

# Biokatalityczna transformacja epoksy- oraz winylofosfonianów

Monika GÓRAK\*, Monika SERAFIN, Magdalena KLIMEK-OCHAB, Ewa ŻYMAŃCZYK-DUDA – Zakład Chemii Bioorganicznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska, Wrocław

Prosimy cytować jako: CHEMIK 2015, 69, 5, 273–280

## Streszczenie

Przedmiotem badań była selektywna transformacja dwóch grup związków fosforoorganicznych epoksy- oraz winylofosfonianów do odpowiednich pochodnych, z wykorzystaniem całych komórek bakterii lub grzybów. Aktywność hydrolityczną względem modelowego epoksyfosfonianu wykazywał tylko szczep *Aspergillus niger*, podczas gdy szczepy *Cladosporium herbarum* oraz *Fusarium oxysporum* zdolne były do degradacji trwałego wiązania C-P w winylofosfonianach, w zadanych warunkach procesu.

## Wstęp

Rosnące wymagania dotyczące syntezy związków organicznych, m.in. niska toksyczność metody, wysoka wydajność oraz stereo- i regioselektywność procesu, sprawiają, iż biokatalityczne metody otrzymywania określonych struktur stanowią alternatywę dla syntezy chemicznej. Pomimo, że zastosowanie zarówno całych komórek mikroorganizmów, jak i wyizolowanych z nich i oczyszczonych enzymów w procesach przemysłowych wzrasta, to praktyczne zastosowanie procesów biokatalitycznych jest często ograniczone ze względu na niską efektywność reakcji i trudności w znalezieniu odpowiednich biokatalizatorów [1].

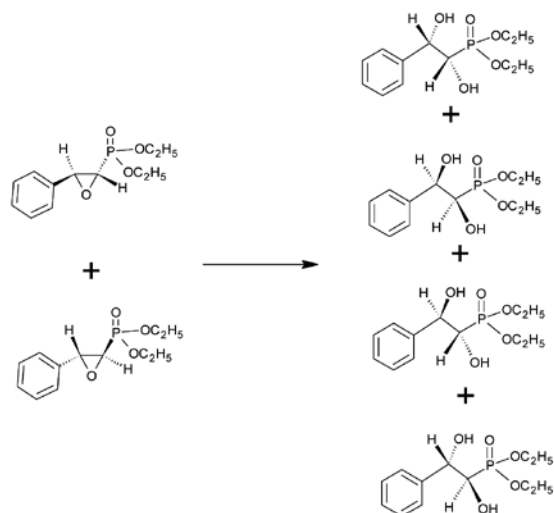
Wśród optycznie czystych związków chiralnych, enancjomery hydroksyfosfonianów są istotnymi elementami w syntezie farmaceutyków, środków agrochemicznych oraz wielu chemikaliów o zdefiniowanej konfiguracji absolutnej, które są tzw. blokami budulcowymi do dalszych syntez. Ponadto hydroksyfosfoniany stanowią grupę związków wykazującą interesujące właściwości biologiczne [2–4]. Słabo poznana klasa związków fosforoorganicznych stanowią 1,2-dihydroksyfosfoniany, otrzymywane głównie w procesie asymetrycznej dihydroksylacji Sharplessa z winylofosfonianów, która prowadzi do otrzymania izomerów *trans* dihydroksyfosfonianów [5]. Nie ma jednak prostej metody pozwalającej, w sposób selektywny otrzymać czyste optycznie enancjomery 1,2-dihydroksyfosfonianów.

Alternatywą dla syntezy metodami chemicznymi tej grupy związków wydają się być metody biologiczne, z zastosowaniem enzymów z klasy hydrolaz – epoksyhydrolaz. Enzymy te konwertują epoksydy do lepiej rozpuszczalnych w wodzie i zazwyczaj mniej toksycznych dioli. Katalizują enancjo- oraz regioselektywną addycję wody do związków zawierających ugrupowanie oksiranowe, prowadząc do utworzenia wycinalnych *trans*-dioli, których grupy hydroksylowe przyłączone są do sąsiednich atomów węgla. Epoksyhydrolazy są obiecującymi biokatalizatorami w procesach otrzymywania czystych enancjomerycznie epoksydów i wycinalnych dioli, szczególnie ze względu na powszechne występowanie w naturze [6–10], czy też fakt, że nie wymagają kofaktorów. Ponadto wykazują one wysoką enancjoselektywność w stosunku do substratów [11]. Mogą działać w obecności rozpuszczalników organicznych, pozwalając tym samym na użycie substratów nierozpuszczalnych w wodzie. Największe zainteresowanie budzą hydrolazy pochodzenia mikrobiologicznego, ze względu na potencjał tej klasy

