

ПРИМЕНЕНИЕ БИОТРАНСФОРМАЦИЙ ДЛЯ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЯ КСЕНОБИОТИКОВ

различные углеводороды и их производные, являющиеся одним из наиболее распространенных классов ксенобиотиков, могут быть подвержены либо полной биодеградации, либо биотрансформации в ценные химические вещества при условии нахождения ксенобиотиков в среде в достаточном высоких концентрациях. Причем ферментные системы микроорганизмов чаще всего используются как катализаторы стереоселективных превращений углеводородов в ценные химические продукты. Наиболее характерными являются аэробные процессы биотрансформации углеводородов, которые осуществляются главным образом через стадии их окисления до эпоксидов, спиртов, диолов. Клетки многих бактерий содержат монооксигеназные ферментные системы с цитохромом P-450 в качестве терминальной оксидазы и способны окислять алифатические, алициклические и ароматические углеводороды.

В этом аспекте представлялось интересным изучить возможности получения оптически активных эпоксидных соединений с использованием микроорганизмов с окислительным типом метаболизма. Энантимерно чистые эпоксиды являются важными хиральными "строительными блоками" в органическом синтезе и могут выступать интермедиатами в синтезах более сложных энантимерно чистых биологически активных соединений благодаря своей способности взаимодействовать с широким рядом различных нуклеофилов.

Одним из путей микробиологического синтеза хиральных эпоксидов служит окисление олефинов с участием монооксигеназной ферментной системы. В качестве субстратов использовали олефины с различными длиной цепи и положением двойной связи – гексен-1 и нонен-4 (концентрация в среде 0,1%), а в качестве микроорганизмов с окислительным типом метаболизма были выбраны бактерии *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 и *Pseudomonas fluorescens* B-22.

Как видно из табл.1, бактерии *P.aeruginosa* и *P.fluorescens* эпоксируют алифатические олефины с двойной связью в конце и середине углеводородной цепи. Однако эпоксидирование стерически затрудненной двойной связи нонена-4 протекает менее эффективно. Причем бактерии *P.fluorescens* проявляют большую эпоксилирующую активность в отношении обоих субстратов [1].

Эти результаты хорошо согласуются с данными по содержанию цитохрома P-450, принимающего непосредственное участие в окислении олефинов, в клетках этих бактерий (таблица 1) [2].

Таблица 1

Зависимость степени конверсии олефинов от содержания цитохрома P-450 в клетках бактерий *P.aeruginosa* и *P.fluorescens*

Микроорганизмы	Степень конверсии субстратов, %		Содержание цитохрома P-450, нмоль/мг белка	
	гексен-1	нонен-4	гексен-1	нонен-4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	61,5	9,9	0,08	0,09
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	70,6	14,2	0,21	0,18

Помимо микробиологического окисления олефинов оптически активные эпоксиды могут быть получены путем дегидрогалогенирования α -галогенгидринов, полученных микробиологическим восстановлением соответствующих α -галогенкетонов. В качестве последних использовали 5-хлор-4-нонанон и 4-хлор-5-нонанон (концентрация в среде 0,1%) с целью получения в дальнейшем хирального 4,5-эпоксинонана.

Из литературы известно, что α -галогенкетоны эффективно восстанавливаются в соответствующие α -галогенгидрины с высокой энантиомерной чистотой различными штаммами дрожжей, мицелиальных грибов и бактерий [3]. Поэтому в качестве биокатализатора были выбраны следующие микроорганизмы: мицелиальные грибы – *Aspergillus niger* ATCC 9142, *Beauveria bassiana* ATCC 9142, *Cunninghamella echinulata* var. *elegans* ATCC 9245, *Geotrichum candidum* CBS 233-76, *Mortierella isabellina* NRRL 1757; бактерии *Lactobacillus kefir* DSM 20587 и дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* (коммерческий продукт VAHINE Monteux), *Rhodotorula glutinis* NRRL Y 1091.

После проведения предварительных исследований с учетом наибольшей трансформации α -хлоркетона, наименьшего образования побочных продуктов и минимальной метаболизации образующихся α -хлоргидринов для восстановления 5-хлор-4-нонанона были выбраны *S.cerevisiae* и *L.kefir*, а для восстановления 4-хлор-5-нонанона - *R.glutinis* [1].

Результаты микробиологического восстановления 5-хлор-4-нонанона и 4-хлор-5-нонанона показали, что средние выходы диастереомеров соответствующих α -хлоргидринов низкие (15-20%). Это объясняется полной биodeградацией субстрата или целевого продукта либо биотрансформацией целевого продукта в побочные, а также внутриклеточным накоплением продукта. Для обоих α -хлоргидринов были получены 3 оптически актив-

ных диастереомера: син-(4S,5S)-, анти-(4S,5R)- и анти-(4R,5S)-изомер с энантиомерными избытками 75-98%.

Затем обработкой K_2CO_3 вышеуказанных диастереомеров α -хлоргидринов были получены 4 энантиомерно чистых изомера 4,5-эпоксидонана (табл.2). В связи с тем, что энантиомерная чистота эпоксидов непосредственно связана с энантиомерной чистотой соответствующих диастереомеров α -хлоргидринов, для синтеза эпоксидов были выбраны диастереомеры α -хлоргидринов с наибольшими энантиомерными избытками.

Таблица 2
Сtereoхимические соотношения 4,5-эпоксидонана с предшественниками

α -Хлоркетон *	α -Хлоргидрин		Эпоксид			Выход, %
	Абс. конф.	Биокатализатор	$[\alpha]_D^{25}$	е.е., %	Абс. конф.	
1	(4S,5S)	<i>S.cerevisiae</i>	-5	≥ 98	(4S,5R)	50
	(4S,5R)	<i>S.cerevisiae</i>	-32	≥ 98	(4S,5S)	70
	(4R,5S)	<i>L.kefir</i>	+32	≥ 98	(4R,5R)	72
2	(4S,5S)	<i>R.glutinis</i>	+5	≥ 98	(4R,5S)	48

Примечание:* 1 – 5-хлор-4-нонанон; 2 – 4-хлор-5-нонанон.

Как видно из табл.2, выходы эпоксидов достаточно высокие, причем цис-4,5-эпоксидонан образуется из син-изомера α -хлоргидрина, а транс-4,5-эпоксидонан – из анти-изомера α -хлоргидрина, т.е. в результате образования эпоксидов происходит инверсия конфигурации атома углерода α -хлоргидрина, несущего хлор. Рацемизации в ходе реакции эпоксидирования не наблюдалось [1].

Таким образом, по сравнению с микробиологическим окислением олефинов более предпочтительным способом получения хиральных эпоксидов с циклом в середине углеводородной цепи является дегидрогалогенирование α -галогенгидринов, полученных микробиологическим восстановлением соответствующих α -галогенкетонных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахрамович Т.И., Гриц Н.В., Леонтьев В.Н. Микробиологический синтез 4,5-эпоксидонана. // Труды БГТУ. – 2000. – Вып. 8. – С.219-222.
2. Сокольчик Т.И., Леонтьев В.Н., Гриц Н.В. // Микробиология. – 1999. – Т.68. № 3. – С.299-303.
3. Besse P., Renard M., Veschambre H. // Tetrahedron: Asymmetry. – 1994. – V.5. – P.1249-1268.