

β -Laktámok enzim-katalizálta kinetikus rezolválása: direkt és indirekt módszerek*

FORRÓ Enikő

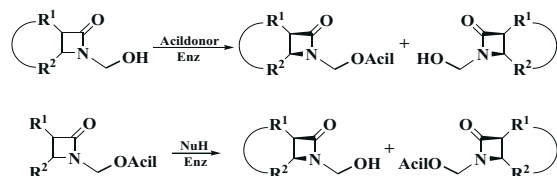
Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerkémiai Intézet, 6720 Szeged, Eötvös utca 6.

forro@pharm.u-szeged.hu

Bevezetés

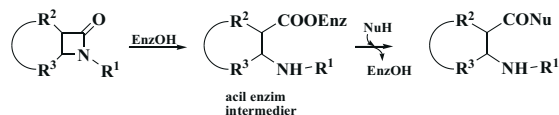
A királis vegyületek, természetes anyagok előállítása iránt mutatott érdeklődéssel összhangban, intézeti fő profilunknak megfelelően enantiomertiszta β -laktámok és β -aminosavak előállítási lehetőségeit vizsgáltuk. Mind a β -laktámok mind pedig a β -aminosavak széleskörű felhasználással bírnak a peptid-,¹ heterociklusos-,² kombinatorikus-,³ alkaloidkémia⁴ területén, ugyanakkor önmagukban is farmakológiai hatás hordozói lehetnek (pl. a ciszpentacin jelentős gombaellenes hatású).⁵

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



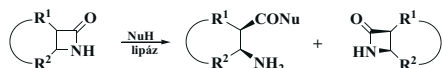
1. Ábra. Indirekt enzimikus módszerek

Míg a β -laktám gyűrű N_1 - C_2 kötésének β -laktamázokkal történő enantioszelektív hasítása az irodalomból jól ismert (2. ábra),⁸ 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 β -laktámok enantioszelektív gyűrűnyitása megvalósítható (3. ábra). Az előkísérletek során vizsgáltuk különböző lipázok, nukleofilek, oldószerek, hőmérséklet, *stb.* enantioszelektivitásra és reakciósebességre gyakorolt hatását.⁹⁻¹²

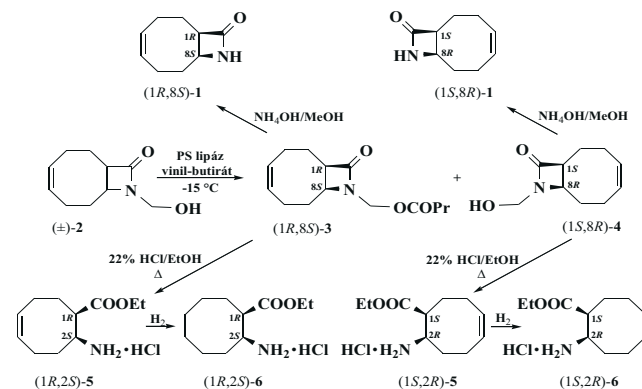


3. Ábra. Direkt enzimikus módszerek lipázzal

I. Indirekt enzimikus módszerek

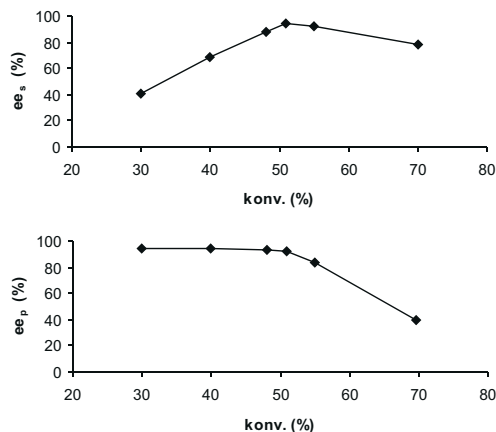
I.1. Aliciklussal kondenzált β -laktámok enzim-katalizálta kinetikus rezolválása

