



UNIVERSITATEA "BABEŞ BOLYAI", FACULTATEA DE CHIMIE ŞI INGINERIE
CHIMICĂ CLUJ-NAPOCA

ŞI

INSTITUTUL NATIONAL DE ŞTIINŢE APLICATE DIN ROUEN

TEZA în cotutelă pentru a obţine titlul de

DOCTOR AL UNIVERSITĂŢII „BABEŞ BOLYAI” DIN CLUJ-NAPOCA

DOCTOR AL INSTITUTULUI NATIONAL DE ŞTIINŢE APLICATE DIN ROUEN

LAURA-ANCUŢA ISPRAVĂ (căs. POP)

**SINTEZA STEREOSELECTIVĂ A HETEROARIL ALCOOLILOR ŞI
ALANINELOR**

Rezumat

CONDUCĂTORI ŞTIINŢIFICI:

Prof. Dr. FLORIN DAN IRIMIE

Dr. CHRISTOPHE HOARAU

CLUJ-NAPOCA
2011



UNIVERSITATEA "BABEȘ BOLYAI" CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE CHIMIE ȘI INGINERIE CHIMICĂ
ȘI
INSTITUTUL NATIONAL DE ȘTIINȚE APLICATE DIN ROUEN

LAURA-ANCUȚA ISPRAVĂ (căs. POP)

SINTEZA STEREOSELECTIVĂ A HETEROARIL ALCOOLILOR ȘI ALANINELOR

Rezumat

Susținută public în 27 Octombrie 2011

Comisie

Președinte:

Conf. Cornelia Majdik – Decanul Facultății de Chimie și Inginerie Chimică, Universitatea
„Babeș Bolyai” Cluj-Napoca

Conducători științifici:

Prof. Florin Dan Irimie – Universitatea „Babeș Bolyai” Cluj-Napoca

Dr. Christophe Hoarau – Institut Universitaire de Technologie de Rouen

Referenți:

Dr. Vincent Levacher- Unité de Formation et Recherche de Rouen – Cobra umr 6014 Rouen

Prof. Scutaru Dan – Universitatea Tehnică « Gheorghe Asachi » Iași

Prof. Mircea Dărăbanțu – Universitatea Babeș Bolyai Cluj Napoca

Cuprins

| | |
|---|----|
| 1. Introducere | 4 |
| 2. Studiu bibliografic | 4 |
| 3. Scopul tezei | 4 |
| 4. Sinteza și rezoluția enzimatică a alaninelor heterociclice | 6 |
| 4.1. Sinteza chimică a alaninelor heterociclice racemice | 6 |
| 4.2. Rezoluția cinetică enzimatică a alaninelor heterociclice | 7 |
| 4.3. Sinteza alaninelor heterociclice la scală preparativă | 7 |
| 4.4. Concluzii | 8 |
| 5. Sinteza și rezoluția enzimatică a (hetero)aril alcoolilor secundari | 9 |
| 5.1. Sinteza și rezoluția enzimatică a 1-aril-3-cloro propanolilor | 9 |
| 5.1.1. Sinteza chimică a 1-aril- 3-cloro propanolilor racemici | 9 |
| 5.1.2. Rezoluția cinetică enzimatică a 1-aril-3-cloro-propanolilor | 9 |
| 5.1.3. Determinarea configurației absolute a (<i>S</i>)- și (<i>R</i>)-1-aril-3-cloro- propanolilor | 13 |
| 5.1.4. Concluzii | 14 |
| 5.2. Sinteza și rezoluția enzimatică a 2-hidroximetil-tiazolilor | 15 |
| 5.2.1. Sinteza chimică a 2-hidroximetil-tiazolilor racemici | 15 |
| 5.2.2. Rezoluția enzimatică cinetică a 2-hidroximetil-tiazolilor | 16 |
| 5.2.3. Determinarea configurației absolute a (<i>S</i>)- și (<i>R</i>)-2-hidroximetil-tiazolilor | 19 |
| 5.3. Concluzii | 22 |
| Bibliografie | 23 |
| Lista de lucrări | 30 |

Cuvinte cheie

Aminoacid, alcool secundar, heterocicluri, biocataliză, biotransformare, lipază, drojdia alimentară, rezoluție cinetică enzimatică, sinteză stereoselectivă, metoda Mosher.

1. Introducere

Lumea vie este constituită din structuri asimetrice. Compușii chirali care le alcătuiesc sunt sintetizați de organisme în cantitățile necesare prin procese extrem de selective, care au loc la momente potrivite.

Omul modern a aflat că multe dintre substanțele bioactive (medicamente, agrochimicale, cosmetice, etc.) sunt chirale.

Sinteza acestor compuși în condiții de înaltă enantiopuritate reprezintă o provocare pentru orice chimist organician. Principial, metodele de sinteză a compușilor enantiopuri se împart în trei categorii: sinteza bazată pe un reactiv chiral, sinteza asimetrică utilizând un substrat prochiral și rezoluția amestecurilor racemice¹.

Rezoluția cinetică enzimatică este o alternativă la procedeele chimice, intens studiată în ultimii ani, deoarece procesele chimice sunt niște procese foarte complexe, scumpe, au nevoie de temperatură mare și uneori de presiune mare și de asemenea contribuie la poluarea mediului înconjurător. Contrar proceselor chimice, reacțiile enzimatică pot fi realizate la temperatura camerei și la presiune atmosferică, evitându-se astfel utilizarea unor condiții extreme, care la rândul lor pot duce la minimizarea problemelor de izomerizare, racemizare, epimerizare sau rearanjare. Interesant este faptul că procesele enzimatică sunt realizate în general în medii apoase, ceea ce reduce poluarea mediului înconjurător cu substanțe chimice periculoase, dar reduce și problema eliminării deșeurilor². Un avantaj important al reacțiilor enzimatică este stereoselectivitatea lor ridicată, dar și specificitatea mare³. Principalul dezavantaj al rezoluției cinetică enzimatică „simple” este randamentul teoretic de maxim 50%, deoarece în timpul reacției se consumă numai un enantiomer, celălalt rămânând netransformat. Pentru a evita acest impediment, atenția cercetătorilor a fost îndreptată în ultimii ani spre elaborarea de procese de rezoluție cinetică dinamică (RCD), procese în care enantiomerul nereactiv este racemizat *in situ*, sub influența condițiilor de reacție, cu enantiomerul reactiv. Astfel aceste procese pot conduce la randamente cantitative și la excese enantiomerice ridicate⁴.

Această teză prezintă sinteza stereoselectivă a alaninelor heterociclice enantiopure și alcoolilor secundari (hetero)ciclici enantiopuri, compuși cu o posibilă aplicație în industria farmaceutică.

2. Studiu bibliografic

3. Scopul tezei

Subiectul acestei teze se înscrie în tematica generală a laboratorului nostru și anume sintetiza unor noi compuși (hetero)arilici optic puri utilizând enzimele, compuși care pot avea o aplicabilitate în industria farmaceutică.

Cele trei tipuri de compuși (hetero)arilici utilizați în acest studiu sunt sintoni chirali pentru diferite molecule cu activitate biologică. Anumiți derivați de fenil-furan prezintă un efect citoprotector împotriva neurotoxinelor²⁰², alții s-au dovedit a fi inhibitori eficienți ai metionin-aminopeptidazei (METAP), o țintă promițătoare pentru dezvoltarea de noi agenți antibacterieni, antifungici și anticancerigeni²⁰³. Gruparea fenil este de asemenea întâlnită în numeroși compuși

bioactivi, în special în medicamente ca efedrina²⁰ și adrenalina²². Gruparea tiazol este întâlnită în componența tiopeptidelor antibiotice, dar și în diferite medicamente pentru tratarea alergiilor¹¹, hipertensiunii arteriale¹² și a inflamațiilor¹³.

Alaninele nenaturale și alcoolii secundari optic puri sunt sintoni importanți în sinteza chimică chirală, cu multe aplicații ca și auxiliari chirali pentru sinteza asimetrică. Unii dintre aceștia au de asemenea și o activitate biologică, așa cum a fost descris la începutul capitolelor 1.2 și 1.3.

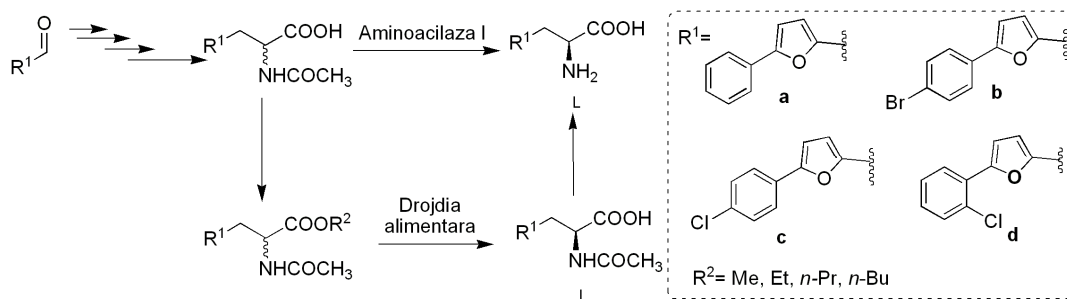
Această teză este împărțită în două capitole:

- În primul capitol este descrisă sinteza chimică și rezoluția enzimatică a alaninelor nenaturale nou sintetizate.

Pentru a obține L-alaninele în formă enantiopură s-au folosit două procese de rezoluție cinetică enzimatică: hidroliza alaninelor *N*-acilate catalizată de aminoacilaza I și hidroliza esterilor alaninelor *N*-acilate catalizată de *Saccharomyces cerevisiae* (drojdia alimentară).

Hidroliza aminoacizilor *N*-acilați cu ajutorul aminoacilazei I a fost utilizată cu succes pentru sinteza diferiților L-aminoacizi (capitolul 1.2.2.1.1.). Această enzimă a fost aleasă pentru studiul nostru deoarece este o enzimă disponibilă, ieftină și cu o specificitate relaxată, dar și pentru că este utilizată la sinteza L-aminoacizilor și a derivaților lor D-*N*-acilați la scară industrială.

Procesul chemo-enzimatic catalizat de drojdia alimentară este o metodă ecologică și eficientă pentru sinteza diferiților L-aminoacizi (capitolul 1.2.2.1.2.), deci utilizarea lui este justificată (Schema 1).



Schema 1. Biotransformările utilizate pentru sinteza alaninelor heterociclice enantiopure

- Al doilea capitol este dedicat sintezei și rezoluției enzimatică a unor alcoolii secundari nou sintetizați

Acest capitol este împărțit de asemenea, în două părți:

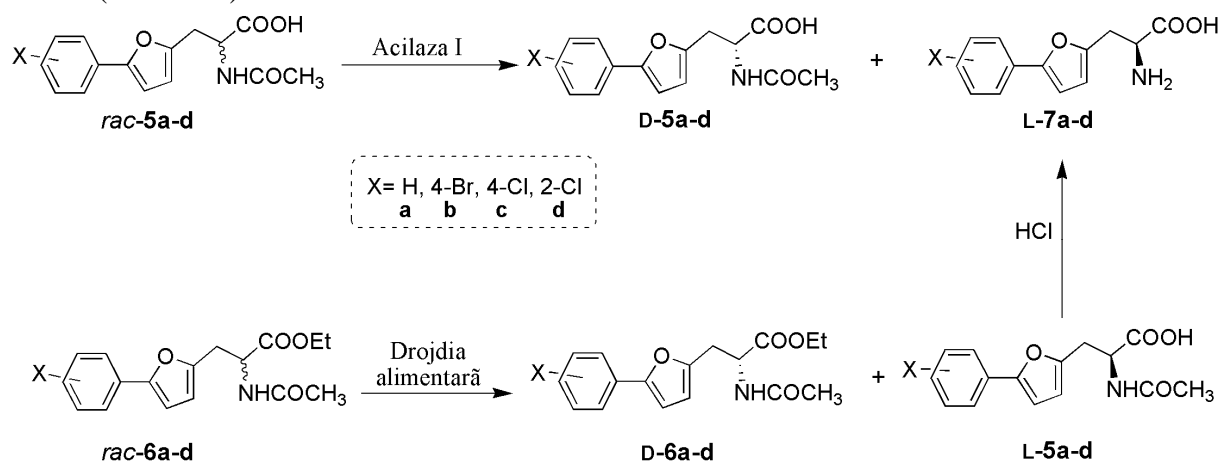
- În prima parte este descrisă sinteza și rezoluția enzimatică a 3-cloro-1-aryl-propanolilor nou sintetizați. Pentru rezoluția enzimatică cinetică a acestor compuși am folosit metodele descrise în capitolul 1.3.3.2. dar și studiile realizate de laboratorul nostru pe compuși similari^{189-190,210} (schema 2). Au fost alese lipazele deoarece sunt enzime disponibile, ieftine și au fost folosite cu succes în rezoluția cinetică enzimatică a alcoolilor secundari.

4.2. Rezoluția cinetică enzimatică a alaninelor heterociclice

Pentru sinteza alaninelor optic pure am folosit doua procese de rezoluție enzimatică cinetică, dar mai întâi a fost realizată separarea cromatografică analitică a alaninelor racemice și a derivaților lor pentru a putea monitoriza stereoselectivitatea reacțiilor enzimaticе.

În primul caz derivații *N*-acetilați racemici ai alaninelor au fost hidrolizați în prezența acilazei I la un pH de 7-8 pentru a obține acizii L-2-amino-3-(5-aryl-furan-2-il) propanoici **L-7a-d** optic puri și derivații lor *N*-acetilați, acizii D-2-acetamido-3-(5-aryl-furan-2-il) propanoici **D-5a-d** (schema 4).

În cel de-al doilea proces a fost realizată, hidroliza stereoselectivă cu drojdie a grupării esterice a etil-2-acetamido-3-(5-aryl-furan-2-il)propanoatilor pentru a obține D-etil-2-acetamido-3-(5-aryl-furan-2-il) propanoatii **D-6a-d** și acizii L-2-acetamido-3-(5-aryl-furan-2-il)propanoici **L-5a-d**, care au fost ulterior supuși unei hidrolize acide pentru a obține L-alaninele corespunzătoare **L-7a-d** (Schema 4).



Schema 4. Rezoluția cinetică a derivaților alaninelor utilizând acilaza I și drojdia alimentară

Pentru determinarea condițiilor optime ale reacției au fost efectuate experimente la scala analitică. Astfel, pentru hidroliza catalizată de acilaza I cele mai bune rezultate s-au obținut dacă reacțiile au fost realizate în apa ultra-pură, la un pH 7-8, la 37°C și cu $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ca și activator enzimatic. Reacțiile au fost oprite după 24 h, la o conversie de aproximativ 50%.

Pentru hidroliza catalizată de drojdia alimentară am obținut cele mai bune rezultate atunci când reacțiile au fost realizate în apa și fără aditivi. Reacțiile au fost oprite la o conversie de aproximativ 50%.

4.3. Sinteza alaninelor heterociclice la scală preparativă

După determinarea condițiilor optime pentru cele două procese de rezoluție enzimatică s-a trecut la sinteza alaninelor optic pure la scală preparativă. Reacțiile au fost urmărite cu ajutorul HPLC pentru a le opri la aceleași conversii ca și în cazul experimentelor la scală analitică dar și pentru a determina excesele enantiomerice ale compușilor izolați. Toate diluțiile, raportul substrat-bicatalizator și condițiile de reacție au fost cele optime, determinate în experimentele la scală analitică.

Acidul 2-acetamido-3-(5-aril-furan-2-il)propanoic (*rac-5a-d*) a fost suspendat în apa ultra-pură, pH-ul a fost ajustat la 7-8 cu o soluție de LiOH (1,25 M). S-au adăugat acilaza I și CoCl₂·H₂O și reacția a fost lăsată la perfectare sub agitare la 37°C. În timpul reacției pH-ul a fost menținut între 7-8 prin adăugarea unei soluții de LiOH. După ce tot acidul L-2-acetamido-3-(5-aril-furan-2-il) propanoic (**L-5a-d**) a fost hidrolizat, (verificat prin analiza amestecului cu HPLC), pH-ul a fost ajustat la 1,5 cu o soluție de HCl 5%. Acidul D-2-acetamido-3-(5-aril-furan-2-il) propanoic (**D-5a-d**) precipitat a fost filtrat și spălat cu apa ultra-pură. Filtratul a fost încălzit împreună cu cărbune activ la 50°C pentru 1 min., pentru precipitarea enzimei, apoi răcit la temperatura camerei și după filtrare, solventul a fost evaporat la vid pentru a obține clorhidratul aminoacidului, care a fost resuspendat într-o cantitate minimă de apa obținând alanina (**L-7a-d**), prin precipitare la punctul izoelectric.

În cel de-al doilea experiment drojdia alimentara a fost suspendată în apa. După o oră s-a adăugat etil-2-acetamido-3-(5-aril-furan-2-il)propanoat racemic (*rac-6a-d*) dizolvat într-o cantitate minimală de etanol și reacția a fost lăsată sub agitare la temperatura camerei pentru 48 h. Amestecul de reacție a fost centrifugat timp de 20 min la 5000 rpm pentru a îndepărta drojdia. Supernatantul a fost supus extracției cu diclorometan; faza organică a fost uscată cu Na₂SO₄ și evaporată la vid pentru a obține D-2,3-(5-aril-furan-2-il) propanoatul de etil (**D-6a-d**). Faza apoasă a fost concentrată la vid și urmele de apă au fost eliminate prin liofilizare pentru a obține **L-5a-d**, care au fost supuși unei hidrolize acide pentru a obține alaninele corespunzătoare **L-7a-d**.

