

OTKA Zárójelentés

T-048854

”Új sztereoselektív biokatalitikus folyamatok és biokatalizátorok”

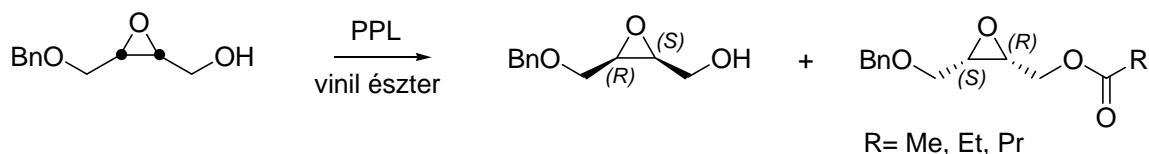
Napjainkban az egyik legnagyobb kihívás amivel a szerves kémia szembenéz, a mind nagyobb számú összetett, biológiailag aktív anyag gazdaságos szintézise. Egyre nagyobb az igény a sztereoizomerek - kiemelendően a királis anyagok adott enantiomerjének – tiszta formában történő előállítására. Ez alapozta meg sztereoselektív biokatalitikus folyamatok és biokatalizátorok korszerű fejlesztésére irányuló pályázatunkat. A pályázat keretén belül több, egymással összefüggő területen folytattuk tevékenységünket: a biokatalízis lehetőségeit felhasználva új, jól hasznosítható enantiomer ill. enantiotóp szelektív folyamatokat; új, nagy szelektivitású biokatalizátor-rendszereket vizsgáltunk; valamint egyes biokatalizátorok esetében az enzimműködést molekuláris szinten is tanulmányoztuk (pl. fehérjemodellezés, molekuláris szintű fehérjeszerkezet vizsgálatok).

Jelentésünkben a pályázatban megjelölt területeken elért eredményeinket [1-29] az alábbiakban részletezzük.

A) ENANTIOMER SZELEKTÍV BOKATALÍZIS

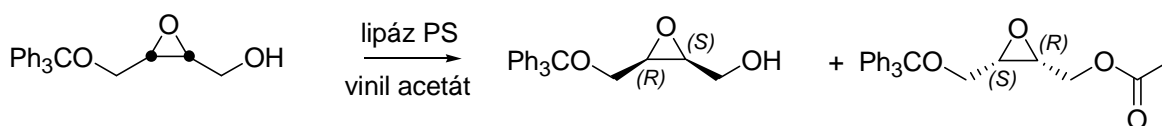
A magas enantiomer szelektivitású biotranszformációkat jelen OTKA pályázat keretein belül elsősorban lipáz enzimekkel végzett enzimatis acilezési folyamatok segítségével vizsgáltuk [1,2,5,6,8,10,13-15,18,19,26,28].

A *cisz*-4-benziloxi-2,3-epoxibutanol acilezését szerves közegben vinil észterekkel sertés pankréasz lipázt felhasználva oldottuk meg (1. Ábra). A feldolgozás során korszerű extrakciós módszereket, pl. szuperkritikus CO₂ extrakciót alkalmaztunk [1].



1. Ábra A *cisz*-4-benziloxi-2,3-epoxibutanol acilezése

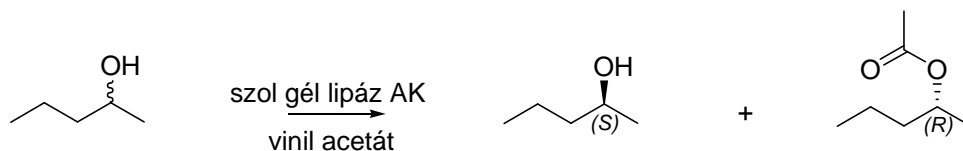
E terület folytatásaként vizsgáltuk a szintetikus célokra jól felhasználható *cisz*-2-trifenilmetoxi-1-hidroximetil-oxirán lipáz katalizált kinetikus rezolválási folyamatait (2. Ábra) [10].



2. Ábra A *cisz*-2-trifenilmetoxi-1-hidroximetil-oxirán acilezése

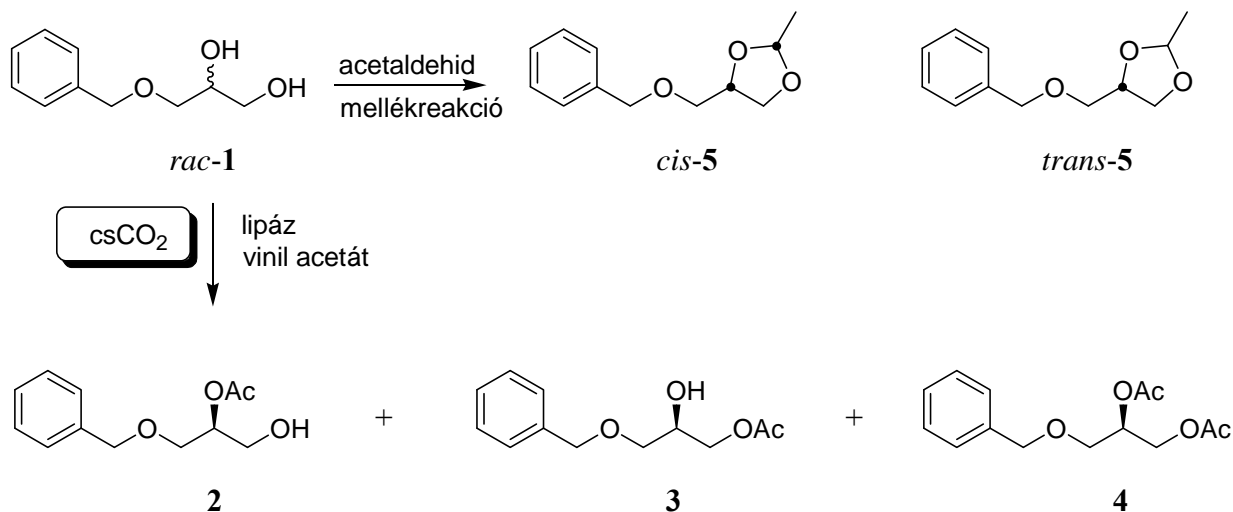
Az *cisz*-2-trifenil-metoxi-1-hidroxi-metil-oxirán enzimatisz acilezési reakciói közül a legmagasabb szelektivitást Lipozyme TL IM és Amano Lipase PS enzimekkel értünk el. Az optikailag aktív acetát enantiomer dúsítását szelektív kristályosítással oldottuk meg. A acetát enzim-katalizált hidrolízise szintén enantiomertiszta epoxibutanol származékot eredményezett. A termék O-benzilezését követő sztereoszelektív átrendeződést valósítottunk meg [10].

Új szol-gél rendszerekben rögzített lipáz enzimeket (Lipase AK) is előállítottunk és enantiomer szelektivitásukat 2-pentanol teszt szubsztrát kinetikus rezolválásával (3. Ábra) jellemeztük [2].



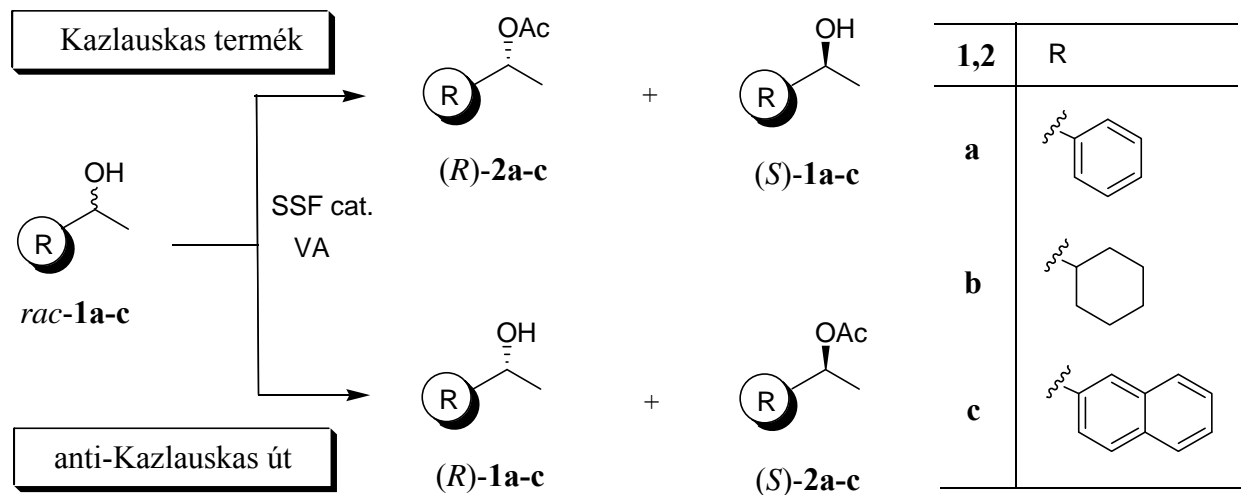
3. Ábra A 2-pentanol acilezése szol-gél Lipase AK készímennyel

A lipáz-katalizált kinetikus rezolválási folyamatokat nem csak szerves oldószerben, hanem szuperkritikus CO₂ közegben is vizsgáltuk (4. Ábra) [5]. A 3-benziloxipropán-1,2-diol, mint szubsztrát hat különböző lipázzal végzett acilezése során a kereskedelmi "Lipase AK" bizonyult a legszelektívebbnek [5].



