

А. В. Митягина (асп.), Т. Р. Рахманов (студ.), Н. И. Петухова (к. биол. н., доц.),
В. В. Зорин (чл.-корр. АН РБ, д.х.н., проф., зав. каф.)

ЭНАНТИОСЕЛЕКТИВНОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ КАРБОНИЛСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ КЛЕТОК *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* VKM AC-1161

Уфимский государственный нефтяной технический университет,
кафедра биохимии и технологии микробиологических производств
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1; e-mail: a_mityagina@mail.ru

A. V. Mityagina, T. R. Rakhmanov, N. I. Petukhova, V. V. Zorin

ENANTIOSELECTIVE REDUCTION OF CARBONYL COMPOUNDS BY WHOLE CELLS OF *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* VKM AC-1161

Ufa State Petroleum Technological University

1, Kosmonavtov Str., 450064, Ufa, Russia; e-mail: a_mityagina@mail.ru

Осуществлено энантиоселективное восстановление ряда карбонилсодержащих соединений (*n*-хлорацетофенона, ацетофенона, 5-гексен-2-она, 6-гептен-2-она и 6-метил-5-гептен-2-она) в соответствующие спирты *S*-конфигурации с помощью клеток актинобактерий *Rhodococcus erythropolis* VKM Ac-1161 в присутствии изопропанола. Показано, что изопропанол в концентрации 5–20 % оказывает положительное влияние на селективность процессов восстановления 6-метил-5-гептен-2-она и *p*-хлорацетофенона. В буфере, содержащем 20% изопропанола, в присутствии клеток актинобактерий получены *S*-6-метил-5-гептен-2-ол (99.9% *ee*) и *S*-1-(4-хлорфенил)этанол (96.4% *ee*) с выходом 93.8% и 84.0% соответственно.

Ключевые слова: биовосстановление кетонов; энантиоселективный биокатализ; *S*-6-метил-5-гептен-2-ол, *S*-1-(4-хлорфенил)этанол, *Rhodococcus erythropolis*.

Благодаря способности синтезировать практически важные ферменты (дегидрогеназы, монооксигеназы, эпоксидгидролазы, дегагеназы, нитрилазы, амидазы и др.) актинобактерии рода *Rhodococcus* часто используются в качестве биокатализаторов в органическом синтезе биологически активных веществ^{1–3}. В частности, ферменты и клетки актинобактерий вида *Rhodococcus erythropolis* находят широкое применение в различных процессах окисления, эпоксидирования, гидроксиро-

An enantioselective reduction of prochiral carbonyl compounds (*p*-chloroacetophenone, acetophenone, 5-hexen-2-one, 6-hepten-2-one, 6-methyl-5-hepten-2-one) to *S*-enantiomers of the respective chiral alcohols by the cells of actinobacterium *Rhodococcus erythropolis* VKM Ac-1161 in the presence of isopropanol was occurred. A positive effect of isopropanol in concentrations 5–20 % on the selectiveness of the reduction of 6-methyl-5-hepten-2-one and *p*-chloroacetophenone was shown. In the presence of actinobacteria *S*-6-methyl-5-hepten-2-ol (99.9% *ee*) and *S*-1-(4-chlorophenyl)ethanol (96.4% *ee*) with the yields of 93.8% and 84.0% respectively were obtained in buffer containing 20% of isopropanol.

Key words: enantioselective biocatalysis, carbonyl bioreduction, *S*-6-methyl-5-hepten-2-ol, *S*-1-(4-chlorophenyl)ethanol, *Rhodococcus erythropolis*.

вания, гидролиза, дегалогенирования органических соединений^{2–4}.

Одним из перспективных направлений использования биокаталитического потенциала *R. erythropolis* в органическом синтезе является энантиоселективное восстановление прохиральных кетонов в энантимерно чистые вторичные спирты — предшественники биологически активных веществ^{2, 3, 5–9}. Из клеток различных штаммов *R. erythropolis* выделены и охарактеризованы несколько энантиоселективных дегидрогеназ/карбонилредуктаз, способных восстанавливать кетоны с помощью

Дата поступления 16.10.21

восстановленных форм никотинамидадениндинуклеотидов (NADH или NADPH) ^{5, 8, 10–15}. Большинство выделенных ферментов (вторичная алкогольдегидрогеназа из *R. erythropolis* DSM 43297 ⁵, карбонилредуктаза из *R. erythropolis* WZ010 (ReCR) ⁸, аминокислотдегидрогеназы из *R. erythropolis* BCRC 10909 ¹³ и *R. erythropolis* MAK154 ¹⁴, ацетон/диацетилредуктаза из *R. erythropolis* WZ010 ¹² и др.), проявляют *S*-стереоспецифичность в процессах восстановления прохиральных карбонилсодержащих соединений. Исключение составляют *R*-энантиоселективная среднецепочечная алкогольдегидрогеназа из *R. erythropolis* ATCC 4277 ¹¹ и (2*R*,3*R*)-2,3-бутандиолдегидрогеназа из *R. erythropolis* WZ010 ¹⁵.

Для разработки эффективных методов восстановления кетонов с участием дегидрогеназ/карбонилредуктаз и никотинамидных коферментов обычно используются целноклеточные биокатализаторы, которые могут осуществлять регенерацию эндогенного восстановителя *in situ* ¹⁶. В случае ферментов *R. erythropolis* реализуются два подхода регенерации NAD(P)H: с участием дополнительного регенирующего фермента и его субстрата; с участием только одного вспомогательного субстрата (экзогенного восстановителя) ^{7, 13, 17–21}.