Randamentele, excesele enantiomerice și rotațiile optice ale compușilor izolați sunt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1. Randamentele, excesele enantiomerice și rotațiile optice ale L-alaninelor optic pure **L-7a-d** și a derivaților lor (**L-5a-d** și **D-6a-d**).

| Compus | ee (%) | Randament ^a (%) | [α] _D ²⁵ C= 10mg/mL |
|-------------|--------|----------------------------|--|
| L-5a | 99 | 46,3 | -26 ^b |
| L-5b | 99 | 49,1 | -13 ^b |
| L-5c | 99 | 44,2 | -22 ^b |
| L-5d | 99 | 40,3 | -21 ^b |
| D-6a | 99 | 40,5 | +17 ^c |
| D-6b | 99 | 45,3 | +20 ^c |
| D-6c | 99 | 43,4 | +18 ^c |
| D-6d | 98 | 44,9 | +16 ^c |
| L-7a | 99 | 38,5 | +28 ^d |
| L-7b | 99 | 45,2 | +11 ^d |
| L-7c | 99 | 42,8 | +18 ^d |
| L-7d | 99 | 44,5 | +17 ^d |

^a Randamentele globale sunt bazate pe cantitatea compusului de pornire *rac-6a-d*

^b în MeOH, ^c în CHCl₃, ^d în CH₃COOH

4.4. Concluzii

Studiul descris mai sus prezintă utilizarea rezoluției enzimaticice cinetice în obținerea acizilor L-2-acetamido-3-(5-aril-furan-2-il)propanoici optic puri, folosind doi biocatalizatori cu aceeași enantiomeraselectivitate, acilază I și drojdia alimentară. L-alaninele au fost obținute cu excese enantiomerice și randamente bune.

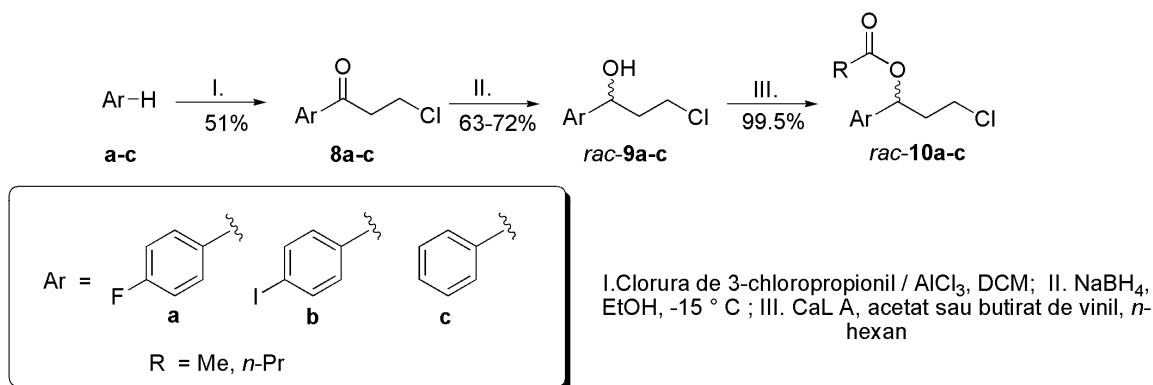
5. Sinteza și rezoluția enzimatică a (hetero)aril alcoolilor secundari

5.1. Sinteza și rezoluția enzimatică a 1-aril-3-cloro propanolilor

5.1.1. Sinteza chimică a 1-aril-3-cloro propanolilor racemici

1-aril-3-cloro-propanolii racemici au fost obținuți prin reducerea cetonelor corespunzătoare cu NaBH_4 ²¹⁵. Cetonile **8a** și **8c** sunt disponibile comercial, iar cetona **8b** a fost sintetizată printr-o reacție de tip Friedel-Crafts a iodobenzenului cu clorura de 3-cloropropionil²¹⁶.

Toate metodele clasice de acilare a alcoolilor *rac-9a-c* au eșuat, așa că pentru sinteza derivaților acilați ai alcoolilor *rac-9a-c* a fost folosită acilarea enzimatică neselectivă catalizată de lipaza A de la *Candida antarctica* (CaL A). Se știe că această lipaza este des utilizată pentru acilarea neselectivă a alcoolilor secundari mici. Astfel, utilizând acetatul de vinil ca și agent de acilare, alcoolii *rac-9a-c* au fost transformați cantitativ cu CaL A în esterii corespunzători *rac-10a-c* (Schema 5).



Schema 5. Sinteza chimică a 1-aril-3-cloro-propanolilor (*rac-9a-c*) și sinteza biochimică a derivaților lor O-acilați racemici (*rac-10a-c*)

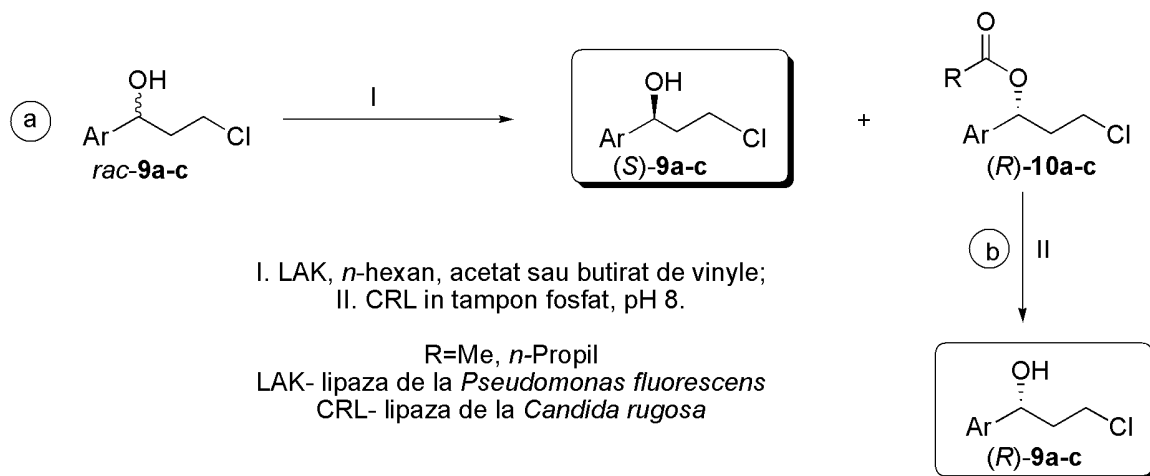
5.1.2. Rezoluția cinetică enzimatică a 1-aril-3-cloro-propanolilor

5.1.2.1. Acilarea enzimatică a rac-1-aril-3-cloro-propanolilor

Înainte de a studia acilarea enzimatică a propanolilor racemici a fost efectuată separarea cromatografică a 3-cloro-1-aril-propanolilor (*rac-9a-c*) și a derivaților lor acilați (*rac-10a-c*).

Pentru sinteza compușilor (*R*)-**10a-c** și (*S*)-**9a-c** optic puri a fost testată (Schema 6) acilarea enzimatică stereoselectivă a alcoolilor *rac-9a-c* în prezența mai multor enzime, cu acetat de vinil ca și solvent și agent de acilare.

Pentru alcoolii *rac-9a-c* majoritatea enzimelor testate, cum ar fi lipazele A, G, M, N și P, lipaza de la *Pseudomonas cepacia* (LPS), lipaza B de la *Candida antarctica* (CaL B) și Lipozimul TLIM au fost inactive sau au prezentat o reactivitate scăzută și o selectivitate moderată. Pentru rezoluția cinetică enzimatică a *rac-9a* doar lipaza de la *Pseudomonas fluorescence* (LAK) și lipaza de la *Candida rugosa* (CRL) au prezentat o selectivitate moderată, dar activitate lor în acetat de vinil pur a fost foarte mica ($E=64-168$, $c=5-9\%$).



Schema 6. a) Acilarea enzimatică a 1-aryl-3-cloro- propanolilor racemici; b) Hidroliza enzimatică a acetatilor sau butanoaților de (*R*)-1-aryl-3-cloro-propil

Și în cazul celorlalți doi alcooli *rac-9b,c*, lipaza LAK s-a dovedit a fi cel mai potrivit biocatalizator în acetat de vinil pur (pentru *rac-9b* $E=45$, $c=13\%$, pentru *rac-9c* $E=47$, $c=17\%$). Se știe că natura solventului și a agentului de acilare poate influența semnificativ selectivitatea și activitatea reacțiilor de acilare enzimatică stereoselectivă a alcoolilor secundari.

Astfel, pentru început, a fost testată acilarea alcoolului *rac-9a* cu acetat de vinil în prezența lipazelor LAK și CRL în diferiți solvenți, cum ar fi hidrocarburile alifaticе și aromatice, eteri ciclici saturați și acetonitrilul.

Selectivitatea și activitate lipazei CRL în toți solvenții testați a fost diminuată semnificativ în raport cu cea obținută în acetat de vinil pur ($E < 25$). Pentru acilarea catalizată de LAK, *n*-hexanul s-a dovedit a fi cel mai potrivit solvent ($E=65$, $c=35$ după 20h, tabelul 2), dar și rezultatele obținute în toluen, ciclohexan sau *n*-octan sunt bune.

Tabelul 2. Influența solventului asupra selectivității reacției de acilare catalizată de LAK a *rac-9a* cu acetat de vinil ca și agent de acilare

| Nr. crt. | Solvenți | c (%) | ee _s (%) | ee _p (%) | <i>E</i> |
|----------|-----------------|-------|---------------------|---------------------|----------|
| 1 | <i>n</i> -octan | 23 | 29 | 96 | 65 |
| 2 | <i>n</i> -hexan | 35 | 51 | 95 | 65 |
| 3 | ciclohexan | 24 | 29 | 94 | 43 |
| 4 | toluen | 26 | 34 | 95 | 54 |

10 mg substrat, 10 mg LAK, 10μL acetat de vinil/ 1mL solvent după 20h

Aceiași solvenți au fost testați și pentru acilarea enzimatică a celorlalți alcooli *rac-9b,c*. Doar în cazul câtorva solvenți enzimele selectate au prezentat activitate catalitică și selectivitate. Pentru ambele substraturi *n*-hexanul s-a dovedit a fi cel mai bun solvent pentru acilare, cu $E > 200$ și $c = 20-28\%$ după 12 h.

Ținând cont de rezultatul nesatisfăcător al acilării *rac-9a* catalizată de LAK cu acetat de vinil ($E < 200$), am decis să testăm acilarea enzimatică a alcoolilor *rac-9a-c* cu butanoat de vinil în *n*-hexan. Deși selectivitatea transformării enzimatică a alcoolului *rac-9a* a fost îmbunătățită ($E > 200$, $c = 28\%$ după 19h), aceasta a fost diminuată în raport cu rezultatele obținute pentru acilările cu acetat de vinil ca și agent de acilare pentru celelalte două substraturi.

Deoarece toate reacțiile enzimatică au prezentat o enantioselectivitate bună, dar nu satisfăcătoare, au fost efectuate două experimente adiționale pentru a obține produșii de reacție, (*R*)-**10a-c** și (*S*)-**9a-c**, optic puri.

Astfel reacțiile au fost oprite la o conversie mică pentru a obține esterii (*R*)-**10a-c** (Tabelul 3, liniile 1-3) optic puri, iar pentru obținerea alcoolilor (*S*)-**9a-c** optic puri am oprit reacțiile la conversii mai mari decât optimul teoretic de 50% (Tabelul 3, liniile 4-6).

Tabelul 3. Condițiile optime pentru rezoluția alcoolilor racemici *rac-9a-c*

| Nr. crt. | Substrat | Agent de acilare | Timp (h) | c (%) | ee _s (%) | ee _p (%) |
|----------|---------------|-------------------|----------|-------|---------------------|---------------------|
| 1 | <i>rac-9a</i> | butanoat de vinil | 19 | 28 | 39 | 99 |
| 2 | <i>rac-9b</i> | acetat de vinil | 22 | 20 | 25 | 99 |
| 3 | <i>rac-9c</i> | acetat de vinil | 21 | 28 | 39 | 99 |
| 4 | <i>rac-9a</i> | butanoat de vinil | 70 | 55 | 99 | 80 |
| 5 | <i>rac-9b</i> | acetat de vinil | 100 | 59 | 99 | 70 |
| 6 | <i>rac-9c</i> | acetat de vinil | 82 | 54 | 99 | 83 |

10 mg substrat, 10 mg LAK, 10 μL ester vinilic/ 1 mL *n*-hexan

5.1.2.2. Hidroliza enzimatică a acetatilor și butanoatilor de 3-cloro-1-arilpropil (*rac-10a-c*)

În general lipazele își conservă enantiopreferința în reacțiile de hidroliză sau alcooliză. În consecință din reacțiile de hidroliză/alcooliză a esterilor *rac-10a-c* ar trebui să se obțină enantiomerii opuși celor obținuți prin reacția de acilare a alcoolilor *rac-9a-c*. Au fost studiate atât hidroliza cât și alcooliza esterilor *rac-10a-c*.

Deoarece acești compuși au o solubilitate mică în apă s-a decis să se studieze prima dată alcooliza esterilor racemici *rac-10a-c*. Au fost testate și în reacțiile de alcooliza la scală analitică a esterilor racemici *rac-10a-c* aceleași enzime ca în cazul reacțiilor de acilare.

Experimentele au fost realizate pentru început în metanol, etanol, propanol și butanol pur, urmate de experimente în care s-au folosit aceleași enzime în aceiași solvenți utilizați în reacțiile de acilare selectivă, folosind 5 echivalenți de alcool ca și agent nucleofil. Deoarece alcooliza s-a dovedit a fi ineficientă în toate cazurile (randament < 5% după 5 zile, raport substrat:enzimă 1:1), s-a hotărât testarea hidrolizei enzimatică a esterilor racemici *rac-10a-c*.

Dintre toate enzimele utilizate numai esteraza din ficatul de porc (PLE) și lipaza CRL au prezentat activitate pentru reacțiile de hidroliză a *rac-10a-c*. Experimentele au fost realizate în apa bidistilată și în tampon fosfat sau Tris de diferite pH-uri (6,5-8). Au fost prelevate probe la fiecare 30 de min. și analizate cu HPLC sau GC. În toate cazurile a fost observată hidroliza completă și neselectivă a *rac-10a-c* în 2-5h.

În final pentru a obține alcooli (*R*)-**9a-c**, am hotărât să hidrolizăm enzimatic a esterii (*R*)-**11a-c** obținuți din reacția de acilare selectivă a alcoolilor *rac-9a-c* (Schema 6b), folosind aceleași

condiții descrise în paragraful precedent. În cazul derivatului fluorurat și iodurat a fost observată racemizarea parțială a alcoolului format.

Nivelul de racemizare este dependent de timpul de reacție, tipul de enzimă utilizat, tamponul folosit și valoarea pH-ului. Cel mai mare grad de racemizare s-a observat atunci când reacțiile au fost efectuate în apă. Acest lucru poate fi explicat prin faptul că, în timpul reacției se formează acid acetic sau butanoic, ceea ce duce la o scădere bruscă a pH-ului. Pentru a evita un contact prelungit al alcoolului format cu apa din mediul de reacție, timpul de reacție a fost redus prin folosirea unui raport de substrat:enzimă 1:2.

Condițiile optime pentru hidroliza enzimatică a (*R*)-**10a-c** sunt prezentate în tabelul 4. Pentru aceste reacții a fost utilizat CRL ca și biocatalizator și tampon fosfat ca și mediu de reacție (pH 8, 20 mM). În cazul produșilor (*R*)-**9a,b** s-a observat o scădere a excesului enantiomeric al alcoolului format.

Tabelul 4. Condițiile optime pentru hidroliza enzimatică a (*R*)-**10a-c**

| Nr. crt. | Substrat | ee _s (%) | Timp (h) | Produs | ee _p (%) |
|----------|--------------------------|---------------------|----------|-------------------------|---------------------|
| 1 | (<i>R</i>)- 10a | 99 | 1,5 | (<i>R</i>)- 9a | 98 |
| 2 | (<i>R</i>)- 10b | 99 | 5 | (<i>R</i>)- 9b | 97 |
| 3 | (<i>R</i>)- 10c | 99 | 5 | (<i>R</i>)- 9c | 99 |

10 mg substrat, 20 mg CRL, 1mL tampon fosfat pH 8

5.1.2.3. Sinteza (*S*)- și (*R*)- 1-aril-3-cloro-propanolilor la scală preparativă

Utilizând reacțiile prezentate în Schema 6a și b a fost efectuată sinteza celor doi enantiomeri ai 1-aril-3-cloro-propanolilor (Tabelul 5). Diluțiile, raportul substrat-enzimă și condițiile de reacție sunt aceleași ca și în cazul reacțiilor la scală analitică. Pentru a obține (*R*)-**10a-c**, reacțiile enzimatică au fost oprite la o conversie mică (20-28%), iar pentru obținerea (*S*)-**9a-c**, acestea au fost oprite la conversii mari (54-59%), prin filtrarea enzimei. În ambele cazuri reacțiile au fost monitorizate cromatografic (GC sau HPLC) pentru a opri reacțiile la conversii și excese enantiomerice ale (*R*)-**10a-c** și (*S*)-**9a-c** apropiate de cele din experimentele la scală analitică. După ce enzima a fost îndepărtată din amestecul de reacție prin filtrare, solventul a fost evaporat la vid la temperatura camerei.

Este importantă evitarea încălzirii soluțiilor atunci când se evaporă solventul, deoarece compușii (*R*)- și (*S*)-**9a-b** prezintă o instabilitate termică care poate determina racemizarea lor. De asemenea, același efect a fost observat în prezența solvenților polari protici, ca metanolul sau etanolul, în prezența acizilor organici sau aminelor, sau în cazul unui contact mai lung cu silicagelul. Din această cauză separarea cromatografică preparativă a produșilor de reacție s-a efectuată cu ajutorul cromatografiei de coloană sub vid, utilizând o cantitate minimă de silicagel. După ce (*R*)-**10a-c** este eluat cu diclorometan, coloana cromatografică se spală cu acetona pentru a recupera cât mai rapid enantiomerul (*S*)-**9a-c**.