4. Ábra A 3-benziloxipropán-1,2-diol lipáz-katalizált acilezése szuperkritikus szén-dioxidban

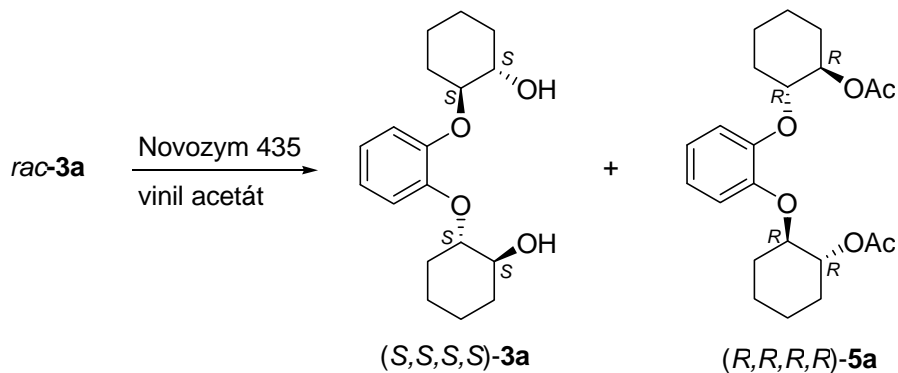
Harminc körüli fonalagomba törzs lipáz aktivitását vizsgáltuk szilárd fázisú fermentációval (SSF) előállított készítményeik felhasználásával. Alkalmazási teszt reakcióként három egyszerű racém alkohol [1-feniletanol, 1-ciklohexiletanol, 1-(2-naftil)etanol] kinetikus rezolválását választottuk (5. Ábra) [6].



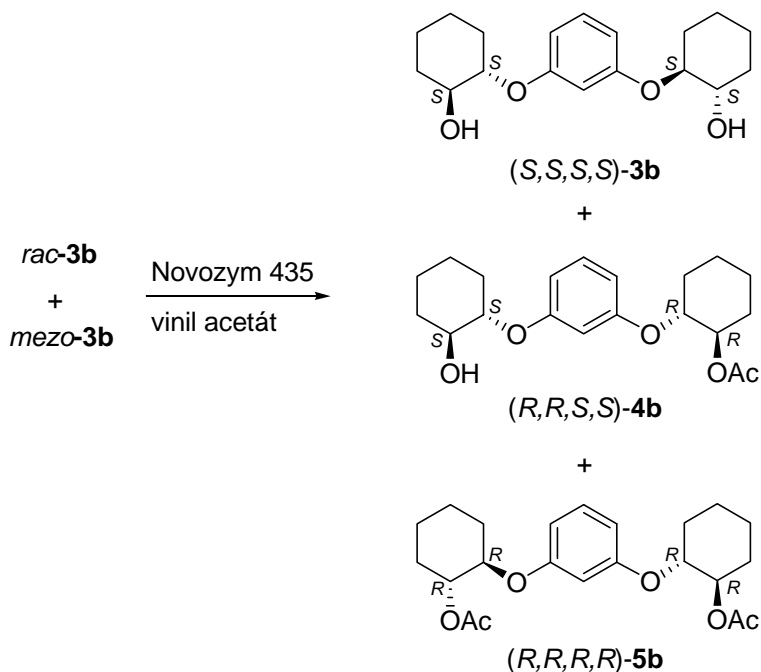
5. Ábra Szekunder alkoholok SSF lipáz-katalizált acilezése

A vizsgált biokatalizátorok között számos nagy szelektivitású, Kazlauskas szelektivitással működő készítményt találtunk [6]. Egyes készítmények anti-Kazlauskas szelektivitással végezték az acilezési reakciót.

Rögzített *Candida antarctica* B lipáz (CaLB, Novozym 435) felhasználásával megoldottuk a 2,2'-[1,2-fenilénbisz(oxi)]-diciklohexanol (6. Ábra) és a 2,2'-[1,3-fenilénbisz(oxi)]diciklohexanol (7. ábra) sztereoizomerjeinek szétválasztását [8]. Az összes királis izomert enantiomer tiszta formában nyertük.



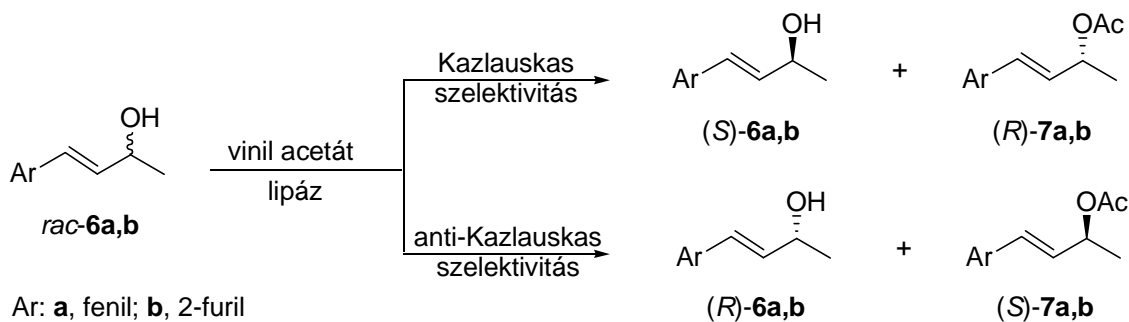
6. Ábra A racém 2,2'-[1,2-fenilénbisz(oxi)]-diciklohexanol CaLB-katalizált acilezése



7. **Ábra** A 2,2'-[1,3-fenilénbisz(oxi)]diciklohexanol CaLB-katalizált acilezése

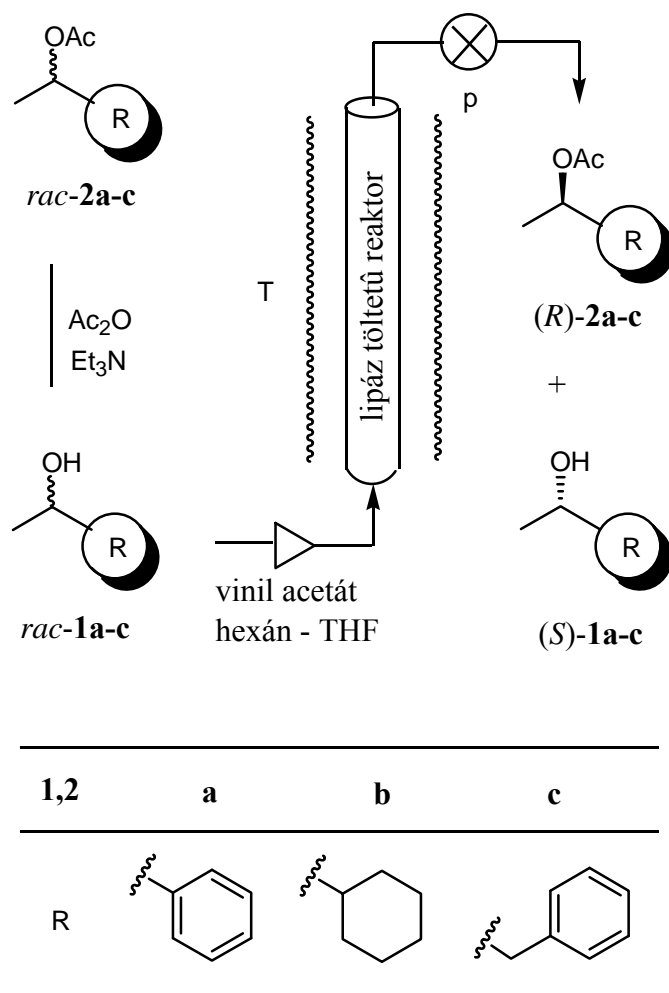
A racém transz-2-fenoxiciklohexanol enantiomer elválasztását is megoldottuk *Candida antarctica* B lipázzal. Ezt a folyamatot és számítógépes modellezést használtunk fel a termékek (**3-5a,b**) abszolút konfigurációjának hozzárendeléséhez [8].

Több kereskedelmi és szilárd fázisú fermentációval előállított saját lipáz aktivitását vizsgáltuk racém szekunder allil alkoholokkal. A racém alkoholokat 4-aryl- és 4-heteroarylbut-3-én-2-onokból [4-fenil-, 4-(furan-2-il)- és 4-(1-benzil-1*H*-indol-3-il)-] kívántuk előállítani. A fenil és furan-2-il származékokat sikerült NaBH₄ redukcióval előállítani, míg az indol származék elbomlott a redukció körülményei között. A 4-fenil- és 4-(furan-2-il)-szubsztituált racém szekunder allil alkoholok lipáz katalizált enantiomer szelektív acilezése a legtöbb kereskedelmi és saját készítménnyel magas és az elvárt ún. Kazlauskas szabály szerinti szelektivitással az (*R*)-acetátokat szolgáltatva (8. **Ábra**). Néhány SSF preparátum azonban szelektív anti-Kazlauskas katalizátornak bizonyult [18].