На платформе бактерий *Escherichia coli* создаются генно-инженерные клеточные биокатализаторы, экспрессирующие различные энантиоселективные дегидрогеназы/карбонилредуктазы *R. erythropolis* совместно с регенирующими ферментами из других микроорганизмов для окисления экзогенных доноров атомов водорода (глюкозы, формиата и др.) с помощью NAD(P)⁺ ^{13, 17, 18}.

Альтернативно разрабатываются клеточные биокатализаторы на основе природных штаммов *R. erythropolis*, которые сами способны осуществлять каскады окислительно-вос-

становительных реакций с участием никотинамидных коферментов, используя такие вспомогательные субстраты (экзогенные восстановители), как глюкоза, формиат, этанол, изопропанол ^{7, 19–21}.

Однако, следует отметить, что не все штаммы *R. erythropolis*, обладающие высоко-селективными дегидрогеназами/карбонилредуктазами, пригодны для использования в качестве клеточного биокатализатора процессов восстановления карбонилсодержащих соединений. В ряде случаев с помощью таких биокатализаторов получают продукты с низким энантиомерным избытком, как полагают, из-за присутствия в клетках сопутствующих дегидрогеназ противоположной энантиоселективности ⁵.

В настоящей работе с целью разработки эффективных методов получения энантиомерно чистых вторичных спиртов исследована возможность использования клеток штамма *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161 в качестве биокатализатора для энантиоселективного восстановления ряда ароматических (ацетофенона, *n*-хлорацетофенона) и непредельных алифатических кетонов (5-гексен-2-она, 6-гептен-2-она и 6-метил-5-гептен-2-она) в присутствии изопропанола.

Восстановление кетонов осуществляли при 30 °С в 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.0), содержащем 5% изопропанола, 5 г/л субстрата и 200 г/л сырой трехсуточной биомассы актинобактерий.

В результате исследования было обнаружено, что в присутствии клеток *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161 и изопропанола протекает восстановление всех тестируемых карбонилсодержащих соединений. В случае непредельных алифатических соединений с наибольшей скоростью восстанавливается 5-гексен-2-он (рис. 1). Начальная скорость восстановления этого субстрата была почти в 2.2–2.4 раза выше, чем

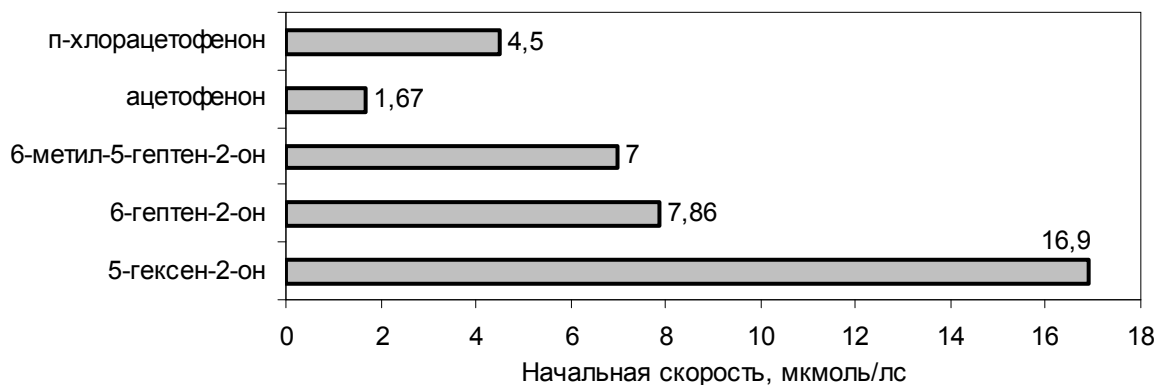


Рис. 1. Начальная скорость реакции восстановления карбонилсодержащих соединений при 30 °С в 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.0), содержащем 5% изопропанола, 5 г/л субстрата и 200 г/л сырой биомассы *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161

у его семиуглеродного гомолога (6-гептен-2-она) или разветвленного восьмиуглеродного аналога (6-метил-5-гептен-2-она). В случае ароматических кетонов наиболее высокая начальная скорость реакции была достигнута при восстановлении *n*-хлорацетофенона (в 2.7 раза больше, чем при трансформации ацетофенона, рис. 1). При использовании ацетофенона наблюдалась наименьшая скорость восстановления среди всех тестируемых субстратов.

Аналогичные результаты были получены ранее для NAD-зависимой алкогольдегидрогеназы из *R. erythropolis* DSM 43297^{5, 17}. Показано, что фермент проявляет значительно более высокую активность с кетоэфирами, алифатическими кетонами, а также галогенированными производными ацетофенона, нежели с ацетофеноном. Именно этот фермент, экспрессированный в

