



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.01.03.01-00-158/09-07

Wrocław 24 stycznia 2013

SPRAWOZDANIE Z SESJI SPRAWOZDAWCZEJ PODSUMOWUJĄCEJ TRZECI ROK BADAŃ W PROJEKCIE ŁÓDŹ 05-07.12.2012

W dniach 05-07.12.2012 została zorganizowana sesja sprawozdawcza podsumowująca trzeci rok badań w projekcie. Spotkanie odbyło się w Łodzi w Hotelu Yuca (wybrane zgodnie z ustawą o zamówieniach publicznych).

W pierwszym dniu konferencji zostało zorganizowane spotkanie Kierowników poszczególnych zadań badawczych, na którym zostały omówione sprawy organizacyjno-administracyjne projektu. Omówiono sprawy finansowe w poszczególnych zadaniach, jak również kwestie patentów i wskaźników produktu (ze szczególnym uwzględnieniem wskaźnika liczby jednostek naukowych współpracujących z jednostką naukową w trakcie realizacji projektu). Kierownicy zadań przedstawili również dokładną listę publikacji naukowych oraz konferencji, w których Wykonawcy zadań wzięli udział od początku trwania projektu. Omówione zostały również postępy w realizacji kamieni milowych. Dokumentacją tego spotkania są prezentacje Power Point poszczególnych zadań.

W drugim dniu naszej sesji sprawozdawczej, Kierownicy zadań, bądź wskazani przez nich Wykonawcy przedstawili sprawozdania merytoryczne z postępów badawczych w roku 2012.

Pierwsze wystąpienie należało do dr hab. Ewy Żyłańczuk-Dudy Prof. PWr. z Politechniki Wrocławskiej, która realizuje zad. 4 w projekcie.

Zadanie 4 Chemoenzymatyczna synteza asymetrycznych fosfonianów

Na grudniowej sesji sprawozdawczej przedstawione zostały postępy w realizacji poszczególnych zagadnień z zadania 4 kierowanego przez prof. dr hab. inż. Pawła Kafarskiego.

Omówiono syntezę i biotransformacje pochodnych kwasu fosfonooctowego, dokumentując opracowane metody kinetycznego rozdziału mieszaniny racemicznej stosowanego substratu z wykorzystaniem biokatalizatorów pochodzenia pro- i eukariotycznego. Wykazano także możliwość zastosowania tego typu struktury jako chiralnego czynnika derywatyizującego. Ta część projektu jest w trakcie realizacji.

Przedstawiono także zakończone badania nad dyssymetryzacją fenylenobishydroksyfosfonianów i fenylenobisaminofosfonianów za pomocą biokatalizatorów całokomórkowych i preparatów enzymatycznych.

Sprawozdanie obejmowało również omówienie syntezy i biotransformacji aminofosfonianów z wykorzystaniem grzybów jako biokatalizatorów – ta część badań zaowocowała opracowaniem skutecznych metod rozdziału kinetycznego mieszanin racemicznych fosfonowych analogów aminokwasów. Ta część projektu jest jeszcze w trakcie realizacji.

Omówiono metody adaptacji biokatalizatorów (komórek mikroorganizmów) do określonych warunków procesu biotransformacji, zależnych między innymi od struktury nefizjologicznego substratu.



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.01.03.01-00-158/09-07

Przedstawiono wstępne wyniki badania użyteczności lipaz uzyskanych od realizatora zadania 7 jako biokatalizatorów do syntezy asymetrycznych hydroksyfosfonianów.

W sprawozdaniu naświetlono postępy pracy nad syntezą biblioteki ketofosfonianów (ze stereogenicznym atomem fosforu) oraz wyniki badań przesiewowych cyjanobakterii zdolnych do stereoselektywnej redukcji tych związków.

Przygotowana prezentacja zawierała także zestawienie dotychczasowych wskaźników projektu.