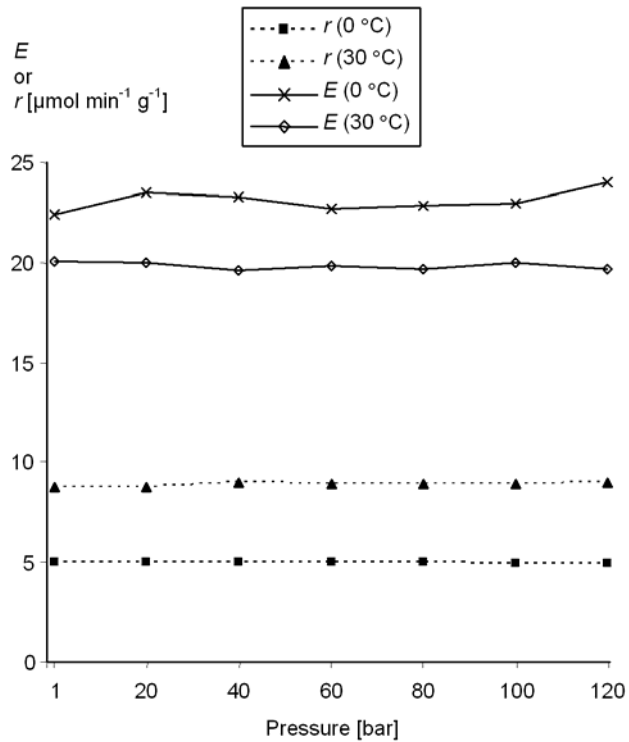
8. **Ábra** Racém szekunder allil-alkoholok lipáz-katalizált acilezése

Tipikus racém szekunder alkoholok (1-feniletanol; 1-ciklohexiletanol; 1-fenilpropán-2-ol) lipáz-katalizált kinetikus rezolválását vizsgáltuk szakaszos üzemben és folyamatos csőreaktorban (9. Ábra) [13-15].

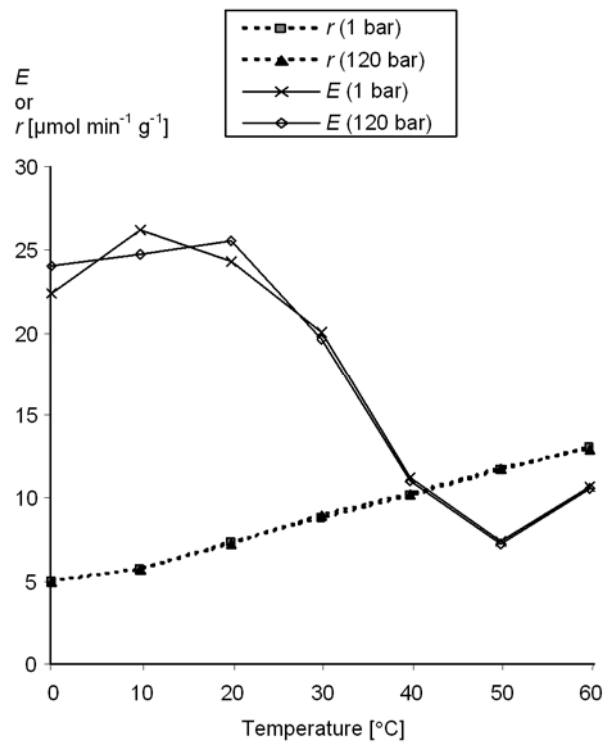


9. Ábra Ismert racém szekunder alkoholok lipáz-katalizált acilezése folyamatos átfolyósos reaktorban

A folyamatos rektorban az enzimek produktivitása meghaladta a szakaszos reakciókban tapasztalható. A nyomás elhanyagolható hatással volt mind a produktivitásra (r), mind az enantiomer szelektivitásra (E) a *rac*-1-fenilpropán-2-ol (*rac*-1c) CaLB-töltött bioreaktorban végzett kinetikus rezolválása során (10. Ábra). A hőmérséklet azonban eddig nem tapasztalt hatással volt a töltött bioreaktorban végzett kinetikus rezolválás során: 0 - 60°C között az enantiomer szelektivitás (E) monoton csökkenése helyett egy lokális maximumot és egy lokális minimumot észleltünk (11. Ábra) [15].

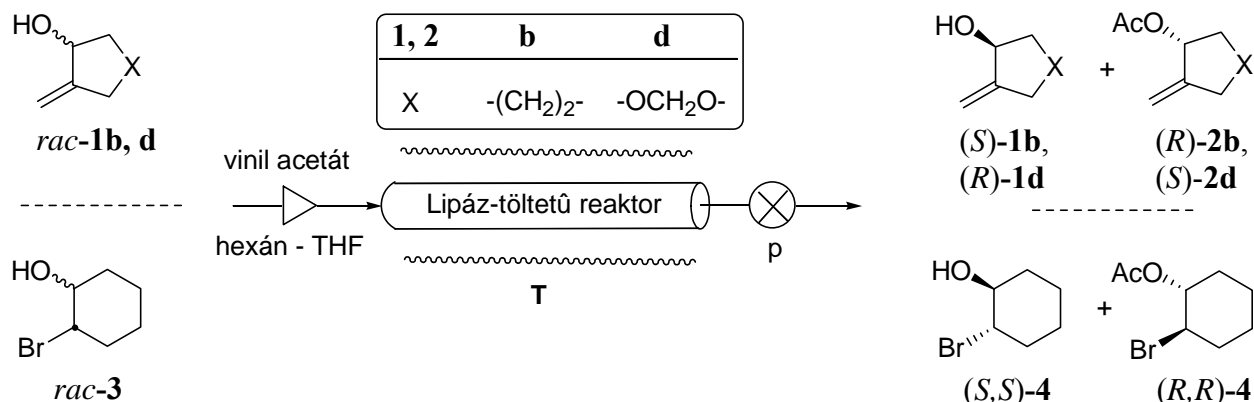


10. Ábra A nyomás hatása a *rac*-1-fenilpropán-2-ol (*rac*-1c) acilezésére folyamatos átfolyásos reaktorban



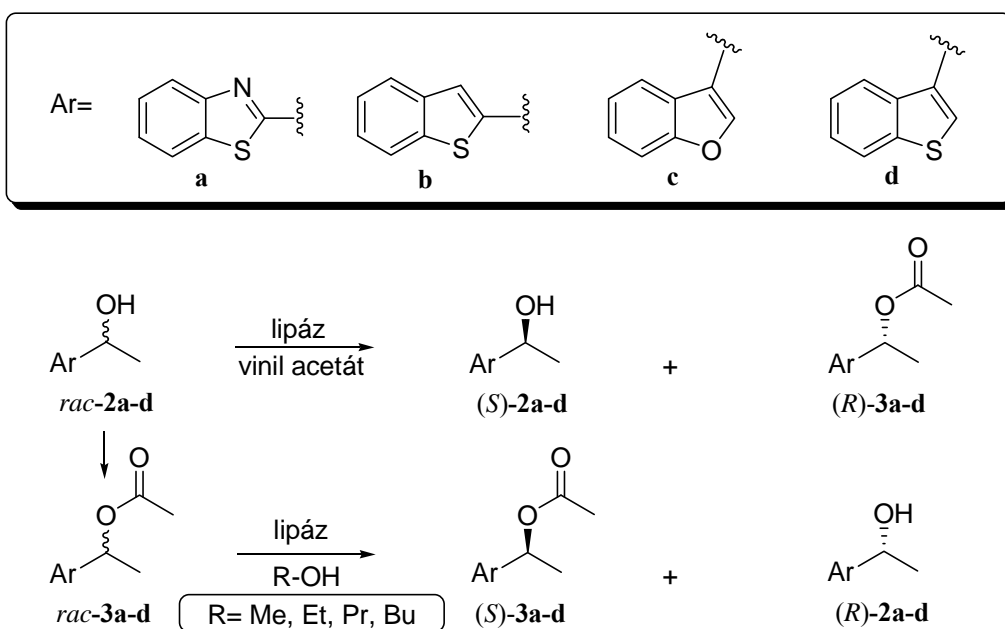
11. Ábra A hőmérséklet hatása a *rac*-1-fenilpropán-2-ol (*rac*-1c) acilezésére folyamatos átfolyásos reaktorban

A folyamatos reaktorokban megvalósítható kinetikus rezolválásokat tovább tanulmányoztuk három gyűrűs racém alkohollal (12. Ábra: *rac-1b,d* és **3**) kereskedelmi és saját fejlesztésű lipázokkal [26,28]. Vizsgáltuk a folyamatokat produktivitás (*r*) / enantiomer szelektivitás (*E*) szempontjából. Itt is kimutattuk, hogy a lipáz katalizált kinetikus rezolvások során a folyamatos rendszer fő előnye a szakaszos reakciókhoz képest a biokatalizátor megnövekedett fajlagos produktivitása (*r*).



12. Ábra Gyűrűs racém szekunder alkoholok lipáz-katalizált acilezése folyamatos átfolyós reaktorban

Heterociklusos szekunder alkoholok hatékony kinetikus rezolvását valósítottuk meg lipáz-katalizált enantiomer szelektív észterezési reakciók segítségével (13. Ábra). Így módon négy szekunder alkohol (1-benzotiazol-2-il-etanol; 1-benztiofén-2-il-etanol; 1-benzofurán-3-il-etanol és 1-benztiofén-3-il-etanol) nagy enantiomer tisztaságú formáit állítottuk elő [19].

