

# $\beta$ -Laktámok enzim-katalizálta kinetikus rezolválása: direkt és indirekt módszerek\*

FORRÓ Enikő

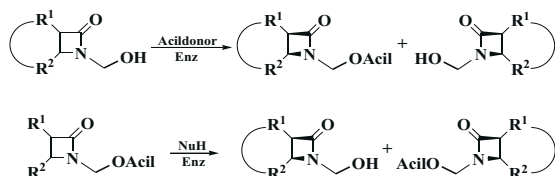
Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerkémiai Intézet, 6720 Szeged, Eötvös utca 6.

forro@pharm.u-szeged.hu

## Bevezetés

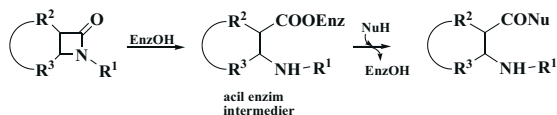
A királis vegyületek, természetes anyagok előállítása iránt mutatott érdeklődéssel összhangban, intézeti fő profilunknak megfelelően enantiomertiszta  $\beta$ -laktámok és  $\beta$ -aminosavak előállítási lehetőségeit vizsgáltuk. Mind a  $\beta$ -laktámok mind pedig a  $\beta$ -aminosavak széleskörű felhasználással bírnak a peptid-,<sup>1</sup> heterociklusos-,<sup>2</sup> kombinatorikus-,<sup>3</sup> alkaloidkémia<sup>4</sup> területén, ugyanakkor önmagukban is farmakológiai hatás hordozói lehetnek (pl. a ciszpentacin jelentős gombaellenes hatású).<sup>5</sup>

Direkt és indirekt enzimikus módszereket dolgoztunk ki értékes aliciklussal kondenzált és 4-aril-szubsztituált  $\beta$ -laktámok enzim-katalizálta kinetikus rezolválására, szerves közegben. Enantiomertiszta  $\beta$ -laktámok és  $\beta$ -aminosavak, vagy származékaik indirekt enzimikus módszerrel való előállítását a racém *N*-hidroximetilezett  $\beta$ -laktám aszimmetrikus acilezésén, vagy a megfelelő észter enantioszelektív hidrolízisén keresztül végeztük (1. ábra), majd ezt követően a  $\beta$ -laktám gyűrűnyitásával jutottunk a kívánt  $\beta$ -aminosavakhoz.<sup>6,7</sup>



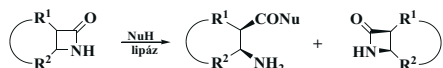
1. Ábra. Indirekt enzimikus módszerek

Míg a  $\beta$ -laktám gyűrű  $N_1$ - $C_2$  kötésének  $\beta$ -laktamázokkal történő enantioszelektív hasítása az irodalomból jól ismert (2. ábra),<sup>8</sup> lipázokkal ilyen irányú törekvésekkel korábban nem találkoztunk.



2. Ábra. Direkt enzimikus módszerek laktamázokkal

Ezért célul tűztük ki egy olyan lipáz-katalizálta módszer kidolgozását, mellyel mind a nem aktivált aliciklussal kondenzált mind pedig a 4-aril-szubsztituált  $\beta$ -laktámok enantioszelektív gyűrűnyitása megvalósítható (3. ábra). Az előkísérletek során vizsgáltuk különböző lipázok, nukleofilek, oldószerek, hőmérséklet, *stb.* enantioszelektivitásra és reakciósebességre gyakorolt hatását.<sup>9-12</sup>