Drugie wystąpienie należało do Pani dr inż. Moniki Wielechowskiej, która pracuje na Politechnice Warszawskiej w zadaniu nr 11.

Zadanie 11 Zastosowanie biokatalizy do syntezy związków heterocyklicznych i lipidów o znaczeniu biologicznym

W 2012 roku opracowano syntezę optycznie czynnych pochodnych 1-(1,3-benzotiazol-2-sulfanylo)propan-2-olu, które mogą też wykazywać właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Alkohole były przekształcane w optycznie czynne związki za pomocą acylowania katalizowanego przez komercyjne lipazy lub przekształcane w racemiczne octny i hydrolizowane rozpuszczalnikiem organicznym nasyconym wodą. W obu przypadkach szybciej reagował enancjomer (R) i otrzymano produkty w wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi.

Otrzymano też szereg optycznie czynnych pochodnych tetrabromobenzotriazolu które wykazują zdolność do inhibowania kinazy CK2. Wzorcowy 3-(4,5,6,7-tetrabromo-1H-benzotriazol-1-yl)-propan-2-ol poddano acylowaniu octanem winylu w obecności kilku komercyjnych lipaz, z których najlepszą okazała się lipaza Amano AK (E>200). Reakcję optymalizowano zmieniając rozpuszczalnik, temperaturę oraz czynnik acylujący, w każdej reakcji osiągając enancjoselektywność >200. Na koniec przeprowadziliśmy reakcje dla innych pochodnych TBBt w warunkach optymalnych i tu też wszędzie otrzymaliśmy optycznie czyste związki.

W 2012 roku zajmowano się także przygotowaniem kolekcji szczepów mikroorganizmów izolowanych z próbek środowiskowych. Z 6 antarktycznych próbek gleby i paliwa udało się wyizolować 145 szczepów głównie bakterii, ale też i grzybów. W następnej kolejności przeprowadziliśmy selekcję szczepów pod względem aktywności proteolitycznej, lipolitycznej i amylolitycznej na podłożach stałych selekcyjnych zawierających odtłuszczone mleko, oliwę z oliwek i Tween80 oraz skrobię. Na tej podstawie zidentyfikowaliśmy 23 szczepy o aktywności proteolitycznej, z czego 8 szczepów należy do rodzaju *Pseudomonas*, po 3-4 do *Flavobacterium*, *Anthrobacter*, *Chryseobacterium* i inne. Przypisanie do rodzaju opracowano na podstawie podobieństw w sekwencji podjednostki 16S RNA. Zidentyfikowanych zostało też 25 szczepów lipolitycznych.

Wyniki badań zrealizowanych w roku 2012 na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu w ramach zadania nr 10 przedstawił mgr inż. Radosław Gnilka i dr Alina Świzdor, a w ramach zadania nr 9: dr inż. Tomasz Tronina

Zadanie 9 Synteza i biotransformacje związków flawonoidowych

Ksantohumol wyizolowany z poekstrakcyjnego odpadu chmielowego poddano reakcji izomeryzacji w środowisku zasadowym. Mieszaninę poreakcyjną oczyszczano z wykorzystaniem chromatografii kolumnowej uzyskując czysty izoksantohumol z wydajnością przekraczającą 75%. Otrzymany prenylowany flawanon poddano następnie badaniom selekcyjnym w celu wyłonienia mikroorganizmów zdolnych do efektywnych przekształceń tego flawonoidu. Przetestowano 54 szczepy należące do grzybów strzępkowych oraz drożdży pochodzących z Kolekcji Mikroorganizmów Katedry Chemii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. W wyniku badań skringowych wyłoniono 5 organizmów



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.01.03.01-00-158/09-07

zdolnych do transformacji, 3 spośród nich wykorzystano do biotransformacji w większej skali, były to kultury: *Absidia glauca* AM93, *Beauveria bassiana* AM446 oraz *Fusarium oxysporum* AM13. Mikroorganizmy te katalizowały reakcję oksydacyjnej cyklizacji grupy prenylowej do pochodnej dihydrofuranowej oraz O-glikozylacji, przy czym przyłączanym cukrem były cząsteczki β -D-glukopiranozy oraz jej 4-O-metylowanej pochodnej.