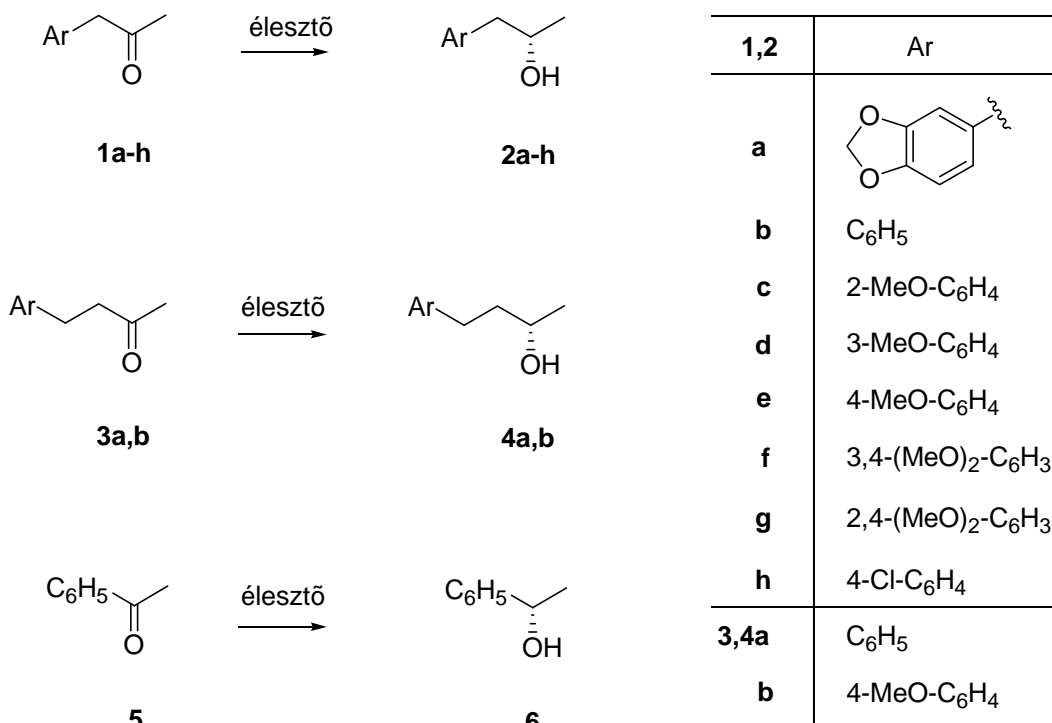


13. Ábra Heterociklusos szekunder alkoholok lipáz-katalizált kinetikus rezolvásai

B) ENANTIOTÓP SZELEKTÍV BIKATALÍZIS – PROKIRÁLIS VAGY MEZO VEGYÜLETEK

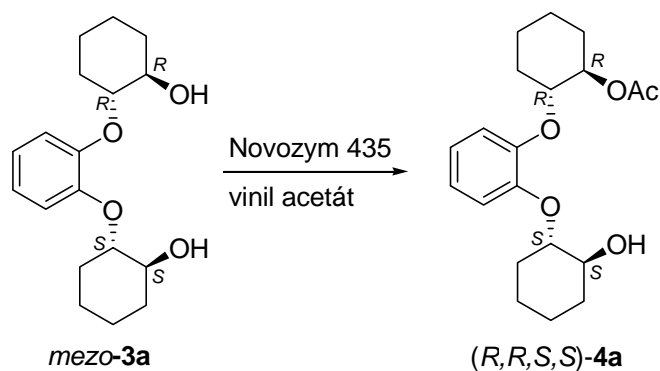
A prokirális vagy mezo vegyületek enantiotóp szelektív átalakítása (aszimmetrikus szintézisek) ideális felhasználási területe a sztereoszelektív biokatalizátorok preparatív célú alkalmazásának, mivel e folyamatokban akirális kiindulási anyag alakul át akár teljes mértékben enantiomer tiszta királis terméké [4,8,13,14,20,25].

E szelektivitás típust vizsgáltuk prokirális ketonok mikrobiális redukciója során, mivel a karbonilcsoportok enantiotóp szelektív oldalainak megkülönböztetése biokatalizátorokkal jól megvalósítható. Erre kiválóan alkalmazható az élesztők alkohol dehidrogenáz enzimszere, melynek segítségével prokirális ketonokból optikailag aktív szekunder alkoholok nyerhetők (14. ábra) [4]. E kutatásokat az IVAX kutóival közösen végeztük, a Talampanel gyógyszerhatóanyag enantiomer tiszta szintézis-intermedierjének előállításával összefüggésben.



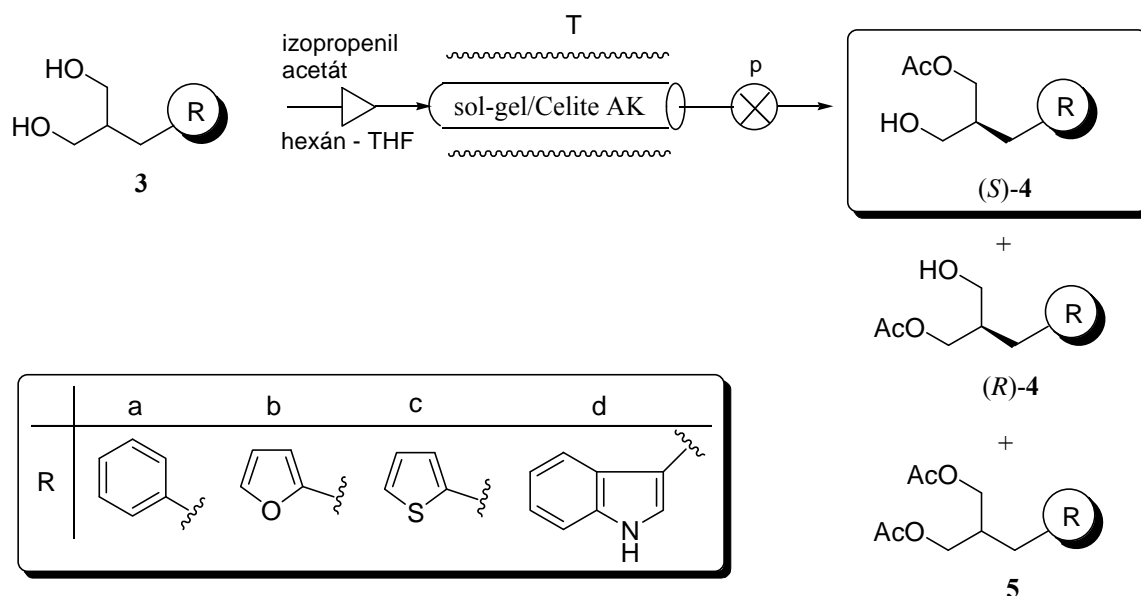
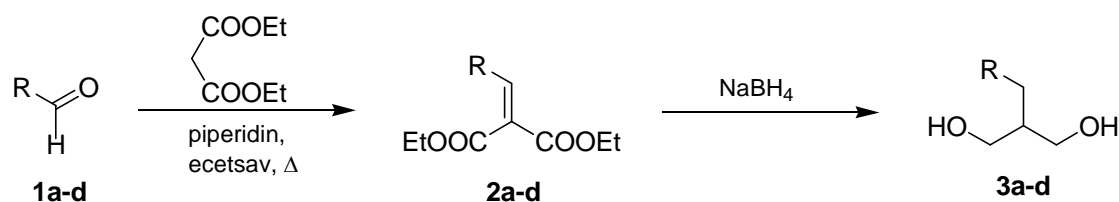
14. Ábra Prokirális ketonok mikrobiális aszimmetrikus redukciója élesztő törzsekkel

Rögzített *Candida antarctica* B lipáz (CaLB, Novozym 435) felhasználásával megoldottuk a mezo-2,2'-[1,2-fenilénbisz(oxi)]diciklohexanol aszimmetrikus acetilezését (15. Ábra) [8]. Az enzimkatalizált folyamatban nyert királis félészter enantiomer-tiszta állapotban képződött.



15. **Ábra** A mezo 2,2'-[1,2-fenilénbisz(oxi)]-diciklohexanol CaLB-katalizált acilezése

A pályázat keretein belül prokirális 2-arilmetil- és 2-heteroarilmetil-szubsztituált-1,3-diolok szakaszos és folyamatos üzemben végzett enzimátikus acilezésével vizsgáltuk [13,14,20,25]. A lipáz katalizált aszimmetrikus acilezés tanulmányozásához először egy prokirális diol, a 2-benzil-1,3-propándiol (**3a**) előállítását és szakaszos, ill. folyamatos reaktorban végrehajtott enzim-katalizált aszimmetrikus acilezési reakcióját vizsgáltuk (16. **Ábra**).



16. **Ábra** Prokirális 1,3-diolok előállítása és enzim-katalizált acilezése

Enzimatisz aszimmetrikus átalakítás a leghatékonyabbnak a Lipase PS és Lipase PS enzimek bizonyultak a szakaszos reakciókkal végzett tesztekben. Ezután átfolyásos reaktorban ezekkel tanulmányoztuk az acilezési reakciót [13,14]. A folyamatos reaktorban az átalakítást Oct / Celite szol-gél Lipase AK enzimmal is tanulmányoztuk. Kísérleteket folytattunk új, gyógyszeripari jelentőséggel is bíró termékek előállítására is a prokirális indol származék aszimmetrikus acilezésével (**3d**) [20,25].

C) ÚJ BIKATALIZÁTOROK FEJLESZTÉSE SZTEREOSZELEKTÍV FOLYAMATOKHOZ

A biokatalízis során fontos szerepet játszik a preparátum szelektivitása és stabilitása. Ez több úton is megvalósítható: új enzimek keresésével [6,12], vagy a már ismert enzimek tulajdonság-javulást eredményező rögzítésével [2,11,27].

Új biokatalizátorok izolálása mikroorganizmusokból és ezek hasznosítása extrém körülmények között (szerves oldószerek, szuperkritikus fázis, természetestől eltérő hőmérsékletek) egyre intenzívebben kutatott terület. E téren ebben az évben új lipázok/hidrolázok előállítására/jellemzésére irányuló vizsgálatokat végeztünk (1. Táblázat) [6].

