氰化钠和醛及苦杏仁粗酶一锅法合成手性氰醇

郑祖彪 姚璐璐 李忠洲 李新军 邹新琢*

(华东师范大学化学系 上海 200062)

摘要 直接使用固体氰化钠代替易挥发的 HCN 为氰源, 用来源于苦杏仁的(*R*)-醇腈酶粗酶催化和醛的反应, 并加入足量的 HOAc 来抑制非酶促反应和手性氰醇产物的外消旋化, 一锅法合成了手性氰醇. 考察了酸、(*R*)-醇腈酶粗酶、水、氰化钠和反应温度等因素对反应的影响. 大部分反应底物的产物的产率及 *ee* 值都大于 95%. 该方法简单、安全、低成本、高对映选择性和收率, 具有很好的应用价值.

关键词 氰化钠; (*R*)-醇腈酶; 一锅法; 不对称合成; 醛; 手性氰醇

Direct Use of NaCN and Aldehydes in One-Pot Asymmetric Synthesis of Cyanohydrins by Crude (*R*)-Oxynitrilase

Zheng, Zubiao Yao, Lulu Li, Zhongzhou Li, Xinjun Zou, Xinzhuo*

(Department of Chemistry, East China Normal University, Shanghai 200062)

Abstract Solid sodium cyanide (NaCN) could be directly used to substitute volatile HCN as cyanide source in the one-pot asymmetric cyanohydrin synthesis of aldehydes catalyzed by crude (*R*)-oxynitrilase from almond with enough acetic acid to restrain the nonenzymatic reaction and racemization of chiral cyanohydrins. The effects of acid, crude (*R*)-oxynitrilase, volume ratio of water phase, NaCN and reaction temperature on the reaction were investigated. The yields and enantiomeric excess of most of products are higher than 95%. The proposed method has a high application value because of its simplicity, safety, and low cost as well as excellent enantioselectivities and yields.

Keywords NaCN; (*R*)-oxynitrilase; one-pot; asymmetric synthesis; aldehydes; cyanohydrin

手性氰醇及其酯是一类在不对称合成研究中有重要价值的手性源^[1~3]. 由于它易转化为手性 α -羟基酸(酯)- α -氨基酸、 β -氨基醇等具有重要商业价值的医药和农药中间体^[4~8], 因此其不对称合成方法一直受到学术界和工业界的高度重视. 手性氰醇的不对称合成一般需要手性金属配合物催化剂^[9,10]或生物催化剂^[11,12]. 后者由于来源丰富, 催化效率高, 反应条件温和, 产率和光学纯度高, 底物适用范围广等特点而受到重视^[13,14]. 其中利用从苦杏仁中提取的羟腈裂解酶(Hydroxynitrile lyase, 简称HNL)作为生物催化剂来催化HCN和苯甲醛加成制备扁桃腈的反应, 最早可追溯到1908年^[15], 但对该反应的各种改进至今仍在进行中^[16~19]. 作为该反应中直接使用的氰供体, 由于具有价廉、反应易控制等特点, 剧毒的氰化氢气体仍是首选^[15~26]; 价高、低沸点液体的剧毒物丙酮氰醇由于使用比氰化氢气体略为方便也常被使用^[27~30]. 安全性问题制约该反应的应用和

发展, 因此开发使用低挥发性氰供体如 KCN 或 NaCN 的反应体系, 尤其在工业规模制备中更显重要^[31]. 本文报道在反应中直接使用固体氰化钠代替易挥发的 HCN 和丙酮氰醇为氰源, 用苦杏仁粗酶催化其和醛的反应, 一锅法合成手性氰醇.

1 实验部分

¹H NMR 由 varian INOVA-500 型核磁共振仪测定, 内标为 TMS; 旋光数据由 Pekin Eimer instruments Model 343 Polarimeter 测定; *ee* 值用手性柱 CPcyclodextrin- β -2,3,6-M-19 (Chrompack, 0.25 mm $\times$ 25 m) column 测定(进样器: 250 $^{\circ}$ C, 检测器: 260 $^{\circ}$ C); 熔点由 Yanano MP 500 熔点仪测定(未校正); 试剂为市售品, 按常规方法进行纯化处理.

1.1 苦杏仁醇腈酶粗酶的制备

市售干燥苦杏仁 10 g 在纯净水中浸泡 2 h 后, 去表

* E-mail: xzzou@chem.ecnu.edu.cn

Received December 27, 2011; revised February 21, 2012; published online March 9, 2012.