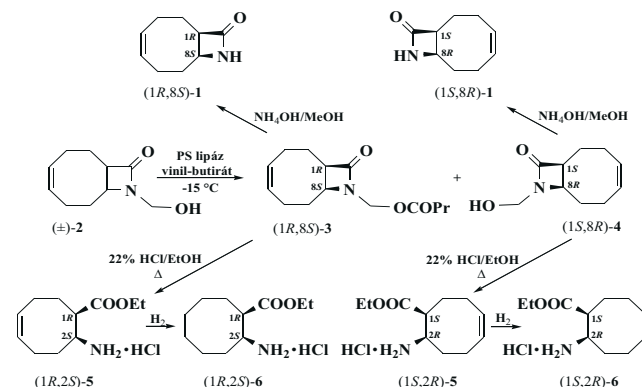


3. Ábra. Direkt enzimikus módszerek lipázzal

## I. Indirekt enzimikus módszerek

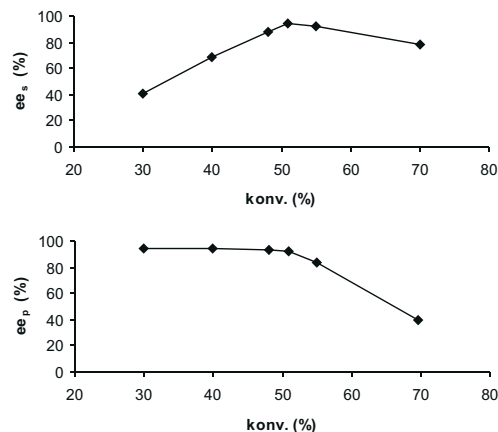
### I.1. Aliciklussal kondenzált $\beta$ -laktámok enzim-katalizálta kinetikus rezolválása

Parsons és munkatársai közölték az *Anabaena flos aqua* édesvízi kék algából izolált Anatoxin-*a*, egy neurotoxikus alkaloid totál szintézisét.<sup>13</sup> Az anatoxin-*a* enantiomerek formális totál szintézisének megoldásához célul tűztük ki az intermedier (1*R*,8*S*)- és (1*S*,8*R*)-9-azabiciklo[6.2.0]dek-4-én-10-on enantiomerek előállítását (4. ábra).



4. Ábra. A (±)-2 enzim-katalizálta kinetikus rezolválása és a termékek további átalakításai

A racém *N*-hidroximetilezett  $\beta$ -laktám [(±)-2] grammennyiségű aszimmetrikus acilezését az előkísérletek során optimalizált körülmények között (30 mg/mL *Pseudomonas cepacia*-ból izolált PS lipáz katalízissal, 0,2 M vinilacetáttal, diizopropil-éterben, -15 °C-on) végeztük (5. ábra; az irreverzibilis reakciók enantioszelektivitása:  $E = 94$ ).<sup>5</sup>



5. Ábra. Kísérletes  $ee$  értékek konverzió függése

\*Zemplén Géza ifjúsági díj 2004 átadási ünnepségén elhangzott előadás anyaga

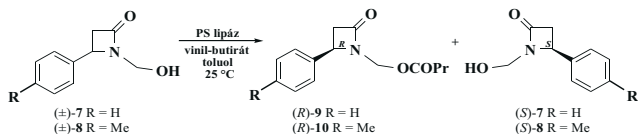
A termék észter (1*R*,8*S*)-3 és el nem reagált alkohol (1*S*,8*R*)-4 enantiomerekből előállítottuk a kívánt Anatoxina intermedier (1*R*,8*S*)-1 és (1*S*,8*R*)-1 enantiomereket (*ee* ≥ 93%) valamint az új telítetlen (1*R*,2*S*)-5 és (1*S*,2*R*)-5 és telített (1*R*,2*S*)-6 és (1*S*,2*R*)-6 8-tagú gyűrűs β-aminosav-észter hidrokloridokat (1. táblázat).

1. Táblázat. Az előállított enantiomerek fizikai jellemzői

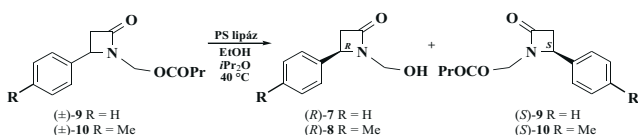
Enantiomer	ee (%)	$[\alpha]_D^{20}$
(1 <i>R</i> ,8 <i>S</i> )-1	93	+19,8 (c=0,35; MeOH)
(1 <i>S</i> ,8 <i>R</i> )-1	99	-20,2 (c=0,35; MeOH)
(1 <i>R</i> ,8 <i>S</i> )-3	92	-29,5 (c=1; MeOH)
(1 <i>S</i> ,8 <i>R</i> )-4	97	-27,0 (c=1; MeOH)
(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )-5	81	-1,5 (c=1; EtOH)
(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> )-5	98	+1,8 (c=1; EtOH)
(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )-6	86	+6,3 (c=0,5; EtOH)
(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> )-6	97	-7,0 (c=0,5; EtOH)

## I.2. 4-Aril-szubsztituált β-laktámok enzim-katalizálta kinetikus rezolválása

Vizsgáltuk a fenil- és *p*-tolil-szubsztituált β-laktámok enzim-katalizálta kinetikus rezolválását mind a (±)-7 és (±)-8 aszimmetrikus acilezésén (6. ábra), mind pedig a megfelelő racém észter [(±)-9 és (±)-10] enzim-katalizálta enantioszelektív hidrolíziséen (7. ábra) keresztül.