Na podstawie badań skринingowych wyłoniono trzy szczepy *A. niger* (MB, SBP, KB) zdolne do przekształceń 6- i 7-metoksyflawonu. Uzyskano produkty demetylacji oraz hydroksylacji w pozycję 4' pierścienia B. 5-Hydroksyflawon przekształcany był w 5,4'-dihydroksyflawon przez szczepy *A. niger* (MB, KB) oraz *P. chermesinum* 113. Te same szczepy katalizowały przekształcenie 5-metoksyflawonu w 5,4'-dimetoksyflawon, *A. niger* SBP prowadził jedynie reakcje demetylacji przy C-5.

Otrzymane pochodne, poddano badaniom na aktywność przeciwutleniającą oraz przeciwnowotworową. Właściwości przeciwutleniające mierzono jako zdolność zmiatania wolnego rodnika 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylowego (DPPH). Na podstawie otrzymanych wyników ustalono wartości IC_{50} (ilość antoksydanta potrzebną do neutralizacji połowy ilości wolnego rodnika użytego w teście, wyrażoną jako ilość mikromoli testowanego flawonoidu, niezbędną do neutralizacji jednego mikromola rodnika DPPH).

Aktywność przeciwnowotworową badano jako zdolność do hamowania proliferacji komórek ludzkich nowotworów: gruczołu sutkowego (MCF-7), gruczołu krokowego (PC-3) oraz okrężnicy (HT-29), względem cisplatyny – leku wykorzystywanego powszechnie w terapii przeciwnowotworowej, będącej związkiem referencyjnym w przeprowadzonych testach. Otrzymane wyniki umożliwiły określenie wartości IC_{50} dla analizowanych związków.

Zadanie 10 Biotransformacje związków izoprenoidowych

Na drodze pięcioetapowej syntezy chemicznej z β -damaskonu uzyskano bicykliczne chloro- i bromolaktony, które w dalszym etapie zostały przekształcone do nienasyconego γ -laktonu oraz tricyklicznego nasyconego γ -laktonu. Przeprowadzono selekcję mikroorganizmów zdolnych do transformacji otrzymanych chlorowcolaktonów. Trwają prace nad ustaleniem struktur produktów uzyskanych w wyniku biotransformacji tych laktonów.

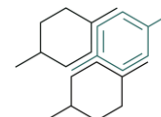
cis-Jasmon został poddany mikrobiologiczną transformacją w kulturach *Absidia glauca* AM254 oraz *Penicillium chermesinum* AM113. W wyniku tych transformacji uzyskano enancjomerycznie wzbogacone mieszaniny 4-hydroksy-*cis*-jasmonu: 43 % ee izomeru prawoskrętnego w kulturze *Absidia glauca* AM254, 23% ee izomeru lewoskrętnego w kulturze *Penicillium chermesinum* AM113.

Biotransformacji poddano γ -jodolakton uzyskany z (\pm)- α -jononu oraz *trans*- γ -lakton z układem *p*-mentanu w wybranych kulturach grzybów strzępkowych należących do kolekcji mikroorganizmów Katedry Chemii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. W wyniku tych transformacji z jodolaktonu otrzymano produkt hydrolitycznej dehalogenacji – hydroksyl lakton, natomiast z *trans*- γ -laktonu z układem *p*-mentanu uzyskano produkty hydroksylacji w różnych pozycjach cząsteczki substratu.