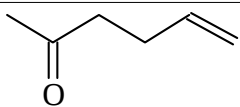
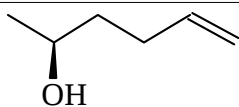
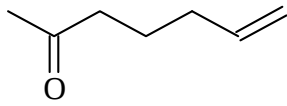
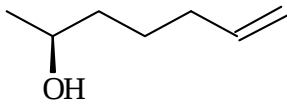
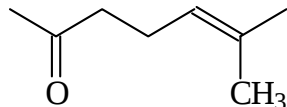
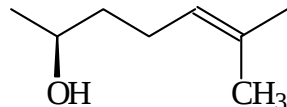
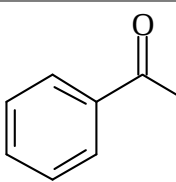
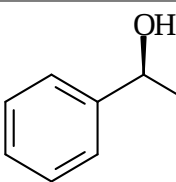
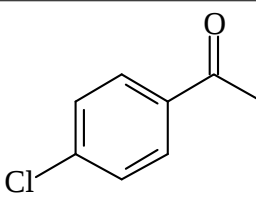
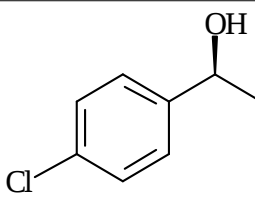
клетках *E. coli*, наиболее часто используется для получения различных энантиомерно чистых вторичных спиртов *S*-конфигурации путем восстановления прохиральных карбонилсодержащих предшественников^{5, 17}.

Исследование продуктов, образующихся при восстановлении карбонилсодержащих субстратов с помощью клеток *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161 показало, что они представляют собой спирты *S*-конфигурации относительно низкой энантиомерной чистоты (табл. 1).

Установлено, что более высокая энантиомерная чистота продуктов (89.0–97.2 % *ee*) достигается в начале реакции (в течение 1 ч), когда их выход еще недостаточно высокий (15–79%, табл. 1). Увеличение продолжительности реакции до 4 ч приводило к увеличению выхода продуктов до 59–90 %, но сопровожда-

Таблица 1

Выход и энантиомерный избыток продуктов восстановления карбонилсодержащих соединений при 30 °С в 0.1 М фосфатном буфере (pH 7.0), содержащем 5% изопропанола, 5 г/л субстрата и 200 г/л сырой биомассы *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161

Субстрат	Продукт	еe, %		Выход, %	
		1 ч	4 ч	1 ч	4 ч
 5-гексен-2-он	 <i>S</i> -5-гексен-2-ол	96.6	93.8	79.3	90.3
 6-гептен-2-он	 <i>S</i> -6-гептен-2-ол	96.3	93.8	63.5	89.6
 6-метил-5-гептен-2-он	 <i>S</i> -6-метил-5-гептен-2-ол	89.0	80.2	63.6	84.3
 ацетофенон	 <i>S</i> -1-фенилэтанол	96.2	95.8	15.0	59.1
 <i>p</i> -хлорацетофенон	 <i>S</i> -1-(4-хлорфенил)этанол	97.2	88.5	50.0	79.5

лось снижением избытка основного *S*-энантиомера до 80.2–95.8 % *ee*, вероятно, из-за наличия в клетках *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161 альтернативного *R*-энантиоселективного фермента ⁵.

С целью получения продуктов более высокой оптической чистоты с помощью клеток *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161 нами было изучено восстановление кетонов в присутствии более высоких концентраций изопропанола.

Установлено, что в области концентраций изопропанола, равных 10–20 %, восстановление большинства субстратов, за исключением ацетофенона, протекает с выходами, сопоставимыми с полученными выше в присутствии 5% изопропанола (рис. 2, табл. 1). Только в случае ацетофенона наблюдалось существенное (почти двукратное) снижение выхода *S*-1-фенилэтанола уже при 10% изопропанола.

На примере 6-метил-5-гептен-2-она и *n*-хлорацетофенона установлено, что в отсутствие изопропанола восстановление кетонов с помощью клеток *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161 происходит с низкой начальной скоростью (рис. 3). Увеличение концентрации спирта до 5% приводит к существенному ускорению реакции как в случае ароматического кетона, так и кетоалкена. В области концентрации изопропанола 5–20 % скорость восстановления в случае 6-метил-5-гептен-2-она продолжает медленно увеличиваться, тогда как в случае *n*-хлорацетофенона снижается в 2.1 раза.

Исследование энантиомерного состава продуктов, образующихся в системах с различным содержанием изопропанола, показало, что повышение концентрации спирта в реакционной среде приводит к увеличению селективности восстановления обоих кетонов (рис. 4).

При восстановлении 6-метил-5-гептен-2-она в *S*-6-метил-5-гептен-2-ол в отсутствие изопропанола энантиомерный избыток продукта, полученного в течение 1 ч, составлял 56% (рис. 4). Увеличение продолжительности реакции до 4 ч приводило к снижению энантиомерного избытка продукта до 33%. При трансформации 6-метил-5-гептен-2-она в присутствии 15–20 % изопропанола образуется *S*-6-метил-5-гептен-2-ол высокой чистоты (99.9% *ee*) независимо от продолжительности реакции.

При восстановлении *n*-хлорацетофенона в буфере без изопропанола с увеличением продолжительности реакции также наблюдается снижение энантиомерной чистоты *S*-1-(4-хлорфенил)этанола (рис. 4). Однако в присутствии 20% изопропанола этот эффект нивелируется и энантиомерный избыток продукта сохраняется на уровне 96.4%.

При исследовании динамики восстановления кетонов в системах с 20%-ным содержанием изопропанола было обнаружено, что высокий выход *S*-6-метил-5-гептен-2-ола (93.8%) и *S*-1-(4-хлорфенил)этанол (84.0%) достигается в течение 2 и 6 ч соответственно.