皮, 粉碎, 乙酸乙酯脱脂 3 次后, 得白色苦杏仁醇腈酶粗酶 4 g, 置于冰箱中保存备用。

1.2 外消旋乙酸酐醇酯的合成

取醛或酮 2.0 mmol, 亚硫酸氢钠 0.21 g (2 mmol), 四丁溴化铵 0.1 g (0.3 mmol), 环己烷 5 mL, 水 1 mL, 混合室温搅拌 1 h 后, 向体系中加入氰化钠 0.2 g (4.0 mmol) 和吡啶 0.16 g (2.0 mmol), 室温反应 0.5 h, 滴加乙酸酐 0.4 g (4.0 mmol), 反应过夜。分离去水层, 乙酸乙酯萃取, 饱和氯化钠溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 除溶剂, 得无色粗产物。柱色谱分离[淋洗液: $V(\text{石油醚})/V(\text{乙酸乙酯})=10/1$]得无色液体。分离产物经 GC 检测确定其 *R/S*-异构体的出峰时间。

1.3 手性乙酸酐醇酯 3a~3r 的合成

取氰化钠 0.18 g (3.6 mmol), 苦杏仁醇腈酶粗酶 0.5 g, 水 5 mL, 异丙醚 9 mL 于 25 mL 单颈瓶中混合密封, 冰水浴中加入冰醋酸 0.24 g (4.0 mmol), 搅拌均匀后, 用注射器滴加底物醛或酮 **1a~1r** 3.0 mmol 和异丙醚 1 mL 的混合溶液, 滴毕后, 搅拌反应 48 h。反应液用 10 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 加入乙酸酐 1.02 g (10 mmol) 和吡啶 0.79 g (10 mmol), 室温反应 3 h。加入水 10 mL, 分去水层, 油层经饱和氯化钠溶液洗涤, 干燥, 除溶剂后得无色粗产物, 柱色谱分离[淋洗液: $V(\text{石油醚})/V(\text{乙酸乙酯})=10/1$]得无色液体。分离产物经 GC 检测其光学纯度。

(*R*)-(+)- α -乙酰氧基-2-苯基乙腈(**3a**): 无色液体 0.51 g, 产率 98%, GC 检测 99% *ee*, 柱温: 130 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=20.8$ min, $t_{\text{minor}}=22.9$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}+6.3$ (*c* 0.092, CHCl_3) [lit.^[10] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}-6.2$ (*c* 1, CHCl_3) for (*S*)-**3a** with 96% *ee*]; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 2.17 (s, 3H, CH_3), 6.41 (s, 1H, CHCN), 7.44~7.46 (m, 3H, ArH), 7.51~7.53 (m, 2H, ArH)。

(*R*)-(-)- α -乙酰氧基-2-(4-甲氧基苯基)乙腈(**3b**): 无色液体 0.58 g, 产率 95%, GC 检测 99% *ee*, 柱温: 140 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=50.7$ min, $t_{\text{minor}}=56.1$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}-7.0$ (*c* 0.51, CHCl_3) [lit.^[33] $[\alpha]_{\text{D}}^{26}+6.77$ (*c* 0.69, CHCl_3) for (*S*)-**3b** with 98% *ee*]; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 2.14 (s, 3H, CH_3), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 6.36 (s, 1H, CHCN), 6.95 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, ArH), 7.45 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, ArH)。

(*R*)-(+)- α -乙酰氧基-2-(3-甲氧基苯基)乙腈(**3c**): 无色液体 0.57 g, 产率 92%, GC 检测 99% *ee*, 柱温: 140 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=40.8$ min, $t_{\text{minor}}=43.4$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}+5.0$ (*c* 0.85, CHCl_3) [lit.^[34] $[\alpha]_{\text{D}}^{20}+4.8$ (*c* 1.0, CHCl_3) for (*R*)-**3c** with 94% *ee*]; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 2.18 (s, 3H, CH_3), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 6.38 (s,

1H, CHCN), 6.99 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, ArH), 7.03 (bs, 1H, ArH), 7.09 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, ArH), 7.36 (t, $J=8.1$ Hz, 1H, ArH)。

(*R*)-(+)- α -乙酰氧基-2-(2-甲氧基苯基)乙腈(**3d**): 无色液体 0.58 g, 产率 95%, GC 检测 98% *ee*, 柱温: 133 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{minor}}=51.5$ min, $t_{\text{major}}=52.8$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}+21.0$ (*c* 0.45, CHCl_3) [lit.^[35] $[\alpha]_{\text{D}}^{20}-19.6$ (*c* 1.6, CHCl_3) for (*S*)-**3d** with 77% *ee*]; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 2.17 (s, 3H, CH_3), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 6.71 (s, 1H, CHCN), 6.94 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.04 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.43 (t, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.57 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, ArH)。