W wyniku redukcji grupy karbonylowej oraz przegrupowania Claisena otrzymano ester etylowy z (\pm)- β -jononu, który w kolejnych etapach zostanie przekształcony do chlorowcolaktonów. Otrzymane produkty zostaną poddane mikrobiologiczną transformacją w wybranych kulturach grzybów strzępkowych, należących do kolekcji mikroorganizmów Katedry Chemii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

Diastereoizomery tujonu zostały poddane biotransformacji w kulturach grzybów strzępkowych z rodzaju *Absidia*. W wyniku tych transformacji uzyskano dwie hydroksylowe pochodne (–)- α -tujonu oraz produkty hydroksylacji (+)- β -tujonu. W przypadku tego ostatniego substratu izolowano również diole powstałe w wyniku hydroksylacji i redukcji grupy karbonylowej w ketonie.

Na podstawie badań przesiewowych wyselekcjonowano mikroorganizmy zdolne do transformacji pochodnych 1-dehydrotosteronu oraz 5 α -nasyconych steroidów szeregu androstanu (epiandrosteronu, androsteronu i androstandionu). Do biotransformacji w skali preparatywnej





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.01.03.01-00-158/09-07

wykorzystano *Fusarium culmorum*, *Beauveria bassiana*, *Aspergillus ochraceus* oraz szczepy rodzaju *Penicillium*. Z 1-dehydrosteroidów uzyskano testolakton oraz 15α -hydroksy-1-dehydroandrostendion. Profil metabolitów 5α -nasyconych steroidów zależał od rodzaju funkcji tlenowej w pierścieniu A i D. Uzyskano 7α -, 7β -, 11α -, 15α -hydroksypochodne oraz odpowiednie laktony i hydroksylaktony. Ustalono wpływ stereochemii grupy funkcyjnej przy C-3 na pozycję wprowadzanej grupy hydroksylowej oraz laktonizację. Uzyskane wyniki pozwoliły na opracowanie sześciu zgłoszeń patentowych: zgłoszenie nr P-399603, zgłoszenie nr P-400204, zgłoszenie nr P-400941, zgłoszenie nr P-400942, zgłoszenie nr P-400947, zgłoszenie nr P-400948.

Wyniki badań zrealizowanych w roku 2012 na Politechnice Śląskiej w ramach zadania nr 8, przedstawili Prof. dr hab. Andrzej Jarzębski.

Zadanie 8 Intensywne procesy biotransformacji prowadzone w ciągłych mikroreaktorach o kontrolowanej nanostrukturze-opracowanie przykładowych rozwiązań

Porowate proszkowe nośniki krzemionkowe typu MH i SBA-15 sfunkcjonalizowano grupami hydrofobowymi używając: hexadecyltrimetoxysilan, hexametyldisilazan oraz n-octyltrietoxysilan. Na hydrofobowych matrycach osadzono adsorpcyjnie różne lipazy a otrzymane biokatalizatory testowano w reakcjach: hydrolizy, estryfikacji i transestryfikacji. Materiały scharakteryzowano termogravimetrycznie i za pomocą spektroskopii IR.

Na monolitach krzemionkowych o multimodalnej strukturze porów sfunkcjonalizowanych grupami aminowymi kowalencyjnie immobilizowano inwertazy i trypsyny. Dzięki makroporom uzyskano natężenia przepływu rzędu 20 ml/min przy stosunkowo niskich spadkach ciśnień. Mikroreaktory charakteryzowały się bardzo wysoką wydajnością i stabilnością w reakcji hydrolizy sacharozy i proteolizy białek.

Określono metody analityczne oznaczania enancjomerów solketalu i jego pochodnych (chromatografia gazowa) oraz N-(2,3-dihydroksypropylo)ftalimidu i jego pochodnych (HPLC).

Wykazano, że produkty transestryfikacji solketalu z najwyższym nadmiarem enancjomerycznym (R) otrzymuje się wobec lipazy z *Pseudomonas fluorescens*, przy zastosowaniu maślanu winylu (76% eeR, przy $\alpha = 29\%$). Stwierdzono też, że immobilizacja lipazy ma wpływ na zwiększenie szybkości reakcji a nie wpływa na jej enancjoselektywność.

