



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



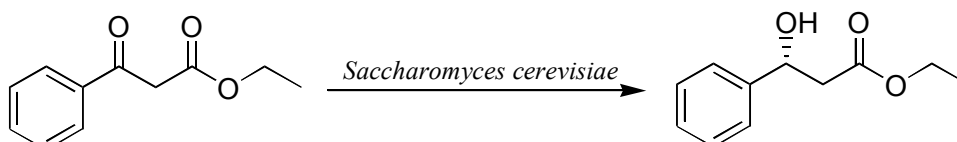
UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego

ZADANIE 4B

(S)- 3-FENYLO-3-HYDROKSYPROPANIAN ETYLU



Celem ćwiczenia jest uzyskanie optycznie czynnego hydroksyestru w wyniku enzymatycznej redukcji ketoestru z użyciem drożdży *Saccharomyces cerevisiae*.

β -Hydroksyestry o wysokiej czystości enancjomerycznej są ważnymi blokami budulcowymi w syntezie związków biologicznie aktywnych, np. popularnego leku antydepresyjnego o nazwie handlowej *Prozac*. Związki te otrzymać można w reakcjach redukcji chemicznej lub mikrobiologicznej odpowiednich β -ketoestrów. Do redukcji mikrobiologicznej wykorzystać można m.in. szczep drożdży piekarskich *Saccharomyces cerevisiae*. Zaletami takiej redukcji są: a) wysoka chemo-, regio- oraz stereoselektywność, b) wysoka wydajność, c) łagodne warunki reakcji (temperatura pokojowa, ciśnienie atmosferyczne, środowisko wodne), d) eliminacja niebezpiecznych mediatorów, np. związków metali ciężkich, e) możliwość wielokrotnego użycia regenerowanego enzymu.

Reakcje z użyciem mikroorganizmów nie pozbawione są też wad: a) często wykazują się niską produktywnością objętościową (tj. stosunkiem ilości produktu do objętości reaktora), b) wymagają żmudnej i czasochłonnej obróbki mieszaniny poreakcyjnej, która nierzadko ma dużą objętość, c) wymagają podjęcia wielu prób by skorelować warunki reakcji z odpowiednim enzymem.

Stereoselektywną redukcję związków zawierających karbonylowy atom węgla katalizują enzymy o nazwie reduktazy i dehydrogenazy. Do redukcji niezbędna jest również obecność koenzymów NADH lub NADPH pełniących rolę donorów anionów wodorkowych. Istotnym elementem redukcji enzymatycznej jest ciągła regeneracja koenzymów (z powodu wysokiej ceny nie stosuje się ich w ilościach stechiometrycznych) za pomocą innych obecnych w mieszaninie związków, dostarczających anionów wodorkowych, umożliwiających odtworzenie cząsteczek koenzymu i kontynuowanie pożądanego reakcji. Ponieważ komórki drożdży zawierają również enzymy prowadzące do otrzymania niepożądanych produktów, często stosowane są dodatki związków powodujące inhibicję lub denaturację „niepotrzebnych enzymów” (np. bromooctan etylu).



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego

Odczynniki:

benzoilooctan etylu ^S 0,20 g sacharoza ^S 3,0 g
drożdże suche ^S 14 g octan etylu ^D ok. 400 ml (*do ekstrakcji i do chromatografii kolumnowej*)
dimetylosulfotlenek ^P 2 ml dichlorometan ^D 250 ml (*do chromatografii kolumnowej*)
bromoocetan etylu ^P 0,65 g MgSO₄ bezw.

^S - dostępne w szafie; ^D - dostępne pod dygestorium; ^P - pobrać z przygotowań;

Zastosowany benzoilooctan etylu powinien być starannie oczyszczony, np. przez destylację próżniową z użyciem kolumny Vigreux, ewentualne zanieczyszczenia bardzo utrudniają identyfikację frakcji w chromatografii kolumnowej.

W kolbie stożkowej (ew. kulistej) o pojemności 250 cm³ umieszcza się kolejno: 150 ml wody, drożdże, sacharozę oraz bromoocetan etylu. Po 30 minutach intensywnego mieszania dodaje się benzoilooctan etylu rozpuszczony w DMSO. Mieszanie kontynuuje się przez 48 godzin w temperaturze pokojowej.¹ Po tym czasie odsącza się drożdże na dużym, szklanym lejku ze spiekim G4,² warstwę drożdży przemywa 20 cm³ octanu etylu, a warstwę wodną ekstrahuje się trzema porcjami (po 100 cm³) octanu etylu. Połączone warstwy organiczne suszy się nad bezwodnym siarczanem magnezu. Po odsączeniu środka suszącego i oddestylowaniu rozpuszczalnika,³ oleistą pozostałość poddaje się chromatografii kolumnowej, stosując jako eluent dichlorometan, a po usunięciu substratu 10% roztwór octanu etylu w dichlorometanie. Postęp chromatografii należy sprawdzać za pomocą chromatografii cienkowarstwowej, stosując jako eluent 10% roztwór octanu etylu w dichlorometanie.⁴ Po oddestylowaniu eluenta i wysuszeniu bladożółtej, gęstej, cieczy należy wykonać i zinterpretować widmo IR, dokonać pomiaru skręcalności właściwej, a w miarę możliwości wykonać widma magnetycznego rezonansu jądrowego.

Literatura:

1. A.Varga, V.Zacharia, M.Nogradi, L.Poppe – *Tetrahedron:Asymmetry*, **2013**, 24, 1389
2. J.Gawroński, K.Gawrońska, K.Kacprzak, M.Kwit – *Współczesna Synteza Organiczna, Wybór eksperymentów* PWN, Warszawa **2004**



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego

UWAGI I ZAGOSPODAROWANIE ODPADÓW

- ¹ Najlepsze efekty w temperaturze powyżej 24° C. Mieszanina reakcyjna pozostawiona na dłuższy czas może zapleśnieć.
- ² Odsączenie drożdży może trwać nawet 5 godzin, należy zastosować tak duży lejek, aby pomieścić CAŁĄ mieszaninę, a w tym czasie zaplanować inne prace.
- ³ Octan etylu należy oddestylować na wyparce do czystego odbieralnika i umieścić w pojemniku oznakowanym "Zlewki octanu etylu".
- ⁴ Wartości R_f dla substratu 0,6-0,7, dla produktu 0,2-0,3. Redukcja grupy karbonylowej sprzężonej z pierścieniem aromatycznym powoduje znaczny spadek intensywności plamki produktu w świetle UV. Lepsze wyniki daje jej detekcja za pomocą par jodu (kilka kryształków jodu wymieszanych z jednocentymetrową warstwą żelu krzemionkowego w zamkniętym naczyniu).