

А. Р. Чанышева (к.х.н., доц.), С. Т. Дибеева (магистрант),
В. В. Зорин (чл.-корр. АН РБ, д.х.н., проф., зав. каф.)

СТЕРЕОНАПРАВЛЕННАЯ БИОТРАНСФОРМАЦИЯ 1-(4-МЕТИЛТИОФЕНИЛ)ЭТАНОНА

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

A. R. Chanysheva, S. T. Dibaeva, V. V. Zorin

STEREODIRECTED BIOTRANSFORMATION OF 1-(4-METHYLTHIOPHENYL)ETHANONE

Ufa State Petroleum Technological University
1, Kosmonavtov Str., 450064, Ufa, Russia; e-mail: aliyach@mail.ru

Предложен метод стереонаправленного синтеза (S)-(-)-1-(4-метилтиофенил)этанола на основе биовосстановления 1-(4-метилтиофенил)этанона, катализируемого клетками *P. crispum*. Найдены условия, при которых удается осуществлять стереонаправленную биотрансформацию 1-(4-метилтиофенил)этанола до (S)-(-)-1-(4-метилтиофенил)этанола, катализируемую клетками *P. crispum* в водной среде, с выходом 40% и энантиомерным избытком 96% *ee*. Биовосстановление исходного кетона в присутствии этанола (1%) позволяет увеличить энантиомерную чистоту (S)-(-)-1-(4-метилтиофенил)этанола до 98% *ee*, но выход целевого спирта при этом снижается до 27%. При трансформации 1-(4-метилтиофенил)этанона на глубоких степенях конверсии в присутствии 3% этанола в реакционной среде накапливается (R)-(+)-1-(4-метилтиофенил)этанол с выходом 45% (42% *ee*).

Ключевые слова: биовосстановление; биокатализатор; вторичные спирты; (S)-1-(4-метилтиофенил)этанол; стереонаправленная биотрансформация; ферменты; энантиоселективный биокатализ.

Оптически активные ароматические спирты используются для получения фармацевтических субстанций, агрохимикатов и др. (в частности, энантиомеры 1-(4-(метилтиофенил)этанола), применяются в органическом синтезе в качестве хиральных строительных блоков ¹.

В настоящее время одним из эффективных, удобных и экологически безопасных методов получения оптически активных спиртов является энантиоселективное восстановление прохиральных замещенных ароматических кетонов, катали-

A method for the stereodirected synthesis of (S)-(-)-1-(4-methylthiophenyl)ethanol based on the bioreduction of 1-(4-methylthiophenyl)ethanone catalyzed by *P. Crispum* cells has been proposed. We found conditions under which it is possible to carry out the stereodirected biotransformation of 1-(4-methylthiophenyl)ethanone to (S)-(-)-1-(4-methylthiophenyl)ethanol catalyzed by *P. crispum* cells in an aqueous medium, with a yield of 40% and enantiomeric excess of 96% of it. Bioreduction of the starting ketone in the presence of ethanol (1%) makes it possible to increase the enantiomeric purity of (S)-(-)-1-(4-methylthiophenyl)ethanol to 98% *ee*, but the yield of the target alcohol decreases to 27%. And the transformation of 1-(4-methylthiophenyl)ethanone in the presence of 3% ethanol, leads to (R)-(+)-1-(4-methylthiophenyl)ethanol with a yield of (45% (42% *ee*).

Key words: bioreduction; biocatalyst; enantioselective biocatalysis; enzymes; (S)-1-(4-methylthiophenyl)ethanol; secondary alcohols; stereodirected biotransformation.

зируемое изолированными ферментами, клетками растений ²⁻⁸, микроорганизмов и др. ^{9, 10}.

Среди процессов стереонаправленной биотрансформации важное место занимает энантиоселективное восстановление прохиральных карбонильных соединений до соответствующих энантиомерно чистых вторичных спиртов.

Нами исследована возможность стереонаправленного синтеза (S)-(-)-1-(4-метилтиофенил)этанола на основе биовосстановления 1-(4-метилтиофенил)этанона, катализируемого клетками *P. crispum*.