6. Ábra. A (±)-7 és (±)-8 enzim-katalizálta aszimmetrikus butirilezése



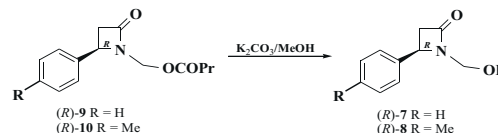
7. Ábra. A (±)-9 és (±)-10 enzim-katalizálta aszimmetrikus debutirilezése

A (±)-7 és (±)-8 preparatív léptékű rezolválását PS lipáz (30 mg/mL) katalízissal, vinil-butiráttal (0,2 M), toluolban, 25 °C-on végeztük (2. táblázat). A termékeket oszlopkromatográfiásan választottuk szét. Az észter enantiomerekből K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/MeOH-ban történő reakcióval előállítottuk a (R)-7 és (R)-8 alkoholokat (8. ábra).

2. Táblázat. A (±)-7 és (±)-8 enzim-katalizálta aszimmetrikus butirilezése

Idő (h)	Konv. (%)	<i>E</i>	Alkohol [(S)-7 és (S)-8]			Észter [(R)-9 és (R)-10]			
			Hozam (%)	ee (%)	$[\alpha]_D^{25}$	Hozam (%)	ee (%)	$[\alpha]_D^{25}$	
(±)-7	1,5	50	>200	39	98	-166,7 <sup>ad</sup>	40	97	+61,4 <sup>a</sup>
(±)-8	1,5	52	57	28	95	-168 <sup>b</sup>	44	88	+43,5 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>c = 1; EtOH. <sup>b</sup>c = 0,5; EtOH.



8. Ábra. Az (R)-7 és (R)-8 előállítása.

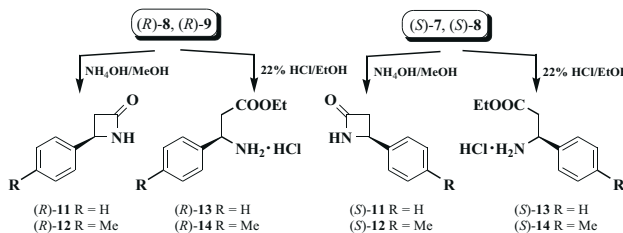
A (±)-9 és (±)-10 (0,1 M) PS lipáz (30 mg/mL)-katalizálta hidrolíziséet etanollal diizopropil-éterben (1:10), 40 °C-on végeztük (3. táblázat).

3. Táblázat. A (±)-7 és (±)-8 enzim-katalizálta aszimmetrikus debutirilezése

Idő (h)	Konv. (%)	<i>E</i>	Alkohol [(R)-7 és (R)-8]		Észter [(S)-9 és (S)-10]				
			Hozam (%)	ee (%)	$[\alpha]_D^{25}$	Hozam (%)	ee (%)	$[\alpha]_D^{25}$	
(±)-9	7	50	>200	46	96	+161 <sup>a</sup>	47	97	-62,5 <sup>b</sup>
(±)-10	6	52	89	45	91	+155,8 <sup>c</sup>	40	97	-62 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>c = 0,35; EtOH. <sup>b</sup>c = 0,65; EtOH. <sup>c</sup>c = 0,3; EtOH. <sup>d</sup>c = 1; EtOH.

Az (S)-7, (S)-8, (R)-8 és (R)-9 enantiomerekből NH<sub>4</sub>OH/MeOH-os kevertetéssel, *ill.* HCl/EtOH-ban történő forralással előállítottuk a kívánt β-laktám és β-aminosav etilészter hidroklorid enantiomereket (9. ábra, 4. táblázat).