Tabelul 5. *Randamentele, excesele enantiomerice și rotațiile optice ale compușilor izolați*

| Compus | <i>(R)</i> - 10a-c | | | <i>(R)</i> - 9a-c | | | <i>(S)</i> - 9a-c | | |
|----------|---------------------------|--------|-------------------|--------------------------|--------|-------------------|--------------------------|--------|-------------------|
| | Randament (%) | ee (%) | $[\alpha]_D^{25}$ | Randament (%) | ee (%) | $[\alpha]_D^{25}$ | Randament (%) | ee (%) | $[\alpha]_D^{25}$ |
| a | 26 | 99 | +59 | 24 | 98 | +20 | 38 | 99 | -22 |
| b | 20 | 99 | +52 | 18 | 97 | +9 | 34 | 99 | -10 |
| c | 25 | 99 | +60 | 23 | 99 | +21 | 42 | 99 | -24 |

Hidroliza enzimatică a *(R)*-**10a-c** la scală preparativă a fost efectuată în aceleași condiții ca și la scală analitică. După ce hidroliza esterilor a fost completă, amestecul de reacție a fost extras cu diclorometan. Faza organică a fost uscată cu Na₂SO₄ anhidru, urmată de evaporarea solventului la vid la temperatura camerei. Produsul *(R)*-**9a-c** a fost purificat utilizând aceeași procedură descrisă mai sus.

Enantiomerii reziduali obținuți în reacțiile de acilare la conversie mică și mare se folosesc pentru a recupera compușii de pornire, *rac*-**9a-c**. Astfel, esterii *(R)*-**10a-c** obținuți din reacțiile enzimatică la conversie mare se hidrolizează enzimatic pentru a obține alcoolii *(R)*-**9a-c**. Aceștia din urma se amestecă cu alcoolii *(S)*-**9a-c** obținuți din reacțiile enzimatică la conversie mică. Apoi se încălzesc la reflux în toluen pentru mai mult timp (4h pentru **9a,b** și 48h pentru **9c**) pentru o racemizare completă. Randamentul de recuperare pentru toți compușii a fost de aproximativ 90%.

5.1.3. Determinarea configurației absolute a *(S)*- și *(R)*-1-aril-3-cloro-propanolilor

Configurația absolută a enantiomerilor optic puri sintetizați ai 1-aril-3-cloro-propanolilor (+)-**9a-c** și (-)-**9a-c** a fost determinată prin măsurători de dicroism circular vibrațional (DCV) combinat cu calcule de chimie cuantică la nivelul teoriei DFT. DCV este definit ca și absorbția diferențiată a razelor infraroșii circulare polarizate de stânga și de dreapta atunci când o moleculă chirală este excitată vibrațional și este considerată o tehnică bine stabilită și extrem de fiabilă pentru determinarea configurației absolute și a conformației moleculelor mici și mijlocii în soluție.²¹⁷

Spectrele DCV în CDCl₃ a (-)- și (+)-**9a-c**, cu o configurație necunoscută sunt prezentate în figura 1 (partea de sus) în comparație cu spectrele DCV simulate ale enantiomerului *R* (în partea de jos). Bandele DCV de vibrație a inelului aromatic la ~1600cm⁻¹ au fost cel mai intense în cazul derivatului fluorurat (+)- și (-)-**9a**, pe când în cazul derivatului (+)- și (-)-**9c**, care nu are nici un substituent pe inelul aromatic, acestea au fost foarte slabe. Acest lucru arată că, chiar și substituenți aflați la mare distanță de centrul stereogenic pot influența spectrul, și cuplajul vibrațiilor inelului aromatic cu vibrațiile legăturilor din jurul centrului stereogenic nu pot fi neglijate. Deoarece spectrele DCV a acestui tip de molecule pot fi influențate de orientarea relativă a inelului aromatic, a fost efectuată o analiză minuțioasă a conformației și nu s-a făcut nici o simplificare a modelării moleculare.

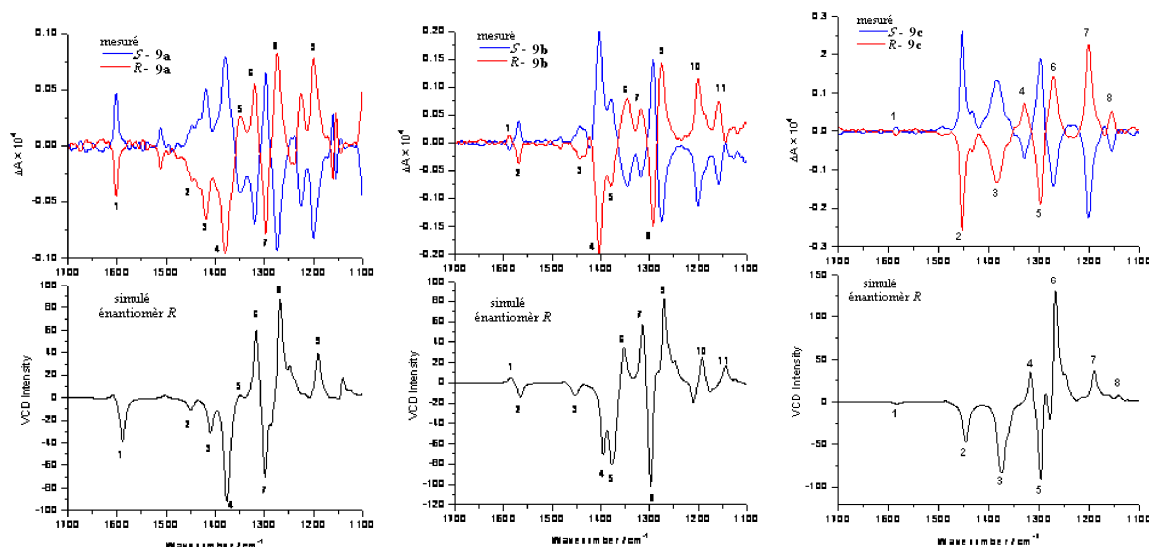


Figura 1. Spectrele DCV ale compușilor (-)-**9a** și (+)-**9a**, (-)-**9b** și (+)-**9b** și (-)-**9c** și (+)-**9c** măsurate în CDCl_3 (în partea de sus) în comparație cu spectrele VCD simulate ale (*R*)-**9a**, (*R*)-**9b** și (*R*)-**9c** (în partea de jos), obținute ca și media ponderată a populației de spectre calculate pentru conformerii individuali. *Bandele corespondente sunt numerotate identic*

Deoarece compușii studiați sunt molecule flexibile, calculul spectrelor lor DCV a fost precedat de o analiză sistematică a conformației, iar pentru calculele de chimie cuantică au fost aleși enantiomerii *R* ai **9a-c**. Pentru toți compușii au fost obținuți un total de 25-27 de conformeri, dintre care 9 au avut o populație estimată considerată semnificativă, mai mare de 1%. Spectrele DCV simulate ale compușilor (*R*)-**9a-c** din figura 1 au fost obținute ca o sumă ponderată a populațiilor de spectre DCV calculate ale conformerilor individuali cu o populație mai mare de 1%, contribuția celorlalți conformeri, cu o energie mai mare, a fost neglijată.

Spectrele DCV ale enantiomerilor sunt de spin opus și în general există un acord foarte bun între spectrele măsurate ale enantiomerilor (+)-**9a-c** și spectrele calculate pentru enantiomerul *R* al aceluiași compus, atât din punct de vedere a poziției, cât și a semnului bandei DCV. Există o caracteristică spectrală comună a compușilor (+)-**9a-c** prezentând un motiv +/-/+ în jurul valorii de 1300 cm^{-1} și o bandă pozitivă la valoarea de $\sim 1200 \text{ cm}^{-1}$, foarte bine reprodușă de calculele pentru spectrele compușilor (*R*)-**9a-c**, ceea ce sugerează că acești compuși aparțin aceleiași serii stereochemice.

Compararea spectrelor DCV măsurate cu cele calculate și considerațiile prezentate mai sus ne permit atribuirea fără echivoc a configurației absolute a compușilor (+)-**9a-c** ca fiind *R* și a compușilor (-)-**9a-c** ca fiind *S*.

5.1.4. Concluzii

Am obținut doi compuși noi atât în formă racemică cât și în formă enantiopură. Studiul descris prezintă utilizarea unui proces de rezoluție cinetică enzimatică pentru obținerea ambilor enantiomeri ai 1-aryl-3-cloro- propanolilor. Alcoolii (*S*)-**9a-c** au fost sintetizați cu ajutorul acilării selective a alcoolilor racemici catalizată de LAK cu acetat sau butanoat de vinil, iar alcoolii (*R*)-

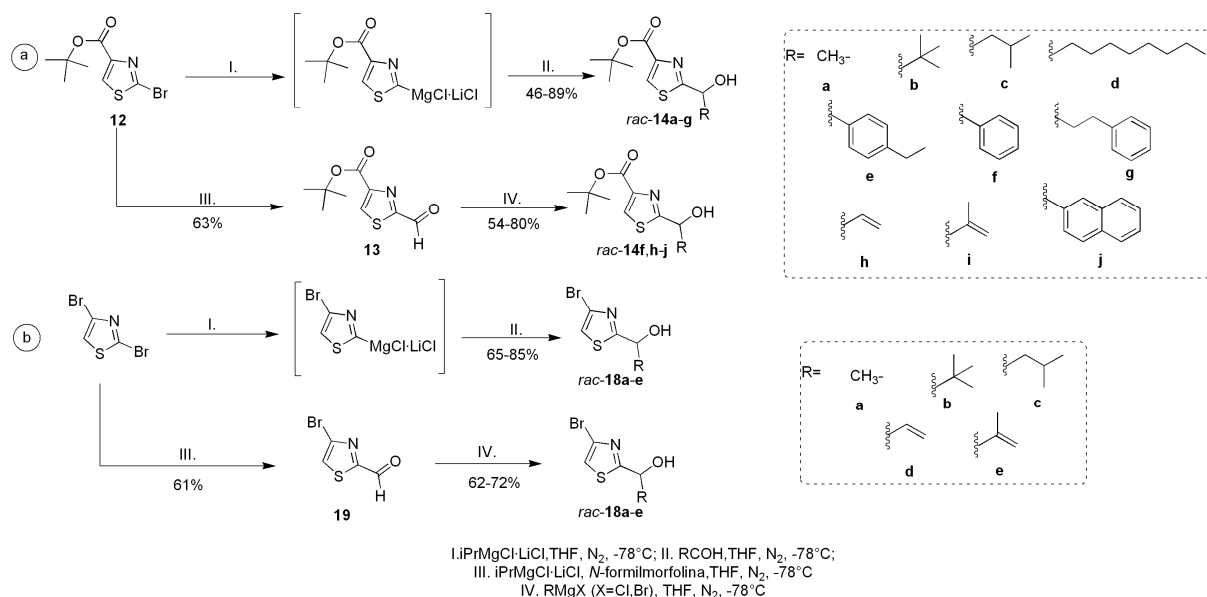
9a-c au fost obținuți prin hidroliza enzimatică catalizată de CRL a esterilor (*R*)-**10a-c** corespunzători în tampon fosfat, pH 8. Cele două procese au oferit o selectivitate bună, dar randamente medii pentru compușii izolați. Configurația absolută a alcoolilor sintetizați a fost determinată cu ajutorul dicroismului circular vibrațional.

5.2. Sinteza și rezoluția enzimatică a 2-hidroxi-2-metil-tiazolilor

5.2.1. Sinteza chimică a 2-hidroxi-2-metil-tiazolilor racemici

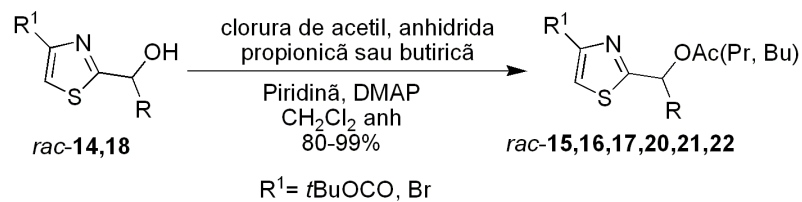
Pentru sinteza 2-(1-hidroxi-2-metil)tiazol-4-carboxilaților de *tert*-butil (*rac*-**14a-j**) și a 4-bromo-2-(1-hidroxi-2-metil)tiazolilor (*rac*-**18a-e**) racemici am folosit două metode.

Prima cale de sinteză pentru alcoolii tiazolici racemici (*rac*-**14a-j** și *rac*-**18a-e**) se bazează pe atacul electofil al diferitelor aldehide asupra reactivului Grignard obținut printr-o reacție de schimb halogen-metal între 2-bromotiazol-4-carboxilat de *tert*-butil (**12**) sau 2,4-dibromotiazol și reactivul lui Knochel (*i*PrMgCl·LiCl). Cea de-a doua metodă se bazează pe atacul nucleofil al reactivilor Grignard disponibili comercial asupra intermediarului 2-formiltiazol-4-carboxilaților (**13**) sau 4-bromo-2-formiltiazolului (**19**), sintetizat folosind prima metodă de sinteză și *N*-formilmorfolina ca și electrophil (schema 7).



Schema 7. Sinteza chimică a: a) 2-(1-hidroxi-2-metil) tiazol-4-carboxilaților de *tert*-butil și b) 4-bromo-2-(1-hidroxi-2-metil) tiazolilor

Utilizând aceste două metode a fost sintetizată cu randamente bune o gamă largă de alcoolii tiazolici. Derivații lor acilați (*rac*-**15a-i**, *rac*-**16c-e**, **g-i**, *rac*-**17c-e**, **g-i**, *rac*-**20,21,22a-e**) au fost obținuți prin acilarea chimică a alcoolilor racemici corespunzători cu clorura de acetyl și cu anhidrida propanoică sau butanoică în prezența piridinei (Schema 8).



Schema 8. Acilarea chimică a 2-(1-hidroximetil) tiazol-4-carboxilaților de tert-butil și a 4-bromo-2-(1-hidroximetil) tiazolilor

5.2.2. Rezoluția enzimatică cinetică a 2-hidroxiemetil-tiazolilor

5.2.2.1. Acilarea enzimatică a 2-hidroxiemetil tiazolilor racemici (rac-14a-j)

Pentru a obține produșii de acilare ai alcoolilor tiazolici racemici optic puri au fost alese pentru reacțiile de acilare la scală analitică în acetat de vinil mai multe lipaze.

Pentru acilarea selectivă a *rac-14a* au fost testate: lipazele A și B de la *Candida antarctica* (CaL A și CaL B), lipaza de la *Pseudomonas cepacia* (LPS), lipaza de la *Candida rugosa* (CRL), lipaza de la *Candida cylindracea* (CCL), lipaza de la *Pseudomonas fluorescens* (LAK), esteraza din ficat de porc (PLE), aminoacilaza I din rinichi de porc, esteraza din *Rhizopus oryzae*, lipaza din pancreasul de porc, penicilin G amidaza, proteza 2A din *Aspergillus oryzae*, papaina, drojdia alimentară, lipaza F din *Rhizopus oryzae*, proteza PS din *Aspergillus melleus*, dintre care numai CaL A, LAK și CaL B au condus la rezultate bune în acetat de vinil pur (Tabelul 6).

Tabelul 6. Activitatea și selectivitatea enzimelor în acetat de vinil pur în reacția de acilare selectivă a *rac-14a*

| Nr. crt. | Enzimă | Timp (h) | ee _s (%) | ee _p (%) | c (%) | E |
|----------|--------|----------|---------------------|---------------------|-------|--------|
| 1 | CaL A | 26 | 53,6 | 90,5 | 37,2 | 34 |
| 2 | LAK | 14 | 56,7 | >99 | 36,4 | >> 200 |
| 3 | CaL B | 14 | >99 | >99 | 50 | >> 200 |

10 mg substrat, 10 mg enzimă, 1 mL acetat de vinil

Acilarea compusului *rac-14a* cu acetat de vinil catalizată de CaL B a fost testată în mai mulți solvenți polari și apolari, iar cele mai bune rezultate au fost obținute în MTBE. De asemenea nu pot fi neglijate rezultatele obținute în DIPE și acetonitril (tabelul 7).

Tabelul 7. Influența solventului asupra reacției de acilare a *rac-14a* cu acetat de vinil și CaL B

| Nr. crt. | Solvent | Timp (h) | ee _s (%) | ee _p (%) | c (%) | E |
|----------|-----------------|----------|---------------------|---------------------|-------|--------|
| 1 | acetat de vinil | 1,5 | 71,1 | >99 | 41,8 | >> 200 |
| 2 | cloroform | 1,5 | 22 | >99 | 18,2 | >200 |
| 3 | DIPE | 1,5 | 84,8 | >99 | 46,1 | >> 200 |
| 4 | acetonitril | 1,5 | 55,6 | >99 | 35,9 | > 200 |
| 5 | MTBE | 1,5 | 96,8 | >99 | 49,4 | >> 200 |
| 6 | MTBE | 2 | >99 | >99 | 50 | >> 200 |

10 mg substrat, 10 mg CaL B, 10 μL acetat de vinil/1 mL solvent organic

Reacțiile de acilare selectiva a celorlalți alcooli (*rac-14b-j*) au fost efectuate în aceleași condiții ca și pentru *rac-14a*. Au fost testați aceiași solvenți si aceleași enzime dar și alți agenți de acilare, ca propanoatul sau butanoatul de vinil. În unele cazuri s-au obținut rezultate mai bune decât cele obținute pentru acetatul de vinil, ca și exemplu este prezentată acilarea alcoolului *rac-14d* (tabelul 8).

