

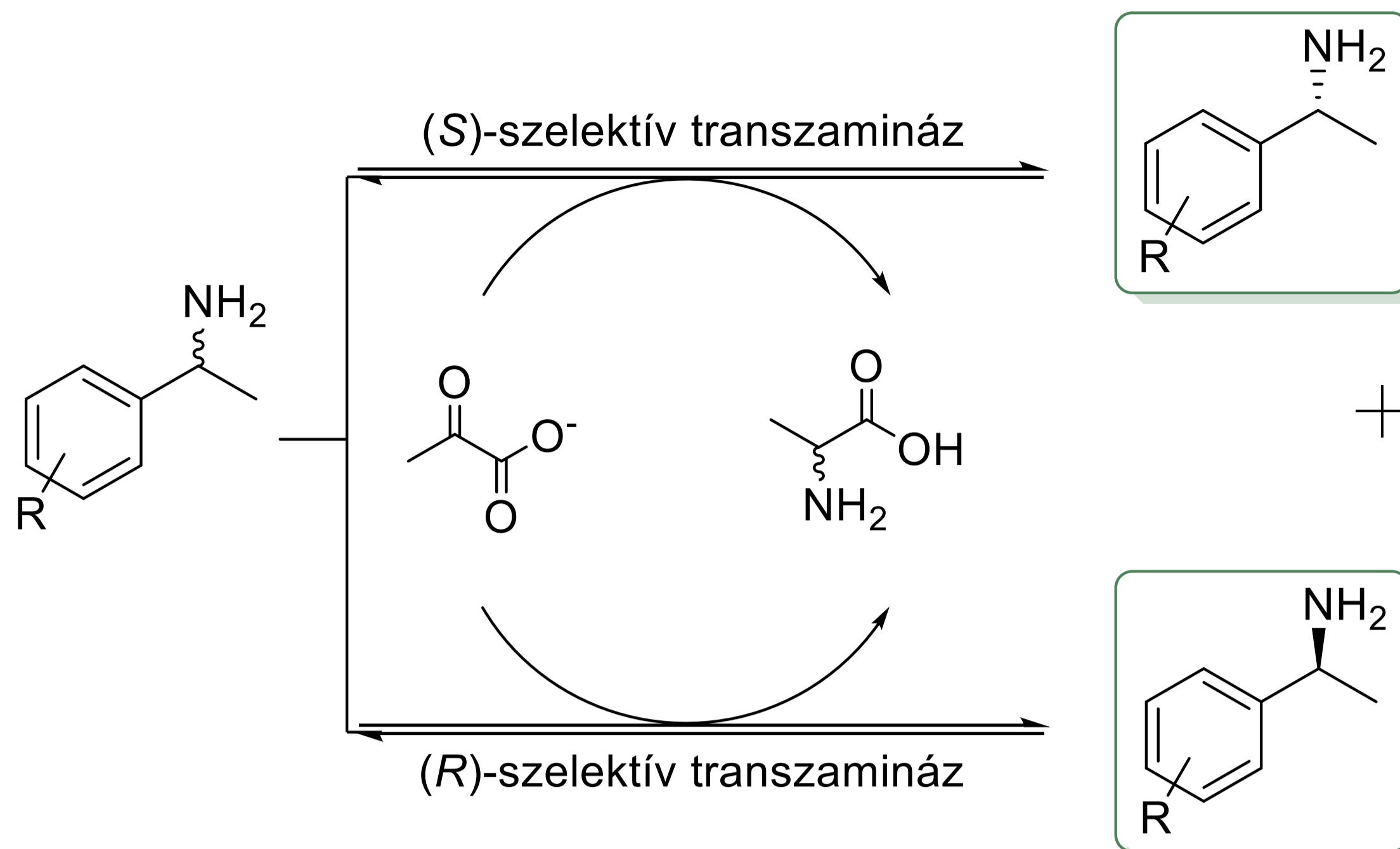
Nagy Loránd, Barabás Laura-Edit, Paizs Csaba



Enzymology and Applied Biocatalysis Research Center, Babeş-Bolyai University, Cluj-Napoca, Romania, lorand.nagy@stud.ubbcluj.ro

Bevezetés

A transzaminázok (TA) hatékony biokatalizátorok enantiomertiszta aminok előállítására. A szénsavanhidrázok minden élő szervezetben megtalálható enzimek.