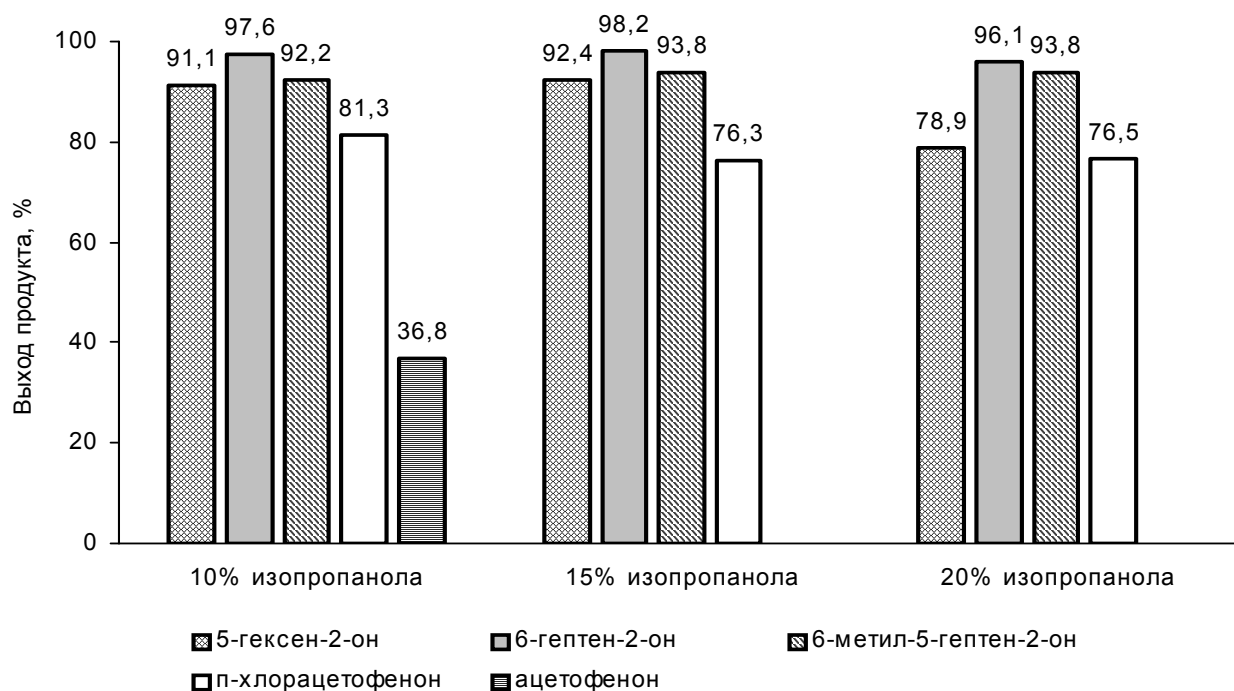


Рис. 2. Выход продуктов реакции при восстановлении кетонов в течение 4 ч при 30 °С в 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.0), содержащем 5 г/л субстрата и 200 г/л сырой биомассы *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161, в присутствии различных концентраций изопропанола

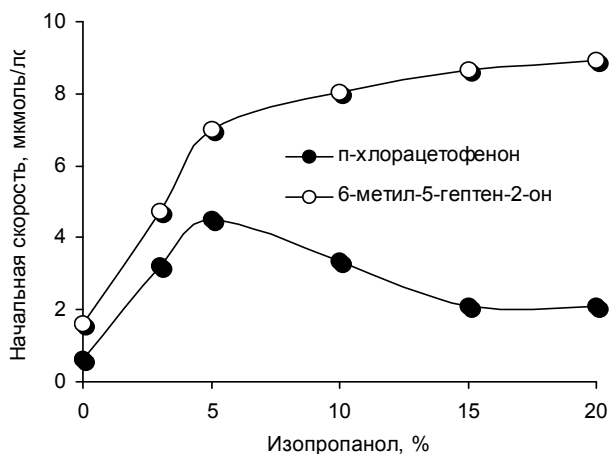


Рис. 3. Зависимость начальной скорости реакции от концентрации изопропанола при восстановлении 6-метил-5-гептен-2-она и *n*-хлорацетофенона при 30 °С в 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.0), содержащем 5 г/л субстрата и 200 г/л сырой биомассы *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161

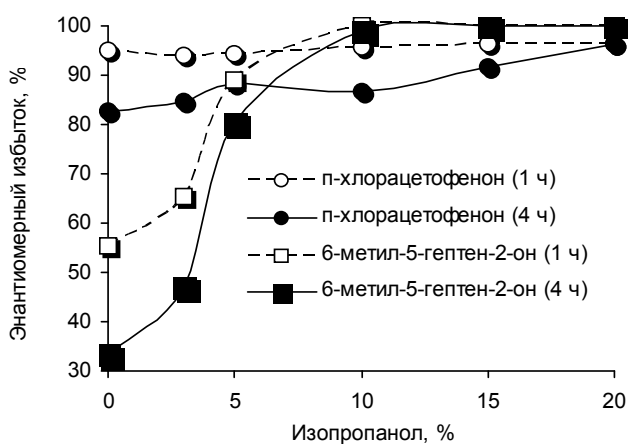


Рис. 4. Влияние концентрации изопропанола на энантиомерную чистоту продуктов восстановления *n*-хлорацетофенона и 6-метил-5-гептен-2-она при 30 °С в 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.0), содержащем 5 г/л субстрата и 200 г/л сырой биомассы *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161