Tabelul 8. Influența agentului de acilare asupra acilării selective a alcoolului *rac-14d* catalizată de CaL A în DIPE

| Nr. crt. | Agent de acilare | Timp (h) | ee _s (%) | ee _p (%) | c (%) | E |
|----------|--------------------|----------|---------------------|---------------------|-------|------|
| 1 | acetat de vinil | 22 | 28 | 86 | 24,5 | 17 |
| 2 | propanoat de vinil | 4 | 34 | >99 | 25,5 | >200 |
| 3 | butanoat de vinil | 4 | 34 | >99 | 25,5 | >200 |

10 mg substrat, 10 mg CaL A, 10μL agent de acilare, 1mL DIPE

Condițiile optime pentru fiecare reacție de acilare sunt prezentate în tabelul 9.

Tabelul 9. Condițiile optime pentru reacțiile de acilare enzimatică a alcoolilor *rac-14a-j* și *rac-18a-e*

| Substrat | Condiții | ee _p (%) | ee _s (%) | Timp (h) | c (%) | E |
|----------------|--|---------------------|---------------------|----------|-------|-------|
| <i>rac-14a</i> | CaL B, MTBE, acetat de vinil | >99 | >99 | 2 | 50,0 | >>200 |
| <i>rac-14b</i> | Nici o activitate | | | | | |
| <i>rac-14c</i> | CaL A, DIPE, acetat de vinil | 99 | 17 | 36 | 14,7 | >200 |
| <i>rac-14d</i> | CaL A, DIPE, butanoat de vinil | 99 | 34 | 4 | 25,6 | >200 |
| <i>rac-14e</i> | CaL A, DIPE, acetat de vinil | 94 | 25 | 22 | 21,0 | 41 |
| <i>rac-14f</i> | CaL A, DIPE, acetat de vinil | 93 | 26 | 24 | 21,9 | 36 |
| <i>rac-14g</i> | CaL A, DIPE -activitate buna, dar neselectiv | | | | | |
| <i>rac-14h</i> | CaL B,DIPE/MTBE acetat de vinil | 98 | 72 | 18 | 42,4 | >200 |
| <i>rac-14i</i> | CaL A,acetat de vinil | 80 | 21 | 18 | 20,8 | 11 |
| <i>rac-14j</i> | Acilarea enzimatică nu a început cu enzimele testate | | | | | |
| <i>rac-18a</i> | CaL B, DIPE, butanoat de vinil | 99 | 84 | 2 | 45,9 | >200 |
| <i>rac-18b</i> | CaL A a prezentat o activitate scăzută, dar neselectiv | | | | | |
| <i>rac-18c</i> | CaL A a prezentat o activa buna, dar neselectiv | | | | | |
| <i>rac-18d</i> | CaL A, DIPE,acetat de vinil | 83 | 58 | 12 | 41,1 | 19 |
| <i>rac-18e</i> | CaL A, acetat de vinil | 47 | 99 | 12 | 67,8 | 13 |

5.2.2.2. Hidroliza/alcooliza enzimatică a esterilor 2-hidroximetil tiazolici racemici

Pentru hidroliza/ alcooliza esterilor racemici (*rac-15a-i*, *rac-16c-e*, *g-i*, *rac-17c-e*, *g-i*, *rac-20,21,22a-e*) au fost utilizate aceleași enzime ca și pentru acilarea stereoselectivă a alcoolilor *rac-14a-j* și *rac-18a-e*. Dintre toate enzimele testate numai CaL A, CaL B, CRL și PLE au prezentat rezultate bune. La fel ca și în cazul reacției de acilare enzimatică, au fost testați diferiți solvenți polari și apolari, iar cele mai bune rezultate s-au obținut cu DIPE și MTBE.

De asemenea s-a observat că reacțiile de hidroliza prezintă rezultate mai bune dacă sunt efectuate în amestecuri de tampon fosfat (pH 7,4) : DIPE 1:1 sau 2:1 (v:v).

Condițiile optime obținute în urma reacțiilor de hidroliză/alcooliză enzimatică a esterilor racemici (*rac-15a-i*, *rac-16c-e*, *g-i*, *rac-17c-e*, *g-i*, *rac-20,21,22a-e*) la scală analitică sunt prezentate în tabelul 10.

Tabelul 10. Condițiile optime pentru reacțiile de hidroliză/alcooliză enzimatică a esterilor racemici (*rac-15a-i*, *rac-16c-e*, *g-i*, *rac-17c-e*, *g-i*, *rac-20,21,22a-e*)

| Substrat | Condiții | ee _p (%) | ee _s (%) | Timp (h) | c (%) | E |
|----------------|---|------------------------|------------------------|-------------|----------|-------|
| <i>rac-15a</i> | CaL B, DIPE 10eq. MeOH | >99 | >99 | 8 | 50,0 | >>200 |
| <i>rac-17b</i> | CaL B, DIPE 10eq. MeOH | 99 | 99 | 48 | 50,0 | >>200 |
| <i>rac-15c</i> | PLE, DIPE: tampon fosfat pH 7,4 1:1 | 95 | 99 | 18 | 51,1 | 190 |
| <i>rac-15d</i> | PLE, DIPE: tampon fosfat pH 7,4 1:1 | 88 | 26 | 22 | 22,8 | 20 |
| <i>rac-16e</i> | CaL A, DIPE 10 eq. MeOH | 72 | 25 | 48 | 25,8 | 8 |
| <i>rac-15f</i> | PLE, DIPE: tampon fosfat pH 7,4 1:1 a avut o activitate mică, dar neselectivă | | | | | |
| <i>rac-15g</i> | PLE, DIPE: tampon fosfat pH 7,4 1:1 | 58 | 12 | 12 | 17,1 | 4 |
| <i>rac-15h</i> | PLE, DIPE: tampon fosfat pH 7,4 1:1 | 84 | 88 | 2 | 51,1 | 33 |
| <i>rac-15i</i> | PLE, DIPE: tampon fosfat pH 7,4 1:1 | 81 | 38 | 2 | 31,9 | 14 |
| <i>rac-15j</i> | Hidroliza sau alcooliza nu a început cu enzimele testate | | | | | |
| <i>rac-22a</i> | CaL B, 10 eq. MeOH, | 97 | 99 | 2 | 50,5 | >200 |
| <i>rac-22b</i> | CRL, DIPE: tampon fosfat pH 7,4 1:2 | 99 | 38 | 57 | 27,7 | >200 |
| <i>rac-21c</i> | CRL, DIPE: tampon fosfat pH 7,4 1:2 | 99 | 35 | 48 | 26,1 | >200 |
| <i>rac-20d</i> | PLE, DIPE: tampon fosfat pH 7,4 1:1 | 40 | 80 | 2 | 66,7 | 6 |
| <i>rac-22e</i> | CRL, DIEP: tampon fosfat pH 7,4 1:2 | 76 | 21 | 22 | 21,9 | 9 |

5.2.2.3. Sinteza alcoolilor tiazolici și a derivaților lor la scală preparativă

Deoarece în unele cazuri stereoselectivitatea reacțiilor enzimatică a fost mică, pentru sinteza celor doi enantiomeri ai alcoolilor și a derivaților lor acilați la scală preparativă au fost efectuate câteva experimente adiționale.

Astfel pentru a obține (*R*)- esterii cu un exces enantiomeric (ee) cât mai mare reacțiile de acilare enzimatică au fost oprite la o conversie mică, iar pentru a obține (*S*)- alcoolii cu un exces enantiomeric mare la o conversie mai mare decât cea teoretică de 50%. Același procedeu a fost folosit și în cazul reacției de hidroliză, doar că aici din reacția la conversie mică s-a obținut (*R*)- alcoolul cu un exces enantiomeric mare, iar din cea la conversie mare s-a obținut (*S*)- esterul cu exces enantiomeric mare.

Pentru experimentele la scală preparativă s-au folosit aceleași diluții, același raport enzima-substrat și aceleași condiții ca și în cazul reacțiilor la scală analitică. Atunci când stereoselectivitatea reacției a fost scăzută, au fost aplicate cele două experimente descrise mai sus. Astfel pentru a obține (*R*)- esterii cu ee mare reacțiile au fost oprite la conversii mici (15-46%), iar pentru a obține (*S*)- alcoolii cu ee mare la conversii mai mari decât 50% (50-56%), prin filtrarea enzimei. În ambele cazuri reacțiile au fost monitorizate prin analiză HPLC. După filtrarea enzimei din amestecul de reacție, solventul a fost evaporat la vid, iar produșii de reacție au fost purificați prin cromatografie pe coloană utilizând ca și solvent *n*-hexan:AcOEt 9:1.

Hidroliza/alcooliza enzimatică la scală preparativa a esterilor racemici (*rac-15a-i*, *rac-16c-e*, *g-i*, *rac-17c-e*, *g-i*, *rac-20,21,22a-e*) a fost efectuată în aceleași condiții ca și cele la scală analitică. Doar în cazurile în care ee ale (*R*)- alcoolilor obținuți a fost prea mic, reacțiile au fost oprite la o conversie mai mică decât cea optimă găsită în experimentele la scală analitică. După stoparea reacției de hidroliză, amestecul de reacție a fost extras cu diclorometan, iar faza organică a fost uscată cu Na₂SO₄, solventul evaporat la vid și produsul brut a fost purificat pe cromatografie de coloana cu *n*-hexan:AcOEt 9:1 ca și eluent. După stoparea reacțiilor de alcooliză, solventul a fost evaporat la vid și produsul brut a fost purificat la fel ca și în cazul reacțiilor de hidroliza.

Excesele enantiomeric, randamentele și rotațiile optice pentru compușii izolați sunt prezentate în tabelul 11.

5.2.3. Determinarea configurației absolute a (*S*)- și (*R*)-2-hidroxiometil-tiazolilor

Configurația absolută a 2-hidroxiometil tiazolilor sintetizați a fost determinată prin analiza spectrelor ¹H RMN a diastomerilor formați prin acilarea alcoolilor tiazolici cu clorura acidului (*R*)- și (*S*)- α -metoxi- α -trifluorometilfenil acetic (MTPA) în prezența de DMAP.

În conformitate cu regula empirică a lui Kazlauskas¹⁷³ pentru a prezice care enantiomer reacționează mai rapid în reacțiile de rezoluție enzimatică a alcoolilor secundari chirali, poate fi atribuită configurația absolută a produșilor obținuți prin rezoluția cinetică enzimatică²¹⁸. Totuși în literatură sunt descrise câteva excepții de la această regulă²¹⁹. În consecința, configurația absolută a noilor alcooli enantiopuri a fost determinată prin analiza detaliată a spectrelor ¹H RMN a derivaților Mosher ai alcoolului **14a**. Configurația absolută a centrului stereogenic al alcoolului **14a** a fost determinată cu ajutorul metodei Mosher modificate²²⁰, care a fost aplicată pentru esterii **23** și **24**, obținuți de la alcoolul secundar enantiopur **14a** prin acilare cu (*S*)-MTPA-Cl sau (*R*)-MTPA-Cl în prezența DMAP (figura 2). Compararea spectrelor ¹H RMN a esterilor **23** și **24** a indicat că centrul stereogenic al alcoolului enantiopur **14a** obținut din reacția de acilare selectivă a *rac-14a* este *S*. Datele structurale²²¹ precedente sugerează că cea mai plauzibilă conformație a fragmentului (*S*)-MTPA este aceea prezentată în figura 2. Atunci în cazul diastomerului (*R*)-MTPA-(*S*)-**14a** (**23**) există o repulsie sterică între gruparea heteroaril și gruparea fenil a părții MTPA a diastomerului.

Tabelul 11. Excesele enantiomerice, randamentele și rotațiile optice ale compușilor izolați din reacțiile enzimaticе la scală preparativă

| Compus | ee (%) | Randament (%) | $[\alpha_D]^{25}$ | Compus | ee (%) | Randament (%) | $[\alpha_D]^{25}$ |
|---------|--------|---------------|-------------------|---------|--------|---------------|-------------------|
| (S)-14a | 99 | 42,5 | -24 | (S)-15a | 99 | 45,8 | -33 |
| (R)-14a | 99 | 26,2 | +24 | (R)-15a | 97 | 35,8 | +32 |
| (R)-14b | 94 | 45,3 | +17 | (S)-15b | 99 | 42,7 | -18 |
| (S)-14c | >99 | 32,8 | -14 | (R)-15c | 86 | 43,3 | +29 |
| (R)-14c | 99 | 33,7 | +14 | (S)-15d | 26 | 32,8 | -5 |
| (S)-14d | 44 | 45,7 | -17 | (R)-15e | 94 | 20,2 | -17 |
| (R)-14d | 99 | 29,5 | +38 | (R)-15f | 74 | 39,8 | +6 |
| (S)-14e | 25 | 42,8 | +6 | (S)-15h | 84 | 46,5 | -69 |
| (R)-14e | 72 | 10,8 | -16 | (R)-15h | 98 | 41,9 | +80 |
| (S)-14f | 93 | 43,5 | -4 | (S)-15i | 38 | 21,3 | -17 |
| (S)-14h | 72 | 46,3 | -12 | (R)-15i | 80 | 22,9 | +35 |
| (R)-14h | 88 | 47,8 | +15 | (S)-16e | 25 | 43,8 | +2 |
| (S)-14i | 80 | 26,7 | -20 | (S)-17c | 99 | 44,4 | -27 |
| (R)-14i | 80 | 28,1 | +20 | (R)-17d | 99 | 33,5 | +11 |
| (S)-18a | 92 | 26,6 | -21 | (S)-20d | 80 | 34,3 | -14 |
| (R)-18a | 99 | 43,8 | +21 | (R)-20d | 83 | 42,0 | +14 |
| (R)-18b | 99 | 20,3 | +64 | (R)-20e | 47 | 42,8 | +9 |
| (R)-18c | 99 | 15,5 | +35 | (S)-21c | 72 | 16,1 | -49 |
| (S)-18d | 74 | 34,5 | -3 | (S)-22a | 99 | 49,1 | -32 |
| (R)-18d | 68 | 37,9 | +2 | (R)-22a | 99 | 49,3 | +32 |
| (S)-18e | 99 | 24,3 | -21 | (S)-22b | 38 | 33,3 | -6 |
| (R)-18e | 63 | 10,3 | +14 | (S)-22e | 21 | 42,8 | -6 |

Pe de altă parte, în cazul diasteromerului (S)-MTPA-(S)-14a (24) gruparea fenil și gruparea heteroaril nu sunt apropiate una de cealaltă.

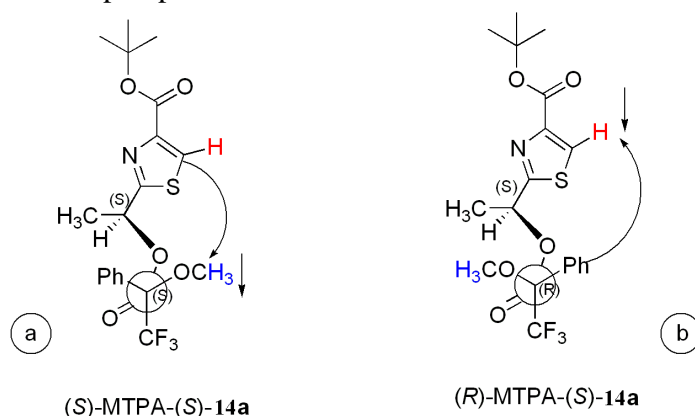


Figura 2. Diasteromerii a) (S)-MTPA-(S)-14a și b) (R)-MTPA-(S)-14a

Astfel, bazându-ne pe selectivitatea reacțiilor de esterificare observată, semnalele ^1H RMN a celor doi diastereomeri, (*S*)-MTPA-(*S*)-**14a** și (*R*)-MTPA-(*S*)-**14a** pot fi atribuite fără nici o problemă după cum urmează: semnalele de la $\delta=1,73-1,75$ ppm și $\delta=8,01$ ppm aparțin grupărilor $-\text{CH}_3$ și $-\text{CH}$, respectiv de la diastereomerul (*S*)-MTPA-(*S*)-**14a**, iar semnalele de la $\delta=1,80-1,83$ ppm și $\delta=7,95$ ppm aparțin aceluiași grupări de la diastereomerul (*R*)-MTPA-(*S*)-**14a** (figura 3 și 4). Dovada acestei atribuirii este dată și de efectul diamagnetic al grupării fenil asupra grupărilor proximale. Astfel, în cazul diastereomerului (*S*)-MTPA-(*S*)-**14a** efectul diamagnetic al grupării fenil este resimțit mai puternic de protonii grupării $-\text{CH}_3$, care vor rezona către un câmp mai slab (figura 2). Într-adevăr, protonii $-\text{CH}_3$ sunt mai ecranați $\delta_{\text{CH}_3}=1,73-1,75$ ppm față de protonii $-\text{CH}_3$ ai diastereomerului (*R*)-MTPA-(*S*)-**14a** ($\delta_{\text{CH}_3}=1,80-1,83$ ppm), unde distanța dintre acești protoni și inelul fenilic este mai mare (figura 2). De asemenea, protonii metoxi ai diastereomerului (*S*)-MTPA-(*S*)-**14a** sunt mai ecranați, $\delta_{\text{OCH}_3}=3,56$ ppm, în comparație cu analogii lor din diastereomerul (*R*)-MTPA-(*S*)-**14a**, $\delta_{\text{OCH}_3}=3,58$ ppm (figura 8). Această este o consecință a efectului inelului heteroaromatic proximal (figura 2). Totuși, în acest caz efectul diamagnetic al grupării heteroaromate este mai mic, așa cum se poate observa și din diferența deplasărilor chimice, $\Delta\delta_{\text{CH}_3}= 0.077$ ppm și $\Delta\delta_{\text{OCH}_3}= 0.024$ ppm, datorită faptului că protonii grupării metoxi sunt situați mai departe de gruparea heteroaril. Protonii carbonului din poziția 5 a inelului tiazolic sunt mai puțin ecranați pentru diastereomerul (*S*)-MTPA-(*S*)-**14a** ($\delta_{\text{CH}}=8.013$ ppm), decât cei din diastereomerul (*R*)-MTPA-(*S*)-**14a** ($\delta_{\text{CH}}=7.959$ ppm) (figura 4). Acest lucru este explicat prin efectul diamagnetic al inelului fenil asupra acestor protoni. Din reacția de esterificarea a alcoolului enantiopur, care a rămas netransformat în urma reacției de acilare selectivă catalizată de CaL B, cu clorura de (*R*)-MTPA a rezultat diastereomerul (*S*)-MTPA-(*S*)-**14a** (figura 3 și 4), confirmând astfel configurația absolută (*S*) a alcoolului, prezisă de altfel și de regula empirică a lui Kazlauskas.