enzymów, jako enancjoselektywnych biokatalizatorów w kinetycznym rozdziale mieszanin racemicznych, chemicznie otrzymywanych epoksydów [12]. Interesujące właściwości katalityczne sprawiły, że epoksyhydrolazy zastosowano m.in. w rozdziale mieszaniny racemicznej tlenku  $\alpha$ -metylo-izobutylostyrenu, umożliwiając w ten sposób syntezę (*S*)-ibuprofenu, biologicznie aktywnego niesteroidowego, leku przeciwzapalnego [13]. W syntezie diolu (*R*)-*p*-chlorostyrenu, kluczowego związku w syntezie Eliprodiu, czynnika neuroochronnego, zastosowano epoksyhydrolazy pochodzące ze szczepów *Aspergillus niger* oraz *Beauveria bassiana*, wykazujące uzupełniającą się enancjoselektywność [14]. W przypadku syntezy (*R*)-nifenalolu, leku  $\beta$ -adrenolitycznego, wykorzystano drogę syntezy chemoenzymatycznej. Metoda ta bazuje na zastosowaniu w pierwszym etapie epoksyhydrolazy z *Aspergillus niger*, co prowadzi do otrzymania jednego enancjomery z mieszaniny racemicznej epoksydu – (*S*)-epoksydu oraz (*R*)-diolu. Następnie kwaśna hydroliza pozostałego epoksydu prowadzi do otrzymania jednego enancjomery diolu – (*R*)-diolu [15].

Hydroliza chemiczna oraz niska rozpuszczalność epoksydów w fazie wodnej, mogą ograniczyć wykorzystanie procesów biokatalitycznych w skali przemysłowej. Aby uniknąć spontanicznej degradacji chemicznej substratów w fazie wodnej, biokatalizę z udziałem epoksyhydrolaz, prowadzi się również w obecności rozpuszczalników organicznych z dodatkiem śladowych ilości wody [16].

W niniejszej publikacji przedstawiono wyniki badań, których przedmiotem była selektywna hydroliza modelowego epoksyfosfonianu – estru dietylowego kwasu ( $\pm$ ) *trans*-1,2-epoksy-2-fenylotetanofosfonowego do odpowiednich 1,2-dihydroksyfosfonianów dietylu o zdefiniowanej konfiguracji absolutnej, z wykorzystaniem całych komórek grzybów oraz bakterii (Rys. 1). Istotnym celem badań było również określenie możliwości biokonwersji estru dimetylowego oraz dietylowego kwasu winylofosfonowego do odpowiednich pochodnych – hydroksylowej lub epoksydowej fosfonianów z zastosowaniem komórek grzybów.



Rys. 1. Schemat hydrolizy estru dietylowego kwasu ( $\pm$ ) *trans*-1,2-epoksy-2-fenylotetanofosfonowego

Autor do korespondencji:

Mgr inż. Monika GÓRAK, e-mail: monika.gorak@pwr.wroc.pl

## Materiały i metody – I

Substrat – ester dietylowy kwasu ( $\pm$ ) *trans*-1,2-epoksy-2-fenylotetanofosfonowego został zsyntezowany wg procedury opisanej w literaturze [17, 18]. Ester dietylowy kwasu ( $\pm$ ) *trans*-1,2-epoksy-2-fenylotetanofosfonowego otrzymano w reakcji dwuetapowej. Pierwszy etap prowadził do uzyskania odpowiedniego winylofosfonianu – estru dietylowego kwasu *trans*-2-fenylot-1,2-enofosfonowego [17]. Oczyszczony winylofosfonian wykorzystano następnie, jako substrat w 6-dniowej reakcji z wodnym roztworem Oxone® [18].

Substraty – winylofosfonian dietylu oraz winylofosfonian dimetylu zostały zakupione w Aldrich Chemistry.

