. Komaki in *Biocatalysts in Organic Syntheses* (J. Tramper, H. C. van der Plas, P. Linko, Ed.), Proceedings of the International Symposium at Noordwijkerhout, The Netherlands, 14–17 April, 1985. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam – Printed in the Netherlands 1985. – ^{5e)} H. Ohta, S. Hiraga, K. Miyamoto, G.-i Tsuchihashi, *Agric. Biol. Chem.* **52** (1988) 3023.

⁶⁾ Y.-F. Wang, S.-T. Chen, K. K.-C. Liu, C.-H. Wong, *Tetrahedron Lett.* **30** (1989) 1917.

⁷⁾ H. S. Bevinakatti, A. A. Banerji, R. V. Newadkar, *J. Org. Chem.* **54** (1989) 2453.

- ⁸⁾ H. Pielartzik, B. Irmisch-Pielartzik, T. Eicher in *Methoden der organischen Chemie* (Houben-Weyl-Müller, Ed.), 4. Aufl., Band E 5/1, S. 667, Thieme Stuttgart 1985.
- ⁹⁾ ^{9a)} P. D. Theisen, C. H. Heathcock, *J. Org. Chem.* **53** (1988) 2374. — ^{9b)} W. J. Hennen, H. M. Sweers, Y.-F. Wang, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **53** (1988) 4939.
- ¹⁰⁾ ^{10a)} P. Fischer, R. Aichholz, U. Bözl, M. Juza, S. Krimmer, *Angew. Chem.* **102** (1990) 439; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **29** (1990) 427. — ^{10b)} H. P. Nowotny, D. Schmalzing, D. Wistuba, V. Schurig, HRC & CC, *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* **12** (1989) 383.
- ¹¹⁾ M. Rouhi-Laridjani, *Publ. Sci. Tech. Min. Air (Fr.), Notes Tech. No. 141*, 40 pp. (1964) (Fr) [*Chem. Abstr.* **63** (1965) 8188g].
- ¹²⁾ M. Makosza, T. Goetzen, *Rocz. Chem.* **46** (1972) 1059.

[139/90]