(*R*)-(+)- α -乙酰氧基-2-(4-氟苯基)乙腈(**3e**): 无色液体 0.57 g, 产率 99%, GC 检测 >99% *ee*, 柱温: 140 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=17.5$ min, $t_{\text{minor}}=19.0$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}+3.7$ (*c* 0.80, CHCl_3) [lit.^[33] $[\alpha]_{\text{D}}^{26}-3.5$ (*c* 1.99, CHCl_3) for (*S*)-**3e** with 90% *ee*]; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 2.17 (s, 3H, CH_3), 6.39 (s, 1H, CHCN), 7.15 (t, $J=8.6$ Hz, 2H, ArH), 7.52 (dd, $J=5.2, 8.6$ Hz, 2H, ArH)。

(*R*)-(-)- α -乙酰氧基-2-(4-氯苯基)乙腈(**3f**): 无色液体 0.61 g, 产率 97%, GC 检测 97% *ee*, 柱温: 140 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=33.7$ min, $t_{\text{minor}}=37.4$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}-11.0$ (*c* 0.11, CHCl_3) [lit.^[33] $[\alpha]_{\text{D}}^{20}+8.26$ (*c* 0.58, CHCl_3) for (*S*)-**3f** with 96% *ee*]; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 2.17 (s, 3H, CH_3), 6.38 (s, 1H, CHCN), 7.40~7.50 (m, 4H, ArH)。

(*R*)-(+)- α -乙酰氧基-2-(4-溴苯基)乙腈(**3g**): 无色液体 0.74 g, 产率 98%, GC 检测 99% *ee*, 柱温: 150 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=37.6$ min, $t_{\text{minor}}=40.6$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}-11.6$ (*c* 1.12, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 2.17 (s, 3H, CH_3), 6.36 (s, 1H, CHCN), 7.40 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH), 7.60 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, ArH)^[33]。

(*R*)-(+)- α -乙酰氧基-2-(4-硝基苯基)乙腈(**3h**): 白色固体 0.65 g, 产率 98%。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25}+2.2$ (*c* 2.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 Hz, CDCl_3) δ : 2.22 (s, 3H, CH_3), 6.51 (s, 1H, CHCN), 7.73 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, ArH), 8.32 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, ArH)^[36]。

(*R*)-(+)- α -乙酰氧基-2-(2-氯苯基)乙腈(**3i**): 无色液体 0.61 g, 产率 97%, GC 检测 70% *ee*, 柱温: 120 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=56.8$ min, $t_{\text{minor}}=57.7$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}+25.6$ (*c* 0.12, CHCl_3) [lit.^[10] $[\alpha]_{\text{D}}^{20}-31.8$ (*c* 1, CHCl_3) for (*S*)-**3i** with 90% *ee*]; ^1H NMR (500 Hz, CDCl_3) δ : 2.19 (s, 3H, CH_3), 6.70 (s, 1H, CHCN), 7.47~7.39 (m, 3H, ArH), 7.73~7.71 (m, 1H, ArH)。

(*R*)-(-)- α -乙酰氧基-2-(3,4-亚甲二氧基苯基)乙腈

(**3j**): 无色液体 0.64 g, 产率 98%, GC 检测 99% *ee*, 柱温: 160 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=37.3$ min, $t_{\text{minor}}=39.2$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 15.0$ (*c* 0.27, CHCl₃) [lit.^[35] $[\alpha]_{\text{D}}^{24} + 12.4$ (*c* 0.70, CHCl₃) for (*S*)-**3j** with 91% *ee*]; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 2.15 (s, 3H, CH₃), 6.03 (s, 2H, OCH₂O), 6.31 (s, 1H, CHCN), 6.84 (dd, *J*=0.7, 7.7 Hz, 1H, ArH), 6.98 (s, 1H, ArH), 7.0 (dd, *J*=0.7, 7.7 Hz, 1H, ArH).

(*R*)-(–)- α -乙酰氧基-2-(3-苯氧基苯基)乙腈(**3k**): 无色液体 0.71 g, 产率 89%, GC 检测 93% *ee*, 柱温: 185 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=45.9$ min, $t_{\text{minor}}=46.6$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 4.9$ (*c* 0.83, CHCl₃) [lit.^[10] $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 6.7$ (*c* 1, CHCl₃) for (*S*)-**3k** with 93% *ee*]; ¹H NMR (500 Hz, CDCl₃) δ : 2.17 (s, 3H, CH₃), 6.36 (s, 1H, CHCN), 7.07~7.02 (m, 2H, ArH), 7.19~7.15 (m, 2H, ArH), 7.26~7.23 (m, 1H, ArH), 7.42~7.36 (m, 3H, ArH).

