

Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych

Polskiej Akademii Nauk w Łodzi



*Nowe zastosowania metod biokatalitycznych w asymetrycznej
syntezie związków heteroorganicznych przy wykorzystaniu
ene-reduktaz oraz katalitycznego promiskuityzmu enzymów*

mgr inż. Ignacy Janicki

Streszczenie

Promotor pracy: prof. dr hab. inż. Piotr Kielbasiński

Promotor pomocniczy: dr inż. Małgorzata Kwiatkowska

Łódź 2020

Przedstawiona dysertacja prezentuje nowe możliwości zastosowania enzymów z grupy ene-reduktaz w syntezie chiralnych fosfonianów oraz nowy przykład zastosowania katalitycznego promiskuityzmu enzymów w reakcji aza-Henry'ego. W ramach badań związanych z zastosowaniem ene-reduktaz, zaprezentowano również nową metodę syntezy (*Z*)- α,β -nienasyconych fosfonianów na drodze reakcji Stilla-Gennariego oraz przykład zastosowania komórek grzybów strzępkowych *Mucor circinelloides* do asymetrycznej redukcji wiązań podwójnych węgiel-węgiel α,β -nienasyconych γ -ketofosfonianów, gdzie również zaobserwowano asymetryczną redukcję grupy karbonyłowej.

Najważniejszymi osiągnięciami pracy są:

- Wykorzystanie izolowanych enzymów z grupy ene-reduktaz do przeprowadzenia enzymatycznej asymetrycznej redukcji wiązań podwójnych węgiel-węgiel α,β -nienasyconych fosfonianów – w badaniach udowodniono możliwość zastosowania ene-reduktaz do transformacji wymienionych związków (rozdział 3.1.). Wszystkie przeprowadzone biotransformacje zachodziły ze znakomitą stereoselektywnością, co potwierdza wysoki potencjał zastosowania ene-reduktaz w syntezie asymetrycznej. Ponadto uzyskano wgląd w mechanizm przeprowadzanych transformacji na drodze eksperymentu wykorzystującego znakowanie deuterem oraz obliczeń teoretycznych z wykorzystaniem programu AutoDock 4.2.
- Opracowanie nowej metody syntezy (*Z*)- α,β -nienasyconych fosfonianów na drodze reakcji Stilla-Gennariego oraz wykazanie możliwości kontroli przebiegu stereochemicznego katalizowanej ene-reduktazami redukcji uzyskanych związków (rozdział 3.2.). Opracowano metodę otrzymywania (*Z*)- α,β -nienasyconych fosfonianów wcześniej nieopisanych w literaturze. W badaniach wykazano, że w reakcji katalizowanej enzymem OYE3 substrat (*E*)-**1e** jest redukowany do produktu (+)-**9e**, natomiast substrat (*Z*)-**1e** do produktu o przeciwnej konfiguracji absolutnej (-)-**9e**, co potwierdza możliwość zastosowania ene-reduktaz jako metody „stereokomplementarnej” w redukcji α,β -nienasyconych fosfonianów.
- Zastosowanie grzybów strzępkowych *Mucor circinelloides* do asymetrycznej redukcji α,β -nienasyconych γ -ketofosfonianów. Wykazano możliwość zastosowania całych komórek wymienionych mikroorganizmów do redukcji wiązań podwójnych węgiel-węgiel, a także redukcji grupy karbonyłowej badanych substratów (rozdział 3.2.). Otrzymane produkty charakteryzowały się wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi, co wskazuje na wysoki potencjał zastosowania badanych grzybów strzępkowych (a prawdopodobnie także produkowanych przez nie enzymów w postaci izolowanej) w katalizie asymetrycznej. Badana metoda stanowi interesującą alternatywę w stosunku do zastosowania izolowanych enzymów.

- Opisanie pierwszego przykładu zastosowania enzymów wykazujących promiskuityzm katalityczny do przeprowadzenia reakcji aza-Henry'ego. W badaniach wykazano możliwość zastosowania enzymów AtHNL (oksynitrylaza z *Arabidopsis thaliana*) oraz TL (lipaza z *Pseudomonas stutzeri*) jako katalizatora reakcji addycji nitrometanu do imin. Eksperymenty ze zdenaturowanymi enzymami potwierdzają udział aktywnego enzymu w reakcji. Niestety, transformacje te zachodziły w sposób niestereoselektywny.