9. Ábra. Az (S)-7, (S)-8, (R)-8 és (R)-9 továbbalakítása

4. Táblázat. Az előállított enantiomerek fizikai jellemzői

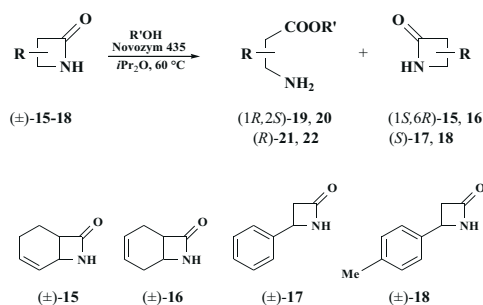
Enantiomer	ee (%)	$[\alpha]_D^{25}$
(R)-11	97	+132,4 (c=0,5; EtOH)
(S)-11	99	-136,3 (c=0,5; EtOH)
(R)-12	96	+122 (c=0,5; EtOH)
(S)-12	99	-125,5 (c=0,5; EtOH)
(R)-13	95	-11,4 (c=0,35; EtOH)
(S)-13	96	+11,8 (c=0,5; EtOH)
(R)-14	92	-11,8 (c=0,5; EtOH)
(S)-14	97	+12,9 (c=1,9; EtOH)

## II. Direkt enzimes módszerek

### II.1. Aliciklussal kondenzált és 4-aryl-szubsztituált β-laktámok enzim-katalizálta alkoholizise/hidrolízise

A továbbiakban a (±)-15 - (±)-18 β-laktámok enantioszelektív gyűrűnyitását kívántuk megvalósítani lipáz katalízissal (10 ábra). A mintegy 15 kipróbálásra került lipáz és proteáz közül a Novozym 435 (*Candida antarctica* B lipáz) mutatott csekély enantioszelektivitást a (±)-15 esetében (*E* = 5),

vízben, 60 °C-on.<sup>9</sup> Érdekes megjegyezni, hogy Brieva és munkatársai a *cisz*-1-benzoil-3-acetoxi-4-fenil-azetidín-2-on enzim hidrolízise során, mellékreakcióként az aktivált  $\beta$ -laktám gyűrűnyílását tapasztalták.<sup>14</sup>



10. Ábra. A (±)-15 - (±)-18 enzim-katalizálta gyűrűnyílása

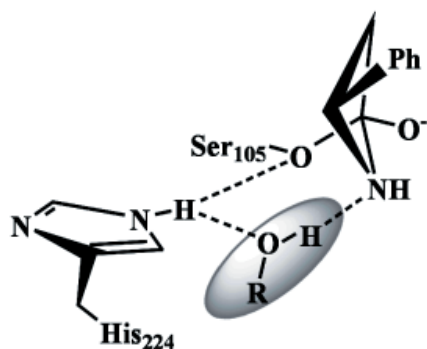
Vizsgáltuk a nukleofil alkohol típusának, oldószernek és hőmérsékletnek az enantioszelektivitásra és reakció sebességére gyakorolt hatását. Az optimalizált körülmények között (2-oktanol, *iPr*<sub>2</sub>O-ben, 60 °C-on) elvégeztük a gramm-mennyiségű rezolválásokat (5. táblázat). Meglepetésünkre a várt aminosav észter helyett (melyet nem tudtuk izolálni, feltehetően továbbalakult hidrolízis, részben pedig polimerizáció következtében),  $\beta$ -aminosavat izoláltunk magas enantiomerfelesleggel (*ee*  $\geq$  96%), azonban igen csekély termelés mellett.

5. Táblázat. A (±)-15 - (±)-18 Novozym 435-katalizálta gyűrűnyílása

Idő (h)	Konv. (%)	<i>E</i>	$\beta$ -Aminosav			$\beta$ -Laktám			
			Hozam (%)	<i>ee</i> (%)	$[\alpha]_D^{25}$	Hozam (%)	<i>ee</i> (%)	$[\alpha]_D^{25}$	
(±)-15	44	50	>200	11	97	+120 <sup>a</sup>	39	99	+161 <sup>b</sup>
(±)-16	47	50	>200	9	99	-39 <sup>c</sup>	42	99	-29 <sup>d</sup>
(±)-17	20	50	>200	11	96	+6,8 <sup>e</sup>	46	99	-139 <sup>f</sup>
(±)-18	48	52	>200	7	98	-8 <sup>g</sup>	40	96	-121,9 <sup>h</sup>

<sup>a</sup>*c* = 0,27; H<sub>2</sub>O. <sup>b</sup>*c* = 0,29; CHCl<sub>3</sub>. <sup>c</sup>*c* = 0,5; H<sub>2</sub>O. <sup>d</sup>*c* = 0,26; CHCl<sub>3</sub>. <sup>e</sup>*c* = 0,45; H<sub>2</sub>O. <sup>f</sup>*c* = 0,9; EtOH. <sup>g</sup>*c* = 0,1; H<sub>2</sub>O. <sup>h</sup>*c* = 0,5; EtOH.

