

satz, „Recycling“, Umkristallisation) weiter erhöhen (vgl. Beispiele in Tabelle 1). Die enzymatische Reaktion ergibt Chrysanthemumsäure (1*R*,3*R*)-**1a** ($[\alpha]_D^{25}$ 16, c 1.48, CHCl_3) mit 70% *ee*. Permethrinsäure (1*R*,3*R*)-**2a** ($[\alpha]_D^{25}$ 32.7, c 0.86, CHCl_3) kann durch einmalige Umkristallisation (Petrol-ether) des Primärproduktes (80% *ee*) praktisch enantiomerenrein $98 \pm 2\%$ (GC), 96% *ee* hergestellt werden. Caronsäuremonomethylester (–)-(1*R*,3*R*)-**3a** entsteht ebenfalls nahezu enantiomerenrein $97 \pm 2\%$ (GC), 95% *ee*. Dieser Ester ist auf andere Weise nicht leicht erhältlich^[1,2]. Er kann in andere Synthesebausteine^[1] wie (1*R*,3*R*)-**3c** [^1H -NMR: δ = 1.28 (s, 6H, 2CH₃), 1.46 (s, 9H, *t*Bu), 2.16 (bs, 2H), 3.70 (s, 3H, OCH₃); $[\alpha]_D^{25}$ –20.7, c 1.07, CHCl_3] und (1*R*,3*R*)-**3d** [^1H -NMR: δ = 1.32 (s, 3H, CH₃), 1.35 (s, 3H, CH₃), 2.49 (AB, 2H), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 9.66 (d, 1H); $[\alpha]_D^{25}$ 15, c 1.43, CHCl_3] umgewandelt werden. Auf bekanntem Wege^[1,2] läßt sich (1*R*,3*R*)-**3d** zu **4** umsetzen, wodurch auch die entsprechenden chiralen *cis*-Pyrethroide zugänglich werden.

Tabelle 1. Enzymatische Hydrolyse der Methylester **1b–3b**.

Substrat	Bedingungen [a]	Produkt	Ausb. [%] [b]	R:S [c]
<i>cis,trans</i> - 1b	A (50)	(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 1a	90	70:30
<i>trans</i> - 1b	A (50)	(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 1a	85	73:27
		(1 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)- 1b	80	30:70
<i>trans</i> - 1b	A (30)	(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 1a	75	80:20
(+)-(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 1b	B (50)	(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 1a	75	85:15
<i>cis,trans</i> - 2b	A (50)	(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 2a	90	90:10
(+)-(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 2a	C	(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 2a	65	98:2 [d]
<i>cis,trans</i> - 3b	A (50)	(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 3a	85	80:20
<i>trans</i> - 3b	A (50)	(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 3a	85	80:20
		(1 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)- 3b	90	25:75
(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 3a	C	(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 3a	65	91:9 [d]
(–)-(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 3b	B (60)	(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 3a	70	97:3

Produkt	250 MHz- ^1H -NMR [e]
(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 1a	1.16 (s, 3H, CH ₃), 1.31 (s, 3H, CH ₃), 1.40 (d, 1H), 1.73 (m, 6H, 2CH ₃), 2.11 (dd, 1H), 4.92 (m, 1H)
(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 2a	1.23 (s, 3H, CH ₃), 1.35 (s, 3H, CH ₃), 1.64 (d, 1H), 2.30 (dd, 1H), 5.65 (d, 1H)
(1 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)- 3a	1.32 (s, 3H, CH ₃), 1.34 (s, 3H, CH ₃), 2.27 (AB, 2H), 3.72 (s, 3H, CH ₃)

[a] A=Enzymatische Hydrolyse (% Umsatz); B=A mit „Recycling“ nach Veresterung (% Umsatz); C=Umkristallisation aus Petrolether (K_P = 60–90°C). [b] Bezogen auf umgesetztes Substrat. [c] Durch ^1H -NMR (mit (+)-(*R*)- α -Methylbenzylamin oder $\text{Eu}(\text{tfc})_3$) und GC ($\pm 5\%$). [d] Durch kalibrierte GC ($\pm 2\%$). [e] δ -Werte, Solvens CDCl_3 , $T = 25^\circ\text{C}$.

Die Reaktionszeiten (8–72 h) richten sich nach Substrat- und Enzymmenge. Sie hängen von den spezifischen Aktivitäten ab ($10^{-6} \text{ mol min}^{-1} (\text{mg Enzym})^{-1}$) [(+)-(1*R*,3*R*)-**1a**: ca. 1.0; (+)-(1*R*,3*R*)-**2a**: ca. 1.7; (–)-(1*R*,3*R*)-**3a**: ca. 7.0; Standard (Ethylbutyrat): 100], die an den enantiomerenreinen (angereicherten) Substraten bestimmt (bzw. abgeschätzt) wurden.