Дата поступления 17.08.22



Таблица 1

Зависимость выхода и оптической чистоты (S)-(-)-1-(4-метилтиофенил)этанола от продолжительности биовосстановления 1-(4-метилтиофенил)этанола клетками *P. crispum* в присутствии этанола

Конц-я этанолa, %	Время, ч			
	24	48	72	144
	Выход, % / ее, %			
0	40/96(S)	23/92(S)	17/90(S)	7/74(S)
1	27/98(S)	26/66(S)	22/66(S)	14/54(S)
2	20/96(S)	15/96(S)	15/93(S)	12/82(S)
3	15/95(S)	30/6(S)	36/26(R)	45/42(R)
4	13/96(S)	13/96(S)	11/92(S)	17/62(S)
5	14/96(S)	15/95(S)	14/92(S)	14/68(S)

T = 23–27 °C, растворитель – вода, концентрация субстрата 1.4 г/л, катализатор P. Crispum

Дальнейшее восстановление 1-(4-метилтио-фенил)этанона сопровождается увеличением

концентрации исходного кетона, снижением выхода и оптической чистоты целевого спирта. Данные результаты, по-видимому, обусловлены активацией стереоконкурентной *R*-оксидоредуктазы, а также обратимым окислением полученного в ходе восстановления (*S*)-(-)-1-(4-метилтиофенил)этанола. Максимальная активация стереоконкурентной *R*-оксидоредуктазы достигается в присутствии 3% этанола, где на глубоких степенях конверсии происходит накопление в реакционной среде (*R*)-(+)-1-(4-метилтиофенил)этанола с выходом 45% (42% *ee*) (144 ч).

Добавление этанола (1%) в течение 24 ч реакции позволяет увеличить энантиомерную чистоту (*S*)-(-)-1-(4-метилтиофенил)этанола до 98% *ee*, однако выход спирта снижается до 27% по сравнению с контрольным экспериментом в воде (табл. 1).

За ходом протекания реакций следили хроматографически, используя заведомо синтезированные образцы рацемического (*R*, *S*)-(-)-1-(4-метилтиофенил)этанола с применением энантиоселективной колонки Astec Chiraldex b-PM (30 м × 0.25 мм × 0.12 мкм).

Строение (*S*)-(-)-1-(4-метилтиофенил)этанола подтверждали с помощью методов ЯМР ^1H и ^{13}C -спектроскопии, хромато-масс-спектрометрии и поляриметрии.

Таким образом, были найдены условия, при которых удается осуществлять стереонаправленную биотрансформацию 1-(4-метилтиофенил)этанона до (*S*)-(-)-1-(4-метилтиофенил)этанола, катализируемую клетками *P. crispum* в водной среде, с выходом 40% и энантиомерным избытком 96% *ee*. Биовосстановление исходного кетона в присутствии этанола (1%) позволяет увеличить энантиомерную чистоту (*S*)-(-)-1-(4-метилтиофенил)этанола до 98% *ee*, но выход целевого спирта при этом снижается до 27%. А при трансформации 1-(4-метилтиофенил)этанона на глубоких степенях конверсии в присутствии 3% этанола происходит накопление в реакционной среде (*R*)-(+)-1-(4-метилтиофенил)этанола с выходом (45% (42% *ee*)).

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H и ЯМР ^{13}C записаны на спектрометре Bruker AM-300 (300.13 МГц (^1H), 75.47 МГц (^{13}C)), в качестве внутреннего стандарта использовали для ЯМР ^1H и ЯМР ^{13}C – ТМС. Спектры ЯМР ^{13}C записаны в режиме полного подавления по протонам, в режиме JMOD.

Масс-спектральный анализ проводили на хромато-масс-спектрометре GCMS-QP2010S Shimadzu (электронная ионизация при 70 эВ) с использованием капиллярной колонки HP-1MS (30 м $\times$ 0.25 мм $\times$ 0.25 мкм), температура испарителя 280 °С, температура ионизационной камеры 200 °С. Анализ проводили в режиме программирования температуры от 100 до 280 °С со скоростью 20 °С/мин, газ-носитель – гелий (объем потока – 1.1 мл/мин).