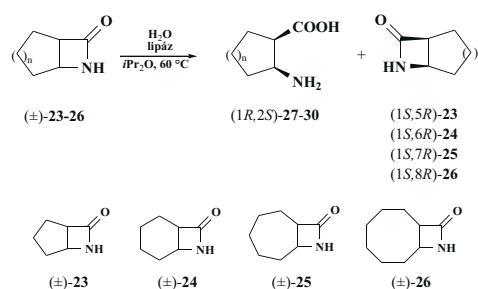
Az átmeneti állapot felderítése érdekében molekula-modellezést végeztünk a fenil-szubsztituált  $\beta$ -laktámra. Azt találtuk, hogy a nukleofil 2-oktanol (víz) "hídként" helyettesíti a hiányzó kulcsfontosságú hidrogénkötést (11. ábra).



11. Ábra. A 2-oktanol szerepe az átmeneti állapot létrejöttében

## II.2. Aliciklussal kondenzált $\beta$ -laktámok lipáz-katalizálta enantioszelektív gyűrűnyílása, a *cisz*-pentacín előállítás

Mivel az előzőekben bemutatott direkt módszer az alacsony termelés ( $\leq$  11%) miatt nem bizonyult alkalmasnak  $\beta$ -aminosav enantiomerek szintézisére, újraterveztük munkánkat, modell vegyületeink a nem aktivált 5,6,7 és 8-tagú aliciklussal kondenzált (±)-23 - (±)-26  $\beta$ -laktámok voltak (12. ábra).<sup>11</sup>



12. Ábra. A (±)-23 - (±)-26 enzim-katalizálta gyűrűnyílása

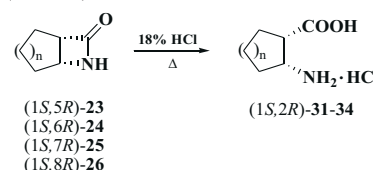
A (±)-23  $\beta$ -laktám Chirazyme L-2 és Lipolase (mindkettő *Candida antarctica* B lipáz: 2240726 Roche; L4777 Sigma-Aldrich) és CAL-A (*Candida antarctica* A lipáz: 11836030 Roche)-katalizálta gyűrűnyílását vízzel, *iPr*<sub>2</sub>O-ben, 60 °C-on végeztük és rendkívül jó enantioszelektivitást tapasztaltunk (*E*  $\gg$  200). A reakciósebesség (50%-os konverzió eléréséhez szükséges idő) növelése céljából, vizsgáltuk a Lipolase enzim és nukleofil mennyiségének hatását és megállapítottuk, hogy az enzim mennyiség növelésével nőtt a reakció sebessége, míg a víz mennyiségének növelésével csökkent. A gramm-mennyiségű enzim rezolválásokhoz 1 ekvivalens vizet és 50 mg/mL enzimet használtunk (6. táblázat).

6. Táblázat. A (±)-23 - (±)-26 Lipolase-katalizálta gyűrűnyílása

Idő (h)	Konv. (%)	<i>E</i>	$\beta$ -Aminosav			$\beta$ -Laktám			
			Hozam (%)	<i>ee</i> (%)	$[\alpha]_D^{25}$	Hozam (%)	<i>ee</i> (%)	$[\alpha]_D^{25}$	
(±)-23	249	48	>200	44	99	-9,1 <sup>a</sup>	42	93	+35,9 <sup>b</sup>
(±)-24	141	50	>200	45	98	-19,4 <sup>a</sup>	45	98	-3,6 <sup>b</sup>
(±)-25	31	50	>200	47	98	-7,2 <sup>a</sup>	41	99	-5,1 <sup>b</sup>
(±)-26	170	50	>200	43	95	+17,8 <sup>c</sup>	36	99	-18 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>*c* = 0,5; H<sub>2</sub>O. <sup>b</sup>*c* = 0,5; CHCl<sub>3</sub>. <sup>c</sup>*c* = 0,4; H<sub>2</sub>O.

A keletkezett  $\beta$ -aminosav és  $\beta$ -laktám enantiomerek elválasztását extrakcióval végeztük, vízben oldódott az aminosav, szerves fázisban a laktám. Látható, hogy a kiváló *ee*-vel jellemzett aminosav enantiomereket igen jó termeléssel ( $\geq$  43%) izoláltuk.