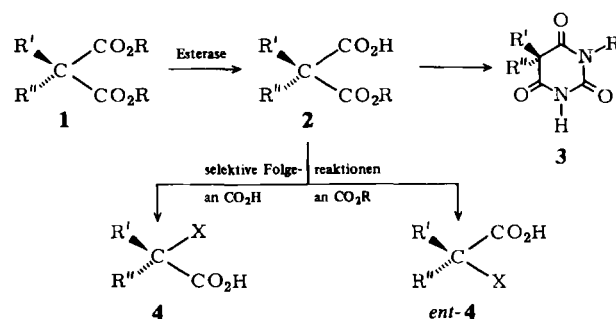
Die Befunde interessieren auch im Hinblick auf in-vitro-Studien über den Metabolismus von Insektiziden bei Säugtieren^[3].

Enzymatische Synthesen chiraler Bausteine aus prochiralen Substraten:

Herstellung von Malonsäuremonoalkylestern**

Von Manfred Schneider*, Norbert Engel und Heike Boensmann

Die enantioselektive Umwandlung der leicht zugänglichen, prochiralen Malonester **1** in die chiralen Monoester **2** würde zu interessanten Bausteinen für viele andere optisch aktive Moleküle führen. Selektive Folgereaktionen an den beiden – nun chemisch unterscheidbaren – funktionellen Gruppen in **2** eröffneten dann den wahlweisen Zugang zu *beiden* enantiomeren Reihen potentieller Zielmoleküle. Optisch aktive Barbiturate **3** oder α -Aminosäuren **4/ent-4** ($X = \text{NH}_2$) wären Beispiele für Anwendungsmöglichkeiten. Eine einfache Methode für die Reaktion **1** \rightarrow **2** wäre daher sehr nützlich, und zwar unabhängig von den absoluten Konfigurationen der Produkte **2**.



Enzyme können die enantiotopen Gruppen eines prochiralen Zentrums unterscheiden und so prochirale Substrate enantioselektiv in chirale Moleküle umwandeln^[1]. Hydrolytische Enzyme aus Mikroorganismen wurden bereits vor Jahren zur partiellen Hydrolyse prochiraler Glutarsäureester zu den chiralen Monoestern verwendet^[2]; Schweineleber-Esterase diente zur enzymatischen Synthese von (*R*)-Mevalonolacton^[3].

Da Schweineleber-Esterase leicht zugänglich und handhabbar ist^[4], erschien ihre Verwendung für die Reaktion **1** \rightarrow **2** besonders attraktiv. Die Malonester **1a–f** (10–50 mmol) wurden dazu in 0.1 M Phosphatpuffer (pH 8) suspendiert und mit der Esterase [70 Einheiten (Standard: Ethylbutyrat) = 0.7 mg/g Substrat] versetzt. Die beginnende Verseifung zeigte sich durch Abnahme des pH-Wertes, der durch Zugabe von 1 N NaOH aus einer automatischen Bürette konstant auf pH 8 gehalten wurde. Nur eine Estergruppe wird dabei verseift, und nach Verbrauch von 1 Äquiv. NaOH ist die Reaktion beendet; das Gemisch wird homogen. Die gebildeten Monoester **2a–f**, nun als Na-Salze in der wäßrigen Phase, lassen sich nach Ansäuern auf pH 2 durch kontinuierliche Extraktion (Et_2O) in guten Ausbeuten isolieren. Die Enantiomerenverhältnisse wurden ^1H -NMR-spektroskopisch an den Rohprodukten bestimmt (Tabelle 1).

Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, daß die Enantioselektivitäten vom Substitutionsmuster am Chiralitätszentrum in **2a–**

[*] Prof. Dr. M. Schneider, Dr. N. Engel, H. Boensmann
FB 9 – Organische Chemie der Universität-GH
Gaußstraße 20, D-5600 Wuppertal 1

[**] Hydrolytische Enzyme in der organischen Synthese, 2. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. Wir danken der Bayer AG für Chemikalien und die Bestimmung der Enantiomerenreinheit durch Hochfeld- ^1H -NMR-Spektroskopie (Dr. J. Kurz) und Boehringer Mannheim für Enzyme. – 1. Mitteilung: [4a].