W przypadku transestryfikacji N-(2,3-dihydroksypropylo)ftalimidu produkt z najwyższym nadmiarem enancjomerycznym, przy stosunkowo wysokim stopniu przereagowania uzyskano stosując pankreatynę lub lipazę z trzustki wieprzowej oraz maślan winylu jako czynnik acylujący (67% eeR, przy $\alpha = 83\%$). Immobilizacja lipazy obniżyła szybkość reakcji, ale otrzymano produkt z wyższą enancjoselektywnością.

Kolejne wystąpienie to przedstawienie wyników uzyskanych na Politechnice Łódzkiej w zadaniu nr 7, którego kierownikiem jest Prof. dr hab. Tadeusz Antczak. Wyniki przedstawiła Pani dr Katarzyna Struszczyk-Świta



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.01.03.01-00-158/09-07

Zadanie 7 Opracowanie metody wytwarzania preparatów immobilizowanych enzymów w skali preparatywnej adresowanych do prowadzenia ciągłych procesów biokonwersji

Podstawowym celem zadania 7 projektu, realizowanego w Instytucie Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej, jest opracowanie, w skali preparatywnej, metody otrzymywania dwóch immobilizowanych preparatów enzymów: kompleksu enzymów chitozanolitycznych i lipazy. Preparaty te w postaci odwodnionego mycelium pleśni *Mucor* zasiedlającego nośniki porowate posłużą, w dalszej części projektu, do opracowania ciągłej metody otrzymywania odpowiednio chitooligosacharydów oraz wysokiej czystości estrów wyższych kwasów tłuszczowych.

Badania przeprowadzone w roku 2012 dotyczyły:

1. Wytwarzania preparatów immobilizowanych enzymów *Mucor* w skali preparatywnej w fermentorze o objętości 24 litry.
2. Opracowania sposobu długotrwałego przechowywania otrzymanych biokatalizatorów.
3. Wykorzystania cyfrowego przetwarzania obrazów do szybkiej analizy masy mycelium *Mucor* zasiedlającego porowaty nośnik.
4. Otrzymywania w skali preparatywnej metod biokonwersji naturalnych, aktywnych biologicznie substancji (chitooligosacharydy, glukozoamina i estry WNKT), optymalizacja procesu.
5. Określenia wpływu rodzaju chitozanu (masa cząsteczkowa, stopień deacetylacji) na wydajność oraz skład otrzymywanych chitooligosacharydów.
6. Określenia wpływu rodzaju surowca lipidowego oraz długości łańcucha i rzędowości alkoholu alifatycznego na wydajność wytwarzania estrów.
7. Analizy chromatograficznej i spektralnej otrzymanych produktów.

Uzyskane w latach 2010-2012 wyniki pozwoliły na przygotowanie siedmiu zgłoszeń patentowych: zgłoszenie nr P-391954, zgłoszenie nr P-395967, zgłoszenie nr P-395968, zgłoszenie nr P-396201, zgłoszenie nr P-396200, zgłoszenie nr P-398612, zgłoszenie nr P-398613.

Wyniki prac badawczych prezentowane były w roku 2012 na pięciu konferencjach krajowych, w tym: XLIV Ogólnopolskie Kolokwium Katalityczne, Kraków 14-16.03.2012; XII Festiwal Nauki, Techniki i Sztuki, Łódź 16-23.04.2012 r.; BIOCONNECT 2012 „Business Meets Science to cooperate in current topics”, Poznań 15-16.05.2012 r.; VI Kopernikańskie Seminarium Doktoranckie, Toruń 13-15.06.2012 r.; XVIII Seminarium Robocze Polskiego Towarzystwa Chitynowego, Bochnia 19-21.09.2012 r.

W ramach zadania nr 6, którego kierownikiem jest dr hab. Maciej Szaleniec z Instytutu Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN z Krakowa, wyniki prac badawczych przedstawiła dr Agnieszka Dudzik i mgr Mateusz Tataruch

Zadanie 6 Biokatalityczne metody syntezy alkoholi chiralnych

Drugiego dnia sesji sprawozdawczej w ramach zadania 6 zaprezentowano wyniki trzech lat pracy nad PEDH i EBDH.