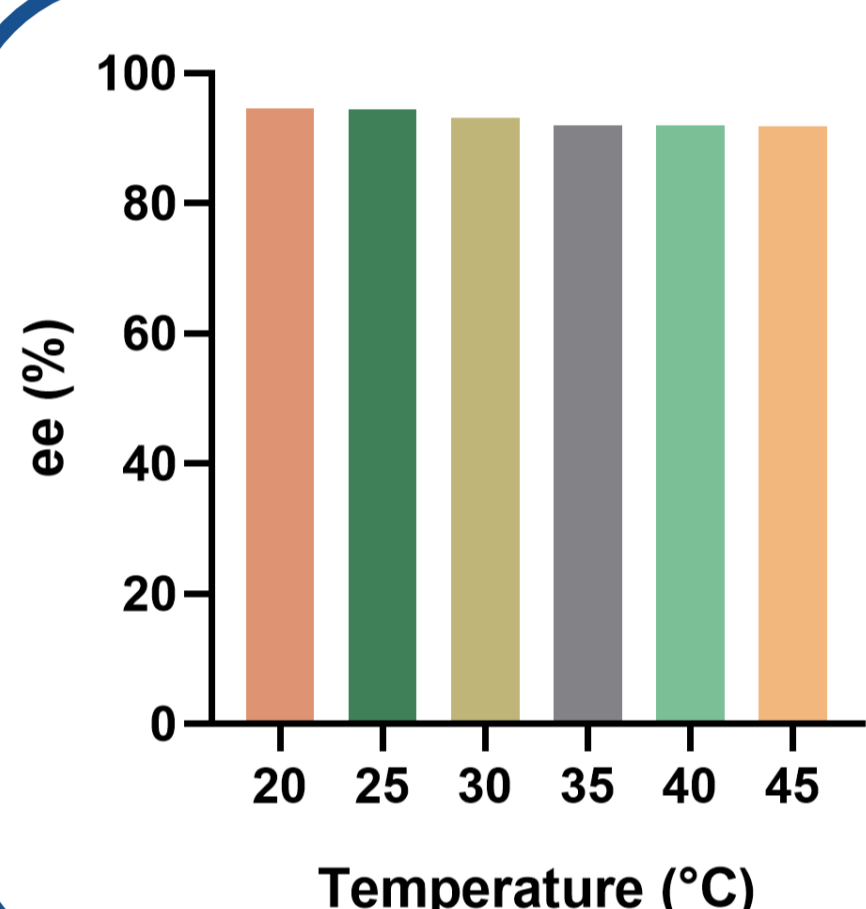
Kivonat

Az (S)-szelektív transzamináz (PpS-TA) által katalizált (±)-1-feniletán-1-aminok preparatív léptékű kinetikus rezolválása után a termékekből (acetofenonok és (R)-aminok) spontán módon Schiff-bázisok keletkeznek. A nem kívánt reakció elkerülése végett, a transzaminálásból származó ketonokat a humán szénsavanhidráz II jelenlétében (S)-alkoholokká redukáltuk. Hidridion donorként fenil-szilánt használtunk.

