

Ферментативный синтез фосфорорганических соединений

О.И.Колодяжный

*Институт биоорганической химии и нефтехимии Национальной академии наук Украины
02094 Киев, ул. Мурманская, 1, Украина, факс +38(044)573–2552*

Обобщены и систематизированы данные по биокаталитическим методам получения хиральных фосфорорганических соединений. Обсуждены различные примеры ферментативного и микробиологического синтеза гидрокси-фосфонатов, аминоксифосфонатов, фосфинитов, фосфиноксидов и третичных фосфинов.

Библиография — 154 ссылки.

Оглавление

I. Введение	921
II. Ферментативный синтез фосфорорганических соединений	922
III. Микробиологический синтез хиральных фосфорорганических соединений	942
IV. Заключение	946

I. Введение

Ферментативный катализ (биокатализ) находит все более широкое применение в органической химии, в том числе в синтезе оптически активных соединений.^{1–11} Например, в присутствии липаз получают хиральные соединения самого разнообразного строения, причем не только в лаборатории, но и в промышленности.⁸ Большое преимущество биокатализатора состоит в том, что его можно подобрать практически для любого типа органической реакции.

Существует два подхода к использованию биореагентов в органическом синтезе. В первом подходе в качестве катализаторов химических реакций выступают ферменты, выделенные из живых организмов, во втором — микроорганизмы, которые размножаются непосредственно в реакционной среде и выделяют в нее ферменты. В последние годы более широкое распространение получил первый подход, поскольку применение выделенных ферментов удобнее в практическом плане и такие катализаторы стали коммерчески доступными реагентами.

Если 20–30 лет назад ферменты использовались для синтеза соединений, содержащих в своем составе только атомы С, Н, N и О, то сейчас с их помощью получают и элементоорганические соединения, в том числе фосфорорганические (ФОС).^{12–15} Сначала биокаталитическим путем

синтезировали оптически активные гидрокси-фосфонаты, а затем стали получать α - и β -аминофосфонаты, а также производные фосфинистых кислот, третичные фосфины и фосфиноксиды. Хиральные ФОС, содержащие стереогенный атом фосфора, нашли применение в различных областях науки и промышленности — биологии, фармакологии, асимметрическом катализе и др.¹²

Систематические исследования биосинтеза соединений со связью С—Р были начаты Хаммершмидтом¹⁶ в 1988 г. В это же время Натчев¹⁷ в открытой печати сообщил об использовании биокатализа для получения ряда фосфорных аналогов L-аминокислот и пептидов, в частности о ферментативном синтезе D- и L-фосфинотрицина (2-амино-4-гидрокси-метилфосфинилбутановой кислоты, Pht) и природного антибиотика — трипептида биалафос (L-Pht-Ala-Ala). Сведения о ферментативном и микробиологическом разделении рацемических фосфоновых кислот можно найти в патентах^{18,19}, зарегистрированных в первой половине 80-х гг. прошлого века.

В настоящее время биокатализ является одним из наиболее удобных методов синтеза хиральных фосфорорганических соединений. Исследования в данном направлении становятся все более интенсивными, накоплен большой экспериментальный материал. Полученные результаты представляются достаточно интересными и требуют обобщения, что стало причиной появления настоящего обзора. Отметим, что, несмотря на большое количество обзоров и монографий, посвященных применению биокатализа в общем органическом синтезе (см., например,^{1–11}), аналогичные обзоры для элементоорганических соединений отсутствуют. В настоящей работе впервые систематизированы и проанализированы известные данные о биокаталитических методах получения хиральных ФОС. Ранее были опубликованы работы, обобщавшие собственные исследования авторов, среди которых следует отметить обзоры Миколайчика и Кельбасинского,^{13,14} а также Кафарского с соавт.¹⁵

О.И.Колодяжный. Доктор химических наук, профессор, заведующий отделом химии физиологически активных соединений фосфора ИБОНХ НАН Украины. Телефон: +38(044)573–2555; e-mail: olegkol321@rambler.ru

Область научных интересов: органический синтез, фосфорорганическая химия, асимметрический синтез, стереоселективные реакции, биологически активные соединения.

Дата поступления 9 июня 2010 г.

