

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В СИНТЕЗЕ ХИРАЛЬНЫХ ЭПОКСИДОВ

Ахрамович Т.И., Гриц Н.В., Леонтьев В.Н.

Белорусский государственный технологический университет (кафедра биотехнологии и биоэкологии), Минск, РБ

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 способности эпоксидов взаимодействовать с широким рядом различных нуклеофилов.

Принципиально возможны 2 пути образования эпоксидного цикла: окисление олефинов и дегидрогалогенирование α -галогенгидринов.

Для получения эпоксидов по 1-му пути в качестве субстратов использовали олефины с различными длиной цепи и положением двойной связи - гексен-1 и нонен-4, а по 2-му пути - α -галогенкетоны с различными длиной цепи, положением карбонильной группы и типом галогена: 4-хлор-3-октанон (1), 5-хлор-4-нонанон (2), 4-бром-5-нонанон (3) и 4-хлор-5-нонанон (4).

В качестве бактерий, эпоксилирующих олефины, использовали *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 и *Pseudomonas fluorescens* B-22. Результаты эпоксилирования гексена-1 и нонена-4 представлены в табл. 1.

Таблица 1

Эффективность микробиологического эпоксилирования олефинов

Микроорганизмы	Степень конверсии субстратов, %	
	гексен-1	нонен-4
<i>P.aeruginosa</i>	61,5	9,9
<i>P.fluorescens</i>	70,6	14,2

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

Из литературы известно, что α -галогенкетоны эффективно восстанавливаются в соответствующие α -галогенгидрины с высокой энантиомерной чистотой различными штаммами дрожжей, мицелиальных грибов и бактерий [1]. Поэтому в качестве биокатализатора нами 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 VANINE Montex), *Rhodotorula glutinis* NRRL Y 1091.

После проведения предварительных исследований с учетом наибольшей трансформации галогенкетона, наименьшего образования побочных продуктов и минимальной метаболизации образующихся галогенгидринов нами были выбраны 5 микроорганизмов: *S.cerevisiae*, *R.glutinis*, *A.niger*, *M.isabellina* и *L.kefir*.

Диастереомеры галогенгидринов выделяли методом колоночной хроматографии на силикагеле. Выход целевых продуктов определяли на основании данных ГЖХ.

Для определения энантиомерных избытков (е.е.) каждого изомера α -галогенгидринов использовали ряд методов, таких как анализ продуктов с помощью ГЖХ с использованием колонки с хиральной неподвижной фазой, позволяющий сразу определить е.е., а также не прямые методы определения е.е. Среди последних использовали: 1) определение диастереоизомерного состава ковалентного производного изучаемого продукта с хиральным реактивом (хлорангидрид (-)-(S)-ацетилмолочной кислоты) с известной оптической чистотой методом ГЖХ на колонке с нехиральной фазой [2]; 2) определение диастереоизомерного состава после превращения изучаемого продукта в соответствующий α -метокси- α -трифторметилфенил-ацетат (МРТА-эфир) методами ^{13}C -, ^{19}F - и ПМР-спектроскопии [3].

До настоящего времени в литературе не описаны оптически активные α -галогенгидрины, полученные микробиологическим восстановлением субстратов 1, 2, 3 и 4. В связи с этим, абсолютную конфигурацию галогенгидринов устанавливали на основании сравнения с уже известной конфигурацией 3-бром-2-октанола, полученного восстановлением дрожжами *S.cerevisiae* [4].

Проведенные исследования по микробиологическому восстановлению α -галогенкетонов [5] показали, что средние выходы диастереомеров галогенгидринов низкие (15-20%). Это объясняется полной биодegradацией субстрата или целевого продукта либо биотрансформацией целевого продукта в побочные, а также внутриклеточным накоплением продукта.

Микробиологическое восстановление 4-хлор-3-октанона (1) приводит к образованию 4-х оптически активных диастереомеров: син-(3S,4S) и анти-(3S,4R)-4-хлор-3-октанола, полученных восстановлением дрожжами *S.cerevisiae* и *R.glutinis*, а также син-(3R,4R) и анти-(3R,4S)-4-хлор-3-октанола, полученных восстановлением *L.kefir* и *A.niger* соответственно.

В случае микробиологического восстановления 5-хлор-4-нонанона (2) получены 3 оптически активных диастереомера: син-(4S,5S) под действием дрожжей *S.cerevisiae* и *R.glutinis*, анти-(4S,5R) под действием дрожжей *S.cerevisiae* и анти-(4R,5S) под действием *R.glutinis* и *L.kefir*. Причем, у син-изомера атом углерода, связанный с ОН-группой, имеет S-конфигурацию, тогда как у анти-изомера - R-конфигурацию, за исключением дрожжей *S.cerevisiae*, когда R-конфигурацию у анти-изомера имеет атом углерода, несущий хлор.