## Mikroorganizmy

Badane szczepy mikroorganizmów pochodziły z kolekcji mikroorganizmów Zakładu Chemii Bioorganicznej, Politechniki Wrocławskiej, pozyskanych z następujących źródeł: *Aspergillus niger* (OP1) – Uniwersytet Opolski (Polska); *Aspergillus parasiticus* (NRRLY 2999) – Uniwersytet Anadolu (Turcja); *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium oxalicum* – Uniwersytet w Pawii (Włochy); *Mucor circinelloides* – Politechnika Łódzka (Polska); *Beauveria bassiana* (2715B) – Polska Akademia Nauk (Polska); *Penicillium purpurogenum* (S1), *Penicillium crustosum* (S2), *Penicillium funiculosum* (S3) – wyizolowane i zidentyfikowane przez M. Klimek-Ochab [19]; *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Sarcina lutea*, *Serratia marcescens*, *Fusarium oxysporum* (DSMZ 12646), *Cladosporium herbarum* (DSMZ 63422), *Cunninghamella elegans* (DSMZ 1908), *Cunninghamella echinulata* (DSMZ 1905) – Niemiecka Kolekcja Drobnoustrojów i Hodowli Komórkowych (Niemcy).

## Warunki hodowli oraz procesu biotransformacji

Hodowle mikroorganizmów prowadzono w temp. 25°C, w warunkach wytrząsanych (160 obr./min). Hodowle mikroorganizmów zakładano z wykorzystaniem hodowli danego szczepu na podłożu zestalonym. 24-godzinna (bakterie) lub 72-godzinna (grzyby) hodowla danego mikroorganizmu, stanowiła inokulum dla hodowli właściwej.

**Bakterie.** Hodowle płynne badanych szczepów bakterii prowadzono w 100 ml bulionu odżywczego, w kolbach Erlenmeyera (250 ml). W procesie biotransformacji zastosowano 24-godzinną hodowlę szczepu bakteryjnego, którą uprzednio odwirowano (2263 × g, 10 min, 15°C, wirówka Universal 320R, Hettich).

**Grzyby.** Szczepy z rodzaju *Aspergillus*, *Beauveria*, *Penicillium* oraz *Fusarium* hodowano na podłożu ziemniaczanym (PDB), szczep *Mucor circinelloides* zaś na podłożu maltozowym (ME). Biokatalizator stanowiła biomasa 72-godzinnej hodowli właściwej, która została wcześniej odsączona za pomocą filtracji na sączku bibułowym.

Woda destylowana (50 ml) stanowiła medium biotransformacji, do którego dodawano uzyskaną biomasę komórek biokatalizatora oraz substrat – ester dietylowy kwasu ( $\pm$ ) *trans*-1,2-epoksy-2-fenylotetanofosfonowego (1 mM). Proces biotransformacji prowadzono przez 72 godziny, w temp. 25°C w warunkach wytrząsanych (160 obr./min).

W przypadku biotransformacji winylofosfonianów, biokatalizatorem była biomasa jednego z gatunków grzybów (*Cladosporium herbarum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus parasiticus*, *Cunninghamella elegans* oraz *Cunninghamella echinulata*), których warunki hodowli przedstawiono w Tablicy I. Namnożoną w odpowiednich warunkach biomasę komórek odsączono grawitacyjnie na sączku bibułowym, a następnie zawieszano w 30 ml medium biotransformacji, który stanowiła woda destylowana, bufor cytrynianowy (pH 3) lub podłoże hodowlane.

Zastosowane warunki hodowli wykorzystanych mikroorganizmów.

| Szczep  | Medium hodowlane             | Temperatura °C | Czas h | Wytrząsanie obr./min |
|---|------------------------------|----------------|--------|----------------------|
| <i>Fusarium oxysporum</i>   | Bulion z ekstraktem słodowym | 20             | 48     | 250                  |
|   | Czapek-Dox                   | 35             | 96     | 250                  |
| <i>Cunninghamella elegans</i><br><i>Cunninghamella echinulata</i> | Podłoże maltozowe            | 20             | 48     | 150                  |
| <i>Cladosporium herbarum</i>                                      | Czapek-Dox                   | 20             | 96     | 150                  |
|   | PDB                          | 20             | 72     | 150                  |
| <i>Aspergillus parasiticus</i>                                    | Czapek-Dox                   | 20             | 96     | 150                  |
|   | PDB                          | 20             | 72     | 150                  |

Proces biotransformacji estru dietylowego kwasu winylofosfonowego (30  $\mu$ l) przeprowadzono z wykorzystaniem szczepów *C. herbarum*, *F. oxysporum* oraz *A. parasiticus*, natomiast estru dimetylowego kwasu winylofosfonowego (30  $\mu$ l) z zastosowaniem komórek *C. elegans* i *C. echinulata*. W celu ustalenia optymalnego czasu biotransformacji, proces prowadzono 1–7, 10 i 15 dni.