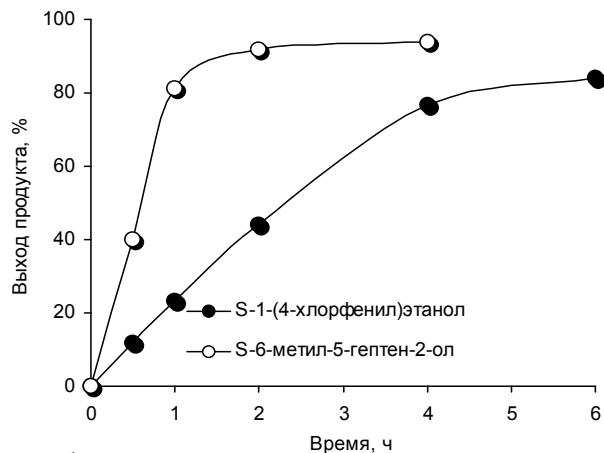


Рис. 5. Динамика выхода продуктов восстановления *n*-хлорацетофенона и 6-метил-5-гептен-2-она при 30 °С в 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.0), содержащем 20% изопропанола, 5 г/л субстрата и 200 г/л сырой биомассы *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что с помощью клеток трехсуточной культуры актинобактерий *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161 в присутствии изопропанола как экзогенного восстановителя может быть осуществлено энантиоселективное восстановление ряда прохиральных карбонил-содержащих соединений (*n*-хлорацетофенона, ацетофенона, 5-гексен-2-она, 6-гептен-2-она и 6-метил-5-гептен-2-она) в соответствующие спирты S-конфигурации. Показано, что изопропанол в концентрации 5–20 % оказывает положительное влияние на энантиоселективность процессов восстановления 6-метил-5-гептен-2-она и *n*-хлорацетофенона. В буфере, содержащем 20% изопропанола, с помощью клеток *R. erythropolis* ВКМ Ас-1161 получен S-6-метил-5-гептен-2-ол – компонент и предшественник феромонов насекомых^{22–24} с энантиомерным избытком 99.9% и выходом 93.8%, а также синтезирован S-1-(4-хлорфенил)этанол, использующийся для получения фармакозначимых соединений^{25, 26}, с чистотой 96.4% *ee* и выходом 84.0%.

Экспериментальная часть

Биомассу актинобактерий *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-1161 для трансформации выращивали в течение трех суток при температуре 30 °С на среде, содержащей гидролизат рыбной муки – 25 г/л, глюкозу – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, агар-агар микробиологический – 15 г/л.

Восстановление кетонов осуществляли при 30 °С в 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.0), содержащем 5% изопропанола, 5 г/л субстрата и 200 г/л сырой трехсуточной биомассы актинобактерий. В экспериментах по изучению влияния изопропанола на восстановление кетонов концентрацию спирта варьировали от 0 до 20%.

Для текущего контроля реакции отбирали пробы реакционной смеси. Полученные пробы центрифугировали 10 мин при 7000 об/мин, дважды экстрагировали этилацетатом, экстракт осушали безводным $MgSO_4$. Текущий контроль концентрации субстрата и продукта в пробах осуществляли на хроматографе «Хроматек Кристалл 5000.2» с пламенно-ионизационным детектором на хиральной капиллярной колонке Supelco BetaDEX 110 (30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм). Режим анализа: температура испарителя 220 °С, температура детектора 220 °С, температура колонки 60–220 °С, скорость нагрева 5 °С/мин, давление газа-носителя 100 кПа,

расход водорода 25 мл/мин, расход воздуха 250 мл/мин, газ-носитель — гелий).

Выделение продуктов реакции производили из осветленной центрифугированием (15 мин при 9000 об/мин) реакционной смеси. Продукты трансформации высаливали NaCl и троекратно экстрагировали равным объемом диэтилового эфира. Экстракт осушали над обезвоженным сульфатом натрия, концентрировали на роторно-пленочном испарителе и фракционировали на хроматографической колонке с силикагелем Merk 60 (0.063–0.200 мм), элюент — гексан:этилацетат (8:1).

Конфигурацию продуктов определяли поляриметрически на поляриметре PerkinElmer-141-MC.

Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре «BRUKER AM-300» (рабочая частота 500.13 МГц для ^1H и 126.76 МГц для ^{13}C) в растворах CDCl_3 . За внутренний стандарт принимали значение сигналов хлороформа: в ЯМР ^1H — примесь протонов в дейтерированном растворителе (δ 7.27 м.д.), в ЯМР ^{13}C — средний сигнал CDCl_3 (δ 77.00 м.д.).

Спектральные характеристики *S*-1-фенилэтанола, *S*-1-(4-хлорфенил)этанола, *S*-5-гексен-2-ола, *S*-6-гептен-2-ола и *S*-6-метил-5-гептен-2-ола совпадают с литературными данными^{23, 27}.