Parsons és munkatársai közölték az *Anabaena flos aqua* édesvízi kék algából izolált Anatoxin-*a*, egy neurotoxikus alkaloid totál szintézisét.¹³ Az anatoxin-*a* enantiomerek formális totál szintézisének megoldásához célul tűztük ki az intermedier (1*R*,8*S*)- és (1*S*,8*R*)-9-azabicyclo[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 β -laktám [(±)-2] gramm-mennyiségű 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: $E = 94$).⁵



5. Ábra. Kísérletes ee értékek konverzió függése

*Zemplén Géza ifjúsági díj 2004 átadási ünnepségén elhangzott előadás anyaga

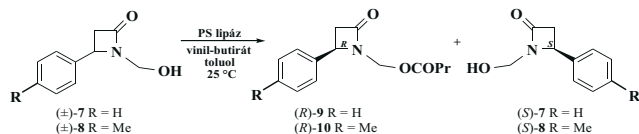
A termék észter (1*R*,8*S*)-**3** és el nem reagált alkohol (1*S*,8*R*)-**4** enantiomerekből előállítottuk a kívánt Anatoxin-*a* intermedier (1*R*,8*S*)-**1** és (1*S*,8*R*)-**1** enantiomereket (*ee* ≥ 93%) valamint az új telítetlen (1*R*,2*S*)-**5** és (1*S*,2*R*)-**5** és telített (1*R*,2*S*)-**6**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

1. Táblázat. Az előállított enantiomerek fizikai jellemzői

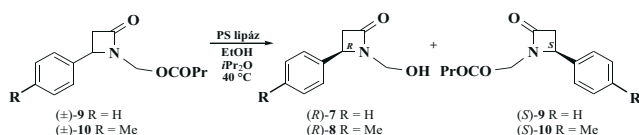
Enantiomer	ee (%)	[α] _D ²⁰
(1 <i>R</i> ,8 <i>S</i>)- 1	93	+19,8 (c=0,35; MeOH)
(1 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)- 1	99	-20,2 (c=0,35; MeOH)
(1 <i>R</i> ,8 <i>S</i>)- 3	92	-29,5 (c=1; MeOH)
(1 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)- 4	97	-27,0 (c=1; MeOH)
(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)- 5	81	-1,5 (c=1; EtOH)
(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)- 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 rezolválát 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.⁷



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



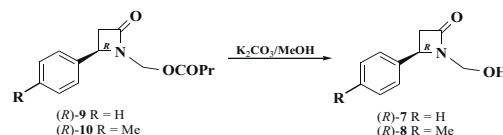
7. Ábra. A (±)-**9** és (±)-**10** enzim-katalizálta aszimmetrikus debutyrylációja

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 K₂CO₃/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 [(<i>S</i>)- 7 és (<i>S</i>)- 8]			Észter [(<i>R</i>)- 9 és (<i>R</i>)- 10]		
				Hozam (%)	ee (%)	[α] _D ²⁵	Hozam (%)	ee (%)	[α] _D ²⁵
(±)- 7	1,5	50	>200	39	98	-166,7 ^{ad}	40	97	+61,4 ^a
(±)- 8	1,5	52	57	28	95	-168 ^b	44	88	+43,5 ^a

^ac = 1; EtOH. ^bc = 0,5; EtOH.



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

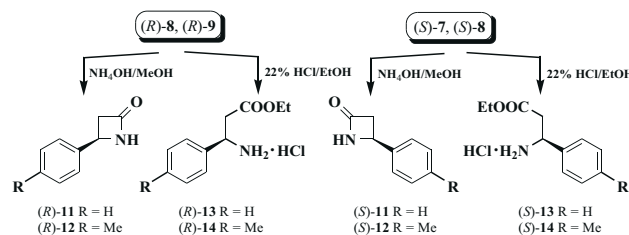
A (±)-**9** és (±)-**10** (0,1 M) PS lipáz (30 mg/mL)-katalizálta hidrolíziséet etanollal diizopropil-éterben (1:10), 40 °C-on végeztük (3. táblázat).

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

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

^ac = 0, 35; EtOH. ^bc = 0, 65; EtOH. ^cc = 0,3; EtOH. ^dc = 1; EtOH.