Ponadto zbadano wpływ modyfikacji medium biotransformacji na przebieg procesu. Zastosowano odpowiednie dodatki do medium: 50  $\mu$ l roztworu glukozy (30%, 50%), 50  $\mu$ l etanolu (96%) oraz 50  $\mu$ l Triton X-100. Procedurę wzbogacono w dodatkowy etap „głodzenia” (24 h), polegający na zawieszeniu biomasy komórek w wodzie destylowanej, przed użyciem w procesie biotransformacji.

Wszystkie reakcje zakończono poprzez odsączenie biokatalizatora na sączku bibułowym lub odwirowanie (2263 × g, 10 min., 15°C, wirówka Universal 320R, Hettich), odpowiednio w przypadku biomasy komórek grzybów oraz bakterii. Uzyskane supernatanty poddano dwukrotnej ekstrakcji octanem etylu (2 × 50 ml). Otrzymane frakcje organiczne suszono nad bezwodnym MgSO<sub>4</sub> i odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem na rotacyjnej wyparce próżniowej (IKA® RV10 digital).

Eksperyment kontrolny przeprowadzono w medium hodowlanym bez komórek grzybów, z dodatkiem substratu. Doświadczenie prowadzono analogicznie jak w przypadku właściwych procesów biotransformacji.

## Analiza

Mieszaninę substratu oraz produktu analizowano za pomocą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (<sup>31</sup>P NMR):

ester dietylowy kwasu ( $\pm$ ) *trans*-1,2-epoksy-2-fenylotetanofosfonowego

<sup>31</sup>P NMR  $\delta$  16,68 ppm

ester dietylowy kwasu *trans*-2-fenylot-1,2-enofosfonowego

<sup>31</sup>P NMR  $\delta$  22,85 ppm (izomer erytro), 24,05 ppm (izomer treo)

ester dimetylowy kwasu winylofosfonowego

<sup>31</sup>P NMR  $\delta$  20,66 ppm

ester dietylowy kwasu winylofosfonowego

<sup>31</sup>P NMR  $\delta$  18,27 ppm

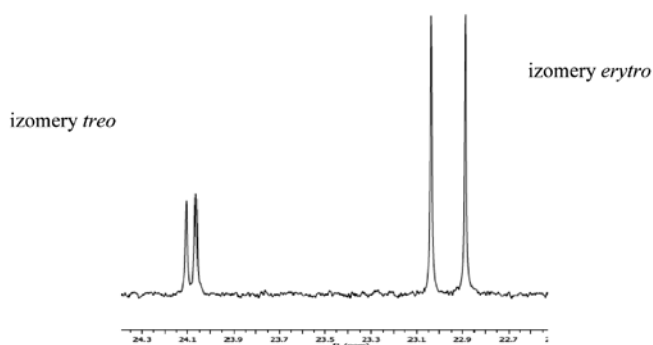
Widma NMR zostały zarejestrowane na aparacie Bruker Avance™ 600 działającym przy 600 MHz, pomiary wykonano w CDCl<sub>3</sub> (99.5% D) w temp. 298 K.

Czystość optyczną produktu określono na podstawie widm <sup>31</sup>P NMR mieszanin poreakcyjnych z dodatkiem chininy, jako chiralnego odczynnika solwującego [20].