13. Ábra. A  $\beta$ -laktám enantiomerek sósavas gyűrűnyílása

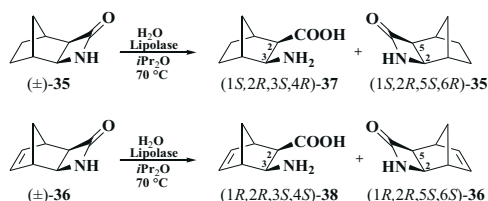
A  $\beta$ -laktám enantiomerekből vizes sósavval pár óráss refluxal nyertük az *ee* csökkenése nélkül a megfelelő aminosav hidrokloridokat (13. ábra, 7. táblázat).

7. Táblázat. Az előállított  $\beta$ -aminosav hidrokloridok fizikai jellemzői

	Enantiomer	ee (%)	$[\alpha]_D^{25}$
ciszpentacin	1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> -31	99	-5,1 (c = 0,5; H <sub>2</sub> O)
	1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> -31	99	+5,2 (c = 0,5; H <sub>2</sub> O)
	1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> -32	99	-8,4 (c = 0,4; H <sub>2</sub> O)
	1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> -32	99	+8,8 (c = 0,3; H <sub>2</sub> O)
	1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> -33	98	-6,1 (c = 0,3; H <sub>2</sub> O)
	1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> -33	99	+6,3 (c = 0,3; H <sub>2</sub> O)
	1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> -34	96	+12,2 (c = 0,5; H <sub>2</sub> O)
	1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> -34	99	-12,9 (c = 0,3; H <sub>2</sub> O)

### II.3. Enantiomertiszta 1,4-etil- és 1,4-etilén-áthidalt ciszpentacin előállítása

Az előzőekben bemutatott direkt enzimes módszert sikeresen alkalmaztuk az 1,4-etil [(1*S*,2*R*,3*S*,4*R*)-37] és 1,4-etilén [(1*R*,2*R*,3*S*,4*S*)-38] -áthidalt *ciszpentacin* származékok előállítására (14. ábra).



14. Ábra. A (±)-35 és (±)-36 enzim-katalizálta gyűrünyitása

Kiváló *E* mellett Lipolase katalízissal (50 mg/mL), víz jelenlétében (1 ekv.), *iPr*<sub>2</sub>O-ben, 70 °C-on nyertük a nagy *ee*-vel jellemzett enantiomereket (8. táblázat).

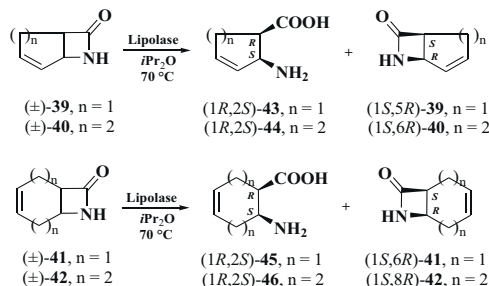
8. Táblázat. A (±)-35 és (±)-36 Lipolase-katalizálta gyűrünyitása

Idő (h)	Konv. (%)	<i>E</i>	$\beta$ -Aminosav			$\beta$ -Laktám			
			Hozam (%)	ee (%)	$[\alpha]_D^{25}$	Hozam (%)	ee (%)	$[\alpha]_D^{25}$	
(±)-35	11	50	>200	46	99	+9,1 <sup>a</sup>	40	99	+64,1 <sup>b</sup>
(±)-36	8	50	>200	46	98	-12,2 <sup>c</sup>	47	99	+123,7 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>c = 0,5; H<sub>2</sub>O. <sup>b</sup>c = 0,5; CHCl<sub>3</sub>. <sup>c</sup>c = 0,4; H<sub>2</sub>O.

### II.4. Telítetlen aliciklussal kondenzált $\beta$ -laktámok lipáz-katalizálta enantioszelektív gyűrünyitása

Telítetlen aliciklussal kondenzált  $\beta$ -laktámok [(±)-39 - (±)-42] Lipolase (50 mg/mL)-katalizált enantioszelektív gyűrünyitását is elvégeztük vízzel (1 ekv.), *iPr*<sub>2</sub>O-ben, 70 °C-on (15. ábra).



15. Ábra. A (±)-39 - (±)-42 enzim-katalizálta gyűrünyitása

A preparatív mennyiségű enzimés rezolválások során azt tapasztaltuk, hogy a reakciók 50%-os konverzióval leálltak (*E* » 200). A termékeket kiváló termeléssel ( $\geq 45\%$ ) és *ee*-vel ( $\geq 95\%$ ) izoláltuk (9. táblázat).