W przypadku PEDH wszystkie badania, zaplanowane na rok 2010 i 2011, zostały zrealizowane. W pierwszej części sprawozdania przypomniano, że pracę nad PEDH rozpoczęto od przeniesienia hodowli modyfikowanej genetycznie *E. coli* i procedury oczyszczania wymienionego enzymu z laboratorium kooperanta prof. J. Heidera z Marburga do laboratorium MLBKIE. Kolejnym etapem było



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.01.03.01-00-158/09-07

opracowanie metod analitycznych i przebadanie spektrum substratowego PEDH. Omówiono optymalizację parametrów pracy enzymu w reaktorze mieszalnikowym, mającą na celu podniesienie wydajności katalizowanej przez enzym reakcji. Następnie odniesiono się do aktualnie prowadzonych badań, dotyczących modelowania reaktywności PEDH i eksperymentalnej weryfikacji opracowanego modelu. Na koniec wymieniono te z zadań przewidzianych na lata 2013-2014, które już wykonano. W części drugiej sprawozdania omówiono wyniki z prac nad immobilizacją EBDH i PEDH, prowadzonych we współpracy z partnerami projektowymi: dr hab. Jolantą Bryjak z Politechniki Wrocławskiej oraz prof. Andrzejem Jarzębskim z Politechniki Śląskiej. Dla EBDH i PEDH przedstawiono wyselekcjonowane nośniki i ich funkcjonalizację pozwalającą na uzyskanie najwyższych aktywności oczekiwanych. Omówiono także wpływ immobilizacji na poprawę stabilności enzymów podczas przechowywania w warunkach chłodniczych oraz na zwiększenie stabilności operacyjnej.

Wyniki uzyskane w zadaniu nr 5, prowadzonym na Politechnice Wrocławskiej, przedstawił Pan mgr inż. Daniel Strub oraz Pani mgr inż. Agnieszka Stryjewska

Zadanie 5 Chemoenzymatyczna synteza pochodnych terpenoidowych o potencjalnej aktywności biologicznej

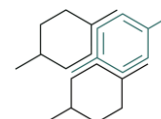
W trakcie zebrania sprawozdawczego omówiono wyniki uzyskane przez pracowników zadania nr 5 od początku trwania projektu. Największą uwagę poświęcono результатам z ostatniego roku, które dotyczą chemoenzymatycznej syntezy związków z grupy terpenoidów o potencjalnej aktywności biologicznej. Przedstawiono szczegóły syntetyczne, jak i wyniki badań farmakologicznych i olfaktorycznych na otrzymanych pochodnych. Szczególną uwagę skupiono na dwóch grupach aktywności: przeciwłękowej oraz stymulującej wyspecjalizowane komórki układu nerwowego – neurony receptorów węchowych. Podkreślono uzyskanie bardzo dobrych wyników aktywności przeciwłękowej terpenoidowej pochodnej *N*-benzoilopiperazyny oraz omówiono wyniki badań olfaktorycznych na nowej klasie terpenoidowych związków zapachowych – iminoeterów terpenoidowych. Podczas zebrania przedstawione zostały także wyniki badań biotransformacyjnych na substratach wykorzystywanych do syntezy iminoeterów, podkreślając bardzo ciekawy i zaskakujący rezultat w postaci mikrobiologicznej hydroksylacji ketonów terpenowych z grupy fenchanu w pozycji C-7.

Kolejną osobą przedstawiającą wyniki badań była Prof. dr hab. Jolanta Bryjak z Politechniki Wrocławskiej, kierująca zadaniem nr 3 w projekcie.