## Omówienie wyników

W celu wskazania szczepu zdolnego do hydrolizy *trans*-1,2-epoksyfosfonianu do odpowiednich 1,2-dihydroksyfosfonianów, wykonano badania przesiewowe z zastosowaniem szczepów bakterii oraz grzybów dostępnych w zasobach mikroorganizmów Zakładu Chemii Bioorganicznej, Politechniki Wrocławskiej. W badaniach wykorzystano m.in. szczepy grzybów posiadających aktywność epoksyhydrolaz (*Aspergillus niger*, *Beauveria bassiana*) [11], ale również szczepy z rodzaju *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. parasiticus*), *Penicillium* (*P. crustosum*, *P. funiculosum*, *P. oxalicum*, *P. purpurogenum*) oraz szczepy *Mucor circinelloides* i *Fusarium oxysporum*. Zdolność do hydrolizy ugrupowania oksiranowego w epoksyfosfonianach badano również z zastosowaniem komórek bakteryjnych: *B. subtilis*, *E. coli*, *P. fluorescens*, *S. lutea* czy też *S. marcescens*.

Analiza próby kontrolnej, niezawierającej biokatalizatora, wskazywała, że badany substrat modelowy w warunkach biotransformacji (warunki wodne) ulega częściowej hydrolizie do izomeru erytro (23%).



Rys. 2. Widmo  $^{31}\text{P}$  NMR produktów hydrolizy estru dietylowego kwasu ( $\pm$ ) *trans*-1,2-epoksy-2-feniloetanofosfonowego z zastosowaniem komórek szczepu *A. niger* z dodatkiem chininy

Przeprowadzone badania przesiewowe wskazują, że spośród badanych szczepów, jedynie *Aspergillus niger* wykazuje zdolność do hydrolizy modelowego substratu do mieszaniny izomerów *treo*- oraz *erytro*-1,2-dihydroksyfosfonianu dietylu – stosunek diastereoizomerów (*erytro:treo*) wyniósł 68:32. Zastosowany system biologiczny wykazuje słabą enancjoselektywność. Przeprowadzone procesy biotransformacji nie pozwoliły na otrzymanie enancjomerycznego 1,2-dihydroksyfosfonianu w wysokim nadmiarze enancjomerycznym. W przypadku pozostałych badanych szczepów mikroorganizmów nie obserwowano aktywności hydrolaz.

W celu określenia wpływu czynników środowiska, tj. pH medium biotransformacji na aktywność katalityczną komórek *A. niger*, jako medium zastosowano bufor fosforanowy o pH 7,4. Najwyższą aktywność epoksyhydrolazy wyizolowane ze szczepu *A. niger* wykazują w pH 7,0 [21], zaś wartość optymalnego pH do wzrostu komórek tego mikroorganizmu wynosi 6,5. Zastosowanie w procesie buforu o pH 7,4 wpłynęło negatywnie na aktywność katalityczną komórek. Uzyskane wyniki wskazują, że w procesie biokonwersji kluczowe jest zastosowanie jako medium wody destylowanej (pH 6,0), której pH zbliżone jest do pH optymalnego dla wzrostu komórek *A. niger*.

W celu określenia dynamiki zmiany stopnia przereagowania substratu w czasie procesu biotransformacji z zastosowaniem hodowli szczepu *A. niger*, skrócono proces biokonwersji modelowego substratu do 24 godzin, co skutkowało otrzymaniem obu izomerów - *erytro* (59%) oraz *treo* (26%) dihydroksyfosfonianu, stosunek diastereoizomerów (*erytro:treo*) wyniósł 68:32. W przypadku procesu 48-godzinnego, substrat uległ całkowitej hydrolizie do odpowiednich izomerów.

Uzyskane wyniki badań wskazują na zdolność szczepu *A. niger* do hydrolizy ugrupowania oksiranowego w epoksyfosfonianach, tym samym potwierdzając niezwykle zdolność katalityczną tego szczepu do transformacji epoksydów.

Równie interesującym jak transformacja epoksyfosfonianów, lecz słabo poznanym zagadnieniem, jest biotransformacja winylofosfonianów. Znanych jest niewiele przykładów przekształcenia podwójnego wiązania w winylofosfonianach, w odpowiednie ugrupowanie oksiranowe lub hydroksylowe. W celu określenia możliwości konwersji tych związków, podjęto próbę biotransformacji substratów modelowych – estru dimetylowego oraz dietylowego kwasu winylofosfonowego, do odpowiednich pochodnych – hydroksylowej lub epoksydowej fosfonianu. W badaniach przesiewowych użyto szczepy grzybów *A. parasiticus*, *C. elegans*, *C. echinulata*, *C. herbarum* oraz *F. oxysporum*. Zastosowanie standardowej procedury biotransformacji z wykorzystaniem całych komórek biokatalizatora, nie prowadziło do transformacji substratu, dlatego procedury poddano modyfikacji. Zmiany w procedurze hodowli i biotransformacji, m.in. podłoża hodowlanego, medium biotransformacji, temperatury oraz zastosowanie dodatkowego etapu „głodzenia”, czy też wydłużenie procesu, nie przyczyniły się do konwersji modelowych winylofosfonianów do odpowiednich pochodnych.