Az (S)-**7**, (S)-**8**, (R)-**8** és (R)-**9** enantiomerekből NH₄OH/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

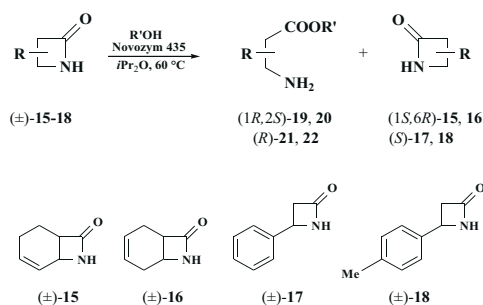
Enantiomer	ee (%)	[α] _D ²⁵
(R)- 11	97	+132,4 (c=0,5; EtOH)
(S)- 11	99	-136,3 (c=0,5; EtOH)
(R)- 12	96	+122 (c=0,5; EtOH)
(S)- 12	99	-125,5 (c=0,5; EtOH)
(R)- 13	95	-11,4 (c=0,35; EtOH)
(S)- 13	96	+11,8 (c=0,5; EtOH)
(R)- 14	92	-11,8 (c=0,5; EtOH)
(S)- 14	97	+12,9 (c=1,9; EtOH)

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.⁹ Érdekes megjegyezni, hogy Brieva és munkatársai a *cisz*-1-benzoil-3-acetoxi-4-fenil-azetidín-2-on enzimikus hidrolízise során, mellékreakcióként az aktivált β -laktám gyűrűnyílását tapasztalták.¹⁴



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

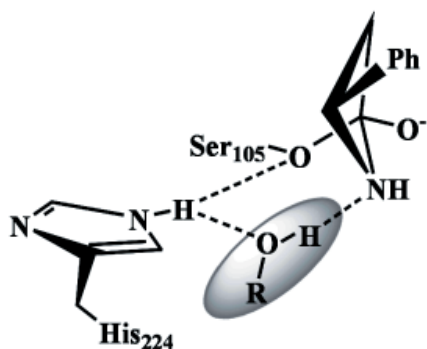
Vizsgáltuk a nukleofil alkohol típusának, oldószernek és hőmérsékletnek az enantioszelektivitásra és reakció sebességére gyakorolt hatását. Az optimalizált körülmények között (2-oktanolal, *iPr*₂O-ben, 60 °C-on) elvégeztük a gramm-mennyiségű rezolválásokat (5. táblázat). Meglepetésünkre a várt aminosav észter helyett (melyet nem tudtuk izolálni, feltehetően továbbalakult hidrolízis, részben pedig polimerizáció következtében), β -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>	β -Aminosav			β -Laktám		
				Hozam (%)	<i>ee</i> (%)	$[\alpha]_D^{25}$	Hozam (%)	<i>ee</i> (%)	$[\alpha]_D^{25}$
(±)-15	44	50	>200	11	97	+120 ^a	39	99	+161 ^b
(±)-16	47	50	>200	9	99	-39 ^c	42	99	-29 ^d
(±)-17	20	50	>200	11	96	+6,8 ^e	46	99	-139 ^f
(±)-18	48	52	>200	7	98	-8 ^g	40	96	-121,9 ^h

^ac = 0,27; H₂O. ^bc = 0,29; CHCl₃. ^cc = 0,5; H₂O. ^dc = 0,26; CHCl₃. ^ec = 0,45; H₂O. ^fc = 0,9; EtOH. ^gc = 0,1; H₂O. ^hc = 0,5; EtOH.

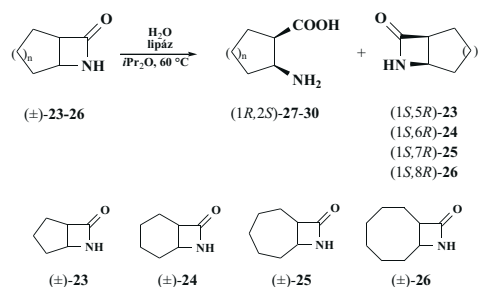
Az átmeneti állapot felderítése érdekében molekula-modellezést végeztünk a fenil-szubsztituált β -laktámra. Azt találtuk, hogy a nukleofil 2-oktanol (víz) "hídként" helyettesíti a hiányzó kulcsfontosságú hidrogénkötést (11. ábra).



