

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Важнейшими синтонами при производстве лекарственных препаратов и биологических средств защиты растений являются оптически чистые энантиомеры спиртов, кислот и сложных эфиров. Наиболее эффективными способами получения таких соединений является кинетическое разделение их рацемических смесей парциальным ацилированием или энантиоселективным гидролизом с помощью гидролаз микроорганизмов (эстераз и липаз), отличающихся высокой селективностью, широкой субстратной специфичностью, активностью, стабильностью, способностью работать как в воде, так и в органических растворителях.

Клетки микроорганизмов с успехом применяются в качестве катализаторов во многих процессах регио- и энантиоселективной трансформации органических соединений. Использование их в качестве биокатализаторов кинетического разделения более перспективно по сравнению с ферментными препаратами, учитывая, с одной стороны, высокие затраты материалов и энергии на концентрирование и выделение внеклеточных и внутриклеточных ферментов, а с другой - значительный расход ферментов во время трансформации. Кроме того, важнейшим преимуществом интактных клеток перед ферментными препаратами является возможность их регенерации и многократного использования.

Принимая во внимание успехи, достигнутые в создании ω -функциональной боковой изопреноидной цепи α -токоферола с 2-мя хиральными центрами R-конфигурации на основе хлорофилла, разработка биокаталитического метода получения S-хроманилэтанола - ключевого синтона полного аналога природного α -токоферола - является важной задачей на пути создания альтернативной технологии получения витамина E на основе доступного растительного и нефтехимического сырья.

Использование методов энантиоселективной биотрансформации с применением клеток микроорганизмов также является перспективным подходом к синтезу оптически активного S-кетопрофена – ценного предшественника в синтезе нестероидных противовоспалительных препаратов.

В связи с этим создание доступных, технологичных и энантиоселективных катализаторов для синтеза оптически активных S-хроманилэтанола (ключевого синтона в синтезе витамина E) и S-кетопрофена (синтона нестероидных противовоспалительных препаратов) является актуальной задачей.

Цель работы. Разработка энантиоселективных биокатализаторов для получения оптически активных S-(-)-6-бензилокси-2(2-гидроксиэтил)-2,5,7,8-тетрамethylхромана и S-(+)-2(3-бензоилфенил)пропионовой кислоты на основе микроорганизмов, обладающих гидролазной активностью. Поиск методов интенсификации процессов кинетического разделения оптически активных спиртов, кислот и эфиров.

В связи с этим задачами работы являлись:

- осуществление скрининга микроорганизмов, обладающих липолитической и эстеразной активностью;
- исследование свойств перспективных штаммов с целью их идентификации;
- разработка энантиоселективных биокатализаторов парциального разделения спиртов, кислот и эфиров в процессах этерификации и гидролиза на основе клеток микроорганизмов с целью получения оптически активных S-хроманилэтанола, энантиомеров других спиртов и S-кетопрофена;
- исследование условий эффективной работы и стабильности биокатализаторов;

- разработка методов получения оптически активных S-хроманилэтанола и S-кетопрофена с использованием созданных биокатализаторов;
- исследование подходов к интенсификации процессов кинетического разделения спиртов и эфиров.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с Федеральной целевой программой «Государственная поддержка интеграции высшего образования и фундаментальной науки в 2002-2006 гг.» (2004-2006 гг., госконтракт № 02.438.11.7003), региональной программой РФФИ "Агидель" (2005г.), планами научно-исследовательских работ Уфимского государственного нефтяного технического университета (2003-2006 гг.), ведомственной научной программой "Развитие научного потенциала высшей школы" (проект «Научно-образовательная деятельность музея, созданного на базе кафедры биохимии и технологии микробиологических производств Уфимского государственного нефтяного технического университета» 2005-2006 гг.).

Научная новизна. Выделены и идентифицированы новые микроорганизмы родов *Rhodococcus* (77-32), *Microbacterium* (77-9) и *Bacillus* (K3-2), на основе которых созданы энантиоселективные биокатализаторы, проявляющие каталитическую активность при парциальном ацилировании R,S-хроманилэтанола, переестерификации R,S-кетопрофена и энантиоселективном гидролизе их рацемических эфиров.

Научно обоснованы методы синтеза оптически активных S-(–)-6-бензилокси-2(2-гидроксиэтил)-2,5,7,8-тетраметилхромана и S-(+)-2-(3-бензоил-фенил)пропионовой кислоты с использованием биокатализаторов на основе микроорганизмов родов *Rhodococcus* (77-32), *Microbacterium* (77-9) и *Bacillus* (K3-2). Обнаружена инверсия R-(+)-хроманилэтанола в S-(–)-хроманилэтанол в присутствии биокатализатора на основе культуры микроорганизма, относящегося к роду *Rhodococcus* (77-32). Найдены условия (температура, pH, растворитель), в которых биокатализаторы проявляют наивысшую активность. Разработаны методы увеличения активности биокатализаторов путем их обработки органическими растворителями. Показано, что в условиях кинетического разделения биокатализаторы проявляют высокую стабильность. Доказана возможность многократного использования разработанных биокатализаторов.

Практическая значимость. На основе найденных культур микроорганизмов родов *Rhodococcus* (77-32), *Microbacterium* (77-9) и *Bacillus* (K3-2) созданы энантиоселективные биокатализаторы и эффективные методы получения S-(–)-хроманилэтанола – ключевого синтона витамина Е и S-(+)-кетопрофена – предшественника нестероидных противовоспалительных препаратов высокой оптической чистоты.

Разработаны методы увеличения активности ранее описанных катализаторов энантиоселективного гидролиза рацемических эфиров вторичных спиртов не снижающие энантиоселективность.

Результаты научных исследований легли в основу создания новых лабораторных работ и используются в учебном процессе при подготовке инженеров по специальности 240901 - «Биотехнология».

Апробация работы. Основные результаты исследования были представлены на 55,56 и 57-й научно-технических конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых УГНТУ (Уфа, 2004-2006), V Всероссийском научном семинаре и Молодежной научной школе «Химия и медицина» (Уфа, 2005), IV Всероссийской научной INTERNET-конференции «Интеграция науки и высшего образования в