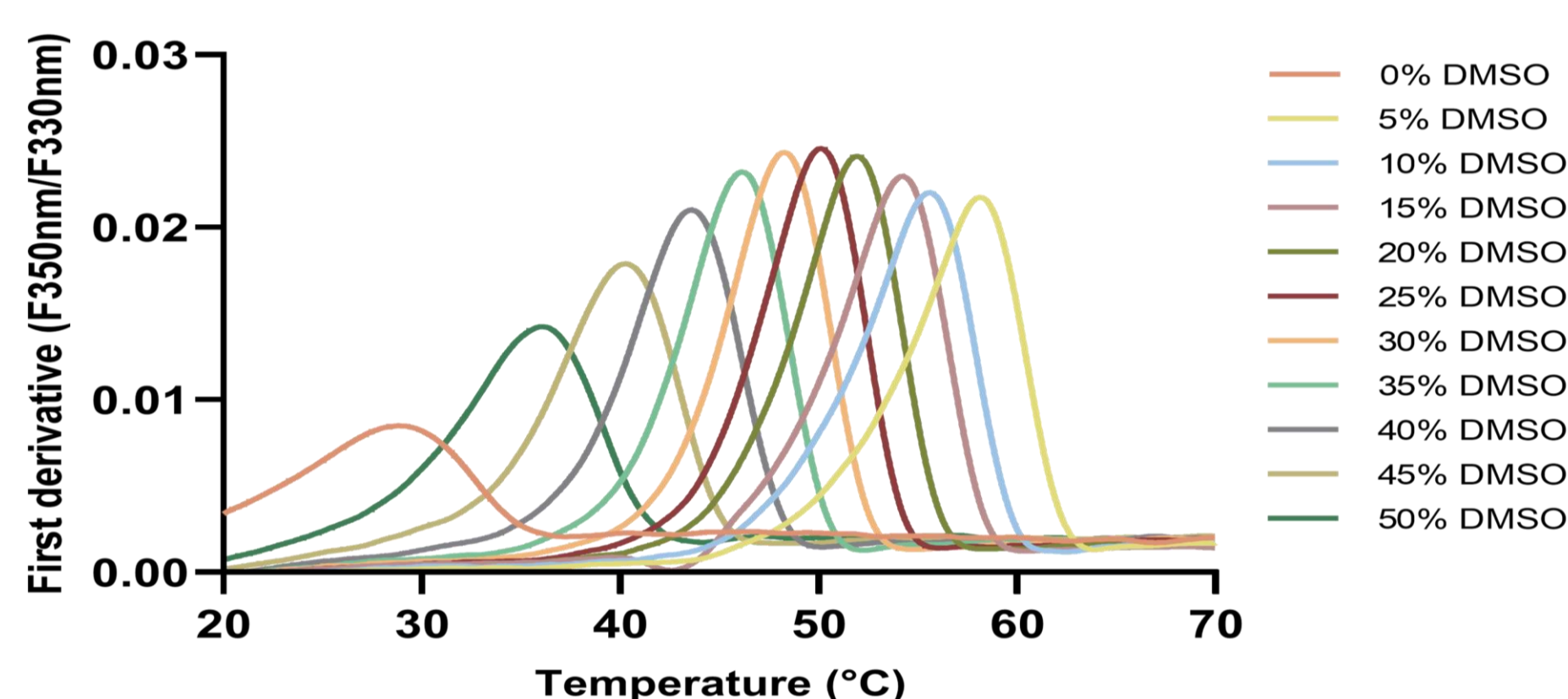
Kísérleti rész

A folyamat optimalizálásához 1 mL végső térfogatú enzimátikus reakciókat analizáltunk, míg preparatív léptékben is elvégeztük az enzimátikus reakciókat, izolálva a reakciótermékeket. Az acetofenonra optimalizáltuk a folyamatot. A konverzióértékek és az enantiomertöbbletek követéséhez egy-egy elválasztási módszert dolgoztunk ki HPLC berendezések segítségével.