(*R*)-(–)- α -乙酰氧基-2-(4-氟-3-苯氧基苯基)乙腈(**3l**): 无色液体 0.74 g, 产率 87%, GC 检测 85% *ee*, 柱温: 185 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=44.0$ min, $t_{\text{minor}}=44.9$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 6.4$ (*c* 0.58, CHCl₃); ¹H NMR (500 Hz, CDCl₃) δ : 2.17 (s, 3H, CH₃), 6.32 (s, 1H, CHCN), 7.01~7.02 (m, 2H, ArH), 7.17~7.21 (m, 2H, ArH), 7.27~7.30 (m, 2H, ArH), 7.36~7.40 (m, 2H, ArH)^[37].

(*S*)-(–)- α -乙酰氧基-2-(2-呋喃基)乙腈(**3m**): 无色液体 0.49 g, 产率 99%, GC 检测 95% *ee*, 柱温: 130 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=12.1$ min, $t_{\text{minor}}=12.7$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 17.0$ (*c* 0.85, CHCl₃) [lit.^[38] $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 7.8$ (*c* 1.09, CHCl₃) for (*R*)-**3m** with 53% *ee*]; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 2.17 (s, 3H, CH₃), 6.46 (dd, *J*=2.0, 4.0 Hz, 1H, OCH=CH), 6.48 (s, 1H, CHCN), 6.70 (dd, *J*=1.0, 4.0 Hz, 1H, CHCH=CH), 7.52 (dd, *J*=1.0, 2.0 Hz, 1H, OCH=).

(*S*)-(–)- α -乙酰氧基-2-(2-噻吩基)乙腈(**3n**): 无色液体 0.37 g, 产率 67%, GC 检测 98% *ee*, 柱温: 130 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=21.3$ min, $t_{\text{minor}}=22.9$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 10.0$ (*c* 0.26, CHCl₃) [lit.^[35] $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 10.4$ (*c* 0.3, CHCl₃) for (*R*)-**3n** with 99% *ee*]; ¹H NMR (500 Hz, CDCl₃) δ : 2.17 (s, 3H, CH₃), 6.64 (s, 1H, CHCN), 7.05 (dd, *J*=3.6, 5.1 Hz, 1H, SCH=CH), 7.36 (ddd, *J*=1.3, 0.6, 3.6 Hz, 1H, CHCH=), 7.46 (dd, *J*=1.3, 5.1 Hz, 1H, SCH=CH).

(*S*)-(–)- α -乙酰氧基-2-(5-甲基-2-噻吩基)乙腈(**3o**)^[25]: 无色液体 0.32 g, 产率 54%, GC 检测 >99% *ee*, 柱温: 140 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=22.2$ min, $t_{\text{minor}}=23.8$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 15.9$ (*c* 1.21, CHCl₃); ¹H NMR (500 Hz, CDCl₃) δ : 2.17 (s, 3H, CH₃), 2.51 (s, 3H, CH₃), 6.55 (s, 1H, CHCN), 6.70 (d, *J*=3.5 Hz, 1H, CH=), 7.14 (d, *J*=3.5 Hz, 1H, CH=).

(*S*)-(–)- α -乙酰氧基-2-(5-溴-2-噻吩基)乙腈(**3p**): 无色液体 0.62 g, 产率 79%, GC 检测 98% *ee*, 柱温: 140 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=38.9$ min, $t_{\text{minor}}=42.9$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 17.3$ (*c* 2.6, CHCl₃); ¹H NMR (500 Hz, CDCl₃) δ : 2.18 (s, 1H, CH₃), 6.54 (s, 1H, CHCN), 7.02 (d, *J*=3.9 Hz, 1H, CH=), 7.13 (d, *J*=3.9 Hz, 1H, CH=)^[36].

(*R*)-(–)- α -乙酰氧基戊腈(**3q**): 无色液体 0.40 g, 产率 95%, GC 检测 95% *ee*, 柱温: 140 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=7.8$ min, $t_{\text{minor}}=8.3$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 67.5$ (*c* 0.51, CHCl₃); ¹H NMR (500 Hz, CDCl₃) δ : 1.0 (dd, *J*=7.0, 7.5 Hz, 3H, CH₃), 1.50~1.57 (m, 2H, CH₂), 1.86~1.91 (m, 2H, CH₂), 2.14 (s, 3H, CH₃), 5.32 (dd, *J*=6.0, 6.5 Hz, 1H, CHCN)^[39].