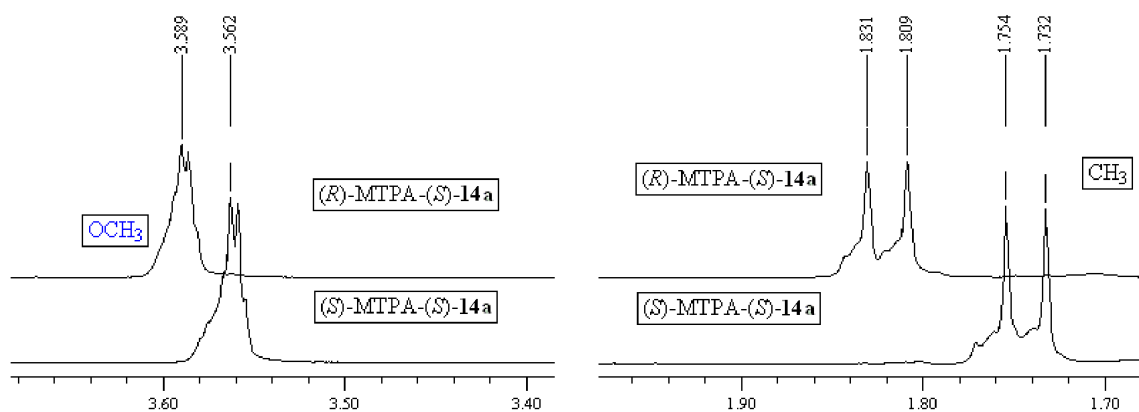


Figura 3. Semnalele protonilor $-\text{CH}_3$ și $-\text{OCH}_3$ din spectrele ^1H RMN ale diastereomerilor (*R*)-MTPA-(*S*)-**14a** și (*S*)-MTPA-(*S*)-**14a**

Pentru determinarea configurației absolute a celorlalți alcooli secundari sintetizați s-a aplicat aceeași metodă Mosher ca și pentru alcoolul **14a**. Utilizând același raționament și datele

experimentale obținute din spectrele RMN a derivaților Mosher ai celorlalți alcooli am putut stabili configurația absolută a alcoolilor sintetizați. În toate cazurile a fost confirmată regula empirică a lui Kazlasukas.

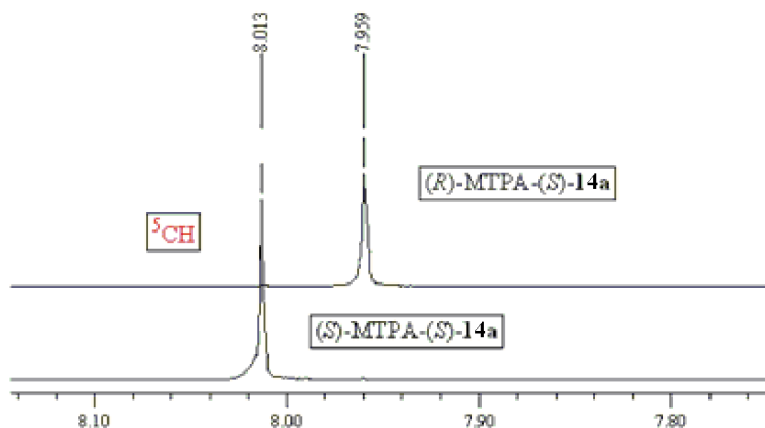


Figura 4. Semnalele protonilor -⁵CH din spectrele ¹H RMN ale diastereomerilor (R)-MTPA-(S)-14a și (S)-MTPA-(S)-14a

5.3. Concluzii

Studiul descris mai sus prezintă utilizarea rezoluției cinetice enzimatică pentru obținerea celor doi enantiomeri ai alcoolilor tiazolici nou sintetizați și a derivaților lor acilați. Pentru reacțiile de acilare enzimatică cele mai bune rezultate au fost obținute prin utilizarea lipazelor CaL A și CaL B în DIPE sau MTBE în prezența acetatului sau butanoatului de vinil. Pentru reacțiile de hidroliză cele mai bune rezultate s-au obținut în tampon fosfat:DIPE 1:1 sau 2:1 în prezența enzimelor PLE și CRL; reacțiile de alcooliză au fost efectuate în DIPE și în prezență de CaL B sau CaL A și metanol. Enzimele selectate au prezentat o activitate și o selectivitate de la moderat la bună. Utilizând reacția de acilare enzimatică s-a obținut (S)-(2-(1-hidroxi-3-metilbutil)tiazol-4-carboxilatul de *tert*-butil cu randament și exces enantiomeric bun, care este un sinton pentru sinteza totală a compusului natural Archazolid A. Configurația absolută a alcoolilor nou sintetizați a fost determinată prin analiza spectrelor ¹H RMN a esterilor Mosher ai alcoolilor tiazolici și este în conformitate cu regula empirică a lui Kazlauskas.

Bibliografie

- ¹ Sheldon R. A. *Chirotechnology: Industrial Synthesis of Optically Active Compounds*, Marcel Dekker Inc, New York, **1993**.
- ² (a) Patel R.N., Goswami A., Chu L., Donovan M.J., Nanduri V., Goldberg S., *Tetrahedron Asymmetry*, **2004**, *15*, 1247–1258; (b) Patel R.N., *Food Technol. Biotech.*, **2004**, *42*, 305–325.
- ³ (a) Ahuja S. *Chiral Separations: Application and Technology*, American Chemical Society, **1997**; (b) Buchholz K, Kasche V., Bornscheuer U.T. *Biocatalysts and Enzyme Technology*, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, **2005**; (c) Rasor J.P., Voss E. *Appl. Catal. A: Gen.*, **2001**, *221*, 145–158; (d) Hillier M.C., Reider P.J. *Drug Discov. Today*, **2002**, *7*, 303–314.
- ⁴ Ward R.S. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1995**, *6*, 1475–1490.
- ⁵ Boykin D. W., Kumar A., Spychala J., Zhou M., Lombardy R. J., Wilson W. D., Dykstra C. C., Jones S. K., Hall J. E., *J. Med. Chem.*, **1995**, *38*, 912–916.
- ⁶ Pour M., Spulak M., Buchta V., Kubanov P., Voprsalova M., Wsol V., Fakova H., Koudelka P., Pourova H., Schiller R., *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2701–2706
- ⁷ Mortensen D. S., Rodriguez A. L., Carlson K. E., Sun J., Katzenellenbogen B. S., Katzenellenbogen J. A., *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3838–3848.
- ⁸ (a) Jin Z., Li, Z., Huang R. *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 454–476; (b) Yeh V. S. C. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 11995–12042; (c) Jin Z. *Nat. Prod. Rep.* **2003**, *20*, 584–605; (d) Wang Y., Janjic J., Kozmin S. A. *Pure Appl. Chem.* **2005**, *77*, 1161–1169; (e) Jin Z. *Nat. Prod. Rep.* **2005**, *22*, 196–229; (f) Marson C. M., Saadi M. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 3892–3893; (g) Jin Z. *Nat. Prod. Rep.* **2006**, *23*, 464–496; (h) Jin Z. *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 382–445.
- ⁹ Verrier C. *Etude des nouvelles méthodologies de fonctionnalisation directe palladocatalysées de la liaison C-H en série oxazole-4-carboxylate: Application à la synthèse de molécules naturelles et de sondes fluorescentes oxazoliques*, **2010**.
- ¹⁰ (a) Bagley M. C., Dale J. W., Merritt E. A., Xiong X. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 685–714; (b) Hughes R. A., Moody C. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7930–7954.
- ¹¹ Hargrave K. D., Hess F. K., Oliver J. T. *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 1158–1163.
- ¹² Patt W. C., Hamilton H.W., Taylor M. D., Ryan M. J., Taylor D. G. Jr., Connolly C. J. C., Doherty A. M., Klutchko S. R., Sircar I., Steinbaugh B. A., Batley B. L., Painchaud C. A., Rapundalo S. T., Michniewicz B. M., Olson S. C. J. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2562–2572.
- ¹³ Sharma P. K., Sawhney S. N., Gupta A., Singh G. B., Bani S. *Indian J. Chem.* **1998**, *37B*, 376–381.
- ¹⁴ Jaen J. C., Wise L. D., Caprath B. W., Teclé H., Bergmeier S., Humblet C. C., Heffner T. G., Meltzner L. T., Pugsley T. A. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 311–317.
- ¹⁵ (a) Tsuji K., Ishikawa H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1601–1606; (b) Khalil A. M., Berghot M. A., Gouda M. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 4434–4440.
- ¹⁶ Bell F. W., Cantrell A. S., Hogberg M., Jaskunas S. R., Johansson N. G., Jordan C. L., Kinnick M. D., Lind P., Morin J. M., Jr., Noreen R., Oberg B., Palkowitz J.A., Parrish C. A., Pranc P., Sahlberg C., Ternansky R. J., Vasileff R. T., Vrang L., West S. J., Zhang H., Zhou X. X. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4929–4936.
- ¹⁷ Ergenc N., Capan G., Gunay N. S., Ozkirimli S., Gungor M., Ozbey S., Kendi E. *Arch. Pharm.* **1999**, *332*, 343–347.
- ¹⁸ Badorc A., Bordes M. F., De Cointet P., Savi P., Bernat A., Lale A., Petitou M., Maffrand J. P., Herbert J. M. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3393–3401.
- ¹⁹ Rudolph J., Theis H., Hanke R., Endermann R., Johannsen L., Geschke F. U. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 619–626.
- ²⁰ (a) Burger A., *Introduction: History and Economics of Medicinal Chemistry*, Burger's Medicinal Chemistry, Part I, 4th edn., John Wiley & Sons, New York, **1980**, 7–22; (b) Burger A., *Drugs and People: Medications, Their History and Origins, and the Way They Act*, University Press of Virginia, USA, **1986**, 4.
- ²¹ (a) Johnson M. R., *Analgetics in M. E. Wolff (Ed.), Burger's Medicinal Chemistry, Part III*, 4th edn., Wiley-Interscience, New York, **1981**, 707; (b) Eap C. P., Finkbeiner T., Gastpar M., Scherbaum N., Powell K., Baumann P., *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1996**, *50*, 385–389.
- ²² Ariëns E. J., *Chiral Separations by HPLC*, Ellis Horwood Limited, UK, **1989**, 31–68.
- ²³ Cotzias G. C., Papavasiliou P. S., Gellene R., *New Engl. J. Med.*, **1969**, *280*, 337–345.
- ²⁴ (a) Loffet A., *J. Pept. Sci.* **2002**, *8*, 1–7; (b) Kee S., Jois S.D.S., *Curr. Pharm. Design.* **2003**, *9*, 1209–1224.
- ²⁵ Hanessian S., McNaughton Smith G., Lombart H.G., *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12789–12854.
- ²⁶ (a) Wang L, Schultz P.G., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 34–66; (b) Sun H., Zaneta C.J., Yang C.Y., Xu L., Liu M., Tomita Y., Pan H., Yoshioka Y., Krajewski K.P., Roller P., Wang S., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16686–16687; (c) Oost T.K., Sun C., Armstrong R.C., Al-Assaad A.S., Betz S.F., Deckwerth T.L., Ding H., Elmore S.W., Meadows R.P., Olejniczak E.T., Oleksijew A., Oltersdorf T., Rosenberg S.H., Shoemaker A.R., Tomaselli K.J., Zou H., Fesik S.W., *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 4417–4426.
- ²⁷ Loranger A. W., Lee J.E., McDowell F. *Arch. Gen. Psychiatry.* **1972**, *26*, 163–168.
- ²⁸ (a) Brem S., Grossman S.A., Carson A., New P., Phuphanich S., Alavi J.B., Mikkelsen T., Fisher J.D. *Neuro. Oncol.*, **2005**, *7*, 246–253; (b) Brewer J.G. *Drug. Dis. Today*, **2005**, *10*, 1103–1109; (c) Walsh J.M., *Am. J. Med.*, **1956**, *21*, 487–495.
- ²⁹ (a) Louwrier A., Knowles C.J., *Enzym. Microb. Techn.*, **1996**, *19*, 562–571; (b) Lee D.C., Lee S.G., Kim H.S. *Enzym. Microb. Techn.*, **1996**, *18*, 35–40.
- ³⁰ (a) Wong J.M., Forrest K.A., Snabes M.C., Zhao S.Z., Cersh G.E., Kennedy S.H. *Hum.Reprod.Update.* **2001**, *7*, 92–101; (b) Jacobs L.A., Fields C.S., Thie J.L., Coulam C.B. *Int.J.Fert.*, **1991**, *36*, 30–35; (c) Minaguchi H., Wong J.M., Snabes M.C. *J. Reprod. Med.*, **2000**, *45*, 481–489.
- ³¹ (a) Bommarius A.S., Riebel B.R., *Biocatalysis: Fundamentals and applications*, Weinheim:Wiley-VCH Verlag GmbH; **2004**; (b) Ahmad A.L., Oh P.C., Abd Schukar S.R. *Biotechnol. Adv.*, **2009**, *27*, 286–296.
- ³² (a) Williams R.M., *Synthesis of Optically Active α -Amino Acids*, Pergamon, Oxford, **1989**; (b) Wirth T., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 225–227; (c) Ma J.A., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4290–4299.
- ³³ Duthaler R. O. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 1539–1650.
- ³⁴ (a) Burk M.J., *Accounts Chem. Res.* **2000**, *33*, 363–372; (b) Noyori R., Ohkuma T., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 40–73; (c) Barrett G. C. *Resolution of amino acids. In Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids* Chapman and Hal, London, **1985**, 338–353.
- ³⁵ Kato D.I., Miyamoto K., Ohta H., *Biocatal. Biotransform.* **2005**, *23*, 375–379.
- ³⁶ (a) Ward R.S., *Tetrahedron Asymmetry* **1995**, *6*, 1475–1490; (b) Stecher H., Faber K., *Synthesis* **1997**, 1–16; (c) Caddick S., Jenkins K., *Chem. Soc. Rev.* **1996**, 447–456; (d) Faber K., *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 5004–5010; (e) Huerta F.F., Minidis A.B.E., Backvall J.E., *Chem. Soc. Rev.* **2001**, *30*, 321–331; (f) El Gihani M.T., Williams J.M.J., *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 11–15; (g) Azerad R., Buisson D., *Curr. Opin. Biotechnol.* **2000**, *11*, 565–571; (h) Noyori R., Tokunaga M., Kitamura M., *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, *68*, 36–55.
- ³⁷ Servi S., Tessaro D., Pedrocchi-Fantoni G. *Coord. Chem. Rev.* **2008**, *252*, 715–726.