Хроматографический анализ проводили на аппаратно-программном комплексе на базе газового хроматографа «Хроматэк-Кристалл-5000.2» с пламенно-ионизационным детектором. Использовали энантиоселективную колонку Astec CHIRALDEX TM B-PM (30 м $\times$ 0.25 мм $\times$ 0.12 мкм).

Поляриметрический анализ осуществляли на автоматическом поляриметре AA-55 Optical Activity Limited (стандартная длина волны 589 нм).

Получение (S)-(-)-1-(4-метилтиофенил)-этанола. 4-Метилтиоацетофенон (0.1 г) добавляли в суспензию клеток *P. crispum* (15 г) в 70 мл воды, реакционную смесь помещали в орбитальный шейкер (150 об/мин) и перемешивали при комнатной температуре. Пробы отбирались каждые 24 ч. По завершении реакции суспензию фильтровали, биомассу промывали водой. Фильтраты экстрагировали диэтиловым эфиром. Эфирные вытяжки сушили Na_2SO_4 и отгоняли на ротаторно-пленочном испарителе.

1-(4-Метилтиофенил)этанол. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 1.46 д (3H, CH_3), 2.02 с (1H, $\text{CH}-\text{OH}$), 2.47 с (3H, CH_3-S), 4.84 к (1H, $\text{CH}-\text{OH}$), 7.25 мк (4H, CH_{Ar}); Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 16.0 (CH_3-S), 25.1 (CH_3), 69.9 ($\text{CH}-\text{OH}$), 126.01 (2CH_{Ar}), 126.82 (2CH_{Ar}), 137.33 ($\text{C}_{\text{Ar}}-\text{S}$), 142.87 (C_{Ar}). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %): 168 ($[\text{M}]^+$, 54.4), 153 (100), 150 (15.1), 125 (43.8), 110 (24.4), 109 (76.8), 91 (17.6), 77 (25.7), 45 (22.8), 43 (53.8).

Литература

1. Comasseto J.V., Omori A.T., Porto A.L.M., Andrade L.H. Preparation of chiral organochalcogeno- α -methylbenzyl alcohols via biocatalysis. The role of *Daucus carota* root // *Tetrahedron Letters*.– 2004.– V.45.– Pp.473-476.
2. Patil D. Biocatalysis using plant material: A green access to asymmetric reduction // *International Journal of ChemTech Research*.– 2015.– V.8, №8.– Pp.318-324.
3. Suga T., Hirata T., Lee Y.S. The enantioselective biotransformation of α -terpineol and its acetate with the cultured cells of *Nicotiana tabacum* // *Chem. Lett.*– 1982.– Pp.1595-1598.
4. Demmel G.I., Bordon D.L., Vazquez A.M., Rossi, L.I., Aimar M.L. Optimisation, scope and advantages of the synthesis of chiral phenylethanols using whole seeds of *Bauhinia variegata* L. (*Fabaceae*) as a new and stereoselective bioreducer of carbonyl compounds // *Biocatalysis and Biotransformation*.– 2020.– Pp.1-15.
5. Chanysheva Aliya R., Zorin Vladimir V. Enantioselective bioreduction of heptan-2-one and octan-2-one catalyzed by *Daucus carota* cells // *Indian Journal of Chemistry*.– 2020.– V.59B.– Pp.1381-1383.
6. Чанышева А.Р., Юсупова Ю.К., Привалов Н.В., Зорин В.В. Оптимизация кеторедуктазной активности ферментов *Petroselinum crispum* для синтеза (S)-1-(4-метоксифенил)этанола // *Баш. хим. ж.*– 2020.– Т.27, №1.– С.32-35.
7. Чанышева А.Р., Шейко Е.А., Зорин В.В. Стереоселективное биовосстановление гексан-2-она в (2S)-(+)-гексан-2-ол // *Экологическая химия*.– 2018.– Т.27, №4.– С.229-232.