(*R*)-(–)- α -乙酰氧基-2-苯基丙腈(**3r**): 无色液体 0.10 g, 产率 17%, GC 检测 80% *ee*, 柱温: 140 °C, 载气: 1.0 mL/min, $t_{\text{major}}=27.6$ min, $t_{\text{minor}}=28.2$ min; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 15.0$ (*c* 0.21, CHCl₃) [lit.^[40] $[\alpha]_{\text{D}}^{24} - 15.2$ (*c* 0.34, CHCl₃) for (*R*)-**3r** with 78% *ee*]; ¹H NMR (500 Hz, CDCl₃) δ : 1.99 (s, 3H, CH₃), 2.14 (s, 3H, CH₃), 7.33~7.53 (m, 5H, ArH).

2 结果与讨论

反应原位直接使用 NaCN 作为氰供体的手性氰醇化反应需要解决如下问题: (1)该反应是可逆反应, 即使得到高 *ee* 值的手性氰醇, 也可能由此发生外消旋化, 导致产物的光学纯度下降; (2) NaCN 需原位加酸才能将其转化为 HCN, 但酸对酶一般会有抑制作用; (3)固体 NaCN 需一定量的水溶解, 但由此产生的 CN[–]容易发生与醛的化学加成反应, 并与酶催化反应竞争^[32], 导致产物的外消旋化。

对于第一个问题, 我们将反应液立即用乙酸乙酯萃取后, 加入乙酸酐和吡啶, 室温反应 3 h, 将手性氰醇转化为其 *O*-乙酰氧基衍生物, 避免了手性氰醇的消旋化, 同时也易于快速测定手性产物的 *ee* 值。

然后, 考察了酸对反应的影响(表 1)。当反应使用柠檬酸/柠檬酸钠缓冲溶液^[24]或 0.8 equiv.的醋酸时, 只得到了外消旋的氰醇产物(表 1, Entries 1 和 2); 当醋酸的用量达到 1.0 equiv.时, α -乙酰氧基-2-苯基乙腈(**3a**)以 98%的收率和 98% *ee* 获得(表 1, Entry 3); 过量的醋酸反而使收率和 *ee* 值下降(表 1, Entry 4), 当使用等量盐酸时, 产物的化学收率可达 97%, 但其 *ee* 值降为 0(表 1, Entry 5)。说明酸对本反应的影响极大。酸的量不足, NaCN 无法全部转化为 HCN, 导致剩余的 CN[–]与醛发生自发的化学加成反应, 只能得到了外消旋的氰醇产物。但强酸或过量的醋酸会破坏醇腈酶分子的活性构象^[41], 使氰醇产物的光学活性下降甚至消失。

表 1 酸对杏仁醇腈酶催化反应的影响^a
Table 1 Effects of acid on enzymatic reaction

Entry	Acid	Yield ^b / % of 3a	ee ^c / % of 3a
1	0.2 mol/L citric buff ^d	47	0
2	HOAc (0.8 equiv.)	89	0
3	HOAc (1.0 equiv.)	98	98
4	HOAc (1.2 equiv.)	96	97
5	HCl (1.0 equiv.)	97	0

^a 反应条件: 苯甲醛(3.0 mmol), 苦杏仁醇腈酶(0.5 g), NaCN (7.5 mmol), 水 (5 mL), 异丙醚(10 mL), 室温, 24 h; 氰醇产物 **2a** 在乙酸酐(10 mmol)和吡啶(10 mmol)中转化为 *O*-乙酰氧基苯乙酯(**3a**); ^b 分离收率; ^c GC 检测; ^d 5 mL 0.2 mol/L 柠檬酸/柠檬酸钠缓冲溶液。

酶的用量对反应的影响也被考察(表 2)。酶的用量对氰化钠在微水体系^[25]中的反应的对映选择性影响较大。在酶的用量为 0.5 g 时, **3a** 的 *ee* 值只有 46%; 使用 1.5 g 的酶, **3a** 也仅有 87% *ee*; 但在该体系中, 加入 5 mL 水后, 酶的用量同为 0.5 g 时, **3a** 就达到了 98% *ee*(表 2, Entries 2 和 4)。在此基础上进一步较详细地考察了水对本反应的影响(表 3)。选择异丙醚作为有机溶剂, 在此加入不同量的水。当水与异丙醚的体积比从 0/15 升到 5/10 时, **3a** 的 *ee* 值也从 46% 升到 98%(表 3, Entries 1~3)。但随着水的比例继续增大, **3a** 的 *ee* 值反而逐步下降(表 3, Entries 3~6)。说明水对本反应的影响也很大。适量的水有助固体于 NaCN 溶解, 反应可更加均匀进行。但过量的水, 也同时有利于氰离子与羰基的直接亲核加成反应, 且产物氰醇在水中会发生消旋化反应, 导致产物 *ee* 值的降低。在本反应体系中, 水与异丙醚的体积比为