Eingegangen am 30. Juni,
in veränderter Fassung im 18. November 1983 [Z 436]

[1] Übersicht: D. Arlt, M. Jautelat, R. Lantzsch, *Angew. Chem.* 93 (1981) 719; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 20 (1981) 703.
[2] J. Mulzer, M. Kappert, *Angew. Chem.* 95 (1983) 60; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 22 (1983) 63; *Angew. Chem. Suppl.* 1983, 23, zit. Lit.
[3] D. M. Soderlund, J. E. Casida, *Pestic. Biochem. Physiol.* 7 (1977) 391.

Tabelle 1. Enzymatische Hydrolyse der Malonsäuredialkylester **1** zu den monoalkylestern **2**.

	R'	R''	R	Enantiomerenverhältnis [a]
a	nBu	Me	Et	69 : 31
b	nBu	Me	Me	75 : 25
c	Et	Me	Et	60 : 40
d	nPr	Me	Et	54 : 46
e	Ph	Me	Et	93 : 7
f	Ph	Et	Me	92 : 8

[a] Bestimmt durch 250 MHz-¹H-NMR mit (+)-(R)-α-Methylbenzylamin.

f abhängen. Sie sind am größten, wenn die Größendifferenz der Substituenten R' und R'' ein Maximum erreicht. Methyl ester, die auch wegen ihrer höheren Verseifungsgeschwindigkeiten vorzuziehen sind, scheinen etwas höhere Enantiomerenreinheiten als Ethylester zu ergeben. Im Hinblick auf präparative Anwendungen erwiesen sich **1e** mit **1f** als besonders günstig. Die Monoester **2e** bzw. **2f** entstanden mit günstigen Enantiomerenverhältnissen, die durch Umkristallisation auf >97:3 (NMR) verbessert werden können.

Eingegangen am 30. Juni,
in veränderter Fassung am 18. November 1983 [Z 438]

- [1] D. Seebach, E. Hungerbühler, A. Fischli in R. Scheffold: *Modern Synthetic Methods*, Salle + Sauerländer, Aarau 1980; J. B. Jones, C. J. Sih, D. Perlman in A. Weissberger: *Techniques of Chemistry*, Vol. 1, 2, Wiley, New York 1975.
- [2] H. Kosmol, K. Kieslich, H. Gibian, *Justus Liebig's Ann. Chem.* 711 (1968) 38.
- [3] F.-C. Huang, L. F. Hsu Lee, R. S. D. Mittal, P. R. Ravikumar, J. A. Chan, C. J. Sih, E. Caspi, C. R. Eck, *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 4144.
- [4] a) M. Schneider, N. Engel, H. Boensmann, *Angew. Chem.* 96 (1984) 52; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) Nr. 1; b) M. Schneider, N. Engel, P. Hönicke, G. Heinemann, H. Görlich, *ibid.* 96 (1984) 55 bzw. 23 (1984) Nr. 1.

Enzymatische Synthesen chiraler Bausteine aus prochiralen meso-Substraten: Herstellung von Methyl(hydrogen)-1,2-cycloalkandicarboxylaten**

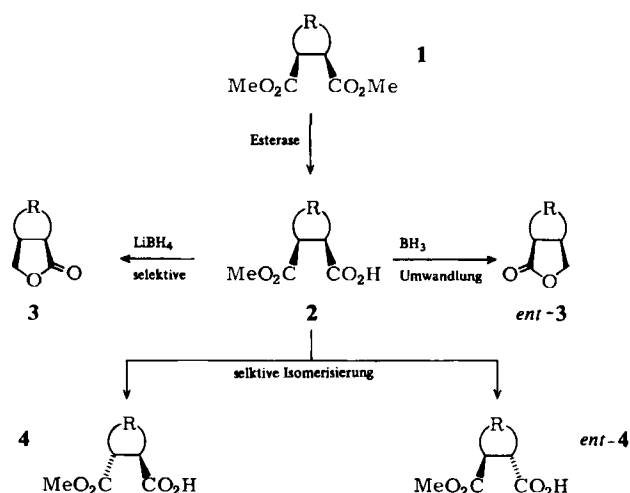
Von Manfred Schneider*, Norbert Engel, Petra Hönicke, Gerd Heinemann und Helmut Görlich

Die enantioselektive Hydrolyse der prochiralen *cis*-1,2-Diester **1a-f** zu den Monoestern **2a-f** führt zu chiralen Bausteinen für vielfältige Anwendungen, einschließlich der Naturstoffsynthese. Durch selektive Folgereaktionen, z. B. Umwandlung in die enantiomeren Lactone **3** und *ent*-**3** sowie selektive Isomerisierungen zu den *trans*-Enantiomeren **4** und *ent*-**4** und deren Folgeprodukten können aus **2a-f**, unabhängig von deren absoluten Konfigurationen, prinzipiell alle denkbaren enantiomeren Reihen potentieller Zielmoleküle gewonnen werden.