A hőmérséklet hatása az enantiomertöbbletre

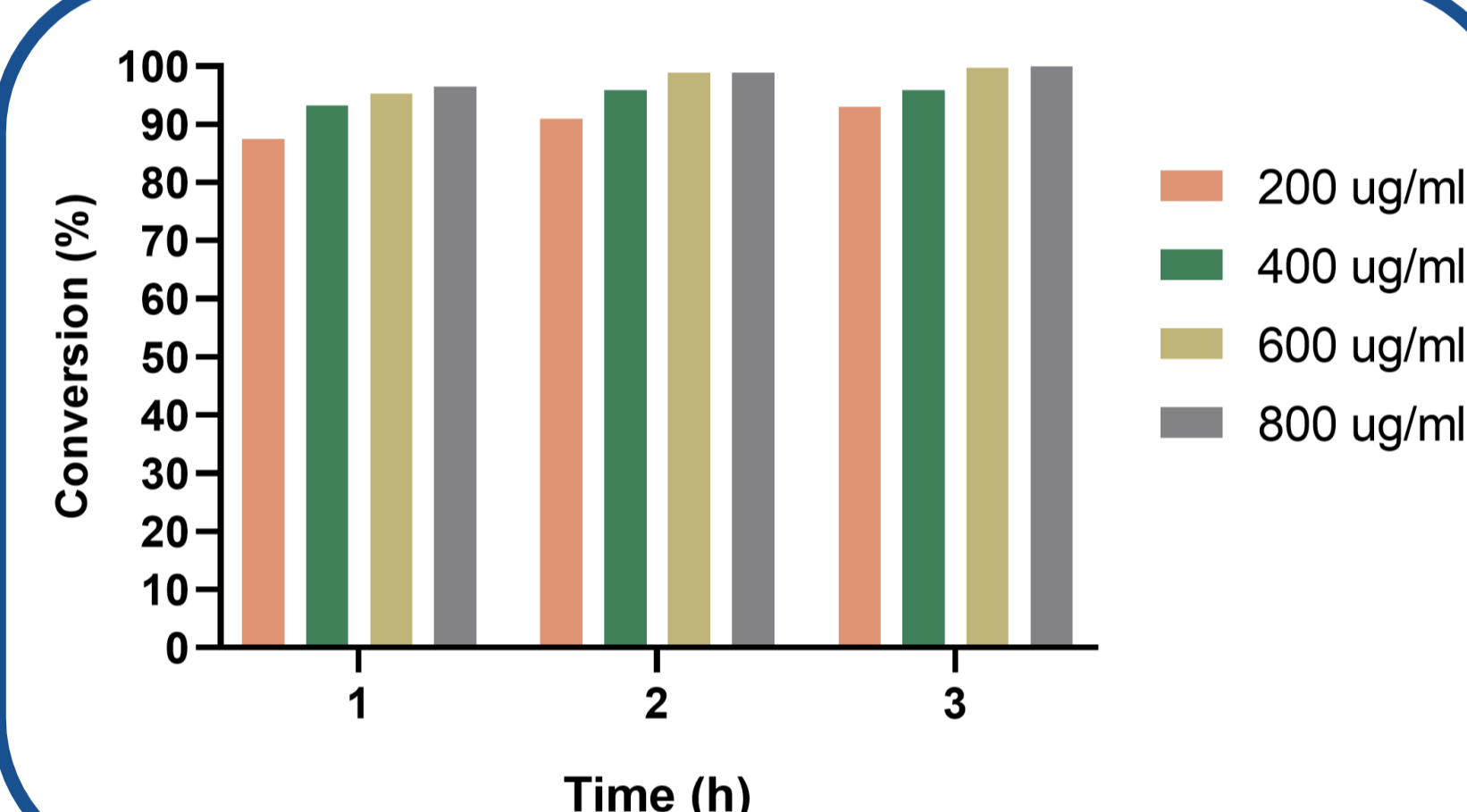


Körülmények: 20 mM acetofenon, 60 mM fenil-szilán, 600 µg/mL hCAII, 25 °C

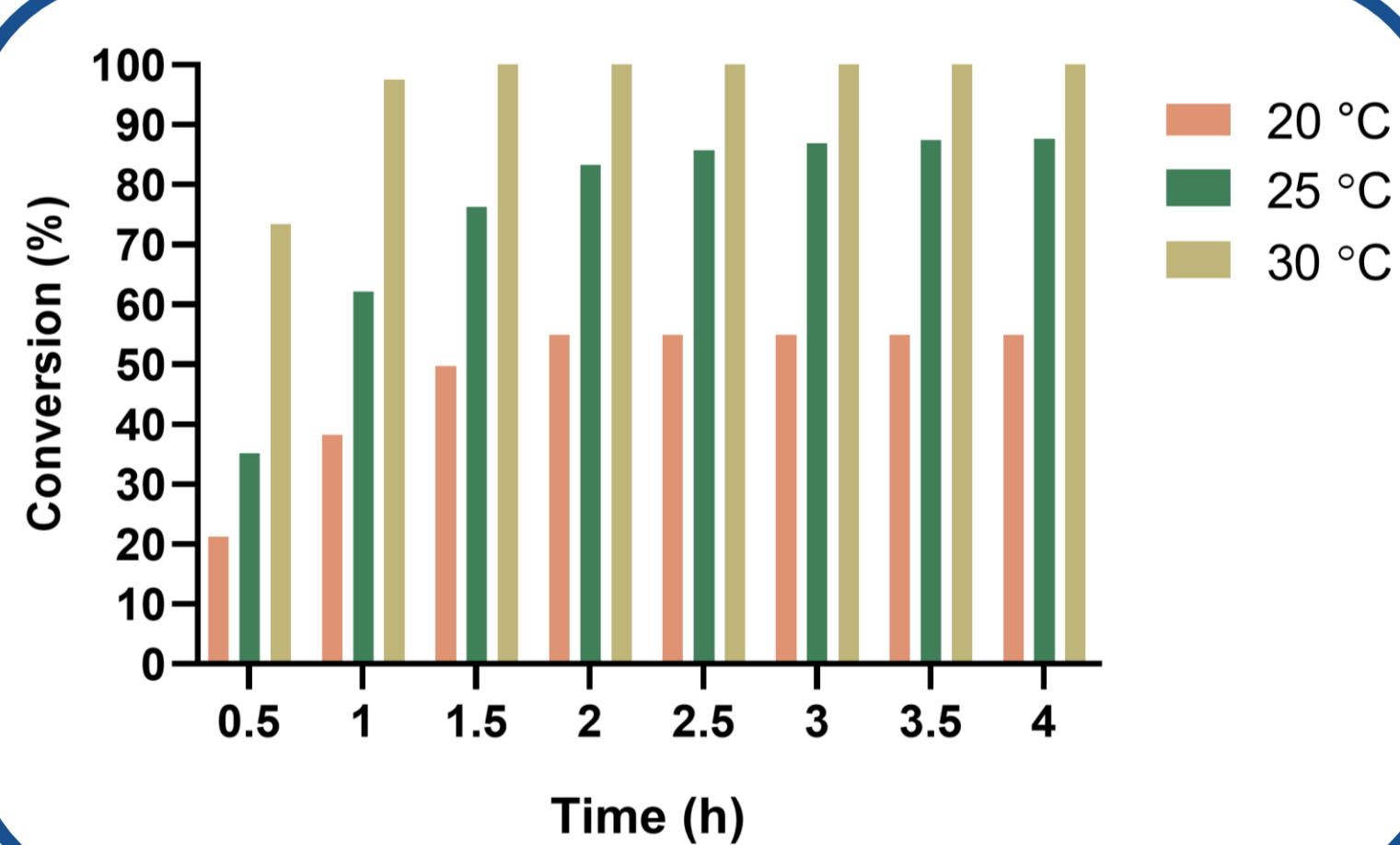


Termikus stabilitás vizsgálata DMSO jelenlétében

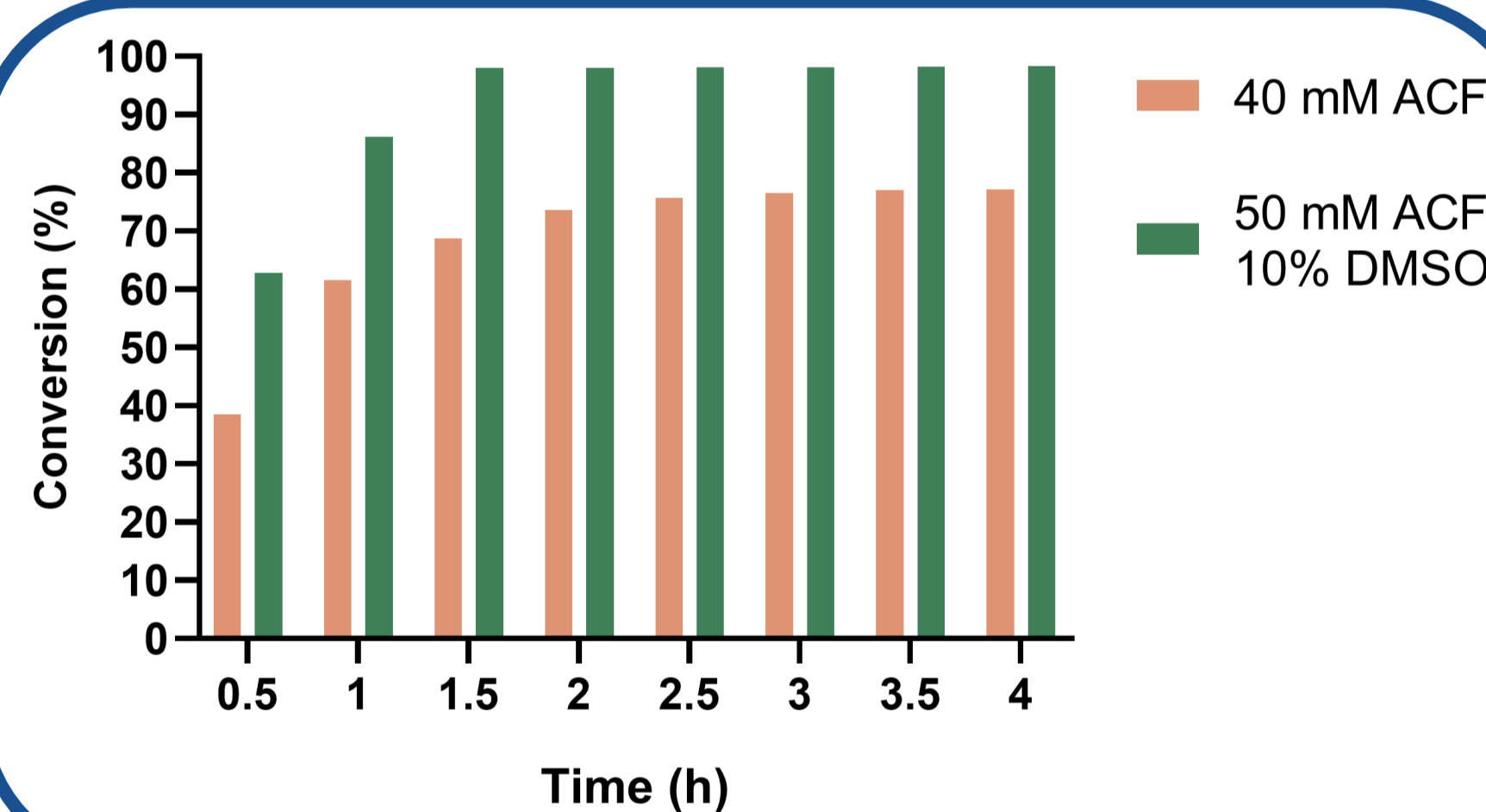
Enzimkoncentráció hatása



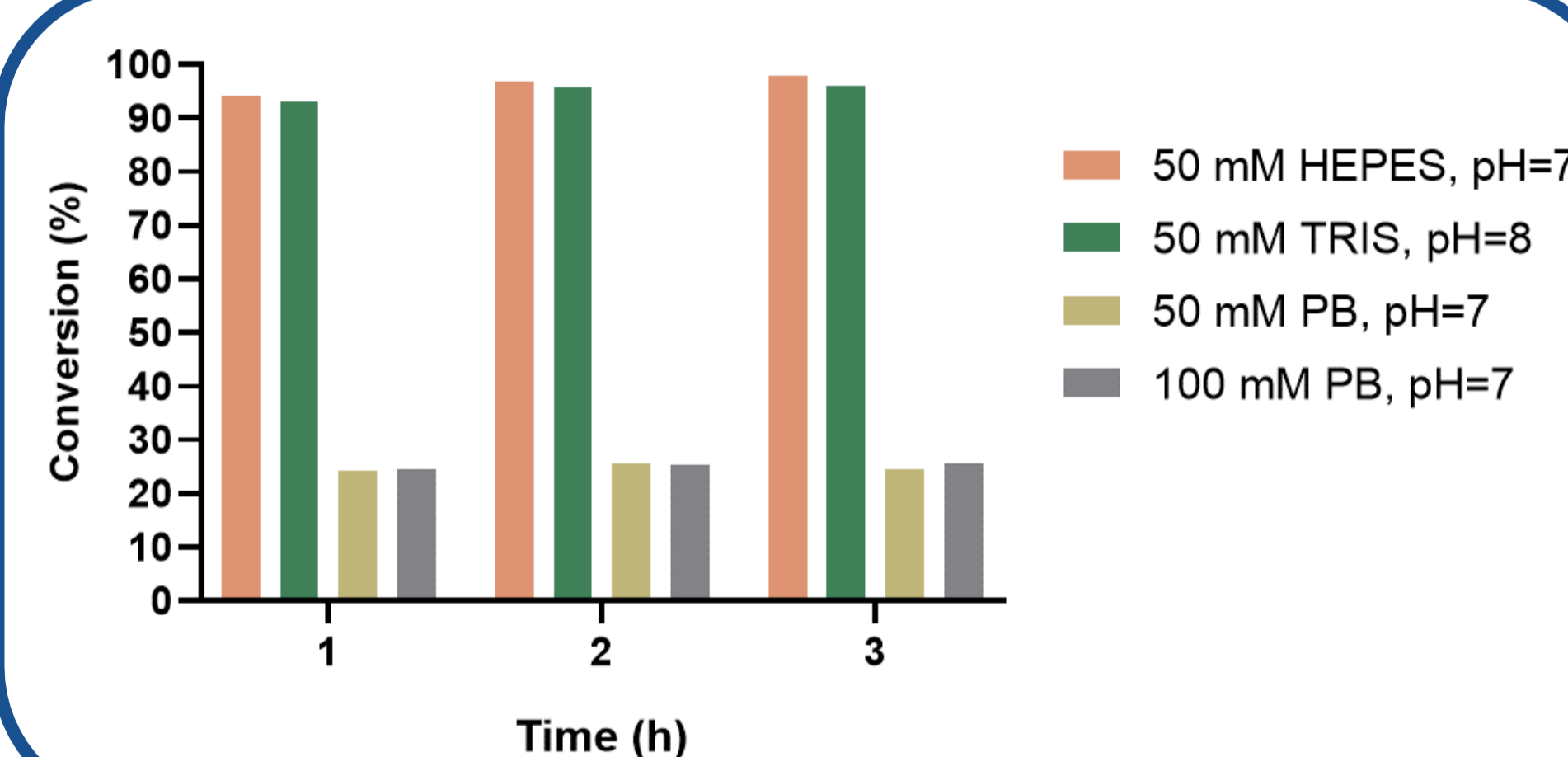
Körülmények: 20 mM acetofenon, 60 mM fenil-szilán, 25 °C



Hőmérsékletfüggés