- ³⁸ Bradshaw C.W., Wong C.H., Hummel W., Kula M.R., *Bioorg. Chem.* **1991**, *19*, 29–39.
- ³⁹ Bommarius A.S., Schwarm M., Drauz K., *J. Mol. Catal. B. Enzym.* **1998**, *5*, 1–11
- ⁴⁰ Asano Y., Yamada A., Kato Y., Yamaguchi K., Hibino Y., Hirai K., Kondo K., *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5567–5571.
- ⁴¹ Kragl U., Kruse W., Hummel W., Wandrey C. *Biotechnol. Bioeng.* **1996**, *52*, 309–319.
- ⁴² Shaked Z., Whitesides G.M. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7104–7105.
- ⁴³ (a) Li T., Kootstra A.B., Fotheringham I.G., *Org. Process. Res. Dev.* **2002**, *6*, 533–538; (b) Taylor P.P., Pantaleone D.P., Senkpeil R.F., Fotheringham I.G., *Trends Biotechnol.* **1998**, *16*, 412–418.
- ⁴⁴ Chen S.T., Tseng M.J., Kao T., Sookkheo B., Surat T., U.S. Patent **2000**, 6,146,859.
- ⁴⁵ Lo H.H., Hsu S.K., Lin W.D., Chan N.L., Hsu W.H. *Biotechnol. Progr.* **2005**, *21*, 411–415.
- ⁴⁶ (a) Senuma M., Nakamichi K., Nabe K., Nishimoto S., Tosa T. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **1989**, *22*, 141–50; (b) Cho B.K., Seo J.H., Kang T.W., Kim B.G., *Biotechnol. Bioeng.* **2003**, *83*, 226–234.
- ⁴⁷ (a) Chenault H. K., Dahmer J., Whitesides G. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6354–6364; (b) Bommarius A. S., Drauz K., Klenk H., Wandrey C. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1992**, *672*, 126–136; (c) Sato T., Tosa T. *Bioprocess. Technol.* **1993**, *16*, 3–4.
- ⁴⁸ Youshko M. I., van Lancen L.M., Sheldon R.A., Svedas V.K., *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 1933–1936.
- ⁴⁹ Schmiedeberg O., *Arch. Exp. Pathol. Phar.* **1881**, *13*, 379–392.
- ⁵⁰ Smorodinzev I. A., *Z. Physiol. Chem.* **1922**, *124*, 123.
- ⁵¹ Greenstein J. P., Wints M. *Chemistry of the Amino Acids*, Wiley: London, New York, **1961**, *1*, 715–760, and references cited therein.
- ⁵² Birnbaum S. M., Levintow R., Kingsley B., Greenstein J. P., *J. Biol. Chem.* **1952**, *194*, 445–470.
- ⁵³ (a) Boger D. L., Keim H., Oberhauser B., Schreiner E. P., Foster C. A., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6197–6205; (b) Yokoyama Y., Osanai K., Mitsuhashi M., Kondou K., Murakami Y., *Heterocycles* **2001**, *55*, 653–659.
- ⁵⁴ (a) Machado G.D.C., Gomez M. Jr., Antunes O.A.C., Ostreicher E.G., *Process Biochem.* **2005**, *40*, 3186–3189; (b) Podea P. V., Toşa M. I., Paizs C., Irimie F. D., *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 1959–1964.
- ⁵⁵ (a) Kameda Y., Toyoura E., Kimura Y., Yamazoe H., *Nature* **1952**, *169*, 1016; (b) Yamazoe H., *Nature* **1958**, *181*, 1225. (c) Sugie M., Suzuki H., *Agric. Biol. Chem.* **1980**, *44*, 1089–1095; (d) Konda-Yamada Y., Okada C., Yoshida K., Umeda Y., Arima S., Sato N., Kai T., Takayamagi H., Harigaya Y., *Tetrahedron* **2002**, *58*, 7851–7861.
- ⁵⁶ (a) Servi S., *Synthesis* **1990**, *1*, 1–25; (b) D'Arrigo P., Högberg H-E, Pedrocchi-Fantoni G., Servi S. *Biocatal. Biotransform.* **1994**, *9*, 299 – 312.
- ⁵⁷ (a) Sybesma W.F.H., Straathof A.J.J., Jongejan A.J., Pronk J.T., Heijnen J.J. *Biocatal. Biotransformation* **1998**, *16*, 95 –134; (b) Toşa M. I., Podea P. V., Paizs C., Irimie F. D. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 2068–2071; (c) Paizs C., Toşa M. I., Majdik C., Moldovan P. V., Novák L., Kolonits P., Marcovici A., Irimie F. D., Poppe L. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 1491–1501; (d). Busto E., Gotor-Fernandez V., Gotor V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 1007–1016.
- ⁵⁸ (a) Sato T, Fujisawa T. *Biocatal. Biotransformation* **1990**, *3*, 1 – 15; (b) Kanno O, Kawamoto I. *Tetrahedron* **2000**, *31*, 5639 – 5648.
- ⁵⁹ Biatecka-Florjanczyk E., Majewska E. *Synth Commun* **2010**, *40*, 1264 – 1269.
- ⁶⁰ Glanzer B.I, Faber K., Griengl H. *Tetrahedron*, **1987**, *43*, 771 – 778.
- ⁶¹ Gais H. J., Theil F., *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis*, Wiley-VCH: Weinheim, **2002**, 407–412.
- ⁶² Santos A. M., Vidal M., Pacheco Y., Frontera J., Baez C., Omellas O., Barletta G., Griebenow K., *Biotechnol. Bioeng.* **2001**, *74*, 295–308.
- ⁶³ Altreuter D. H., Dordick J. S., Clark D. S., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1871–1876.
- ⁶⁴ Kullmann W., *Enzymatic Peptide Synthesis*, CRC: Boca Raton, Florida, **1987**, 47–48.
- ⁶⁵ (a) Miyazawa T., Iwanaga H., Yamada T., Kuwata S., *Chirality* **1992**, *4*, 427, 431; (b) Miyazawa T., *Fluorine-Containing Amino Acids: Synthesis and Properties*, Wiley: Chichester, **1995**.
- ⁶⁶ Miyazawa T., Hiramatsu M., Murashima T., Yamada T., *Biocatal. Biotransfor.* **2003**, *21*, 93–100.
- ⁶⁷ Miyazawa T., Masaki S., Tanaka K., Yamada T., *Lett. Pept. Sci.* **2003**, *10*, 83–87.
- ⁶⁸ Miyazawa T., Imağowa K., Miniwa H., Miyamoto T., Yamada T., *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10254–10261.
- ⁶⁹ Miyazawa T., *Amino Acids* **1999**, *16*, 191–213.
- ⁷⁰ Miyazawa T., Iwanaga H., Ueji S., Yamada T., *Biocatal. Biotransfor.* **2000**, *17*, 445–458.
- ⁷¹ Turner N.J., *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, *8*, 114–119.
- ⁷² Martin T., Massif C., Wermester N., Linol J., Tisse S., Cardinal P., Coquerel G., Bouillon J.P, *Tetrahedron: Asymmetr.* **2011**, *22*, 12–21.
- ⁷³ Pietzsch M., Syldatk C., *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, **2002**, *II*, 761.
- ⁷⁴ Gu R.L., Lee I.S., Sih C.J., *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 1953–1956.
- ⁷⁵ Servi S., Tessaro D., Pedrocchi-Fantoni G. *Coordin. Chem. Rev.* **2008**, *252*, 715–726
- ⁷⁶ Gerlt J.A., Kenyon G.L., Kozarich J.W., Neidhart D.J., Petsko G.A., Powers V.M., *Curr. Opin. Struc. Biol.* **1992**, *2*, 736–742.
- ⁷⁷ Rios A., Richard J.P., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8375–8376.
- ⁷⁸ (a) Shaw J.P., Petsko G.A., Ringe D., *Biochemistry* **1997**, *36*, 1329–1342; (b) Faraci W.S., Walsh C.T., *Biochemistry* **1988**, *27*, 3267–3276.
- ⁷⁹ (a) Bhattacharya A., Araullo-McAdams C., Meiers M.B., *Synthetic Commun.* **1994**, 2449–2459; (b) Tabushi I., Kuroda Y., Yamada M., *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 5695–5698; (c) Liljebald A., Kiviniemi A., Kanerva L., *Tetrahedron* **2004**, *60*, 671–677; (d) Zimmermann V., Beller M., Kragl U., *Org. Process Res. Dev.* **2006**, *10*, 622–627; (d) Asano Y., Yamaguchi S., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 7696–7697; (e) Schichl D. A., Enthaler S., Holla W., Riermeier T., Kragl U., Beller M., *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 3506–3512.
- ⁸⁰ (a) Clark J.C., Phillips G.H., Steer M.R., *J. Chem. Soc., Perk. T. I* **1976**, 475–481; (b) Honnoraty A.M., Mion L., Collet H., Teissedre R., Commeyras A., *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1995**, *132*, 709.
- ⁸¹ Chen S.T., Huang W.H., Wang K.T., *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7580–7581.
- ⁸² Kim Y., Park J., Kim M.-J., *ChemCatChem* **2011**, *3*, 271 – 277.
- ⁸³ (a) Reetz M. T., *K. Schimossek Chimia* **1996**, *50*, 668– 669; (b) Paetzold J., Backvall J. E., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17620 –17621 ; (c) Parvulescu A., De Vos D., Jacobs P., *Chem. Commun.* **2005**, 5307– 5309 ; (d) Stirling M., Blacker J., Page M. I., *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 1247– 1250; (e) Parvulescu A. N., Jacobs P. A., De Vos D. E., *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 113–121; (f) Shakeri M., Engström K., Sandström A. G., Backvall J.-E., *ChemCatChem*, **2010**, *2*, 534–538; (g) Kim Y., Park J., Kim M.-J., *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 5581– 5584.
- ⁸⁴ Choi Y. K., Kim Y., Han K., Park J., Kim M.-J., *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 9543 –9545
- ⁸⁵ Kim M.-J., Kim W.-H., Han K., Choi Y. K., Park J., *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1157 – 1159.
- ⁸⁶ Tessaro D., Molla G., Pollegioni L., Servi S. *Modern biocatalysis: Chemoenzymatic deracemization methods*, Wiley-VCH, Weinheim, **2008**, 195–311.

- ⁸⁷ (a) Pilone M.S., *Cell. Mol. Life Sci.* **2000**, *57*, 1732-1747; (b) Crump S.P., Rozzell J.D., *Biocatalytic Production of Amino Acids by Transamination in Biocatalytic Production of Amino Acids and Derivatives*, Wiley, NY, **1992**, 43; (c) Rozzell J.D., Bommaris A.S., *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis*, Wiley-VCH, **2002**, *II*, 873; (d) Chibata I., Tosa T., Sano R., *Appl. Microbiol.* **1965**, *13*, 618-624.
- ⁸⁸ Fotheringham I.G., Taylor P.P., Ton J.L., US Patent, **1998**, 5,728,555.
- ⁸⁹ (a) Soda K., Oikawa T., Yokoigawa K., *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2001**, *11*, 149-153; (b) Huh J.W., Yokoigawa K., Esaki N., Soda K., *J. Ferment. Bioeng.* **1992**, *74*, 189-190; (c) Fotheringham I., *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 120-124.
- ⁹⁰ (a) Fotheringham I., Archer I., Carr R., Speight R., Turner N.J., *Biochem. Soc. T.* **2006**, *34*, 287-290; (b) Alexandre F.R., Pantaleone D.P., Taylor P.P., Fotheringham I.G., Ager D.J., Turner N.J., *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 707-710; (c) Beard T.M., Turner N.J., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **2002**, 246-247; (d) Enright F.R., Alexandre G., Roff I.G., Fotheringham M.J., Dawson N.J., Turner J., *Chem. Soc., Chem. Commun.* **2003**, 2636-2637.
- ⁹¹ Caligiuri A., D'Arrigo P., Gefflaut T., Molla G., Pollegioni L., Rosini E., Rossi C., Servi S., *Biocatal. Biotransform.* **2006**, *24*, 409-413.
- ⁹² (a) Strecker A., *Liebigs Ann. Chem.* **1850**, *75*, 27-51; (b) Strecker A., *Liebigs Ann. Chem.* **1854**, *91*, 349-351.
- ⁹³ (a) Kunz H. *Stereoselective Synthesis* Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1995**, E21b, 1931-1952. (b) Harada K., *Nature* **1963**, *200*, 1201; (c) Grçger H., *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2795-2827.
- ⁹⁴ Merino P., Marques-Lopez E., Tejero T., Herrera R. P., *Tetrahedron* **2009**, *65*, 1219-1234.
- ⁹⁵ (a) Vachal P., Jacobsen E. N., *Org. Lett.* **2000**, *2*, 867-870; (b) Vachal P., Jacobsen E. N., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10012-10014; (c) Sigman M. S., Vachal P., Jacobsen E. N., *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1336-1338; (d) Sigman M. S., Vachal P., Jacobsen E. N., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1279-1281; (e) Doyle A. G., Jacobsen E. N., *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5713-5743; (f) Taylor M. S., Jacobsen E. N., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1520-1543; (d) Akiyama T., Itoh J., Fuchibe K., *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 999-1010;
- ⁹⁶ Harriman D. J., Deleavey G. F., Lambropoulos A., Deslongchamps G., *Tetrahedron* **2007**, *63*, 13032-13038.
- ⁹⁷ (a) Rueping M., Sugiono E., Azap C., *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2679-2681; (b) Rueping M., Sugiono E., Azap C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2617-2619.
- ⁹⁸ (a) Pan S. C., Zhou J., List B., *Synlett.* **2006**, 3275-3276; (b) Pan S. C., Zhou J., List B., *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 618-620; (c) Pan S. C., Zhou J., List B., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 612-614; (d) Corey E. J., Grogan M. J., *Org. Lett.* **1999**, *1*, 157-160; (e) Reingruber R., Baumann T., Dahmen S., Brase S., *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 1019-1024.
- ⁹⁹ (a) Taylor M. S., Jacobsen E. N., *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1550-1573; (b) Wu Q.-H., Gao Y.-J., Li Z., Wang J.-M., Wang C., Ma J.-J., Song S.-J., *Chin. J. Org. Chem.* **2007**, *27*, 1491-1501. (e) Rueping M., Sugiono E., Moreth S. A., *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 759-764; (f) Wen Y., Xiong Y., Chang L., Huang J., Liu X., Feng X., *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7715-7719; (g) Wen Y., Gao B., Fu Y., Dong S., Liu X., Feng X., *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6789-6795; (h) Simon J., Nguyen T.T., Chelain E., Lensen N., Pytrowicz J., Chaume G., Brigaut T., *Tetrahedron Asymmetry*, **2011**, *22*, 309-314.
- ¹⁰⁰ (a) Kagan H.B., Fiaud J.C. *Top Stereochem.* **1978**, *10*, 175-286; (b) Noyori R., *Asymmetric Catalysis in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York, **1994**; (c) Mahrwald R., *Modern Aldol Reactions*, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.
- ¹⁰¹ (a) Laumen K., Breitgoff D., Schreider M.P., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1988**, 1459-1461. (b) Patel R.N., *Enzym. Microb. Tech.*, **2002**, *31*, 804-826. (c) Raminelli C., Comasseto J.V., Andrade L. H., Porto A. L. M., *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, *15*, 3117-3122.
- ¹⁰² (a) Kamal A., Krishnaji T., Hascer N., Khan A., *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2007**, *47*, 1-5; (b) Oguzkaya F., Sahin E., Tanyeli C., *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 3004-3009; (c) Cheedra R. K., Sachwani R., Krishna P. R., *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 901-905; (d) Mancilla G., Femenía-Ríos M., Grande M., Hernández-Galán R., Macías-Sánchez A.J., Collado I.G. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 8068-8075; (e) Kwak S. H., Seo J. M., Lee K.-I. *ARKIVOK*, **2010**, *X*, 55-61; (f) de Fátima Á., Lapis A. A. M., Pilli R. A. J. *Braz. Chem. Soc.*, **2005**, *16*, 495-499; (g) Dmling A., Beck B., Eichelberger U., Sakamuri S., Menon S., Chen Q.-Z., Lu Y., Wessjohann L.A. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 7235-7239; (h) Menche D., Hassfeld J., Li J., Rudolph S. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 6100-6101.
- ¹⁰³ Wu H.Y., Xu J.H., Tsang S.F. *Enzyme Microb. Tech.* **2004**, *34*, 523-528.
- ¹⁰⁴ Mine T., Yui T., U.S. Patent, **2001**, 6,239,319 B1.
- ¹⁰⁵ Cong F.D., Wang Y.H., Mu C.Y., Yu H.F., Han S.P., Tao I., *Enzyme Microb. Tech.* **2005**, *31*, 1532-1541 and the references cited herein.
- ¹⁰⁶ Yssenuth J.T., Dagorne S., Laponnaz S.B., *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2008**, *286*, 6-10.
- ¹⁰⁷ (a) Howarth J., James P., Dai J.F., *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 7517-7519; (b) Eckstein M., Filho M.V., Liese A., Kragl U., *Chem. Commun.* **2005**, 1084-1086.
- ¹⁰⁸ (a) Azerad R., Buisson D., *Curr. Opin. Biotech.* **2000**, *11*, 565-571; (b) Strauss U.T., Feller K., Faber K., *Tetrahedron Asymmetry* **1999**, *10*, 107-117; (c) Allan G.R., Carnell A.J.J., *Org. Chem.* **2001**, *66*, 6495-6497; (d) Nakamura K., Fujii M., Ida Y., *Tetrahedron Asymmetry* **2001**, *12*, 3147-3153; (e) Nakamura K., Inoue Y.Y., Matsuda T., Ohno A., *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6263-6266; (f) Nakamura K., Matsuda T., *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8957-8964; (g) Okuma T., Koizumi M., Yoshida M., Noyori R., *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1749-1751; (h) Kazmaier U., Zumpe F.L., *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4067-4076; (i) Stampfer W., Kosjek B., Faber K., Kroutil W., *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 402-406; (j) van Deursen R., Stampfer W., Edegger K., Faber K., Kroutil W., *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2004**, *31*, 159-163; (k) Berkessel A., Sebastian-Ibarz M.L., Müller T.N., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6567-6570.
- ¹⁰⁹ (a) Itoh T., Akasaki E., Kubo K., Shirakami S., *Chem. Lett.* **2001**, 262-264; (b) Schöfer S.H., Kaftzik N., Wasserscheid P., Kragl U., *Chem. Commun.* **2001**, 425-426.
- ¹¹⁰ (a) Wu X.F., Li X.G., Hems W., King F., Xiao J.L., *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 1818-1821; (b) Chen C.Y., Reamer R.A., Chilenski J.R., McWilliams C.J., *Org. Lett.* **2003**, *5*, 5039-5042; (c) Noyori R., Yamakawa M., Hashiguchi S.J., *Org. Chem.* **2001**, *66*, 7931-7944.
- ¹¹¹ (a) Corey E.J., Bakshi R.K., Shibata S., *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5551-5553; (b) Deloux L., Srebnik M. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 763-784; (c) Corey E.J., Helal C.J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1987-2012. (a) Tseng S.-L., Yang T.-K. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 3375-3380; (b) Nugent W.A., *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2133-2136; (c) Pu L., Yu H.-B. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 757-824.
- ¹¹² (a) Tseng S.-L., Yang T.-K. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 3375-3380; (b) Nugent W.A., *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2133-2136; (c) Pu L., Yu H.-B. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 757-824.
- ¹¹³ (a) Homann M.J., Vail R.B., Pretive E., Tamarez M., Morgan B., Dodds D.R., Zacks A., *Tetrahedron* **2004**, *60*, 789-797; (b) Salvi N.A., Chattopadhyay S., *Tetrahedron* **2001**, *57*, 2833-2839; (c) Nakamura K., Matsuda T., *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8957-8964; (d) Ni Y., Xu J.-H. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2002**, *18*, 233-241.
- ¹¹⁴ (a) Ema T., Moriya H., Kofukuda T., Ishida T., Maehara K., Utaka M., Sakai T., *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 8682-8684; (b) Ema T., Sugiyama Y., Fukumoto M., Moriya H., Cui J.-N., Sakai T., Utaka M., *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4996-5000.
- ¹¹⁵ Norman, R. O. C. *Principles of Organic Synthesis*; Chapman and Hall Ltd: London, **1978**, 633.
- ¹¹⁶ Van der Waal J. C., Kunkeler P. J., Tan K., Van Bekkum H., *J. Catal.* **1998**, *173*, 74-83.
- ¹¹⁷ Creighton E. J., Ganeshie S. D., Downing R. S., Van Bekkum H., *J. Mol. Catal. A: Chem.* **1997**, *115*, 457-472.