表 2 酶的用量对酶催化反应的影响^a
Table 2 Effect of almond meal on enzymatic reaction

Entry	Almond meal/g	Yield ^b / % of 3a	ee ^c / % of 3a
1	0.2	97 (97 ^d)	40 (94 ^d)
2	0.5	97 (98 ^d)	46 (98 ^d)
3	1.0	97 (98 ^d)	83 (97 ^d)
4	1.5	98 (98 ^d)	87 (95 ^d)

^a 反应条件: 苯甲醛(3.0 mmol), NaCN (7.5 mmol), 醋酸(8.0 mmol), 异丙醚 (10 mL), 室温, 24 h; 氰醇产物 **2a** 在乙酸酐(10 mmol)和吡啶(10 mmol)中转化为 *O*-乙酰氧基苯乙酯(**3a**); ^b 分离收率; ^c GC 检测; ^d 5 mL 水被加入反应体系。

表 3 水对酶催化反应的影响
Table 3 Effect of water on enzymatic reaction^a

Entry	<i>V</i> (H ₂ O) : <i>V</i> (<i>i</i> -Pr ₂ O)/ (mL : mL)	Yield ^b / % of 3a	ee ^c / % of 3a
1	0/15	97	46
2	2/13	98	93
3	5/10	98	98
4	7.5/7.5	97	96
5	10/5	98	91
6	13/2	98	81

^a 反应条件: 苯甲醛(3.0 mmol), 苦杏仁醇腈酶(0.5 g), NaCN (7.5 mmol), 醋酸(8.0 mmol), 室温, 24 h; 氰醇产物 **2a** 在乙酸酐(10 mmol)和吡啶(10 mmol)中转化为 *O*-乙酰氧基苯乙酯(**3a**); ^b 分离收率; ^c GC 检测。

5/10 时, 可以被认为是较合适的比例。

另外, 氰化钠的用量和反应温度也被优化。当氰化钠用量从 2.5 equiv. 降为 1.2 equiv. 时, **3a** 的收率可达到 95%, *ee* 值为 98%; 进一步, 反应温度从室温降至冰水浴时, 其收率及 *ee* 值分别从 95% 和 98% 提高至 98% 和 99%。

至此, 我们认为, 反应原位直接使用 NaCN 作为氰供体的手性氰醇化反应可能遇到的问题已得到较好的解决, 确定了较优的反应条件为: 3.0 mmol 醛(酮), 0.5 g 苦杏仁醇腈酶粗酶, 3.6 mmol 氰化钠, 4.0 mmol 醋酸, 10 mL 异丙醚和 5 mL 水在冰水浴条件下反应 48 h。并将其应用扩展到如芳香醛(酮)、呋喃醛、噻吩醛、脂肪醛等有代表性的羰基化合物的反应中。其结果见表 4 所示。

当苯甲醛苯环上的取代基的位阻不是足够大时, 取代基的电子效应似乎对反应的收率和 *ee* 值影响不大。无论是含推电子基团甲氧基的 **1b**~**1d**, 还是含有吸电子基团的卤原子的 **1e**~**1h**, 其氰醇产物 **3b**~**3h** 的产率和 *ee* 值均分别 ≥ 92% 和 ≥ 97%(表 4, Entries 2~7)。例外的是邻氯苯甲醛 **1i**, 尽管其收率仍可达 98%, 但其 *ee* 值只有 70%。说明邻位氯原子可能影响苯甲醛和酶催化中心的配位。对硝基苯甲醛的产物 **3h** 在 GC 未被检测出, 可能是在 GC 检测中被分解, 其旋光值为 $[\alpha]_D^{25} + 2.2$ (*c* 2.0, CHCl₃), 说明手性的存在。当苯环上含有较大基团的醚醛 **1k** 和对氟醚醛 **1l**, 其产物的产率分别只有 14% 和 13%, *ee* 值也仅有 85% 和 75%, 若将反应时间由 48 h 延长至 300 h 后, 产率可分别增加至 89% 和 87%, *ee* 值也可分别提高到 93% 和 85%(表 4, Entries 11~12)。杂环底物呋喃甲醛的氰醇产物 **3m** 的收率和 *ee* 值分别为 99% 和 95%; 噻吩氰醇产物 **3n** 的收率和 *ee* 值与文献[25]报道的结果相似; 5-甲基噻吩甲醛的产物 **3o**, 只有中等产率 54%, 但对映选择性很高, *ee* 值 > 99%; 5-溴噻吩甲醛的产物 **3p** 收率明显高于未取代或甲基取代的产物, 其 98% 的 *ee* 值也高于文献值^[26]的 86%, 这可能是由于溴原子的吸电子效应的作用所致。脂肪醛也适合于该体系, 正丁醛的氰醇产物 **3q** 产率为 95%, *ee* 值为 95%; 但苯乙酮可能由于位阻较大, 其产物 **3r** 只有 17% 产率和 80% *ee*, 与文献报道相似^[24]。