Литература

1. Kim D., Choi K.Y., Yoo M., Zylstra G.J., Kim E. Biotechnological Potential of *Rhodococcus* Biodegradative Pathways // *J. Microbiol. Biotechnol.*— 2018.— V.28(7).— Pp.1037-1051.
2. Busch H., Hagedoorn P-L., Hanefeld U. *Rhodococcus* as A Versatile Biocatalyst in Organic Synthesis // *Int. J. Mol. Sci.*— 2019.— V.20.— Pp.1-35.
3. Qin L., Wu L., Nie Y., Xu Y. Biosynthesis of chiral cyclic and heterocyclic alcohols via C=O/C-H/C-O asymmetric reactions // *Catal. Sci. Technol.*— 2021.— V.11.— Pp.2637-2651.
4. de Carvalho C.C., da Fonseca M.M. The remarkable *Rhodococcus erythropolis* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.*— 2005.— V.67.— Pp.715-726.
5. Hummel W., Abokitse K., Drauz K., Rollmann C., Groger H. Towards a Large-Scale Asymmetric Reduction Process with Isolated Enzymes: Expression of an (*S*)-Alcohol Dehydrogenase in *E. coli* and Studies on the Synthetic Potential of this Biocatalyst // *Adv. Synth. Catal.*— 2003.— V.345, №1-2.— Pp.153-159.
6. Kasprzak J., Bischoff F., Rauter M., Becker K., Baronian K., Bode R., Schauer F., Vorbrodt H.-M., Kunze G. Synthesis of 1-(*S*)-phenylethanol and ethyl (*R*)-4-chloro-3-hydroxybutanoate using recombinant *Rhodococcus erythropolis* alcohol dehydrogenase produced by two yeast species // *Biochemical Engineering Journal.*— 2016.— V.106.— Pp.107-117.
7. Jin J., Li H., Zhang J. Improved synthesis of (*S*)-1-phenyl-2-propanol in high concentration with coupled whole cells of *Rhodococcus erythropolis* and *Bacillus subtilis* on preparative scale // *Appl. Biochem Biotechnol.*— 2010.— V.163.— Pp.2075-2086.
8. Ying X., Zhang J., Wang C., Huang M., Ji Y., Cheng F., Yu M., Wang Z., Ying M. Characterization of a Carbonyl Reductase from *Rhodococcus erythropolis* WZ010 and Its Variant Y54F for Asymmetric Synthesis of (*S*)-N-Boc-3-Hydroxypiperidine // *Molecules.*— 2018.— V.23.— Pp.3117.

References

1. Kim D., Choi K. Y. Yoo M., Zylstra G. J., Kim E. [Biotechnological Potential of *Rhodococcus* Biodegradative Pathways]. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2018, vol.28(7), pp.1037-1051.
2. Busch H., Hagedoorn P-L., Hanefeld U. [*Rhodococcus* as A Versatile Biocatalyst in Organic Synthesis]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol.20, pp. 1-35.
3. Qin L., Wu L., Nie Y., Xu Y. [Biosynthesis of chiral cyclic and heterocyclic alcohols via C=O/C-H/C-O asymmetric reactions]. *Catal. Sci. Technol.*, 2021, vol.11, pp.2637-2651.
4. de Carvalho C.C., da Fonseca M.M. [The remarkable *Rhodococcus erythropolis*]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2005, vol.67, pp.715-726.
5. Hummel W., Abokitse K., Drauz K., Rollmann C., Groger H. [Towards a Large-Scale Asymmetric Reduction Process with Isolated Enzymes: Expression of an (*S*)-Alcohol Dehydrogenase in *E. coli* and Studies on the Synthetic Potential of this Biocatalyst]. *Adv. Synth. Catal.*, 2003, vol.345, no.1-2, pp.153-159.
6. Kasprzak J., Bischoff F., Rauter M., Becker K., Baronian K., Bode R., Schauer F., Vorbrodt H.-M., Kunze G. [Synthesis of 1-(*S*)-phenylethanol and ethyl (*R*)-4-chloro-3-hydroxybutanoate using recombinant *Rhodococcus erythropolis* alcohol dehydrogenase produced by two yeast species]. *Biochemical Engineering Journal*, 2016, vol.106, pp.107-117.
7. Jin J., Li H., Zhang J. [Improved synthesis of (*S*)-1-phenyl-2-propanol in high concentration with coupled whole cells of *Rhodococcus erythropolis* and *Bacillus subtilis* on preparative scale]. *Appl Biochem Biotechnol.*, 2010, vol.163, pp.2075-2086.
8. Ying X., Zhang J., Wang C., Huang M., Ji Y., Cheng F., Yu M., Wang Z., Ying M. [Characterization of a Carbonyl Reductase from *Rhodococcus erythropolis* WZ010 and Its Variant Y54F for Asymmetric Synthesis of (*S*)-N-Boc-3-Hydroxypiperidine]. *Molecules*, 2018, vol. 23, pp.3117.