- ¹¹⁸ Uysal B., Buyuktas B. S., *ARKIVOC* **2007**, xiv, 134-140.
- ¹¹⁹ Uyeda C., Biscoe M., LePlae P., Breslow R. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 127-130.
- ¹²⁰ Ren Y., Tian X., Sun K., Xu J., Xu X., Lu S., *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 463-465.
- ¹²¹ Yildiz T., Yusufoglu A. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, 21, 2981-2987.
- ¹²² Sani M., Fossati G., Huguenot F., Zanda M., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 3526-3529.
- ¹²³ Kang Y.-F., Liu L., Wang R., Yan W.-J., Zhou Y.-F., *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, 15, 3155-3159.
- ¹²⁴ Trost B. M., Krische M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 6131-6141.
- ¹²⁵ (a) Rachwalski M., Kwiatkowska M., Drabowicz J., Klos M., Wieczorek W. M., Szyrej M., Sierone L., Kielbasinski P., *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, 19, 2096-2101; (b) Lesniak S., Rachwalski M., Sznajder E., Kielbasinski P., *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, 20, 2311-2314; (c) Venegas A., Rivas L., Huelgas G., Anaya de Parrodi C., Madrigal D., Aguirre G., Parra-Hake M., Chávez D., Somanathan R. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, 21, 2944-2948.
- ¹²⁶ Rachwalski M., Lesniak S., Kielbasinski P., *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, 21, 2687-2689.
- ¹²⁷ (a) Faber K., *Biotransformations in Organic Chemistry. A textbook*, 5th ed., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **2004**; (b) Moore J., Pollard D., Kosjek B., Devine P., *Acc. Chem. Res.*, **2007**, 40, 1412-1419; (c) Wildeman S., Sonke T., Schoemaker H., May O., *Acc. Chem. Res.*, **2007**, 40, 1260-1266; (d) Matsuda T., Yamanaka R., Nakamura K., *Tetrahedron-Asymmetry* **2009**, 20, 513-557.
- ¹²⁸ (a) Edegger K., Stampfer W., Seisser B., Faber K., Mayer S., Oehrlein R., Hafner A., Kroutil W., *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2006, 1904-1909; (b) Ema T., Yagasaki H., Okita N., Takeda M., Sakai T., *Tetrahedron* **2006**, 62, 6143-6149; (c) Kaluzna I., Matsuda T., Sewell A., Stewart J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 12827-12832; (d) Poessel T., Kosjek B., Ellmer U., Gruber C., Edegger K., Faber K., Hildebrandt P., Bornscheuer U., Kroutil W., *Adv. Synth. Catal.*, **2005**, 347, 1827-1834; (e) Soni P., Kaur G., Chakraborti A., Banerjee U., *Tetrahedron-Asymmetry* **2005**, 16, 2425-2428.
- ¹²⁹ Forrest G. L., Gonzalez B., *Chem. Biol. Interact.* **2000**, 129, 21-40.
- ¹³⁰ (a) Schmid A., Dordick J. S., Hauer B., Kiener A., Wubbolts M., Witholt B., *Nature* **2001**, 409, 258-268; (b) Schoemaker H. E., Mink D., Wubbolts M. G., *Science* **2003**, 299, 1694-1697; (c) Patel R. N., *Coord. Chem. Rev.* **2008**, 252, 659-701; (d) Wolberg M., Villela M., Bode S., Geilenkirchen P., Feldmann R., Liese A., Hummel W., Muller M., *Bioprocess Biosyst. Eng.* **2008**, 31, 183-191; (e) Ema T., Ide S., Okita N., Sakai T., *Adv. Synth. Catal.* **2008**, 350, 2039-2044; (f) Kizaki N., Yasohara Y., Hasegawa J., Wada M., Kataoka M., Shimizu S., *Appl. Microbiol. Biot.* **2001**, 55, 590-595.
- ¹³¹ (a) Yajima A., Naka K., Yabuta G., *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 4577-4579; (b) Kaluzna I., Andrew A. A., Bonilla M., Martzen M. R., Stewart J. D., *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2002**, 17, 101-105; (c) Ema T., Yagasaki H., Okita N., Takeda M., Sakai T., *Tetrahedron* **2006**, 62, 6143-6149; (d) Yang Y., Zhu D., Piegat T. J. Hua L., *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, 18, 1799-1803; (e) Yang W., Xu J.-H., Xie Y., Xu Y., Zhao G., Lin G.-Q., *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, 17, 1769-1774; (f) Jeona E., Leea S., Kima D., Yoonb H., Ohc M., Parkd C., Leea J., *Enzyme Microb. Tech.* **2009**, 45, 42-47; (g) Goretti M., Ponzoni C., Caselli E., Marchegiani E., Cramarossa M. R., Turchetti B., Forti L., Buzzini P. *Bioresource Technol.* **2011**, 102, 3993-3998.
- ¹³² (a) Zhu D., Yang Y., Hua L., *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 4202-4205; (b) Hammond R. J., Poston B. W., Ghiviriga I., Feske B. D., *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 1217-1219; (c) Yasohara Y., Kizaki N., Hasegawa J., Wada M., Kataoka M., Shimizu S., *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 1713-1718; (d) Yasohara Y., Kizaki N., Hasegawa J., Wada M., Kataoka M., Shimizu S., *Biosci. Biotech. Bioch.* **2000**, 64, 1430-1436; (e) Zhu D., Ankati H., Mukherjee C., Yang Y., Biehl E. R., Hua L., *Org. Lett.* **2007**, 9, 2561-2563.
- ¹³³ (a) Kita K., Fukura T., Nakase K. I., Okamoto K., Yanase H., Kataoka M., Shimizu S., *Appl. Environ. Microb.* **1999**, 65, 5207-5211; (b) Zhu D., Yang Y., Buynak J. D., Hua L., *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 2690-2695.
- ¹³⁴ (a) Gröger H., Chamouleau F., Orologas N., Rollmann C., Drauz K., Hummel W., Weckbecker A., May O., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, 45, 5677-5681; (b) Pollard D., Truppo M., Pollard J., Chen C., Moore J., *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, 17, 554-559.
- ¹³⁵ (a) Pfruender H., Amidjojo M., Kragl U., Weuster-Botz D., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, 43, 4529-4531; (b) Groger H., Rollmann C., Chamouleau F., Sebastian I., May O., Wienand W., Drauz K., *Adv. Synth. Catal.* **2007**, 349, 709-712; (c) Krausser M., Hummel W., Groger H., *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 5175-5179; (d) Gelo-Pujic M., Le Guyader F., Schlama T., *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, 17, 2000-2005; (e) Bisel P., Walter L., Nieger M., Hummel W., Müller M., *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, 18, 1142-1144.
- ¹³⁶ Fischer T., Pietruszka J., *Adv. Synth. Catal.* **2007**, 349, 1533-1536.
- ¹³⁷ (a) Kumaraswamy G., Ramesh S., *Green Chem.* **2003**, 5, 306-308; (b) Nagaoka H., *Biotechnol. Progr.* **2004**, 20, 128-133; (c) Utsukihara T., Watanabe S., Tomiyama A., Chai W., Horiuchi C.A., *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2006**, 41, 103-109.
- ¹³⁸ Xie Y., Xu J.H., Lu W.Y., Lin G.Q. *Bioresource Technol.* **2009**, 100, 2463-2468.
- ¹³⁹ (a) Baskar B., Ganesh S., Lokeswari T.S., Chadha A., *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2004**, 27, 13-17; (b) Yadav J.S., Reddy P.T., Nanda S., Rao A.B., *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 3381-3385; (c) Yadav J.S., Nanda S., Reddy P.T., Rao A.B., *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3900-3903; (d) Yadav J. S., Reddy G. S. K. K., Sabitha G., Krishna A.D., Prasad A.R., Rahaman H.U.R., Rao K. V., Rao A.B., *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, 18, 717-723.
- ¹⁴⁰ Barros-Filho B.A., Nunes F. M., da Conceição de Oliveira M. F., Lemos T. L.G., de Mattos M. C., de Gonzalo G., Gotor-Fernández V., Gotor V. J. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2010**, 65, 37-40.
- ¹⁴¹ (a) Carnell A. J., *Adv. Biochem. Eng. Biotech.* **1999**, 63, 57-72; (b) Azerad R., Buisson D., *Curr. Opin. Biotech.* **2000**, 11, 565-571; (c) Patel R. N., *Curr. Opin. Biotech.* **2001**, 12, 587-604; (d) Nakamura K., Matsuda T., Harada T., *Chirality* **2002**, 14, 703-708; (e) Gruber C. C., Lavandera I., Faber K., Kroutil W., *Adv. Synth. Catal.* **2006**, 348, 1789-1805.
- ¹⁴² (a) Adair G. R. A., Williams J. M. J., *Chem. Commun. (Cambridge)* **2005**, 5578-5579; (b) Shimada Y., Miyake Y., Matsuzawa H., Nishibayashi Y., *Chem. Asian J.* **2007**, 2, 393-396; (c) Garrett C. E., Prasad K., *Adv. Synth. Catal.* **2004**, 346, 889-900.
- ¹⁴³ (a) Wu X., Xin J., Zhu L., Branford-White C., Sun W., Xu J., Xia C., *Lett. Org. Chem.* **2008**, 5, 672-675; (b) Vijayanthi T., Chadha A., *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, 18, 1077-1084; (c) Utsukihara T., Misumi O., Nakajima K., Koshimura M., Kuniyoshi M., Kuroiwa T., Horiuchi C. A., *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2008**, 51, 19-23; (d) Chen L. S., Mantovani S. M., de Oliveira L. G., Duarte M. C. T., Marzaioli A. J., *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2008**, 54, 50-54; (e) Titu D., Chadha A., *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2008**, 52-53, 168-172; (f) Titu D., Chadha A., *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, 19, 1698-1701; (g) Nie Y., Xu Y., Hu Q. S., Xiao R., *J. Microbiol. Biotech.* **2009**, 19, 65-71; (h) Hummel W., Riebel B., *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1996**, 799, 713-716; (i) Adam W., Lazarus M., Boss B., Saha-Möller C. R., Humpf H. U., Schreyer P., *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 78417843; (j) Adam W., Lazarus M., Saha-Möller C. R., Schreyer P., *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, 9, 351-355; (k) Tsuchiya S., Miyamoto K., Ohta H., *Biotechnol. Lett.* **1992**, 14, 1137-1142; (l) Shimizu S., Hatori S., Hata H., Yamada H., *Enzyme Microb. Tech.* **1987**, 9, 411-416; (m) Stampfer W., Kosjek B., Moitzi C., Kroutil W., Faber K., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 1014-1017; (n) Stampfer W., Kosjek B., Faber K., Kroutil W., *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 402-406; (o) Edegger K., Gruber C. C., Poessel T. M., Wallner S. R., Lavandera I., Faber K., Niehaus F., Eck J., Oehrlein R., Hafner A., Kroutil W., *Chem. Commun. (Cambridge)* **2006**, 2402-2404.

- ¹⁴⁴ Voss C. V., Gruber C. C., Kroutil W., *Synlett.*, **2010**, *7*, 991–998.
- ¹⁴⁵ (a) Ruble J. C., Fu G. C. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7230–7231; (b) Ruble J. C., Lantham H. A., Fu G. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1492–1493; (c) Fu G. C. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 542–547; (d) Ruble J. C., Tweddell J., Fu G. C. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 2794–2795; (e) Tian S.-K., Chen Y., Hang J., Tang L., McDavid P., Deng L. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 621–631; (f) Bellemin-Laponnaz S., Tweddell J., Ruble J. C., Breitling F. M., Fu G. C. *Chem. Commun.* **2000**, 1009–1010; (g) Harmata M., Kahraman M. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4949–4952; (h) Kawabata Y., Yoshida H., Nagaoka Y., Fuji K. *Chem. Commun.* **2001**, 2700–2701; (i) Kawabata T., Nagato M., Takasu K., Fuji K. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3169–3170; (j) Dalaigh C. O., Hynes S. J., Maher D. J., Connon S. *J. Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 981–984; (k) Dalaigh C. O., Hynes S. J., O'Brien J. E., McCabe T., Mahler D. J., Watson G. W., Connon S. *J. Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2785–2793; (l) Yamada S., Misono T., Iwai Y. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2239–2242; (m) Spivey A. C., Kekner T., Adams H. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8919–8922; (n) Spivey A. C., Fekner T., Spey S. E., Adams H. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9430–9443; (o) Spivey A. C., Fekner T., Spey S. E. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 3154–3159; (p) Spivey A. C., Zhu F., Mitchell M. B., Davey S. G., Jarvest R. L. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7379–7385; (q) Spivey A. C., Leese D. P., Zhu F., Davey S. G., Jarvest R. L. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 4513–4525; (r) Priem G., Anson M. S., Macdonald S. J. F., Pelotier B., Campbell I. B. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 6001–6003; (s) Priem G., Pelotier B., Macdonald S. J. F., Anson M. S., Campbell I. B. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 3844–3848; (t) Kawabata T., Stragies R., Fukaya T., Fuji K. *Chirality* **2003**, *15*, 71–76; (u) Kawabata T., Stragies R., Fukaya T., Nagaoka Y., Schedel H., Fuji K. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1545–1548; (v) Jeong K.-S., Kim S.-H., Park H.-J., Chang K.-J., Kim S. K. *Chem. Lett.* **2002**, 1114–1115; (w) Shaw S. A., Aleman P., Vedejs E. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13368–13369; (x) Diez D., Gil M. J., Moro R. F., Garrido N. M., Marcos I. S., Basabe P., Sanz S., Broughton H. B., Urones J. G. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 2980–2985; (y) Seitzberg J. G., Dissing C., Sotofte I., Norrby P.-A., Johannsen M. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 8332–8337; (z) Poisson T., Penhoat M., Papamicaël C., Dupas G., Dalla V., Marsais F. *Synlett.* **2005**, 2285–2288.
- ¹⁴⁶ (a) Birman V. B., Uffman E. W., Jiang H., Li X., Kilbane C. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12226–12227; (b) Birman V. B., Jiang H., *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3445–3447; (c) Connon S. *J. Lett. Org. Chem.* **2006**, *3*, 333–338.
- ¹⁴⁷ Birman V. B., Z. Han X. Li. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 37–40.
- ¹⁴⁸ (a) Vedejs E., Daugulis O., Diver S. T. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 430–431; (b) Vedejs E., Daugulis O. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5813–5814; (c) Vedejs E., Daugulis O., MacKay J. A., Rozners E., *Synlett.* **2001**, 1499–1505; (d) Vedejs E., Daugulis O. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4166–4173; (e) MacKay J. A., Vedejs E. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 498–503.
- ¹⁴⁹ (a) Kano T., Sasaki K., Maruoka K. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1347–1349; (b) Suzuki Y., Muramatsu K., Yanauchi K., Morie Y., Sato M., *Tetrahedron* **2006**, *62*, 302–310.
- ¹⁵⁰ Yang X., Birman V. B. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1499–1502.
- ¹⁵¹ Notte G. T., Sammiaka T., Steel P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13502–13503.
- ¹⁵² (a) Miller S. J., Copeland G. T., Papaioannou N., Horstmann T. E., Ruel E. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1629–1630; (b) Copeland G. T., Jarvo E. R., Miller S. J. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6784–6785; (c) Jarvo E. R., Copeland G. T., Papaioannou N. Jr., Bonitatebus P. J., Miller S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11638–11643; (d) Copeland G. T., Miller S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6496–6502; (e) Miller S. J. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 601–610; (f) Ishihara K., Kosugi Y., Akakura M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *136*, 12212–12213.
- ¹⁵³ (a) Rendler S., Auer G., Oestreich M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7620–7624; (b) Schmidt D.R., O'Malley S.J., Leighton J.L. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 1190–1191.
- ¹⁵⁴ (a) Noyori R. *Asymmetric Catalysis in Organic Synthesis*; John Wiley & Sons: New York, **1994**; (b) Kagan H. B., Flaud J. C. *Top. Stereochem.* **1988**, *18*, 249–330; (c) Vedejs E., Jure M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 3974–4001.
- ¹⁵⁵ (a) Hashiguchi S., Fujii A., Haak K.-J., Matsumoto K., Ikariya T., Noyori R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1997**, *44*, 288–289; (b) Masutani K., Uchida T., Irie R., Katsuki T. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5119–5123; (c) Radosevich A. T., Musich C., Toste F. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1090–1091; (d) Weng S.-S., Shen M.-W., Kao J.-Q., Munot Y.-S., Chen C.-T. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2006**, *103*, 3522–3527; (e) Arita S., Koike T., Kayaki Y., Ikariya T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 2447–2449 and references therein.
- ¹⁵⁶ (a) Sigman M. S., Jensen D. R. *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 221–229; (b) Jansen D. R., Pugsley J. S., Sigman M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *103*, 7475–7476; (c) Stoltz B. M. *Chem. Lett.* **2004**, *33*, 362–367; (d) Mueller J. A., Jensen D. R., Sigman M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8202–8203; (e) Ferreira E. M., Stoltz B. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7725–7726; (f) Ebner D. C., Bagdanoff J.T., Ferreira E. M., McFadden R. M., Caspi D. D., Trend R. M., Stoltz B. M. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 12978–12992.
- ¹⁵⁷ (a) Li Y. Y., Zhang X., Dong X. R., Shen W. Y., Chen G., Gao J. X. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5565–5567; (b) Nishibayashi Y., Yamauchi A., Onodera G., Uemura S. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 5875–5880; (c) Hashiguchi S., Fujii A., Takehara J., Ikariya T., Noyori R. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7562–7563; (d) Hashiguchi S., Fujii A., Haack K.-J., Matsumura K., Ikariya T., Noyori R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1997**, *36*, 288–290; (e) Nakamura Y., Egami H., Matsumoto K., Uchida T., Katsuki T. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 6383–6387; (f) Arita S., Koike T., Kayaki Y., Ikariya T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2447–2449.
- ¹⁵⁸ (a) Sun W., Wang H., Xia C., Li J., Zhao P. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 1042–1044; (b) Li Z., Tang Z. H., Hu X. X., Xia C. G. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 1210–1216; (c) Sahoo S., Kumar P., Lefebvre F., Halligudi S. B. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 4865–4868.
- ¹⁵⁹ Yamada T., Higano S., Yano T., Yamashita Y. *Chem. Lett.* **2009**, *38*, 40–41.
- ¹⁶⁰ Breuning M., Steiner M., Mehler C., Paasche A., Hein D. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 1407–1410.
- ¹⁶¹ Tomizawa M., Shibuya M., Iwabuchi Y. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1829–1831.
- ¹⁶² (a) Jones J.B., Sih C.J., Perlman D. *Application of biochemical systems in organic chemistry*, New York: Wiley, **1976**; (b) Gong P.F., Wu H.Y., Xu J.H., Shen D., Liu Y.Y. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2002**, *58*, 728–734.
- ¹⁶³ (a) Kamal A., Malik A.S., Ahaik A.A., Azeza S. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 1078–1083; (b) Rodrigues R.C., Fernandez-Lafuente R. J. *Mol. Catal. B: Enzym.* **2010**, *64*, 1–22.
- ¹⁶⁴ (a) Koul S., Koul J.L., Singh B., Kapoer M., Parshad R., Monhas K.S., Taneja S.C., Qazi G.N. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 2575–2591; (b) Hatzakis N.S., Smonou I. *Bioorg. Chem.* **2005**, *33*, 325–337.
- ¹⁶⁵ Bakker M., Spruijt A. S., van Rantwijk F., Sheldon R. A. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 1801–1808.
- ¹⁶⁶ (a) MacManus D. A., Vulfson E. N., *Enzyme Microb. Technol.* **1997**, *20*, 225–228; (b) Rubio E., Fernandez-Mayoralas A., Klibanov A. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 695–696; (c) Gross R.A., Kumar A., Kalra B. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2097–2124.
- ¹⁶⁷ (a) Gotor V. *Biocatal. Biotransform.* **2000**, *18*, 87–103; (b) Santaniello E., Ferraboschi P., Grisenti P. *Enzyme. Microb. Technol.* **1993**, *15*, 367–382.
- ¹⁶⁸ Kirchner G., Scollar M.P., Klibanov A.M. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 7072–7076.
- ¹⁶⁹ Ghogare A., Kumar G.S. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1533–1535.
- ¹⁷⁰ Oehrner N., Martinelle M., Mattson A., Norin T., Hult K. *Biocatalysis* **1994**, *9*, 105–114.