本反应的过程大致可用 Scheme 1 来简单描述。足量的醋酸能和溶解在适量的水中的 NaCN 在原位快速反应生成 HCN, 从而抑制了 CN⁻ 和苯甲醛的化学加成反应。HCN 和苯甲醛在醇腈酶的催化下生成手性氰醇。手性氰醇产物通过室温和快捷的方法转化为 *O*-乙酰氧基衍生物, 脱离了反应的平衡体系, 有效地避免了手性氰醇的进一步分解和外消旋化, 高收率和高对映选择性地获得了目标产物。

表 4 氰化钠和醛及苦杏仁粗酶一锅法合成手性氰醇^aTable 4 Direct use of NaCN and aldehydes in one-pot asymmetric synthesis of cyanohydrins by crude (*R*)-oxynitrilase

Entry	Substrate	Product	Yield ^b /%	ee ^c /%	Entry	Substrate	Product	Yield ^b /%	ee ^c /%
1	1a	3a	98	99	10	1j	3j	98	99
2	1b	3b	95	99	11	1k	3k	12 (89) ^d	85 (93) ^d
3	1c	3c	92	99	12	1l	3l	13 (87) ^d	75 (85) ^d
4	1d	3d	95	98	13	1m	3m	99	95
5	1e	3e	99	>99	14	1n	3n	67	98
6	1f	3f	97	97	15	1o	3o	54	>99
7	1g	3g	98	99	16	1p	3p	79	98
8	1h	3h	98	— ^e	17	1q	3q	95	95
9	1i	3i	97	70	18	1r	3r	17	80

^a 反应条件: 醛(酮)(3.0 mmol), 苦杏仁醇腈酶(0.5 g), NaCN(3.6 mmol), 醋酸(4.0 mmol), 水(5 mL), 异丙醚(10 mL), 冰水浴, 48 h; 氰醇产物 **2a**~**2r** 在乙酸酐(10 mmol)和吡啶(10 mmol)中转化为 *O*-乙酰氧基衍生物 **3a**~**3r**; ^b 分离收率; ^c GC 检测; ^d 反应时间为 300 h; ^e 在 GC 分析中未被检测出。

Scheme 1

综上所述, 上述反应体系实现了用低挥发性的氰化钠代替易挥发性剧毒物的 HCN 和易分解的丙酮氰醇作为氰源, 简单、安全的一锅法操作使这个古老的反应更加发扬光大。再加上苦杏仁酶来源丰富, 催化效率高, 其反应条件温和, 手性氰醇的产率和光学纯度高, 底物适用范围广等特点。所以该方法具有很高的应用价值。