Tablica 2

### Porównanie warunków biodegradacji estru dietylowego kwasu winylofosfonowego

|                         | F. oxysporum     |                             | C. herbarum      |                  |
|-------------------------|------------------|-----------------------------|------------------|------------------|
|                         | PDB              | PBD                         | PBD              | PDB              |
| Podłoże hodowlane       | PDB              | PBD                         | PBD              | PDB              |
| Medium biotransformacji | Woda destylowana | Bufor cytrynianowy (pH 3,0) | Woda destylowana | Woda destylowana |
| Temperatura, °C         | 20               | 20                          | 20               | 20               |
| Czas bioprocessu, dni   | 5                | 4                           | 4                | 4                |

W przypadku procesów z zastosowaniem szczepów *C. herbarum* oraz *F. oxysporum*, w ściśle określonych warunkach reakcji, zaobserwowano proces degradacji substratu (Tab. 2). Uzyskane wyniki potwierdzają, że określone właściwości biokatalizatora są ściśle związane z warunkami jego hodowli oraz ze sposobem prowadzenia reakcji biotransformacji. Szczepy *C. herbarum* oraz *F. oxysporum* całkowicie degradują winylofosfonian, wykorzystując go jako źródło pierwiastków biogennych, a tym samym wykazują zdolność do degradacji trwałego, kowalencyjnego wiązania C-P.

Dane literaturowe potwierdzają zdolność szczepów z rodzaju *Fusarium* do hydrolizy trwałego, kowalencyjnego wiązania C-P oraz mineralizacji niektórych związków fosfonowych, w określonych warunkach (T, pH) [22].

Uzyskane wyniki są szczególnie istotne w kontekście zastosowania związków fosforoorganicznych jako środków ochrony roślin (m.in. glifosat), których działanie może być niwelowane przez fitopatogeny roślin, m.in. szczepy z rodzaju *Fusarium*.

### Podsumowanie i wnioski

Wykonane badania przesiewowe pozwoliły wskazać szczep zdolny do hydrolizy pierścienia oksiranowego w modelowym substracie do odpowiednich 1,2-dihydroksyfosfonianów. Enzymatyczna hydroliza z zastosowaniem komórek *A. niger* prowadzi do otrzymania obu izomerów, *erytro*- oraz *treo*-dihydroksyfosfonianu dietylu (*erytro:treo*, 68:32), obu w postaci mieszanin racemicznych. Zastosowany system biologiczny wykazuje słabą enancjo- oraz stereoselektywność w zadanych warunkach procesu.

W przypadku transformacji winylofosfonianów, mimo modyfikacji procesu, zarówno na etapie hodowli biokatalizatora jak i reakcji biotransformacji, modelowe substraty nie uległy mikrobiologicznemu przekształceniu. Jednak w przypadku szczepów *C. herbarum* oraz *F. oxysporum*, w ściśle określonych warunkach reakcji, zaobserwowano proces degradacji winylofosfonianu dietylu.

## Podziękowania

Praca finansowana w ramach Projektu „Biotransformacje użyteczne w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym” nr POIG.01.03.01-00-158/09-10, współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007–2013.