- ¹⁷¹ (a) Bianchi D., Cesti P., Battistel E. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5531–5534; (b) Bouzemi N., Debbeche H., Aribi-Azouieche L., Fiaud J.C., *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 627–630.
- ¹⁷² Wang Y.F., Lalonde J.J., Momongan M., Bergbreiter D.E., Wong C.H. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7200–7205.
- ¹⁷³ Kazlauskas R.J., Weissfloch A.N.E., Rappaport A.T., Cuccia L.A. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2656–2665.
- ¹⁷⁴ Gotor-Fernández V., Brieva R., Gotor V. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2006**, *40*, 111–120.
- ¹⁷⁵ (a) Kazlauskas R.J., Weissfloch A.N.E., Rappaport A.T., Cuccia L.A. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 2656–2665; (b) Rotticci D., Haefner F., Orrenius C., Norin T., Hult K. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **1998**, *5*, 267–272; (c) Hwang B.Y., Scheib H., Pleiss J., Kim B.G., Schmid R.D. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2000**, *10*, 223–231; (d) Schulz T., Pleiss J., Schmid R.D. *Protein Sci.* **2000**, *9*, 1053–1062.
- ¹⁷⁶ (a) Ottosson J., Fransson L., King J.W., Hult K. *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1594*, 325–334; (b) Ducret A., Trani M., Lortie R. *Enzyme Microbial. Technol.* **1998**, *22*, 212–216; (c) Wehtje E., Costes D., Adlercreutz P. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **1997**, *3*, 221–230.
- ¹⁷⁷ (a) Jönsson A., Wehtje E., Adlercreutz P., Mattiasson B. *Biochim. Biophys. Acta* **1999**, *1430*, 313–322; (b) Léonard V., Fransson L., Lamare S., Hult K., Graber M. *ChemBiochem.* **2007**, *8*, 662–667; (c) Léonard-Nevers V., Marton Z., Lamare S., Hult K., Graber M. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2009**, *59*, 90–95.
- ¹⁷⁸ (a) Phillips R.S. *Enzyme Microbial. Technol.* **1992**, *14*, 417–419; (b) Phillips R.S. *Trends Biotechnol.* **1996**, *14*, 13–16; (c) Palomo J.M., Segura R. L., Fernandez-Lorente G., Guisán J. M., Fernández-Lafuente R. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 1157–1161; (d) Palomo J.M., Segura R. L., Mateo C., Terreni M., Guisán J.M., Fernández-Lafuente R. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 869–874; (e) Palomo J.M., Fernández-Lorente G., Mateo C., Fuentes M., Fernández-Lafuente R., Guisán J.M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 1337–1345; (f) Palomo J.M., Fernández-Lorente G., Guisán J. M., Fernández-Lafuente R. *Adv. Synth.Catal.* **2007**, *349*, 1119–1127; (g) Torres R., Ortiz C., Pessela B.C.C., Palomo J.M., Mateo C., Guisán J. M., Fernández-Lafuente R. *Enzyme Microb. Technol.* **2006**, *39*, 167–171.
- ¹⁷⁹ (a) Guisán J.M. *Enzyme Microb. Technol.* **1988**, *10*, 375–382; (b) Blanco R. M., Calvete J. J., Guisán J.M. *Enzyme Microb. Technol.* **1988**, *11*, 353–359.
- ¹⁸⁰ (a) Pierre A.C. *Biocatal. Biotransfor.* **2004**, *22*, 145–170; (b) Prabhavathi Devi B. L. A., Guo Z., Xu X. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **2009**, *86*, 637–642.
- ¹⁸¹ Fernandez-Lafuente R., Armisen P., Sabuquillo P., Fernández-Lorente G., Guisán J. M. *Chem. Phys. Lipids* **1998**, *93*, 185–197.
- ¹⁸² Rasalkar M. S., Potdar M. K., Salunkhe M.M. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2004**, *27*, 267–270.
- ¹⁸³ Itoh T., Akasaki E., Kudo K., Shirakami S. *Chem. Lett.* **2001**, *30*, 262–264.
- ¹⁸⁴ (a) Sheldon R.A., van Rantwijk F., Lau R.M. *Biotransformations in ionic liquids: an overview, in: Ionic Liquids as Green Solvents: Progress and Prospects*, Proceedings of ACS Symposium Series 856, American Chemical Society, Washington, DC, **2003**, 192–261; (b) Schöfer S.H., Kaftzik N., Wasserscheid P., Kragl U. *Chem. Commun.* **2001**, 425–426.
- ¹⁸⁵ Kim K.-W., Song B., Choi M.-Y., Kim M.-J. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1507–1509.
- ¹⁸⁶ (a) Murray J. K., Gellman S. H. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1517–1520; (b) Gorske B. C., Jewell S. A., Guerard E. J., Blackwell H. E. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1521–1524; (c) Matsushita T., Hinou H., Fumoto M., Kurogochi M., Fujitani N., Shimizu H., Nishimura S.-I. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3051–3063; (d) Bejugam M., Flitsch S. L. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4001–4004.
- ¹⁸⁷ (a) Parker M.-C., Besson T., Lamare S., Legoy M.-D. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8383–8386; (b) Lin G., Lin W.-Y. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 4333–4336; (c) Carrillo-Munoz J.-R., Bouvet D., Guibe-Jampel E., Loupy A., Petit A. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7746–7749; (d) Leadbeater N. E., Stencl L. M., Wood E. C. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1052–1056.
- ¹⁸⁸ Bachu P., Gibson J.S., Sperry J., Brimble M.A. *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1618–1624.
- ¹⁸⁹ (a) McLaughlin N.P., Butler E., Evans P., Bruntan N.P., Koidis A., Rai D.K. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 9681–9687; (b) Batwal R. U., Patel R. M., Argade N. P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 173–177; (c) Monterde M., Brieva R., Gotor V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 1091–1096; (d) de Gonzalo G., Brieva R., Sanchez V.M., Bayod M., Gotor V. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 3333–3336; (e) Blaschke G., Hempel G., Muller W. *Chirality* **1993**, *5*, 419–421; (f) Fernandez-Solares L., Diaz M., Brieva R., Sanchez V.M., Bayod M., Gotor V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, *13*, 2577–2582.
- ¹⁹⁰ Brem J., Tosa M.-I., Paizs C., Munceanu A., Matkovic-Calogovic D., Irimie F.-D. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 1993–1998.
- ¹⁹¹ Bencze L. C., Paizs C., Tosa M. I., Trif M., Irimie F. D. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 1999–2004.
- ¹⁹² Larsson A. L. E., Persson B. A., Backvall J. E. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1211–1212.
- ¹⁹³ Haak R., Berthiol F., Jerphagnon T., Gayet A.J.A., Tarabiono C., Postema C.P., Ritzel V., Pfeffer M., Janssen D.B., Minnaard A.J., Feringa B.L., de Vries J.G. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13508–13509.
- ¹⁹⁴ Krumlind P., Bogar K., Backvall J.-E. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 7407–7410.
- ¹⁹⁵ Kim M.-J., Choi Y.K., Kim S., Kim D., Han K., Ko S.-B., Park J. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1295–1298.
- ¹⁹⁶ Traff A., Bogar K., Warner M., Backvall J.-E. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4807–4810.
- ¹⁹⁷ Mavrynsky D., Päiviö M., Lundell K., Sillanpää R., Kanerva L.T., Leino R. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 1317–1320.
- ¹⁹⁸ Eckert M., Brethon A., Li Y.-X., Sheldon R.A., Arends I.W.C.E. *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 2603–2609.
- ¹⁹⁹ Cheng Y., Xu G., Wu J., Zhang C., Yang L. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2366–2369 and references cited herein.
- ²⁰⁰ (a) Wuyts S., De Temmerman K., de Vos D., Jacobs P. A. *Chem. Commun.* **2003**, 1928–1929; (b) Wuyts S., De Temmerman K., de Vos D., Jacobs P. A. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 386–397; (c) Zhu Y., Fow K. L., Chuah G. K., Jaenicke, S. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 541–547; (b) Khan N.H., Ansari M.B., Prasetyanto E.A., Jin H., Park S.-E. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 117–123.
- ²⁰¹ Do Y., Hwang I.-C., Kim M.-J., Park J. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 5740–5742.
- ²⁰² Nishio, K., Fukuhara, A., Omata, Y., Saito, Y., Yamaguchi, S., Kato, H., Yoshida, Y., Niki, E. *Bioorgan. Med. Chem.* **2008**, *16*, 10332–10337.
- ²⁰³ Huang, Q.-Q., Huang, M., Nan, F.-J., Ye, Q.-Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 5386–5391.
- ²⁰⁴ (a) Toşa M.I., Pilbák S., Moldovan P., Paizs C., Szatzker G., Szakács G., Novák L., Irimie F. D., Poppe L. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 1844–1852; (b) Paizs C., Toşa M.I., Bódai V., Szakács G., Kmezc I., Simándi B., Novák L., Irimie F.D., Poppe L. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 1943–1949.
- ²⁰⁵ Podea P. V., Toşa M. I., Paizs C., Irimie F. D. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2008**, *19*, 500–511.
- ²⁰⁶ Silvestri R., Artico M., La Regina G., Di Pasquali A., De Martino G. D’Auria F. D. Nencioni L. Palamara A. T. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3924–3926.
- ²⁰⁷ La Regina G., D’Auria F. D., Tafi A., Piscitelli F., Olla S., Caporuscio F., Nencioni L., Cirilli R., La Torre F., De Melo N. R., Kelly S. L., Lamb D. C., Artico M., Botta M., Palamara A. T., Silvestri R. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 3841–3855.
- ²⁰⁸ Lo M. M.-C., Fu G.C. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 2621–2634.
- ²⁰⁹ (a) Raju S.B., Chiou T.-W., Tai D.-F. *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *7*, 1519–1520; (b) Liu H.-L., Hoff B.H., Anthonsen T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 1767–1769.

- ²¹⁰ (a) Schneider M.P., Goergens U. *Tetrahedron :Asymmetry* **1992**, *3*, 525-528 (b) Baldaro E., D'Arrigo P., Pedrocchi- Fantoni G., Rosell C.M., Servi S., Tagliani A., Terreni M. *Tetrahedron:Asymmetry* **1993**, *4*, 1031-1034; (c) Zheng G.-W., Yu H.-L., Zhang J.-D., Xu J.-H. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 405-414.
- ²¹¹ Choi J.H., Choi Y.K., Kim Y.H., Park E. S., Kim E. J., Kim M.-J., Park J. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 1972-1977.
- ²¹² Fronza G., Fuganti C., Grasselli P., Mele A. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6019-6023.
- ²¹³ Hage A., Petra D.G.I., Field J.A., Schipper D., Wijnberg J.B.P.A., Kamer P.C.J., Reek J.N.H., van Leeuwen P.W.N.M. Wever R., Schoemaker H.E. *Tetrahedron:Asymmetry* **2001**, *12*, 1025- 1034.
- ²¹⁴ Allan G. R., Carnell A.J. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6495-6497.
- ²¹⁵ Soai K., Niwa S., Yamanoi T., Hikima H., Ishizaki M. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1986**, *13*, 1018-1019.
- ²¹⁶ York B. M. Jr PCT Int. Appl. US-, **1989**, 4864028
- ²¹⁷ (a) Freedman T. B., Cao X., Dukor R. K., Nafie L. A. *Chirality* **2003**, *15*, 743-758; (b) Stephens P. J., Devlin F. J., Pan J. J. *Chirality* **2008**, *20*, 643-663.
- ²¹⁸ Jing Q., Kazlauskas R. J. *Chirality* **2008**, *20*, 724-735.
- ²¹⁹ (a) Nagy V., Tóke E. R., Keong L. C., Sztatzker G., Ibrahim D., Omar I. C.; Szakács G., Poppe L. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2006**, *39*, 141-148; (b) Bosch B., Meissner R., Berendes F., Rainhard K. US Patent; **2005**; 0153404A1.
- ²²⁰ Ohtani I., Kusumi, T., Kashman Y., Kakisawa H. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4092-4096.
- ²²¹ (a) Dale J. A., Mosher H. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 512- 519; (b) Sullivan G. R., Dale J. A., Mosher H. S. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 2143; (c) Merckx E. M., Vanhoeck L., Lepoivre J. A., Alderweireld F. C., Van Der Veken B. J., Tollenaere J. P., Raymaekers L. A. *Spectr: Int. J.* **1983**, *2*, 30; (d) Doesburg H. M., Petit G. H., Merckx E. M. *Acta Crystallogr.* **1982**, *B38*, 1181; (e) Oh S. S., Butler W. H., Koreeda M. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4499.
- ²²² Menche D. , Hassfeld J., Li J., Rudolph S. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6100-6101.
- ²²³ Chen C.S., Fujimoto Y., Girdaukas G., Sih C. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 7294-7299.
- ²²⁴ Olavi P., Virtanen I., Malo H., Ruotsalainen H. *Suomen. Kemistilehti. B* **1970**, *43*, 512-516.
- ²²⁵ Trahanovsky W. S., Fox N. S. *J. Am. Chem.Soc.* **1974**, *96*, 7968-7974.
- ²²⁶ Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Montgomery J. A. Jr., Vreven T., Kudin K. N., Burant J. C., Millam J. M., Iyengar S. S., Tomasi J., Barone, V., Mennucci B., Cossi M., Scalmani G., Rega N., Petersson G. A., Nakatsuji H., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Klene M., Li X., Knox J. E., Hratchian H. P., Cross J. B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R. E., Yazyev O., Austin A. J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J. W., Ayala P. Y., Morokuma K., Voth G. A., Salvador P., Dannenberg J. J., Zakrzewski V. G., Dapprich S., Daniels A. D., Strain M. C., Farkas O., Malick D. K., Rabuck A. D., Raghavachari K., Foresman J. B., Ortiz J. V., Cui Q., Baboul A. G., Clifford S., Cioslowski J., Stefanov B. B., Liu G., Liashenko A., Piskorz P., Komaromi I., Martin R. L., Fox D. J., Keith T., Al Laham M. A., Peng C. Y., Nanayakkara A., Challacombe M., Gill P. M. W., Johnson B., Chen W., Wong M. W., Gonzalez C., Pople J. A. *Gaussian 03, Revision E.01*; Gaussian Inc.: Wallingford CT, **2004**.

Lista de lucrări

1. Pop L.A., Czompa A., Paizs C., Tosa M.I., Vass E., Mátyus P., Irimie F.D., Lipase-Catalyzed Synthesis of Both Enantiomers of 3-Chloro-1-arylpropan-1-ols, *Synthesis-Stuttgart*, **2011**, 2921-2928.
2. Pop L.A., Biocatalytic preparation of enantiopure 2-amino-3-(5-aryl-furan-2-yl) propanoic acids, *Stud. Univ. Babes-Bol.*, manuscris acceptat.
3. Pop L., Lassalas P., Bencze C. Tosa M. I., Irimie F. D., Hoarau C., *Enzymatic resolution-mediated preparation of 2-Hydroxymethylthiazoles*, manuscris