References

- [1] North, M.; Usanov, D. L.; Young, C. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 5146.
- [2] Chen, P. R.; Yan, C.; Zhang, Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2010**, *30*, 662 (in Chinese).
(陈沛然, 颜超, 张怡, 有机化学, **2010**, *30*, 662.)
- [3] Zheng, Z. B.; Li, X. J.; Wang, C. C.; Zou, X. Z. *Chin. J. Org. Chem.* **2011**, *31*, 1624 (in Chinese).
(郑祖彪, 李新军, 王翠翠, 邹新琢, 有机化学, **2011**, *31*, 1624.)
- [4] Breuer, M.; Ditrich, K.; Habicher, T.; Hauer, B.; Kebeler, M.; Stürmer, R.; Zelinski, T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 788.
- [5] Guo, S.; Huang, L. J.; Teng, D. W. *Chem. Rev.* **2009**, *26*, 69 (in Chinese).
(郭帅, 黄龙江, 滕大为, 化学与生物工程, **2009**, *26*, 69.)
- [6] Effenberger, F.; Kremser, A.; Stelzer, U. *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 607.
- [7] Nazabadioko, S.; Pérez, R. J.; Brieva, R.; Gotor, V. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 1597.
- [8] Zheng, Z. B.; Wang, J.; Zhang, D. Y.; Guan, X. X.; Gao, S. X.; Chen, Z. Z.; Zou, X. Z. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 1171.
- [9] Sakai, Y.; Mitote, J.; Matsumoto, K.; Katsuki, T. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 5787.
- [10] Zhang, Z. P.; Wang, Z.; Zhang, R. Z.; Ding, K. L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 6746.
- [11] Brovetto, M.; Gamenara, D.; Mendez, P. S.; Seoane, G. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 4346.
- [12] Gregory, R. J. H. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 3649.
- [13] Cabirol, F. L.; Lim, A. E. C.; Hanefeld, U.; Sheldon, R. A. *Org. Process Res. Dev.* **2010**, *14*, 114.
- [14] Bhunya, R.; Mahapatra, T.; Nanda, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 1526.

- [15] Rosenthaler, L. *Biochem. Z.* **1908**, *14*, 238.
- [16] Bhunya, R.; Jana, N.; Das, T.; Nanda, S. *Synlett* **2009**, 1237.
- [17] Purkarthofer, T.; Skranc, W.; Schuster, C.; Griengl, H. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, *76*, 309.
- [18] Griengl, H.; Hickel, A.; Johnson, D. V.; Kratky, C.; Schmidt, M.; Schwab, H. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1997**, 1933.
- [19] Effenberger, F. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1555.
- [20] Zandbergen, P.; Van der Linden, J.; Brussee, J.; Van der Gen, A. *Synth. Commun.* **1991**, *21*, 1387.
- [21] Becker, W.; Pfeil, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 4299.
- [22] Becker, W.; Freund, H.; Pfeil, E. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1965**, *4*, 1079.
- [23] Effenberger, F.; Ziegler, T.; Forster, S. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 458.
- [24] Han, S. Q.; Lin, G. Q.; Li, Z. Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 1835.
- [25] Chen, P. R.; Han, S. Q.; Lin, G. Q.; Huang, H.; Li, Z. Y. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 3273.
- [26] Chen, P. R.; Han, S. Q.; Lin, G. Q.; Li, Z. Y. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 8251.
- [27] Ueatrongchit, T.; Tamura, K.; Ohmiya, T.; H-Kittikun, A.; Asano, Y. *Enzyme Microb. Technol.* **2010**, *46*, 456.
- [28] Kiljunen, E.; Kanerva, L. T. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 1225.
- [29] Kiljunen, E.; Kanerva, L. T. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 1551.
- [30] Kiljunen, E.; Kanerva, L. T. *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 1105.
- [31] Geng, X. H.; Zhou, H.; Chen, P. R. *Chin. J. Org. Chem.* **2008**, *28*, 1157 (in Chinese).
(耿晓红, 周辉, 陈沛然, 徐青, 有机化学, **2008**, *28*, 1157.)
- [32] Brussee, J.; Roos, E. C.; Van der Gen, A. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 4485.
- [33] Xu, Q.; Xie, Y. L.; Geng, X. H.; Chen, P. R. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 624.
- [34] Belokon, Y. N.; Blacker, A. J.; Clutterbuck, L. A.; Hogg, D.; North, M.; Reeve, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *20*, 4609.
- [35] Schmidt, M.; Hevve, S.; Klempier, N.; Griengl, H. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 7833.
- [36] Kumarswamy, G.; Ankamma, K. *Org. Prep. Proced. Int.* **2008**, *40*, 447.
- [37] Inagaki, M.; Hiratake, J.; Nishioka, T.; Oda, J. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 5643.
- [38] Sakai, T.; Wang, K.; Ema, T. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 2178.
- [39] Ohta, H.; Hiraga, S.; Miyamoto, K.; Tsuchihashi, G. *Agric. Biol. Chem.* **1988**, *52*, 3023.
- [40] Lin, G. Q.; Han, S. Q.; Li, Z. Y. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 3531.
- [41] Liu, S. L.; Zong, M. H.; Tu, R.; Zhou, F. *Prog. Biochem. Biophys.* **2001**, *28*, 542 (in Chinese).
(刘森林, 宗敏华, 涂然, 周番, 生物化学与生物物理进展, **2001**, *28*, 542.)

(Li, L.; Lu, Z.)