## Literatura

- Schmid, A., Dordick J. S., Hauer B., Kiener A., Wubbolts M., Witholt B.: *Industrial biocatalysis today and tomorrow*. Nature 2001, **409**, 258–268.
- Kolodiazny O. I.: *Chiral hydroxy phosphonates: synthesis, configuration and biological properties*. Russian Chemical Reviews 2006, **75**, 3, 227–253.
- Patel D. V., Rielly-Gauvin K., Ryono D. E., Free C. A., Rogers W. L., Smith S.A., DeForrest J. M., Oehl R. S., Petrillo E. W.:  *$\alpha$ -Hydroxyphosphinyl-based inhibitors of human renin*. Journal of Medicinal Chemistry 1995, **38**, 4557–4569.
- Yokomatsu T., Murano T., Akiyama T., Koizumi J., Shimeno H., Tsuji Y., Soeda S., Shimeno H.: *Synthesis of non-competitive inhibitors of sphingomyelinases with significant activity*. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 2003, **13**, 229–236.
- Yokomatsu T., Yamagishi T., Suemune K., Yoshida Y., Shibuya S.: *Enantioselective synthesis of threo- $\alpha$ , $\beta$ -dihydroxyphosphonates by asymmetric dihydroxylation of l(E)-alkenylphosphonates with AD-mix reagents*. Tetrahedron 1998, **54**, 767–780.
- Summerer S., Hanano A., Utsumi S., Arand M., Schuber F., Blée E.: *Stereochemical features of the hydrolysis of 9,10-epoxystearic acid catalysed by plant and mammalian epoxide hydrolases*. Biochemical Journal 2002, **366**, 471–80.
- Xu W., Xu J.H., Pan J., Gu O., Wu X.Y.: *Enantioconvergent hydrolysis of styrene epoxides by newly discovered epoxidehydrolases in mung bean*. Organic Letters 2006, **8**, 1737–1740.
- Choi W.J., Choi C.Y., de Bont J.A.M., Weijers C.A.G.M.: *Continuous production of enantiopure 1, 2-epoxyhexane by yeast epoxide hydrolase in a two-phase membrane bioreactor*. Applied Microbiology and Biotechnology 2000, **54**, 641–646.
- Smit M.S.: *Fungal epoxide hydrolases: new landmarks in sequence-activity space*. Trends in Biotechnology 2004, **22**, 3, 123–129.
- Liu Z., Michel J., Wang Z., Witholt B., Li Z.: *Enantioselective hydrolysis of styrene oxide with the epoxide hydrolase of Sphingomonas sp. HXN-200*. Tetrahedron Asymmetry 2006, **17**, 47–52.
- Orru R.V. A., Faber K.: *Stereoselectivities of microbial epoxide hydrolases*. Current Opinion in Chemical Biology 1999, **3**, 16–21.
- Choi W.J.: *Biotechnological production of enantiopure epoxides by enzymatic kinetic resolution*. Applied Microbiology and Biotechnology 2009, **4**, 239–247.
- Cleij M., Archelas A., Furstoss R.: *Microbiological transformations 43. Epoxide hydrolases as tools for the synthesis of enantiopure  $\alpha$ -methylstyrene oxides: A new and efficient synthesis of (S)-ibuprofen*. Journal of Organic Chemistry 1999, **64**, 5029–5035.
- Manoj K.M., Archelas A., Baratti J., Furstoss R.: *Microbiological transformations. Part 45: A green chemistry preparative scale synthesis of enantiopure building blocks of Eliprodil: elaboration of a high substrate concentration epoxide hydrolase-catalyzed hydrolytic kinetic resolution process*. Tetrahedron 2001, **57**, 695–701.
- Pedragosa-Moreau S., Morisseau C., Baratti J., Zylber J., Archelas A., Furstoss R.: *Microbiological transformations 37. An enantioconvergent synthesis of the  $\beta$ -blocker using a combined chemoenzymatic approach*. Tetrahedron 1997, **53**, 9707–9714.
- Baldascini H., Ganzeveld K.J., Janssen D.B., Beenackers A.A.C.M.: *Effect of mass transfer limitations on the enzymatic kinetic resolution of epoxides in a two-liquid-phase system*. Biotechnology and Bioengineering 2001, **73**, 44–54.
- Cristau H.-J., Pirat J.-L., Drag M., Kafarski P.: *Regio- and stereoselective synthesis of 2-amino-1-hydroxy-2-aryl ethylphosphonic esters*. Tetrahedron Letters 2000, **41**, 9781–9785.
- Cristau H.-J., Mbianda X.Y., Geze A., Beziat Y., Gasc M.-B.: *Dioxirane oxidation of substituted vinylphosphonates: a novel efficient route to 1,2-epoxyalkylphosphonates*. Journal of Organometallic Chemistry 1998, **571**, 189–193.
- Forlani G., Klimek-Ochab M., Jaworski J., Lejczak B., Picco A.M.: *Phosphonoacetic acid utilization by fungal isolates: occurrence and properties of a phosphonoacetate hydrolase in some penicillia*. Mycological Research 2006, **110**, 1455–1463.
- Mały A., Lejczak B., Kafarski P.: *Quinine as chiral discriminator for determination of enantiomeric excess of diethyl 1,2-dihydroxyalkane phosphonates*. Tetrahedron Asymmetry 2003, **14**, 1019–1024.
- Karboune S., Archelas A., Baratti J.: *Properties of epoxide hydrolase from Aspergillus niger for the hydrolytic kinetic resolution of epoxides in pure organic media*. Enzyme and Microbial Technology 2006, **39**, 318–324.
- Kmiecik N., Klimek-Ochab M., Brzezińska-Rodak M., Majewska P., Żymaniak-Duda E.: *Chiral phosphinate degradation by the Fusarium Species: scope and limitation of the process*. Biotechnology Research International 2013, 10.1155/2013/927361.