References

1. Comasseto J.V., Omori A.T., Porto A.L.M., Andrade L.H. [Preparation of chiral organochalcogeno- α -methylbenzyl alcohols via biocatalysis. The role of *Daucus carota* root]. *Tetrahedron Letters*, 2004, vol. 45, pp.473-476.
2. Patil D. [Biocatalysis using plant material: A green access to asymmetric reduction]. *International Journal of ChemTech Research*, 2015, vol.8, no.8, pp.318-324.
3. Suga T., Hirata T., Lee Y.S. [The enantioselective biotransformation of α -terpineol and its acetate with the cultured cells of *Nicotiana tabacum*]. *Chem. Lett.*, 1982, pp.1595-1598.
4. Demmel G.I., Bordon D.L., Vazquez A.M., Rossi, L.I., Aimar M.L. [Optimisation, scope and advantages of the synthesis of chiral phenylethanols using whole seeds of *Bauhinia variegata* L. (*Fabaceae*) as a new and stereoselective bioreducer of carbonyl compounds]. *Biocatalysis and Biotransformation*, 2020, pp.1-15.
5. Chanysheva Aliya R., Zorin Vladimir V. [Enantioselective bioreduction of heptan-2-one and octan-2-one catalyzed by *Daucus carota* cells]. *Indian Journal of Chemistry*, 2020, vol. 59B, pp.1381-1383.
6. Chanysheva A.R., Yusupova Yu.K., Privalov N.V., Zorin V.V. *Optimizatsiya ketoreduktaznoy aktivnosti fermentov Petroselinum crispum dlya sinteza (S)-1-(4-metoksi-fenil)etanol* [Optimization of the ketoreductase activity of *Petroselinum crispum* enzymes for the synthesis of (S)-1-(4-methoxyphenyl)ethanol]. *Bashkirskii khimicheskii zhurnal* [Bashkir Chemical Journal], 2020, vol.27, no.1, pp.32-35.
7. Chanysheva A. R., Sheiko E. A., Zorin V. V. [Stereoselective bioreduction of hexan-2-one into (2S)-(+)-hexan-2-ol]. *Russian Journal of General Chemistry*, 2018, vol.88, no.13, pp. 2934-2936.

8. Andrade L. H., Utsunomiya R. S., Omori A. T., Porto A. L., Comasseto J. V. Edible catalysts for clean chemical reactions: Bioreduction of aromatic ketones and biooxidation of secondary alcohols using plants // *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*.– 2006.– V.38, №2.– Pp.84-90.
9. Dai Y., Huan B., Zhang H.-S., He Y.-C. Effective biotransformation of ethyl 4-chloro-3-oxobutanoate into ethyl (*S*)-4-chloro-3-hydroxybutanoate by recombinant *E. coli* CCZU-T15 whole cells in [ChCl][Gly]-water media // *Applied Biochemistry and Biotechnology*.– 2016.– V.181, №4.– Pp.1347-1359
10. Wei P., Liang J., Cheng J., Zong M.-H., Lou W.-Y. Markedly improving asymmetric oxidation of 1-(4-methoxyphenyl)ethanol with *Acetobacter sp.* CCTCC M209061 cells by adding deep eutectic solvent in a two-phase system // *Microbial Cell Factories*.– 2016.– V.15, №1.– Pp.1-11.
8. Andrade L. H., Utsunomiya R. S., Omori A. T., Porto A. L., Comasseto J. V. [Edible catalysts for clean chemical reactions: Bioreduction of aromatic ketones and biooxidation of secondary alcohols using plants]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2006, vol.38, no2, pp.84-90.
9. Dai Y., Huan B., Zhang H.-S., He Y.-C. [Effective Biotransformation of Ethyl 4-Chloro-3-Oxobutanoate into Ethyl (*S*)-4-Chloro-3-Hydroxybutanoate by Recombinant *E. coli* CCZU-T15 Whole Cells in [ChCl][Gly]-Water Media]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2016, vol.181, no 4, pp.1347-1359.
10. Wei P., Liang J., Cheng J., Zong M.-H., Lou W.-Y. [Markedly improving asymmetric oxidation of 1-(4-methoxyphenyl)ethanol with *Acetobacter sp.* CCTCC M209061 cells by adding deep eutectic solvent in a two-phase system]. *Microbial Cell Factories*, 2016, vol.15, no.1, pp.1-11.