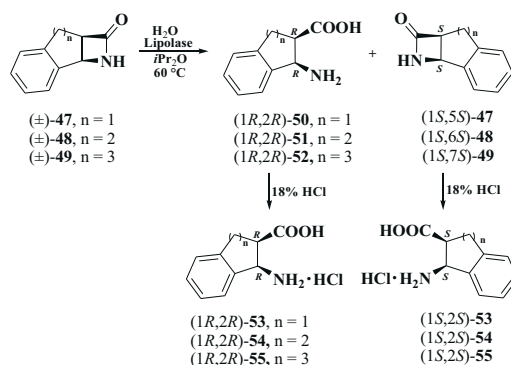
9. Táblázat. A (±)-39 - (±)-42 Lipolase-katalizálta gyűrünyitása

Idő (h)	Konv. (%)	<i>E</i>	$\beta$ -Aminosav			$\beta$ -Laktám			
			Hozam (%)	ee (%)	$[\alpha]_D^{25}$	Hozam (%)	ee (%)	$[\alpha]_D^{25}$	
(±)-39	5	51	>200	96	97	+96,7 <sup>a</sup>	48	99	-34,8 <sup>b</sup>
(±)-40	5	50	>200	98	99	+121,1 <sup>c</sup>	48	99	+161,1 <sup>b</sup>
(±)-41	4,5	50	>200	99	96	-38,8 <sup>c</sup>	48	99	-29,1 <sup>b</sup>
(±)-42	7	51	>200	95	98	+23,9 <sup>c</sup>	47	99	-24,9 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>c = 0,3; H<sub>2</sub>O. <sup>b</sup>c = 0,45; CHCl<sub>3</sub>. <sup>c</sup>c = 0,3; H<sub>2</sub>O. <sup>d</sup>c = 0,3; CHCl<sub>3</sub>.

### II.5. Enantiomertiszta 1-aminoindán-2-karbonsav (benzociszpentacin) és hat- ill. 7-tagú homológjainak előállítása

Jelenleg az 1-aminoindán-2-karbonsav (*benzociszpentacin*), és 6- ill. 7-tagú homológjainak enantiomertiszta formában történő előállításán dolgozunk (16. ábra).



16. Ábra. A (±)-47 - (±)-49 enzim-katalizálta gyűrünyitása

A gramm-mennyiségű rezolválásokat az optimalizált körülmények között (Lipolase katalízissal, H<sub>2</sub>O-el, *iPr*<sub>2</sub>O-ben, 60 °C-on) végeztük és a kiváló enantioszelektivitással (*E* » 200) jellemzett reakciókból igen jó termelés mellett ( $\geq 42\%$ ), kiváló *ee*-vel ( $\geq 97\%$ ) izoláltuk a termékeket (9. táblázat).



9. Táblázat. A (±)-47 - (±)-49 Lipolase-katalizálta gyűrűnyitása

	Idő (h)	Konv. (%)	<i>E</i>	β-Aminosav		β-Laktám	
				Hozam (%)	ee (%)	Hozam (%)	ee (%)
(±)-47	6	50	>200	42	97	44	99
(±)-48	54	50	>200	45	99	45	99
(±)-49	51	51	>200	46	98	47	99

### Köszönetnyilvánítás

A szerző köszönetet mond az OTKA támogatásáért (grant T46440). Köszönetét fejezi ki továbbá Fülöp Ferenc, Liisa T. Kanerva., Romas J. Kazlauskas professzoroknak a munkák sikeres elvégzéséhez nyújtott segítségükért.

### Összefoglalás

Új, direkt és indirekt enzimikus módszereket dolgoztunk ki enantiomertiszta β-laktámok és β-aminosavak előállítására.<sup>15</sup>