9. Pollard D., Truppo M., Pollard J., Chen C., Moore J. Effective synthesis of (S)-3,5-bistrifluoromethylphenyl ethanol by asymmetric enzymatic reduction // *Tetrahedron: Asymmetry*.— 2006.— V.17.— Pp.554-559.
10. Zelinski T., Kula M.-R. A Kinetic Study and Application of a Novel Carbonyl Reductase Isolated from *Rhodococcus erythropolis* // *Bioorganic di Medicinal Chemistry*.— 1994.— V.2, №6.— Pp.421-428.
11. Zhu Q., Jia H., Li Y., Jia L., Ma Y., Wei P. Cloning, expression and characterization of chiral alcohol dehydrogenase from *Rhodococcus erythropolis* ATCC 4277 // *Acta Microbiol. Sin.*— 2012.— V.52.— Pp.83-89.
12. Wang Z., Song Q., Yu M., Wang Y., Xiong B., Zhang Y., Zheng J., Ying X. Characterization of a stereospecific acetoin(diacetyl) reductase from *Rhodococcus erythropolis* WZ010 and its application for the synthesis of (2S,3S)-2,3-butanediol // *Applied Microbiology and Biotechnology*.— 2014.— V.98.— Pp.641-650.
13. Lin W., Chen C., Chen H., Hsu W. Enantioselective synthesis of (S)-phenylephrine by whole cells of recombinant *Escherichia coli* expressing the amino alcohol dehydrogenase gene from *Rhodococcus erythropolis* BCRC 10909 // *Process Biochem.*— 2010.— V.45.— Pp.1529-1536.
14. Kataoka M., Nakamura Y., Urano N., Ishige T., Shi G., Kita S., Sakamoto K., Shimizu S. A novel NADP⁺-dependent L-1-amino-2-propanol dehydrogenase from *Rhodococcus erythropolis* MAK154: a promising enzyme for the production of double chiral aminoalcohols // *Lett. Appl. Microbiol.*— 2006.— V.43.— Pp.430-435.
15. Yu M., Huang M., Song Q., Shao J., Ying X. Characterization of a (2R,3R)-2,3-Butanediol Dehydrogenase from *Rhodococcus erythropolis* WZ010 // *Molecules*.— 2015.— V.20.— Pp.7156-7173.
16. Tassano E., Hall M. Enzymatic self-sufficient hydride transfer processes // *Chem. Soc. Rev.*— 2019.— V.48.— Pp.5596-5615.
17. Groger H., Hummel W., Rollmann C., Chamouleau F., Husken H., Werner H., Wunderlich C., Abokitse K., Drauz K., Buchholz S. Preparative asymmetric reduction of ketones in a biphasic medium with an (S)-alcohol dehydrogenase under *in situ*-cofactor-recycling with a formate dehydrogenase // *Tetrahedron*.— 2004.— V.60.— Pp. 633-640.
18. Abokitse K., Hummel W. Cloning, sequence analysis, and heterologous expression of the gene encoding a (S)-specific alcohol dehydrogenase from *Rhodococcus erythropolis* DSM 43297 // *Appl. Microbiol. Biotechnol.*— 2003.— V.62.— Pp.380-386.
19. Chen H., Qian F., Lin H., Chen W., Wang P. Using Choline Chloride-Based DESs as Co-Solvent for 3,5-Bis(trifluoromethyl) Acetophenone Bioreduction with *Rhodococcus erythropolis* XS1012 // *Catalysts*.— 2020.— V.10.— P.30.
20. Wang Y., Li J., Wu Q., Zhu D. Microbial stereospecific reduction of 3-quinuclidinone with newly isolated *Nocardia* sp. and *Rhodococcus erythropolis* // *J. Mol. Catal. B Enzym.*— 2013.— V.88.— Pp.14-19.
9. Pollard D., Truppo M., Pollard J., Chen C., Moore J. [Effective synthesis of (S)-3,5-bistrifluoromethylphenyl ethanol by asymmetric enzymatic reduction]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2006, vol.17, pp.554-559.
10. Zelinski T., Kula M.-R. [A Kinetic Study and Application of a Novel Carbonyl Reductase Isolated from *Rhodococcus erythropolis*]. *Bioorganic di Medicinal Chemistry*, 1994, vol.2, no.6, pp.421-428.
11. Zhu Q., Jia H., Li Y., Jia L., Ma Y., Wei P. [Cloning, expression and characterization of chiral alcohol dehydrogenase from *Rhodococcus erythropolis* ATCC 4277]. *Acta Microbiol. Sin.*, 2012, vol.52, pp.83-89.
12. Wang Z., Song Q., Yu M., Wang Y., Xiong B., Zhang Y., Zheng J., Ying X. [Characterization of a stereospecific acetoin(diacetyl) reductase from *Rhodococcus erythropolis* WZ010 and its application for the synthesis of (2S,3S)-2,3-butanediol]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, vol.98, pp.641-650.
13. Lin W., Chen C., Chen H., Hsu W. [Enantioselective synthesis of (S)-phenylephrine by whole cells of recombinant *Escherichia coli* expressing the amino alcohol dehydrogenase gene from *Rhodococcus erythropolis* BCRC 10909]. *Process Biochem.*, 2010, v ol.45, pp.1529-1536.
14. Kataoka M., Nakamura Y., Urano N., Ishige T., Shi G., Kita S., Sakamoto K., Shimizu S. [A novel NADP⁺-dependent L-1-amino-2-propanol dehydrogenase from *Rhodococcus erythropolis* MAK154: a promising enzyme for the production of double chiral aminoalcohols]. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2006, vol.43, pp.430-435.
15. Yu M., Huang M., Song Q., Shao J., Ying X. [Characterization of a (2R,3R)-2,3-Butanediol Dehydrogenase from *Rhodococcus erythropolis* WZ010]. *Molecules*, 2015, vol.20, pp.7156-7173.
16. Tassano E., Hall M. [Enzymatic self-sufficient hydride transfer processes]. *Chem. Soc. Rev.*, 2019, vol.48, pp.5596-5615.
17. Groger H., Hummel W., Rollmann C., Chamouleau F., Husken H., Werner H., Wunderlich C., Abokitse K., Drauz K., Buchholz S. [Preparative asymmetric reduction of ketones in a biphasic medium with an (S)-alcohol dehydrogenase under *in situ*-cofactor-recycling with a formate dehydrogenase]. *Tetrahedron*, 2004, vol.60, pp.633-640.
18. Abokitse K., Hummel W. [Cloning, sequence analysis, and heterologous expression of the gene encoding a (S)-specific alcohol dehydrogenase from *Rhodococcus erythropolis* DSM 43297]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2003, vol.62, pp.380-386.
19. Chen H., Qian F., Lin H., Chen W., Wang P. [Using Choline Chloride-Based DESs as Co-Solvent for 3,5-Bis(trifluoromethyl) Acetophenone Bioreduction with *Rhodococcus erythropolis* XS1012]. *Catalysts*, 2020, vol.10, p.30.
20. Wang Y., Li J., Wu Q., Zhu D. [Microbial stereospecific reduction of 3-quinuclidinone with newly isolated *Nocardia* sp. and *Rhodococcus erythropolis*]. *J. Mol. Catal. B Enzym.*, 2013, vol.88, pp.14-19.