Szubsztrátkoncentráció hatása



Pufferoldatok hatása az enzim aktivitására

Összegzés

Az 1-fenil-etil-amin kinetikus rezolválása során keletkező acetofenont 3 ekvivalens fenil-szilánnal enantioszelektív módon lehet redukálni (S)-1-feniletanolá. A hőmérséklet növelése pozitív irányban befolyásolta a konverzió értékeket, a hőmérséklet további növelése viszont az enantiomertöbbletek romlásához vezetett. A bienzimmatikus kaskádrendszerek egy új és zöld utat biztosítanak az enantiomertiszta termékek létrehozásában.

Eredmények

A pufferek közül az 50mM HEPES (pH=7) bizonyult a legjobb választásnak. Optimális konverzió és enantiomertöbblet értékek már 600 µg/mL enzimkoncentráció és 25 °C hőmérséklet mellett is elérhetőek.

Könyvészet

P. Ji, J. Park, Y. Gu, D. S. Clark, J. F. Hartwig, *Abiotic reduction of ketones with silanes catalysed by carbonic anhydrase through an enzymatic zinc hydride*, *Nature*, 2021, 13, 312-318
M. S. Malik, E. Park, J. Shin, *Features and technical applications of ω-transaminases*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, 94, 1163-1171
C. T. Supuran, *Carbonic Anhydrases – An Overview*, *Curr. Pharm. Des.*, 2008, 14, 603-614

Köszönetnyilvánítás

Köszönetünket szeretnénk kinyilvánítani az anyagi támogatásért a következő projektnek: "Romanian Ministry of Research, CCCDI-UEFISCDI, project number PN-III-P2-2.1-PED-2019-5031, within PNCDI III".