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

II.2. Aliciklussal kondenzált β -laktámok lipáz-katalizálta enantioszelektív gyűrűnyílása, a ciszpentacín előállítás

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



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

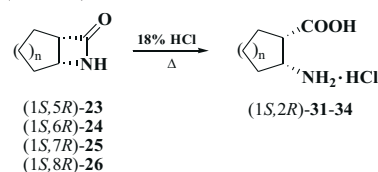
A (±)-23 β -laktám Chirazyme L-2 és Lipolase (mindkettő *Candida antarctica* B lipáz: 2240726 Roche; L4777 Sigma-Aldrich) és CAL-A (*Candida antarctica* A lipáz: 11836030 Roche)-katalizálta gyűrűnyílását vízzel, *iPr*₂O-ben, 60 °C-on végeztük és rendkívül jó enantioszelektivitást tapasztaltunk (*E* $\gg$ 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 enzimikus 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>	β -Aminosav			β -Laktám		
				Hozam (%)	<i>ee</i> (%)	$[\alpha]_D^{25}$	Hozam (%)	<i>ee</i> (%)	$[\alpha]_D^{25}$
(±)-23	249	48	>200	44	99	-9,1 ^a	42	93	+35,9 ^b
(±)-24	141	50	>200	45	98	-19,4 ^a	45	98	-3,6 ^b
(±)-25	31	50	>200	47	98	-7,2 ^a	41	99	-5,1 ^b
(±)-26	170	50	>200	43	95	+17,8 ^c	36	99	-18 ^b

^ac = 0,5; H₂O. ^bc = 0,5; CHCl₃. ^cc = 0,4; H₂O.

A keletkezett β -aminosav és β -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 β -laktám enantiomerek sósavas gyűrűnyílása

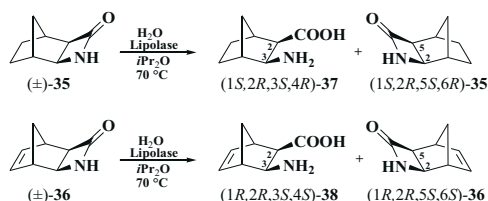
A β -laktám enantiomerekből vizes sósavval pár órás refluxal nyertük az *ee* csökkenése nélkül a megfelelő aminosav hidrokloridokat (13. ábra, 7. táblázat).

7. Táblázat. Az előállított β -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 ₂ O)
	1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> - 31	99	+5,2 (c = 0,5; H ₂ O)
	1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> - 32	99	-8,4 (c = 0,4; H ₂ O)
	1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> - 32	99	+8,8 (c = 0,3; H ₂ O)
	1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> - 33	98	-6,1 (c = 0,3; H ₂ O)
	1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> - 33	99	+6,3 (c = 0,3; H ₂ O)
	1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> - 34	96	+12,2 (c = 0,5; H ₂ O)
	1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> - 34	99	-12,9 (c = 0,3; H ₂ 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 gyűrűnyitása

Kiváló *E* mellett Lipolase katalízissal (50 mg/mL), víz jelenlétében (1 ekv.), *i*Pr₂O-ben, 70 °C-on nyertük a nagy *ee*-vel jellemzett enantiomereket (8. táblázat).

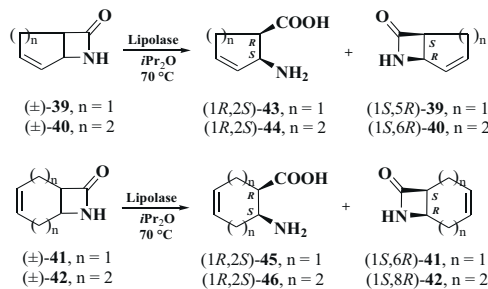
8. Táblázat. A (±)-**35** és (±)-**36** Lipolase-katalizálta gyűrűnyitása

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

^ac = 0,5; H₂O. ^bc = 0,5; CHCl₃. ^cc = 0,4; H₂O.

