

Projekt współfinansowany ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego
w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka

Tytuł Projektu: "Biotransformacje użyteczne w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym"
Nr POIG.01.03.01-00-158/09

Opracowanie zrealizowano w ramach projektu POIG 01.03.01-00-158/09

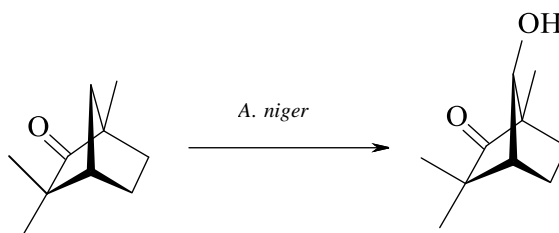
Biotransformacje użyteczne w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym

Zadanie badawcze nr 5. Chemoenzymatyczna synteza pochodnych terpenoidowych o potencjalnej
aktywności biologicznej.

Politechnika Wrocławska

Biosynteza (-)-7-hydroksy-2-fenchonu

Biotransformacje monoterpenu mogą prowadzić do powstania różnych produktów, w wyniku na przykład hydroksylacji lub epoksydacji. Przykładem może być mikrobiologiczna hydroksylacja pochodnych z zachowanym układem fenchanu (schemat 1.)



Schemat 1.

Do dwóch kolb stożkowych o pojemności 250 ml, zawierających po 100 ml płynnego podłoża α - medium składającego się z 20 g glukozy, 20 g wody peptonowej, 5 g ekstraktu drożdżowego, 1 l wody destylowanej, pH=7.0, wprowadza się mikroorganizm pobrany z płytki agarowej za pomocą ezy. Hodowlę inkubuje się na wytrząsarce paletowej (140 obr/min) w temperaturze 28°C przez 48 godzin. Po 24 h dodaje się 50 μ l (-)-2-fenchonu do 6 kolb zawierających po 100 ml α -medium. Dodatkowa hodowla stanowi niezawierającą substratu kontrolę, inkubowana w takich samych warunkach, co właściwa biotransformacja. Biotransformację prowadzi się 7 dni. Postęp reakcji kontroluje się za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (TLC), gdzie eluentem jest heksan: octan etylu w proporcjach 2:1. Wcześniej natomiast wykonuje się ekstrakcję 2 ml hodowli z 2 ml octanu etylu. Po zakończeniu procesu biotransformacji przesącza się pod zmniejszonym ciśnieniem zawartość kolb w celu oddzielenia mikroorganizmów od płynu hodowlanego. W ten sposób otrzymany przesącz ekstrahuje się trzykrotnie 100 ml octanu etylu. Ekstrakt suszy się nad bezwodnym siarczanem magnezu (VI). Po osuszeniu, środek suszący odfiltruje się, a rozpuszczalnik odparowuje na wyparce rotacyjnej. Surowy produkt oczyszcza się za pomocą chromatografii kolumnowej, gdzie eluent to heksan: octan etylu w stosunku 20:1.



Projekt współfinansowany ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego
w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka

Tytuł Projektu: "Biotransformacje użyteczne w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym"
Nr POIG.01.03.01-00-158/09

Krzywą wzrostu mikroorganizmu *Aspergillus niger* wyznacza się poprzez pomiar suchej masy. W tym celu odsączone z hodowli mikroorganizmy zbiera się na sączek i suszy się w temperaturze 50°C. Masy mikroorganizmów na obu sączkach każdego pomiaru były porównywalne.

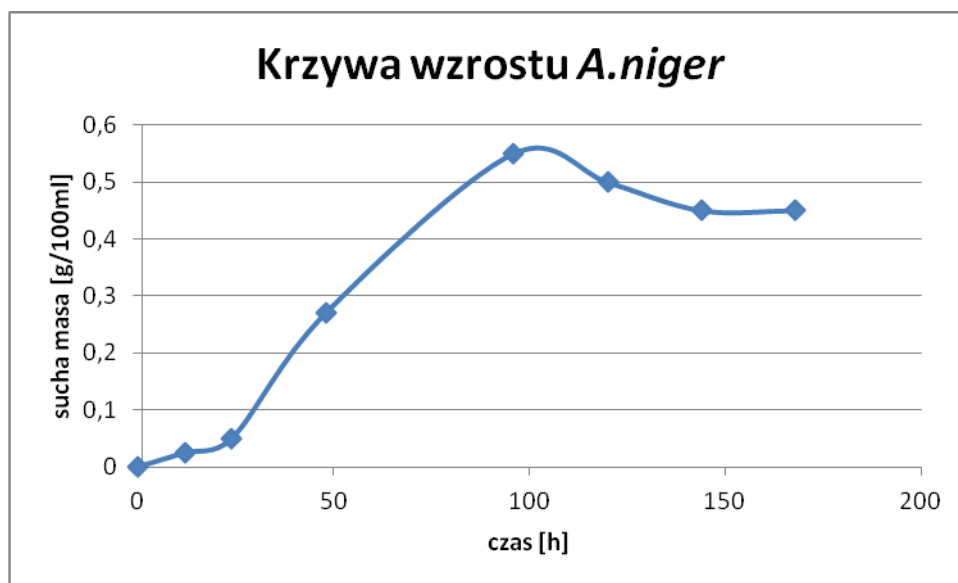
Produkt tj. (-)-7-hydroksy-2-fenchon posiada następujące właściwości fizyczne i spektralne $[\alpha]_D^{20} = -3.5^\circ$ (c=0,5; CHCl₃); M_w=168.25 g/mol.

IR (film, cm⁻¹): 3454.83 (w), 2965.04 (s), 1733 (vs)

GC-MS: m/z=168.1339 (M⁺)

¹H NMR (CDCl₃, δ, ppm): 0.94 (s, 3H przy C-10), 1.03 (t, 3H przy C-7, J=5.54 Hz); 1.09 (d, 7H, 3H przy C-9; J=3.84 Hz); 1.62 (d, 1H przy C-5, J=1.43 Hz); 2.37 (dd, 1H przy C-6, J=13.87; 2.17 Hz); 4.08 (q, 1H przy C-8, J=9.01 Hz).

¹³C NMR (CDCl₃, δ, ppm): 20.84 (C-9); 21.25 (C-10); 23.94 (C-7); 37.28 (C-6); 41.03 (C-5); 77.37 (C-8).



Rys.1 Krzywa wzrostu *Aspergillus niger*