21. Hussain W., Pollard D. J., Lye G. J. The bioreduction of a *b*-tetralone to its corresponding alcohol by the yeast *Trichosporon capitatum* MY1890 and bacterium *Rhodococcus erythropolis* MA7213 in a range of ionic liquids // *Biocatalysis and Biotransformation*.— 2007.— V.25(6).— Pp.443-452.
22. Flechtmann C. A. H., Berisford C. W. Identification of sulcatol, a potential pheromone of the ambrosia beetle *Gnathotrichus materiarius* (Col., Scolytidae) // *J. Appl. Ent.*— 2003.— V.127.— Pp.189-194.
23. Ишмуратов Г. Ю., Газетдинов Р. Р., Выдрина В. А., Харисов Р. Я., Яковлев М. П., Муслухов Р. Р., Иманбаева О. О., Петухова Н. И., Талипова Г. Р., Зорин В. В. Синтез производных *S*-2-алканолов и алкенолов-компонентов феромонов насекомых — из *S*-(+)-дигидромирцена и этил-3*S*-гидроксibuаноата // *Вестник Башкирского университета*.— 2012.— Т.17, №4.— С.1691-1699.
24. Mori K., Puapoomchareon P. Conversion of the Enantiomers of Sulcatol to the Enantiomers of *cis*-Pityol, a Volatile Compound from the Elm Bark Beetle *Pteleobius vittatus* // *Liebigs Ann. Chem.*— 1989.— Pp.1261-1262.
25. Blake J. F., Xu R., Bencsik J. R., Xiao D. Discovery and preclinical pharmacology of a selective ATP-competitive Akt inhibitor (GDC-0068) for the treatment of human tumors // *Journal of Medical Chemistry*.— 2012.— V.55.— Pp.8110-8127.
26. Fournier A.M., Brown R.A., Farnaby W., Miyatake-Ondozabal H., Clayden J. Synthesis of (–)-(*S,S*)-clemastine by Invertive N→C Aryl Migration in a Lithiated Carbamate // *Organic Letters*.— 2010.— V.12.— Pp.2222-2225.
27. Шакиров А. Н., Петухова Н. И., Зорин В. В. Энантиоселективное восстановление карбонилсодержащих соединений с помощью дрожжей *Pichia fermentans* 87-9 // *Баш. хим. ж.*— 2013.— Т.20, №4.— С.59-63.
21. Hussain W., Pollard D. J., Lye G. J. [The bioreduction of a *b*-tetralone to its corresponding alcohol by the yeast *Trichosporon capitatum* MY1890 and bacterium *Rhodococcus erythropolis* MA7213 in a range of ionic liquids]. *Biocatalysis and Biotransformation*, 2007, vol.25(6), pp.443-452.
22. Flechtmann C. A. H., Berisford C. W. [Identification of sulcatol, a potential pheromone of the ambrosia beetle *Gnathotrichus materiarius* (Col., Scolytidae)]. *J. Appl. Ent.*, 2003, vol. 127, pp.189-194.
23. Ishmuratov G. Yu., Gazetdinov R. R., Vydrina V. A., Kharisov R. Ya., Yakovlev M. P., Muslukhov R. R., Imanbaeva O. O., Petukhova N. I., Talipova G. R., Zorin V. V. *Sintez proizvodnykh S-2-alkanolov i alkenolov-komponentov feromonov nasekomykh — iz S-(+)-digidromirtsena i etil-3S-gidroksibutanoata* [Synthesis of derivatives of *S*-2-alkanols and alkenols, components of insect pheromones, from *S*-(+)-dihydromyrcene and ethyl-3*S*-hydroxybutanoate]. *Vestnik Bashkirskogo universiteta* [Bulletin of the Bashkir University], 2012, vol.17, no.4, pp.1691-1699.
24. Mori K., Puapoomchareon P. [Conversion of the Enantiomers of Sulcatol to the Enantiomers of *cis*-Pityol, a Volatile Compound from the Elm Bark Beetle *Pteleobius vittatus*]. *Liebigs Ann. Chem.*, 1989, pp.1261-1262.
25. Blake J. F., Xu R., Bencsik J. R., Xiao D. [Discovery and preclinical pharmacology of a selective ATP-competitive Akt inhibitor (GDC-0068) for the treatment of human tumors]. *Journal of Medical Chemistry*, 2012, vol.55, pp.8110-8127.
26. Fournier A.M., Brown R.A., Farnaby W., Miyatake-Ondozabal H., Clayden J. [Synthesis of (–)-(*S,S*)-clemastine by Invertive N→C Aryl Migration in a Lithiated Carbamate]. *Organic Letters*, 2010, vol.12, pp.2222-2225.
27. Shakirov A. N., Petukhova N. I., Zorin V. V. *Enantioselektivnoe vosstanovlenie karbonilsoderzhashchikh soedinenii s pomoshch'yu drozhzhei Pichia fermentans 87-9* [Enantioselective reduction of carbonyl compounds by yeasts *Pichia fermentans* 87-9] *Bashkirskii khimicheskii zhurnal* [Bashkir Chemical Journal], 2013, vol.20, no.4, pp.59-63.