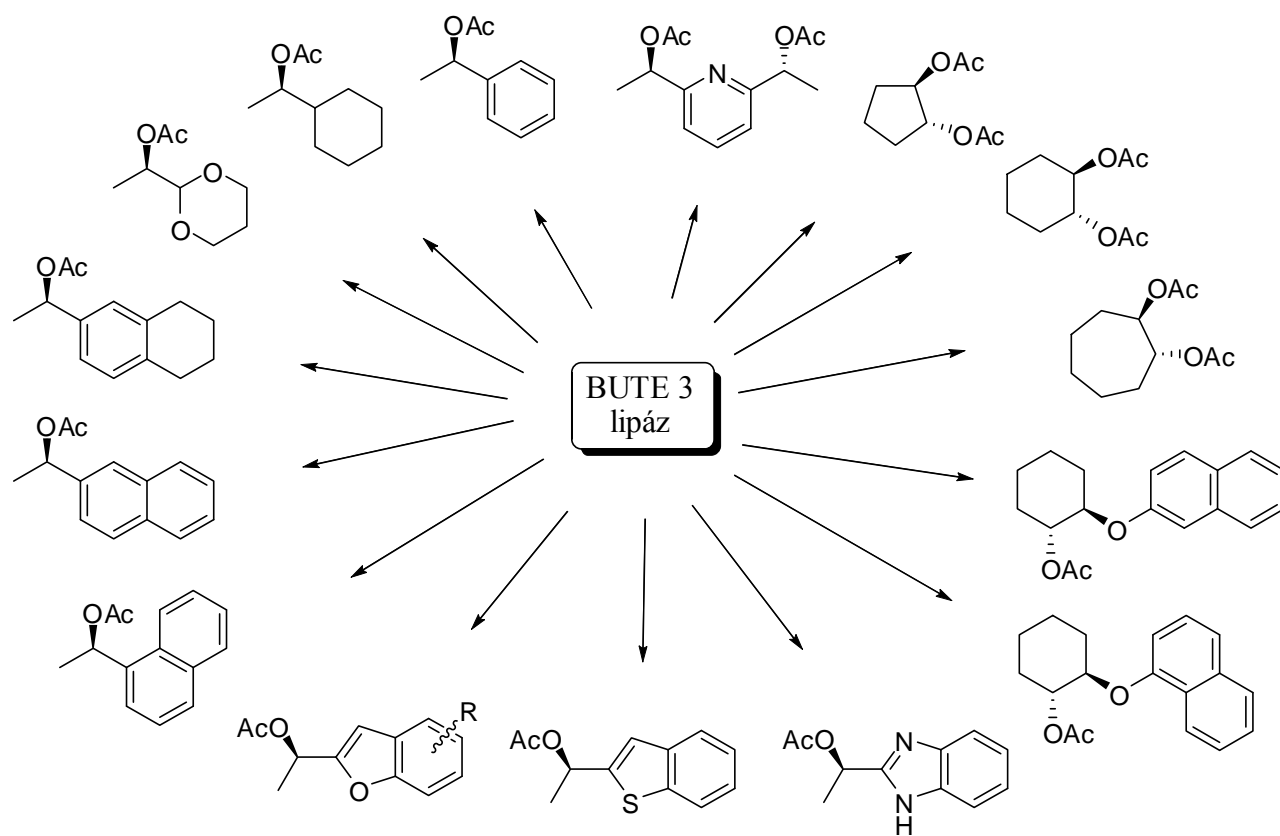
1. Táblázat. A racém 1-feniletanol kinetikus reszolválása légszáritott SSF biokatalizátorokkal

No	Törzs	Lipáz aktivitás (U/g)	Reaction time (h)	<i>c</i> ^a (%)	(<i>S</i>)- 1a <i>ee</i> ^a (%)	(<i>R</i>)- 2a <i>ee</i> ^a (%)	<i>E</i> ^b
101	<i>Chaetomium elatum</i> UAMH 2672	0.2	24	21.9	27.7	99.6	»200
97	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> WFPL 248A	110	24	19.4	24.7	99.6	»200
9	<i>Gliocladium catenulatum</i> NRRL 1093	138	48	49.1	98.5	98.4	>200
105	<i>Chaetomium funicola</i> UAMH 3034	135	24	48.4	95.8	97.2	>100
23	<i>Gliocladium roseum</i> NRRL 1085	1010	120	48.4	86.9	96.0	>100
109	<i>Chaetomium virescens</i> ATCC 32319	365	24	39.7	65.8	97.3	>100
65	<i>Chaetomium globosum</i> OKI 270	61	120	52.1	99.8	91.4	>100
55	<i>Thamnidium elegans</i> ATCC 18.191	138	120	50.7	79.8	90.2	65
121	<i>Chaetomium cochliodes</i> NRRL 2320	27	24	21.7	26.8	96.1	65
125	<i>Chaetomium globosum</i> NRRL 6296	12	24	23.6	30.1	95.6	59
15	<i>Gliocladium vermoesenii</i> NRRL 1752	161	120	52.2	99.5	87.2	55
59	<i>Tolypocladium geodes</i> CBS 723.70	129	120	50.0	83.3	88.7	49
85	<i>Trichoderma harzianum</i> TUB F-886	224	24	36.7	54.3	92.1	42
43	<i>Aspergillus terreus</i> FRR 2532	222	120	45.6	68.3	87.8	34
117	<i>Trichoderma harzianum</i> TUB F-946	1597	24	31.9	43.4	91.4	34
89	<i>Trichoderma harzianum</i> TUB F-947	995	24	34.1	48.2	90.5	32
49	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i> HIPP	20	120	11.2	12.2	90.9	24
57	<i>Thamnostylum pyriforme</i> ATCC 8686	138	120	45.2	63.0	82.6	21
47	<i>Myrothecium verrucaria</i> NRRL 2003	20	120	15.4	14.3	88.7	19
77	<i>Trichoderma effusum</i> TUB F-354	275	120	8.5	7.9	64.3	5
51	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 10864	86	120	24.0	16.6	56.9	4
71	<i>Trichoderma harzianum</i> TUB F-791	76	120	9.9	5.7	39.0	2
73	<i>Paecilomyces varioti</i> IFO 4855	16	120	9.3	2.4	11.4	1
63	<i>Mucor hiemalis</i> NRRL 13.009	107	120	14.1	14.7 ^(R)	85.6 ^(S)	15

Az SSF készítmények (17. Ábra) [6] természetes módon rögzített biokatalizátornak is tekinthetők. Az általunk előállított lipázok között számos igen jó szelektivitású készítményt találtunk (18. Ábra).

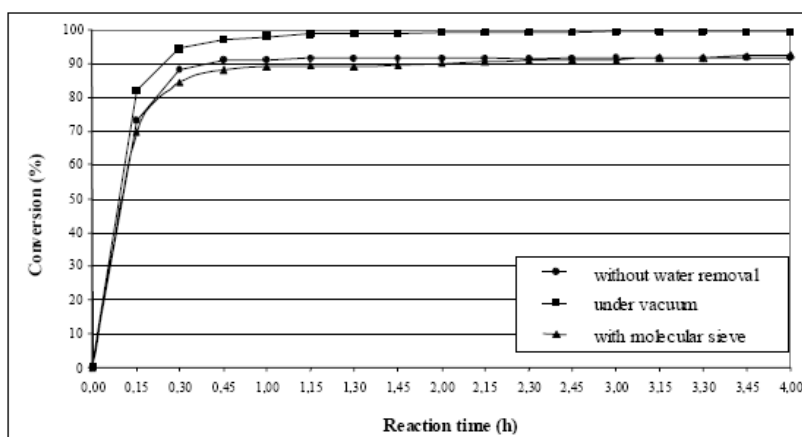


17. Ábra Szilárd fázisú fermentációval (SSF) nyert készítmények



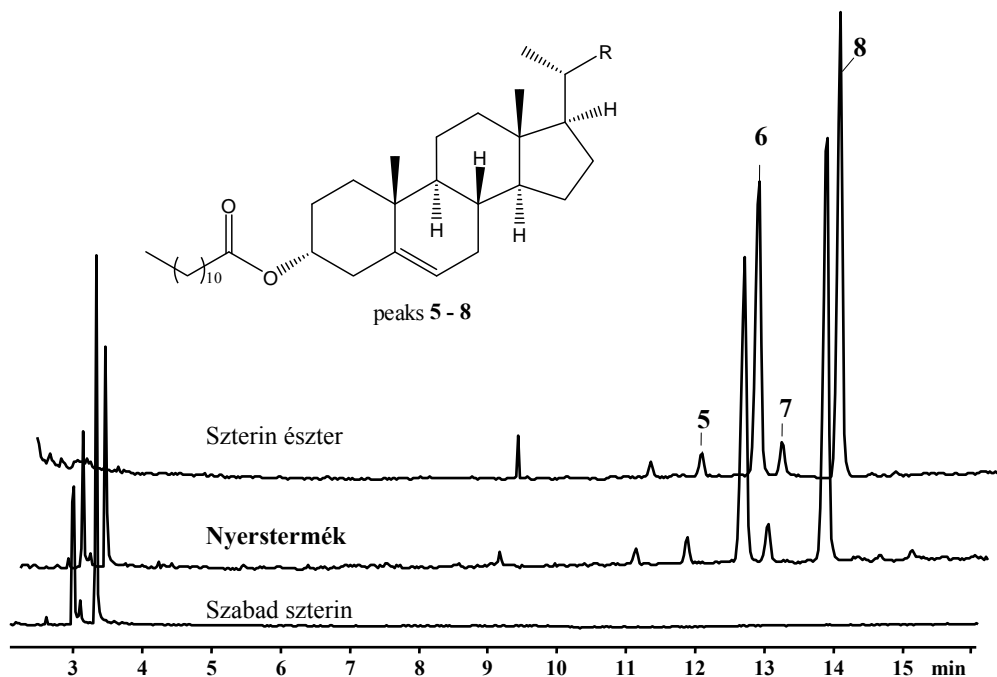
18. Ábra A BUTE 3 lipázzal előállítható nagy enantiomer tisztaságú anyagok egy része

A rögzített, illetve saját készítésű enzimek élelmiszeripari vonatkozású területeken is alkalmazhatóak. Nagy hatékonyságú, oldószermentes technológiát dolgoztunk ki a konjugált linolsav (CLA) alkil észtereinek enzimatis katalízissel történő környezetbarát előállítására [9]. A sav és észtrekomponens sztöchiometrikus elegyéhez immobilizált (legalább 10 alkalommal számottevő aktivitásvesztés nélkül újra felhasználható) CaLB lipáztadtunk, 65°C hőmérsékleten a képződő vizet 20 mbar vákuumban eltávolítva 2 óra alatt teljes konverziót értünk el (19. Ábra). A biokatalizátor kiszűrésén túl a termék további kezelést nem igényelt.