### Hivatkozások

- Martinek, T.; Tóth, G.K.; Vass, E.; Hollósi, M.; Fülöp, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1718-1721; Fülöp, F.; Forró, E.; Tóth, G.K. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4239-4241.
- Szakonyi, Z.; Martinek, T.; Hetényi, A.; Fülöp, F. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 4571-4579.
- Gedey, S.; Van der Eycken, J.; Fülöp, F. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1967-1969.
- Szakonyi, Z.; Gyónfalvi, S.; Forró, E.; Hetényi, A.; Fülöp, F. *közlés alatt*.
- Fülöp, F. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2181-2204.
- Forró, E.; Árvai, J.; Fülöp, F. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 643-649.
- Forró, E.; Fülöp, F. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 2351-2358.
- Pitarch, J.; Pascual-Ahuir, J.; Silla, E.; Tuñón, I. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 761-767; Liu, M.; Sibi, M.P. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 7991-8035.
- Park, S.; Forró, E.; Grewal, H.; Fülöp, F.; Kazlauskas, R.J. *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 986-995.
- Forró, E.; Fülöp, F. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1209-1212.
- Forró, E.; Fülöp, F. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 573-575.
- Forró, E.; Fülöp, F. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 2875-2880.
- P.J. Parsons, N.P. Camp, N. Edwards, L.R. Sumoreeah, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 309-315.
- Brieva, R.; Crich, J. Z.; Sih, C.J. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 1068-1075.
- Forró, E.; Fülöp, F. *Mini Rev. Org. Chem.* **2004**, *1*, 93-102.

### Enzyme-catalysed kinetic resolution of β-lactams: direct and indirect methods

Direct and indirect enzymatic methods have been developed for the preparation of enantiopure cyclic β-amino acids (e.g. cispentacin) or their derivatives and β-lactams through the enzyme-catalysed kinetic resolution of β-lactams in organic solvents.

An indirect method through the lipase PS or lipase AK-catalysed asymmetric acylation of the primary hydroxy group of N-hydroxymethylated β-lactams ( $E \geq 94$ ) or the lipase-catalysed hydrolysis of the corresponding ester derivatives ( $E \geq 89$ ) resulted in the enantiomerically enriched ester and alcohol. The products were separated by column chromatography, and then subjected to further transformations: treatment with  $\text{NH}_4\text{OH}/\text{MeOH}$  afforded the corresponding β-lactams ( $ee \geq 93\%$ ), while treatment with  $\text{HCl}/\text{EtOH}$  furnished the corresponding β-amino ester hydrochlorides ( $ee \geq 81\%$ ).

Az indirekt enzimikus módszer kevésbé hatékony és hosszabb út β-aminosav enantiomerek előállítására, ugyanakkor lehetőséget nyújt a β-laktám mindkét enantiomerének párhuzamos előállítására. A hidroximetilezett β-laktámok PS lipáz vagy AK lipáz-katalizálta aszimmetrikus acilezésével ( $E \geq 94$ ) vagy megfelelő racém észter enantioszelektív hidrolízisével ( $E \geq 89$ ) előállított termék alkohol és észter β-laktámokat oszlopkromatográfiásan választottuk szét, majd  $\text{NH}_4\text{OH}/\text{MeOH}$ -os kevertetéssel, illetve  $\text{HCl}/\text{EtOH}$ -ban történő forralással az enantiomerfelesleg csökkenése nélkül előállítottuk a kívánt β-laktám ( $ee \geq 93\%$ ) és β-aminosav etilészter hidroklorid ( $ee \geq 81\%$ ) enantiomereket.

A direkt enzimikus módszer hatékony és egyszerű út β-aminosav enantiomerek előállítására. A Chirazyme L-2 vagy Lipolase enzimek katalizálta enantioszelektív gyűrűnyitás ( $E \gg 200$ ) eredményezte termék β-aminosav ( $ee \geq 95\%$ ) és β-laktám ( $ee \geq 93\%$ ) enantiomereket szerves-vizes extrakcióval választottuk szét. Valamennyi, igen magas termelés mellett ( $\geq 40\%$ ) izolált vegyületet vízes sósav oldattal a kívánt β-aminosav hidroklorid enantiomerekké (pl. *cispentacin*) alakítottuk ( $ee \geq 95\%$ ).

The indirect enzymatic method for the preparation of enantiopure β-amino acids or derivatives is a somewhat less efficient and longer procedure, but it ensures the simultaneous preparation of both β-lactam enantiomers.

The direct enzymatic procedure through the Chirazyme L-2 or Lipolase-catalysed enantioselective ring opening of inactivated β-lactams in an organic solvent proved to be a very simple and efficient method for the preparation of enantiopure cyclic β-amino acids (e.g. cispentacin) ( $E \gg 200$ ). The resolved products, obtained in good chemical yield ( $\geq 40\%$ ), could be easily separated. Transformations of β-lactam enantiomers by ring opening with 18% aqueous  $\text{HCl}$  gave the enantiomers of the desired β-amino acid hydrochlorides ( $ee \geq 95\%$ ).