Для 4-хлор-5-нонанона (4) также получены 3 оптически активных диастереомера: син-(4S,5S) для *R.glutinis* и *L.kefir*, анти-(4S,5R) для *L.kefir* и анти-(4R,5S) для *S.cerevisiae*. Как и для 5-хлор-4-нонанона, у син-изомера 4-хлор-5-нонанона атом углерода, связанный с ОН-группой, имеет S-конфигурацию, тогда как у анти-изомера, наоборот, S-конфигурация того же атома сохраняется и соответственно, изменяется на R- конфигурация атома углерода, несущего хлор, в случае всех использованных микроорганизмов, за исключением *L.kefir*.

И наконец, 2 оптически активных диастереомера получены при восстановлении 4-бром-5-нонанона (3): син-(4S,5S) и анти-(4R,5S) с помощью *R.glutinis*.

В случае восстановления 4-хлор-5-нонанона и 4-бром-5-нонанона одни и те же микроорганизмы (за исключением *S.cerevisiae*) дают одинаковые изомеры при восстановлении хлор- и бромкетонов. Однако, выход несколько выше при восстановлении 4-хлор-5-нонанона.

Четыре энантимерно чистых изомера 4,5-эпоксинонана были получены обработкой K_2CO_3 диастереомеров хлоргидринов, полученных микробиологическим восстановлением 5-хлор-4-нонанона (2) и 4-хлор-5-нонанона (4) (табл.2). В связи с тем, что энантимерная чистота эпоксидов непосредственно связана с энантимерной чистотой соответствующих диастереомеров хлоргидринов, для синтеза эпоксидов были выбраны диастереомеры хлоргидринов с наибольшими е.е.

Как видно из табл.2, выходы эпоксидов достаточно высокие, причем в результате образования эпоксида происходит инверсия конфигурации атома углерода, несущего хлор. Рацемизации в ходе реакции эпоксидирования не наблюдалось, что согласуется с данными [1,4].

Таблица 2

Стереохимические соотношения 4,5-эпоксинонана с предшественниками

Хлоркетон	Хлоргидрин		Эпоксид			Выход, %
	Абс. Конф.	Биокатализатор	$[\alpha]_D^{25}$	е.е., %	Абс. конф.	
2	(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
4	(4S,5S)	<i>R.glutinis</i>	+5	≥ 98	(4R,5S)	48

Таким образом, показана возможность получения хиральных эпоксидов как из олефинов, так и из α-галогенкетонов с использованием микроорганизмов. Получение эпоксидов с циклом в середине углеводородной цепи предпочтительнее осуществлять через α-галогенгидрины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Besse P., Renard M.F., Veschambre H. // *Tetrahedron: Asymmetry* – 1994. – V.5. – P.1249-1268.
2. Mosandl A., Gessner M., Gunther C. e.a. // *J.High. Resol. Chromatogr.* – 1987. – P. 67-70.
3. Dale J.A., Dull D.L., Mosher H.S. // *J.Org. Chem.* – 1969. – V.34. – P.2543-2549.
4. Besse P., Veschambre H. // *Tetrahedron: Asymmetry* – 1993. – V.4. – P.1271-1285.
5. Besse P., Sokolchik T., Veschambre H. // *Tetrahedron: Asymmetry* – 1998. – V.9 – P.4441-4457.

УДК 636.5-053.2:612.11/3

ИММУННЫЙ СТАТУС ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ МИКРОБНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ.

Бабина М.П., Карпуть И.М.

Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины, г. Витебск, Республика Беларусь

Известно, что устойчивость эмбрионов и выведенного молодняка цыплят-бройлеров во многом зависит от обеспеченности яйца защитными факторами. Поэтому изучение иммунного статуса в онтогенезе цыплят-бройлеров в зависимости от иммунологического качества яйца и своевременного создания нормального микробиоценоза кишечника представляет большой научный интерес и имеет практическое значение в отношении профилактики болезней молодняка.

Экспериментальные исследования проведены на 230 яйцах используемых для инкубации и в процессе инкубации, 450 клинически здоровых цыплятах кросса Смена 1-56-дневного возраста, а также на 15000 цыплятах, которым в различные периоды задавали пробиотик бактрил, разработанный совместно с институтом Микробиологии НАН РБ и микробный полисахарид разработанный совместно с Витебской биофабрикой. В яйце до инкубации и в процессе инкубации определяли содержание общего белка, белковых фракций, иммуноглобулинов и лизоцима, а также проводили цитологическое исследование крови эмбрионов. После вывода цыплят изучали клинический, иммунологический статус, заболеваемость, прирост массы, качество продукции, проводили бактериологические исследования.

Установлено, что наиболее биологически и иммунологически полноценными являются яйца полученные от кур-несушек в 220-240 и 300-320-дневном возрасте. В качественном яйце содержится в белке - 8-10 мг/мл лизоцима, 28-32 г/л Ig A, 4,8-5,7 г/л Ig M, в желтке 38-45 г/л Ig G.