19. Ábra CLA alkil észter előállítása rögzített lipázzal

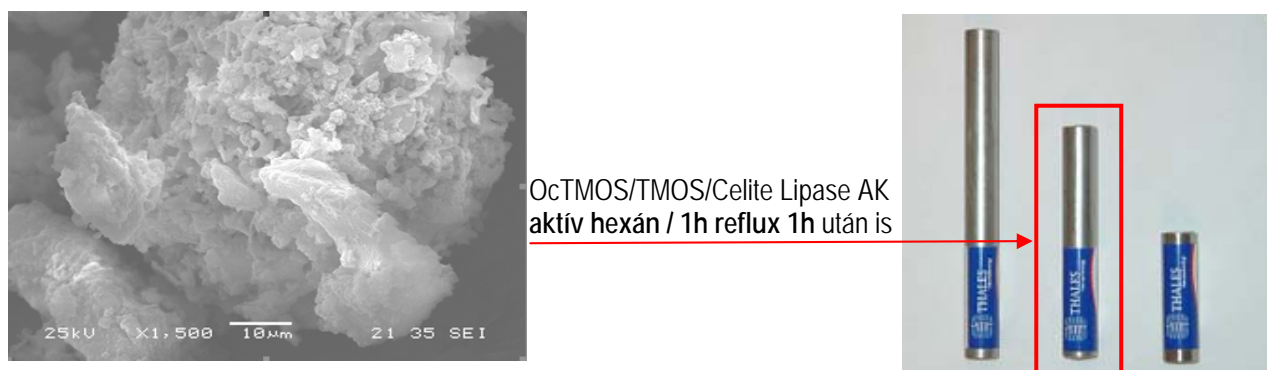
Élelmiszeripari *Aspergillus* törzsekkel szilárd fázisú fermentációval előállított új szterin észterázokat azonosítottunk [12] és vizsgáltuk alkalmazásukat (20. Ábra). Felhasználtuk ezeket a CLA szterin észtereinek enzimatis katalízissel történő környezetbarát előállítására is [12].



20. Ábra SSF *Aspergillus* szterin észterázzal nyert növényi szterin észterek GC elemzése

A stabilitás és/vagy szelektivitásjavulással járó biokatalizátor fejlesztésre a PAL enzimek esetében modellezési előrejelzéseink szerint [7] tettünk kísérletet: a bakteriális eredetű PAL jóval hőstabilabb, mint az eddig használt élesztő ill. növényi eredetű enzimek. Eredményesen klónoztuk az már ismert *Photorhabdus luminescens* PAL enzimet [29] további vizsgálatok céljából.

A stabilitás és/vagy szelektivitásjavulással járó enzimrögzítési módszereket kereskedelmi lipáz enzimek sol-gel mátrixba zárású módszer továbbfejlesztésével vizsgáltuk [2,11,27]. Az enzimek sajátosságait módosított összetételű sol-gelekben ill. aktivitás-módosító adalékokkal (fém-ionok, cukrok, szerves vegyületek) történő együtt-rögzítéssel tanulmányoztuk [2,11]. A sol-gel rögzítést eredményesen alkalmaztuk szilárd hordozóval történő együttes rögzítés során [27]. A módosított lipázok jelentős stabilitásnövekedést mutattak és alkalmasak voltak folyamatos üzemű bioreaktorokban történő felhasználásra (21. Ábra) [13,14]



21. ábra Sol-gel / Celite Lipase AK fejlesztése folyamatos reaktorban történő alkalmazáshoz

D) ENZIMREAKCIÓK VIZSGÁLATA MODELLEZÉSI ÉS GENETIKAI MÓDSZEREKKEL

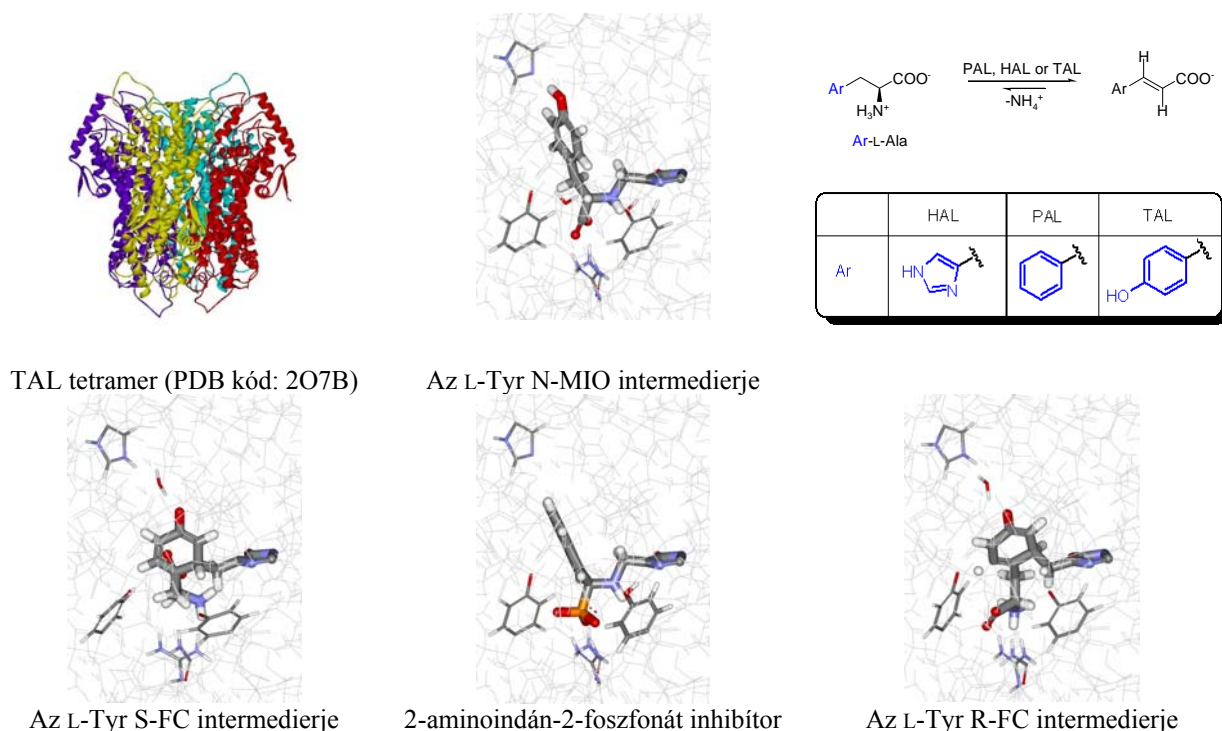
A biokatalízis - főként tehát az enzimkatalizált folyamatok - molekuláris szintű megismerése visszahat a szintetikus módszerekre, mivel így a biokatalizátorok, biokatalitikus folyamatok fejlesztése mindinkább célzottá és tervezhetővé válik. Ezen ismeretek bővüléséhez a tárgyidőszakban a PAL/HAL enzimek és lipáz enzimek működésének molekuláris szintű tanulmányozásával járultunk hozzá [3,7,16,17,21,24,24,29]. Mára az enzimeken belüli számítások alkalmassá váltak egyes enzimek sztereoszerektivitásának értelmezésére és így abszolút konfiguráció hozzárendelésre is [14,19,22].

A hisztidin, fenilalanin és tirozin ammónia-liáz enzimek (HAL, PAL és TAL) biokémiai, genetikai, szintetikus szubsztrát analogonokkal / inhibítorokkal, fehérje szerkezet meghatározási módszerekkel és számítógépes modellezéssel végzett mechanizmus vizsgálatainak eredményeit egy vezető folyóiratban foglaltuk össze [3]. Ekkor még kérdéses volt, hogy az elektrofil metilidén-imidazolon (MIO) prosztetikus csoport az ammónia-liáz reakciók során a szubsztrát amino-csoportjával (*N*-MIO intermedier) vagy aromás aromás-gyűrűjével (FC-intermedier) kovalens kötést tartalmazó mechanizmussal működik-e [3]

Fehérje modellezés segítségével kiigazítottuk a PAL enzim 2005 évben közölt kristályszerkezetét a Tyr110 hurok környezetében [7]. A számítással nyert eredményeket az ismert

kísérleti adatokkal összevetve értékeltük/finomítottuk. E munka során elképzelést alakítottunk ki e hurok enzimregulációban betöltött szerepéről [7]. E munka alapján a PAL katalitikusan aktív fehérjemodelljét tuduk előállítani, így ezen belül sokkal pontosabban lehetővé vált a szubsztrátum illeszkedésének tanulmányozása és a működés megismerése [17]. A HAL Tyr-hurokban módosított katalitikusan aktív modellszerkezetét felhasználva lépéseket tettünk a HAL mechanizmus finomabb részleteinek megismerése felé [24].