* Prof. Dr. M. Schneider, Dr. N. Engel, P. Hönicke, G. Heinemann
FB 9 - Organische Chemie der Universität - GH
Gaußstraße 20, D-5600 Wuppertal 1

Priv.-Doz. Dr. H. Görlich
Institut für Mikrobiologie der Universität Hohenheim, Stuttgart

** Hydrolytische Enzyme in der organischen Synthese, 3. Mitteilung. Vorgetragen beim 2nd International Symposium on Synthesis and Biotechnology of Biologically Active Natural Products, 14.-19. August 1983 in Budapest. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. Wir danken der Bayer AG für Chemikalien und die Bestimmung der Enantiomerenreinheiten durch Hochfeld-¹H-NMR-Spektroskopie (Dr. J. Kurz) und Boehringer Mannheim für Enzyme. Professor J. B. Jones, Toronto, danken wir für Diskussionsbeiträge und für die Mitteilung von Ergebnissen. - 2. Mitteilung: [4].



Voraussetzung dafür ist, daß **1a-f** isomerenrein und in größeren Mengen einfach zugänglich sind. Bei **1e,f** ist dies der Fall; dagegen sind die bekannten Wege zu **1a,c,d** weniger zufriedenstellend, und eine stereoselektive Synthese für **1b** war bisher unbekannt. Wir haben daher eine einfache, allgemeine Methode zur simultanen Isomerisierung und Cyclisierung von *trans*-1,2-Cycloalkandicarbonsäuren mit (CF₃CO)₂O entwickelt; die erhaltenen *cis*-Anhydride lassen sich direkt mit MeOH/HC(OMe)₃ zu **1a-f** umsetzen^[2].

Enzyme können die enantiotopen Gruppen in (prochiralen) *meso*-Formen unterscheiden und diese enantioselektiv in chirale Moleküle umwandeln^[1,3]. Schweineleber-Esterase hat sich bereits bei der Verseifung vieler strukturell unterschiedlicher Carbonsäureester bewährt^[1a,3-5]. Sie erschien uns daher besonders attraktiv als Reagens für die Umsetzungen **1** → **2**.

1a-f wurden dazu in 0.1 M Phosphatpuffer suspendiert und mit der Esterase versetzt. Die beginnende Verseifung zeigt sich durch Abnahme des pH-Wertes, der durch 1 N NaOH auf pH 7 oder 8 gehalten wird. Nur eine Estergruppe wird verseift. Nach Ansäuern ließen sich **2a-f** mit Ether extrahieren. Die Diastereomerenreinheiten (zur Prüfung auf mögliche Isomerisierungen) wurden durch GC an wiederveresterten (MeOH/HC(OMe)₃) Proben von **2a-f** ermittelt. Die Enantiomerenverhältnisse wurden an den Rohprodukten durch 250MHz-¹H-NMR-Spektroskopie nach Derivatisierung mit (+)-(R)-α-Methylbenzylamin bestimmt (Tabelle 1).

Die absolute Konfiguration von **2a** war bekannt^[7]. **2b**^[8] wurde durch selektive, basekatalysierte (NaH/Dimethylsulfoxid) Isomerisierung mit dem bekannten *trans*-Enantiomer **4b** korreliert, **2c**^[8] durch Cyclisierung zu den bekannten^[1b] Lactonen **3c/ent-3c**. Die absoluten Konfigurationen von **1e,f** sind durch Röntgen-Strukturanalysen gesichert^[9].

Die Enantiomerenverhältnisse sind in den meisten Fällen hoch (etwas höher bei pH 7 als bei pH 8, vielleicht wegen partieller nichtenzymatischer Hydrolyse) und können durch Umkristallisationen weiter erhöht werden. **2b** und **2f** entstehen fast enantiomerenrein. Die einzige Ausnahme ist (+)-**2d**, welches sich mit sehr geringer Enantiomerenreinheit bildet.

Die absoluten und relativen Reaktionsgeschwindigkeiten (Tabelle 1) wurden unter standardisierten Bedingungen bestimmt. Die Enzymkonzentration kann in präparativen Ansätzen leicht von 100 (oder 1000) auf 10 Einheiten/mmol Substrat verringert werden.