Dr hab. inż. Ewa ŻYMAŃCZYK-DUDA, prof. PWr – jest absolwentką Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Pracuje w Zakładzie Chemii Bioorganicznej. Zainteresowania naukowe: zastosowanie biokatalizatorów, całych komórek mikroorganizmów oraz enzymów, w transformacji ksenobiotyków do odpowiednich chiralnych produktów o zdefiniowanej konfiguracji absolutnej; synteza związków fosforoorganicznych zawierających jedno lub dwa centra asymetrii z zastosowaniem biokatalizy.

Dr hab. inż. Magdalena KLIMEK-OCHAB – jest absolwentką Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Pracuje w Zakładzie Chemii Bioorganicznej. Zainteresowania naukowe: mechanizmy degradacji fosfonianów przez grzyby strzępkowe, izolacja i charakterystyka enzymów zaangażowanych w rozpad wiązania C-P.

\*Mgr inż. Monika GÓRAK – ukończyła Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej (2010). Jest doktorantką w Zakładzie Chemii Bioorganicznej Politechniki Wrocławskiej. Zainteresowania naukowe: zastosowanie cyjanobakterii w biotransformacji ketofosfonianów.

Kontakt: monika.gorak@pwr.wroc.pl, tel. +48 (71) 320 46 14

Mgr inż. Monika SERAFIN – ukończyła Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej na kierunku Biotechnologia (2011). Obecnie w ramach studiów doktoranckich w Zakładzie Chemii Bioorganicznej Politechniki Wrocławskiej wykonuje badania dotyczące biotransformacji związków fosforoorganicznych z wykorzystaniem biokatalizatorów o właściwościach hydrolytycznych



## Dolnośląski Festiwal Nauki wrzesień – październik 2015 r.

Dolnośląski Festiwal Nauki jest imprezą popularnonaukową organizowaną co roku we wrześniu (Wrocław) i w październiku (sesje wyjazdowe w Bystrzycy Kłodzkiej, Dzierżonowie, Głogowie, Jeleniej Górze, Legnicy, Lubinie, Wałbrzychu, Ząbkowicach Śląskich i Zgorzelcu). Festiwal jest tworzony przez państwowe uczelnie wyższe Wrocławia, dwa instytuty Polskiej Akademii Nauk oraz stale rosnące grono Współorganizatorów. Festiwal Nauki to wielka „pigulka edukacyjna”, dzięki której można wysłuchać ciekawych wykładów, uczestniczyć w dyskusjach z uczonymi, zwiedzać na co dzień niedostępne laboratoria i warsztaty badawcze przyrodników, lekarzy, inżynierów, humanistów oraz artystów.

Organizatorzy Festiwalu starają się, aby nauka była przyjazna i zrozumiała. W atrakcyjny i przystępny sposób przedstawiają problemy, które nauka rozwiązuje i korzyści, jakie z niej płyną. Nie unikają przy tym spraw trudnych; podejmowane tematy są często próbą odpowiedzi na ważne dylematy społeczne. Wydarzenie adresowane jest do wszystkich interesujących się nauką, kulturą, sztuką, ciekawymi zjawiskami otaczającego nas świata, bez względu na wiek i poziom wykształcenia.

Wstęp na wszystkie wydarzenia organizowane w ramach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki jest BEZPŁATNY! Zapraszamy!

www.festiwal.wroc.pl