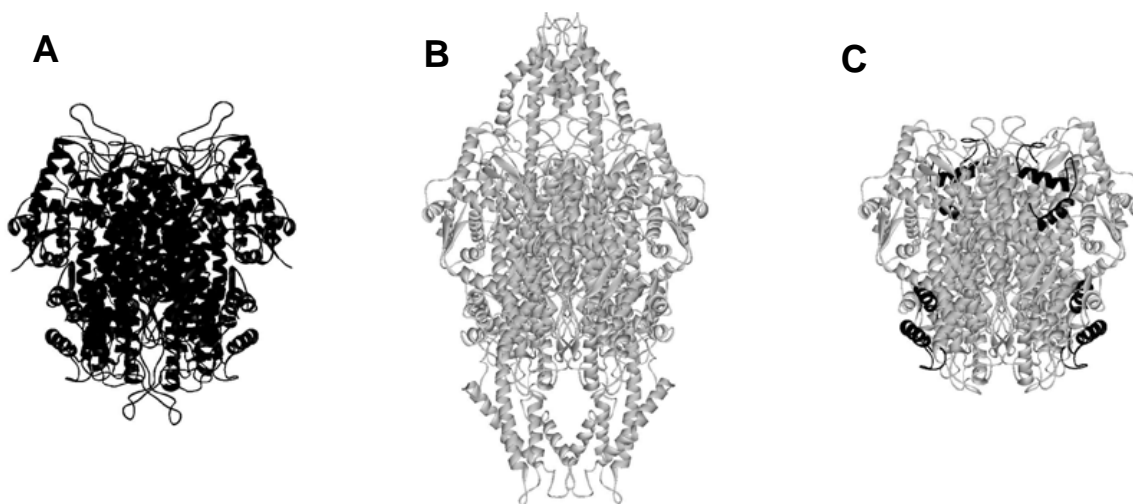
A PAL/HAL enzimek molekuláris szintű tanulmányozásának [3,7] folytatásaként QM/MM számításokat végeztünk az időközben megjelent TAL enzimszerkezeten belül (22. Ábra) [16,21,29]. Az egyetlen pontmutációval PAL aktivitásúvá alakítható TAL enzimszerkezeten belül a reakció mechanizmusának egyértelmű tisztázására végzett QM/MM számítások egyértelműen igazolták, hogy a TAL reakció az *N*-MIO intermedieren át zajlik [21,29].



22. **Ábra** A TAL tetramer és a szubsztrát-MIO kötődés 3 elméletileg lehetséges típusa

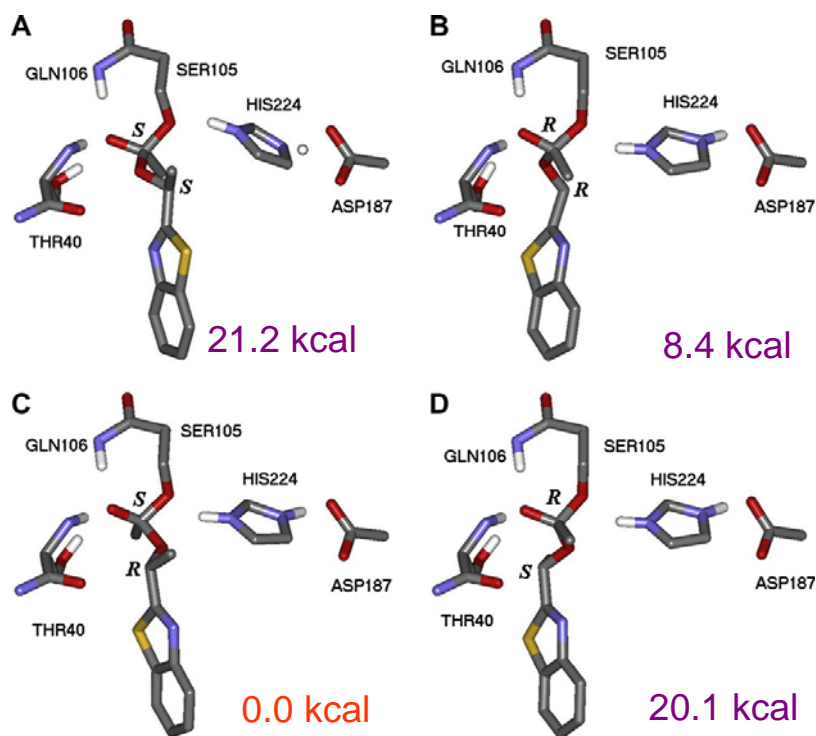
A PAL és TAL enzimek tanulmányozásához, részben szintén biokatalitikus kinetikus rezolválást felhasználva szintéziseket dolgoztunk ki az L-fenilalanin analogonjai, az L-2-aminoxil-3-fenilpropionsav és az L-3-fenil-2-merkaptopropionsav előállítására [29].

A PAL enzim hőstabilitásának tanulmányozásához, molekuláris genetikai eszközökkel elkészítettük a petrezselyem PAL N-terminális doménből és a *Photorhabdus luminescens* bakteriális PAL rövidebb C-terminális végéből konstruált, vélhetően megnövekedett hőstabilitású kiméra PAL enzimet. Míg a kiméra PAL és a *Photorhabdus luminescens* bakteriális PAL N-terminális domén katalitikusan aktívnak bizonyult, addig a petrezselyem PAL N-terminális domén a saját, vagy a bakteriális C-terminális rész nélkül inaktív volt (23. Ábra) [29].



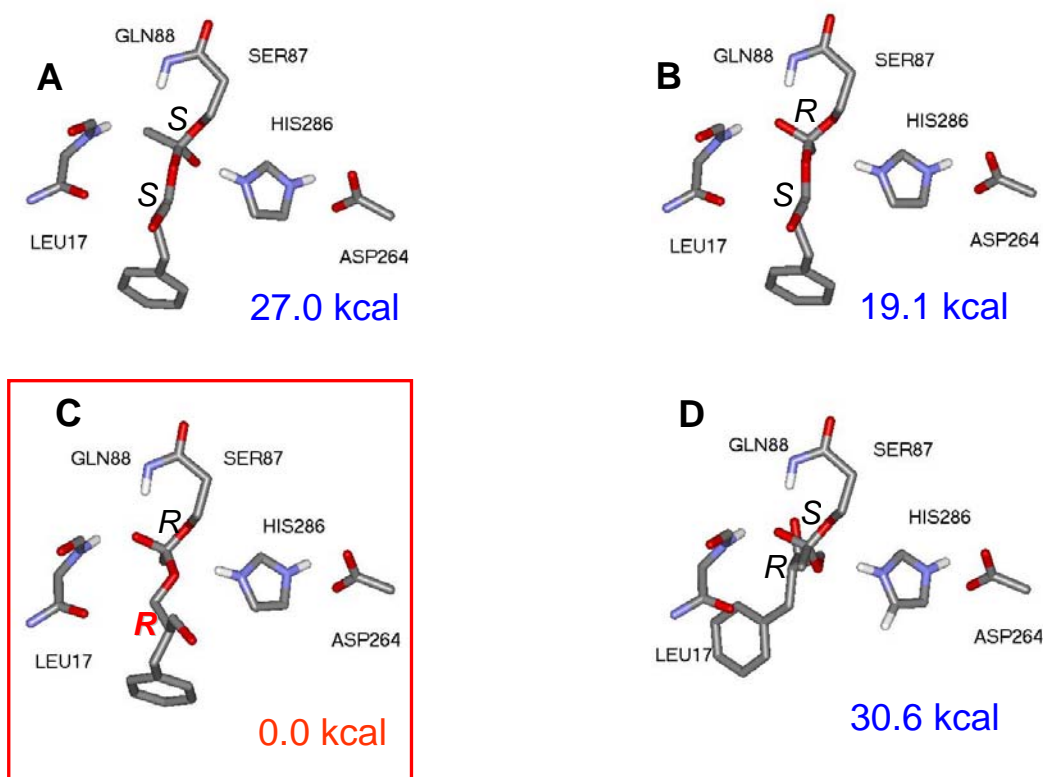
23. **Ábra** Kiméra PAL (C) *Photorhabdus luminescens* PAL (A) és petrezselyem PAL (B) génekből

A *Candida antarctica* B Lipáz (CaLB) szekunder alkoholok sztereoszelektív észterezési reakciójában közkedvelt biokatalizátor. A CaLB enzimen belül QM/MM módszerrel négy szekunder alkohol sztereoszelektív acilezési reakciójában kapott termék abszolút konfigurációját vizsgáltuk [22] (24. ábra) és meghatároztuk a négy lehetséges tetrahedrális intermediernek (acilenzim-alkohol komplexek) megfelelő szerkezetek energiáit [19,22]. Minden esetben az (*R*)-alkohol-(*S*)-THI (24. Ábra, C) a legstabilabb, mely az (*R*)-acetát képződését favorizálja [19].



24. **Ábra** A racém 1-benzotiazol-2-il-etanol acetilezésének négy lehetséges intermedierje CaLB enzimen

A termékek abszolút konfigurációjának előrejelzését nem csak enantiomer szelektív acilezések, hanem prokirális diolok aszimmetrikus acilezési reakciója során is sikerrel alkalmaztuk [22]. A 2-benzilpropán-1,3-diol *Pseudomonas cepacia* lipáz (Lipase PS) által katalizált enantiotóp szelektív acilezése során az enzimen belül QM/MM módszerrel összevetettük a négy lehetséges tetrahedrális intermediernek (acilenzim-diol komplex) megfelelő szerkezetek energiáit [22]. A számítások szerint az (*R*)-monoészter-(*R*)-THI (25. Ábra, C) a legstabilabb, mely az (*R*)-monoacetát képződését favorizálja [22].