Zadanie 3 Funkcjonalne polimery z immobilizowanymi enzymami zaprojektowane do prowadzenia biotransformacji w reaktorach okresowych i przepływowych

W czasie prezentacji przedstawiono pełny zakres prac obejmujących badania realizowane w latach 2010-2012:

- podsumowano zrealizowane 3 kamienie milowe, dotyczące syntezy nośników Granocel dla realizatorów projektu oraz wskazań technologicznych, związanych z otrzymywaniem immobilizowanej lakazy i tyrozynazy o wydłużonej stabilności operacyjnej;
- omówiono podstawy procesowe stosowalności preparatów z immobilizowaną lakazą i tyrozynazą w reaktorach okresowych i przepływowych, wskazując reaktory okresowe jako odpowiednie dla reakcji z





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.01.03.01-00-158/09-07

enzymami immobilizowanymi na nośnikach Granocel oraz typu MCF oraz reaktory kolumnowe ze złożem upakowanym dla nośników Granocel, akrylowych oraz krzemionkowych;

- podsumowano wyniki badań nad enzymatycznym otrzymywaniem L-DOPA z L-Tyrozyny;
- przedstawiono dotychczasowe wyniki z otrzymywania hydroksytyrozolu z tyrozolu z udziałem immobilizowanej tyrozynazy;
- omówiono dotychczasowe wyniki z immobilizacji adsorpcyjnej i kowalencyjnej lipaz z *Candida rugosa* i z *Pseudomonas cepacia*, enzymów wykorzystywanych przez realizatorów innych zadań;
- przedstawiono wyniki badań nad stabilnością operacyjną immobilizowanych lipaz oraz możliwością przygotowania preparatów w formie umożliwiającej prowadzenie procesów z limitowaną zawartością wody;
- omówiono wyniki pozwalające wskazać typy reaktorów dla immobilizowanych lipaz.

Na zakończenie przedstawiono listę dotychczasowych rezultatów badań w formie publikacji i prezentacji konferencyjnych.

Wyniki kolejnych badań realizowanych w zadaniach nr 1 i 2 przedstawione zostały przez pracowników Instytutu Chemii Organicznej PAN z Warszawy: mgr inż. Szymon Kłossowski, mgr inż. Anna Brodzka, mgr inż. Małgorzata Ćwiklak

Zadanie 2 Chemoenzymatyczna synteza nowych związków o działaniu antynowotworowym

Kontynuowano badania nad zastosowaniem reakcji Ugiego do syntezy nowych inhibitorów układu tioredoksyna – reduktaza tioredoksyny. Uzyskano szereg nowych związków, które zostały poddane badaniom na wybranych liniach komórkowych. Uzyskane wyniki zostały opublikowane w *Journal of Medicinal Chemistry*. Ponadto wykonano syntezę kolejnej serii tripeptydów, które zostały przygotowane do badań biologicznych.

Zadanie 1 Chemoenzymatyczna synteza związków o wysokiej aktywności biologicznej

W ramach realizacji tego zadania badawczego wykonano badania nad opracowaniem rozdziału dynamicznego i kinetycznego rozdziału dynamicznego kwasu 3-hydroksy-3-(p-nitrofenylo)pronionowego. Stwierdzono, że na proces rozdziału kinetycznego ma ogromny wpływ zastosowany enzym. Dodatkowe badania wykazały, że można wykonać ten proces w wariacie dynamicznego rozdziału kinetycznego co wymaga starannego dobrania czynnika racemizującego, enzymu i rozpuszczalnika. Po optymalizacji uzyskano enancjomerycznie czysty ester etylowy tegoż kwasu z wydajnością przewyższającą 90%. Stwierdzono, że zastosowanie kilku enzymów w reakcjach prowadzonych w rozpuszczalnikach organicznych daje znakomite efekty. Wykazano, że zaobserwowany efekt synergistyczny działania enzymów zależy silnie od zawartości wody w mieszaninach reakcyjnych. Uzyskane wyniki badań zostały upublicznione, jako dwie publikacje.

Sporządziła : mgr Dagmara Majdak



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.01.03.01-00-158/09-07