II.4. Telítetlen aliciklussal kondenzált β-laktámok lipáz-katalizálta enantioszelektív gyűrűnyitása

Telítetlen aliciklussal kondenzált β-laktámok [(±)-**39** - (±)-**42**] Lipolase (50 mg/mL)-katalizált enantioszelektív gyűrűnyitását is elvégeztük vízzel (1 ekv.), *i*Pr₂O-ben, 70 °C-on (15. ábra).



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

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

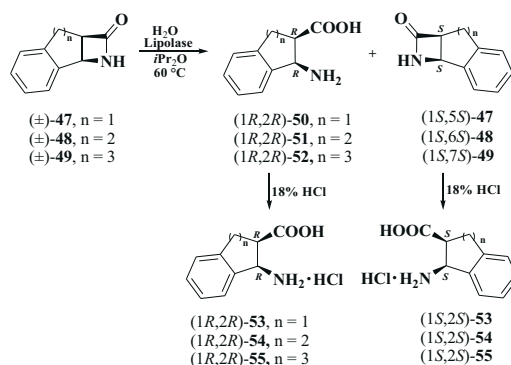
9. Táblázat. A (±)-**39** - (±)-**42** Lipolase-katalizálta gyűrűnyitása

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

^ac = 0,3; H₂O. ^bc = 0,45; CHCl₃. ^cc = 0,3; H₂O. ^dc = 0,3; CHCl₃.

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 gyűrűnyitása

A gramm-mennyiségű rezolválásokat az optimalizált körülmények között (Lipolase katalízissal, H₂O-el, *i*Pr₂O-ben, 60 °C-on) végeztük és a kiváló enantioszelektivitással (*E* » 200) jellemzett reakciókból igen jó termelés mellett (≥ 42%), kiváló *ee*-vel (≥ 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 enzimes módszereket dolgoztunk ki enantiomertiszta β-laktámok és β-aminosavak előállítására.¹⁵

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.; Árva, 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* ≥ 94) or the lipase-catalysed hydrolysis of the corresponding ester derivatives (*E* ≥ 89) resulted in the enantiomerically enriched ester and alcohol. The products were separated by column chromatography, and then subjected to further transformations: treatment with NH₄OH/MeOH afforded the corresponding β-lactams (*ee* ≥ 93%), while treatment with HCl/EtOH furnished the corresponding β-amino ester hydrochlorides (*ee* ≥ 81%).

Az indirekt enzimes 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* ≥ 94) vagy megfelelő racém észter enantioszelektív hidrolízisével (*E* ≥ 89) előállított termék alkohol és észter β-laktámokat oszlopkromatográfiásan választottuk szét, majd NH₄OH/MeOH-os kevertetéssel, illetve HCl/EtOH-ban történő forralással az enantiomerfelesleg csökkenése nélkül előállítottuk a kívánt β-laktám (*ee* ≥ 93%) és β-aminosav etilészter hidroklorid (*ee* ≥ 81%) enantiomereket.

A direkt enzimes módszer hatékony és egyszerű út β-aminosav enantiomerek előállítására. A Chirazyme L-2 vagy Lipolase enzimek katalizálta enantioszelektív gyűrűnyitás (*E* » 200) eredményezte termék β-aminosav (*ee* ≥ 95%) és β-laktám (*ee* ≥ 93%) enantiomereket szerves-vizes extrakcióval választottuk szét. Valamennyi, igen magas termelés mellett (≥ 40%) izolált vegyületet vizes sósav oldattal a kívánt β-aminosav hidroklorid enantiomerekké (pl. *cispentacin*) alakítottuk (*ee* ≥ 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* » 200). The resolved products, obtained in good chemical yield (≥ 40%), could be easily separated. Transformations of β-lactam enantiomers by ring opening with 18% aqueous HCl gave the enantiomers of the desired β-amino acid hydrochlorides (*ee* ≥ 95%).