25. Ábra A 2-benzilpropán-1,3-diol acetilezésének négy lehetséges intermedierje Lipase PS enzimen

KÖZLEMÉNYEK

1. Faigl F; Thurner A; Battancs M; Farkas F; Poppe L; Bódai V; Kmezc I; Simándi B: ***Efficient, scalable kinetic resolution of cis-4-benzyloxy-2,3-epoxybutanol***, Tetrahedron: Asymmetry 16: 3841-3847, 2005 (folyóiratcikk 2.429 igen)
2. Péter F; Poppe L; Kiss C; Szöcs-Bíró E; Preda G; Zarcuła C; Olteanu A: ***Influence of precursors and additives on microbial lipases stabilized by sol-gel entrapment***, Biocatal Biotrans 23: 251-260, 2005 (folyóiratcikk 1.516 igen)
3. Poppe L; Rétey J: ***Friedel-Crafts like attack facilitates the enzymic ammonia elimination from histidine and phenylalanine***, Angew Chem, Int Ed Engl 44: 3668-3688, 2005 (folyóiratcikk 9.596 igen)

4. Erdélyi B; Szabó A; Seres G; Birincsik L; Ivanics J; Szatzker G; Poppe L: ***Stereoselective production of (S)-1-alkyl- and 1-arylethanol by freshly harvested and lyophilized yeast cells***, Tetrahedron: Asymmetry 17: 268-274, 2006 (folyóiratcikk 2.468 igen)
5. Kmezc I; Simándi B; Poppe L; Juvancz Z; Renner K; Bódai V; Tőke ER; Csajági C; Sawinsky J: ***Lipase-catalyzed Enantioselective Acylation of 3-Benzoyloxypropane-1,2-diol in Supercritical Carbon Dioxide***, Biochem Eng J 28: 275-280, 2006 (folyóiratcikk 1.608 igen)
6. Nagy V; Tőke ER; Chee Keong L; Szatzker G; Ibrahim D; Che-Omar I; Szakács G; Poppe L: ***Kinetic resolutions with novel, highly enantioselective fungal lipases produced by solid state fermentation***, J Mol Catal B, Enzym 39: 141-148, 2006 (folyóiratcikk 2.149 igen)
7. Pilbák S; Tomin A; Rétey J; Poppe L: ***The essential Tyr-containing loop conformation and the role of the C-terminal multihelix region in eukaryotic phenylalanine ammonia-lyases***, FEBS J 273(5): 1004-1019, 2006 (folyóiratcikk 3.033 igen)
8. Tőke ER; Kolonits P; Novák L; Poppe L: ***Lipase mediated enantiomer and diastereomer separation of 2,2'-[1,2- and 1,3-phenylenebis(oxy)]dicyclohexanols***, Tetrahedron: Asymmetry 17: 2377-2385, 2006 (folyóiratcikk 2.468 igen)
9. Dianóczki C; Recseg K; Kővári K; Poppe L: ***Convenient enzymatic preparation of conjugated linoleic acid alkyl esters with C6-C22 alcohols***, J Mol Catal B, Enzym 45: 45-49, 2007 (folyóiratcikk 1.973 igen)
10. Faigl F; Thurner A; Farkas F; Battanes M; Poppe L: ***Synthesis and enantioselective rearrangement of (Z)-4-triphenylmethoxy-2,3-epoxybutan-1-ol enantiomers***, Chirality 19(3): 197-202, 2007 (folyóiratcikk 2.436 igen)
11. Péter F; Zarcula C; Kiss C; Csunderlik K; Poppe L: ***Enhancement of lipases enantioselectivity by entrapment in hydrophobic sol-gel materials: Influence of silane precursors and immobilization parameters***, J Biotechnol 131S: 109, 2007 (folyóiratcikk 2.565 nem)
12. Tőke ER; Nagy V; Recseg K; Szakács G; Poppe L: ***Production and application of novel sterol esterases from Aspergillus strains by solid state fermentation***, J Am Oil Chem Soc 84: 907-915, 2007 (folyóiratcikk 1.137 igen)
13. Csajági C; Szatzker G; Szigeti M; Tomin A; Tőke ER; Pilbák S; Üрге L; Darvas F; Poppe L: ***Selective biotransformations in continuous flow reactors***, 4th Central European Conference: Chemistry towards Biology, 2008 szeptember 8-11., Dobogókő, Magyarország, 2008 (konferenciakiadvány - igen)
14. Csajági C; Szatzker G; Szigeti M; Tomin A; Tőke ER; Pilbák S; Üрге L; Darvas F; Poppe L: ***Selective biotransformations in continuous flow reactors***, BioCat 2008, 2008 augusztus 31-szeptember 4, Hamburg, Németország, 2008 (konferenciakiadvány - igen)
15. Csajági C; Szatzker G; Tőke ER; Üрге L; Darvas F; Poppe L: ***Enantiomer selective acylation of racemic alcohols by lipases in continuous-flow bioreactors***, Tetrahedron:Asymmetry 19: 237-246, 2008 (folyóiratcikk 2.796 igen)
16. Poppe L; Pilbák S; Paizs C; Rétey J: ***Mechanistic aspects and biocatalytic implications of the MIO-containing ammonia-lyase aminomutase family***, Stud Univ Babes-Bolyai Chem 53(2): 15-19, 2008 (folyóiratcikk - nem)
17. Seff AL; Pilbak S; Poppe L: ***Ligand docking and systematic conformational analysis in loop modified parsley phenylalanine ammonia-lyase structure***, Stud Univ Babes-Bolyai Chem 53(2): 67-71, 2008 (folyóiratcikk - nem)

18. Szigeti M; Tőke ER; Turóczy MC; Nagy V; Szakács G; Poppe L: ***Lipase-catalyzed kinetic resolution of 4-aryl- and 4-heteroarylbut-3-en-2-ols***, ARKIVOC (III): 54-65, 2008 (folyóiratcikk 1.377 igen)
19. Toşa M; Pilbák S; Moldovan P; Paizs C; Szatzker G; Szakács G; Novák L; Irimie FD; Poppe L: ***Lipase-catalyzed kinetic resolution of racemic 1-heteroarylethanol—experimental and QM/MM study***, Tetrahedron:Asymmetry 19: 1844-1052, 2008 (folyóiratcikk 2.796 igen)
20. Boros Z; Csajági C; Szatzker G; Szigeti M; Tomin A; Ürge L; Darvas F; Poppe L: ***Selective biotransformations in continuous flow reactors***, XV. Nemzetközi Vegyészkonferencia, 2009 november 12-15, Marosvásárhely, Románia (ISSN 1843-6293) 2009 (konferenciakiadvány - nem)
21. Pilbák S; Holczinger A; Rétey J; Poppe, L: ***Mechanism and stability of tyrosine / phenylalanine ammonia-lyases***, BioTrans 2009, 2009 július 5-9., Bern, Svájc, 2009 (konferenciakiadvány - nem)
22. Pilbák S; Poppe, L: ***Absolute configuration assignment for lipases by QM/MM calculations***, Molecular modeling in chemistry and biochemistry MolMod 2009, 2009 április 2-4, Kolozsvár, Románia, 2009 (konferenciakiadvány - nem)
23. Poppe L; Tomin A; Boros Z; Varga E; Ürge L; Darvas F: ***Új dinamikus kinetikus resolválási eljárás***, Magy Szab Bej P0900720, 2009 (szabadalom - nem)
24. Seff AL; Pilbák S; Silaghi-Dumitrescu I; Poppe, L: ***Zinc-Containing Active Site in a Partially Modified IGKM Crystal Structure of Histidine Ammonia-Lyase: A Computational Investigation***, Molecular modeling in chemistry and biochemistry MolMod 2009, 2009 április 2-4, Kolozsvár, Románia, 2009 (konferenciakiadvány - nem)
25. Tomin A; Boros Z; Szigeti M; Weiser D; Kovács P; Darvas F; Ürge L; Poppe L: ***Lipase-catalysed asymmetric acylation of prochiral 1,3-diols in continuous-flow bioreactors***, BioTrans 2009, 2009 július 5-9., Bern, Svájc, 2009 (konferenciakiadvány - nem)
26. Tomin A; Dorkó Z; Hornyánszky G; Weiser D; Darvas F; Ürge L; Poppe L: ***Lipase-catalysed kinetic resolution of cyclic secondary alcohols in continuous-flow bioreactors***, BioTrans 2009, 2009 július 5-9., Bern, Svájc, 2009 (konferenciakiadvány - nem)
27. Tomin A; Weiser D; Bata Z; Corici L; Péter F; Poppe L: ***Entrapment of lipases in novel sol-gel systems***, XV. Nemzetközi Vegyészkonferencia, 2009 november 12-15, Marosvásárhely, Románia (ISSN 1843-6293), 2009 (konferenciakiadvány - nem)
28. Tomin A; Hornyánszky G; Kupai K; Dorkó Z; Ürge L; Darvas F; Poppe L: ***Lipase-catalyzed kinetic resolution of 2-methylene-substituted cycloalkanols in batch and continuous-flow modes***, Process Biochem 45: nyomdában, 2010 (folyóiratcikk 2.429 igen)
29. Poppe L és munkatársai, Még nem közölt eredmények