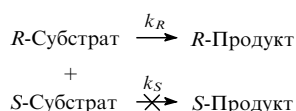
II. Ферментативный синтез фосфорорганических соединений

Основной проблемой при проведении ферментативных реакций с участием ФОС является недостаточная растворимость большинства исходных соединений в воде. Кроме того, многие ФОС неустойчивы в водных растворах. Поэтому синтез таких хиральных соединений, как правило, проводят в органических растворителях.^{7, 20, 21}

Известно несколько способов введения ферментов в органические среды: в лиофилизированном состоянии, в иммобилизованном виде (носитель — керамика либо органический полимер) или диспергированием в растворе (путем образования ковалентных фермент-полимерных комплексов или создания микроэмульсий с поверхностно-активными веществами (ПАВ)).^{22, 23} Многие липазы сохраняют активность в органических растворителях, что позволяет использовать их для получения хиральных ФОС.²⁴

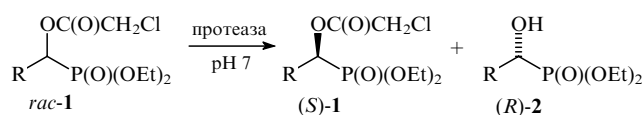
1. Кинетическое разделение гидроксифосфонатов

Разделение функционализированных рацемических фосфонатов на энантиомеры при помощи биокатализаторов обычно проводят в условиях кинетического контроля.^{24, 25} Кинетическое разделение возможно, если *R*- и *S*-энантиомеры реагируют с хиральным реагентом с различными скоростями, например:



В идеальном случае, если в реакцию вступает только *R*-энантиомер ($k_S = 0$), в результате образуется смесь непрореагировавшего исходного соединения (50%) и полученного из *R*-энантиомера продукта (50%). Этот метод позволяет легко выделить оба энантиомера при использовании одного фермента.

Например, при гидролизе ацилированного рацемического гидроксифосфоната **1** в присутствии протеазы Chirazyme® P-2 в фосфатном буфере (pH 7) образуется преимущественно гидроксифосфонат (*R*)-**2**, а ацилоксифосфонат (*S*)-**1** остается непрореагировавшим. Далее эти соединения разделяют при помощи хроматографии и после гидролиза ацильной группы получают оба оптических антипода гидроксифосфоната — (*R*)-**2** и (*S*)-**2** — в энантиомерно чистом состоянии.²²



Протеаза — Chirazyme® P-2; R = *n*-C₅H₁₁, *n*-C₉H₁₉, cyclo-C₆H₁₁CH₂CH₂.

Обычные характеристики энантиоселективности недостаточно полно характеризуют ферментативные реакции, поскольку часто такие процессы обратимы. Были предложены специальные уравнения для описания фактора энантиоселективности (*E*) биокаталитических реакций, учитывающие величины энантиомерных избытков (*ee*) продукта биопревращения (*ee_p*) и непрореагировавшего субстрата (*ee_s*), а также степень конверсии (*c*).²⁵ Для обратимой ферментативной реакции (*K* — константа равновесия):

$$E = \frac{\ln[1 - (1 + K)c(1 + ee_p)]}{\ln[1 - (1 + K)c(1 - ee_p)]} = \frac{\ln[1 - (1 + K)(c + ee_s(1 - c))]}{\ln[1 - (1 + K)(c - ee_s(1 - c))]}.$$

Если реакция необратима или обратная реакция незначительна ($K \cong 0$), то уравнение упрощается:

$$E = \frac{\ln[1 - c(1 + ee_p)]}{\ln[1 - c(1 - ee_p)]} = \frac{\ln[(1 - c)(1 - ee_s)]}{\ln[(1 - c)(1 + ee_s)]},$$

где

$$c = \frac{ee_s}{ee_s + ee_p}.$$

Таким образом, чтобы вычислить величину *E*, нужно измерить две из трех переменных: *ee_s*, *ee_p* и *c*. В неселективной реакции *E* = 1, а значение *E* > 20 является минимальным для успешного разделения энантиомеров.⁴

Для определения того, какой из двух энантиомеров рацемической смеси вступает в реакцию переэтерификации быстрее, и предсказания абсолютной конфигурации образующихся продуктов применяют правило Казлаускаса.²⁶ Эта простая эмпирическая модель представляет собой расширенное правило Прелога, которое основано на допущении, что энантиоселективность пропорциональна различию в размерах между большим (L) и средним (M) заместителями в субстрате. В соответствии с правилом Казлаускаса, эти заместители располагаются в двух различных карманах активного центра на поверхности фермента согласно их размеру, что и определяет абсолютную конфигурацию продукта ферментативной реакции (рис. 1).^{24–29}

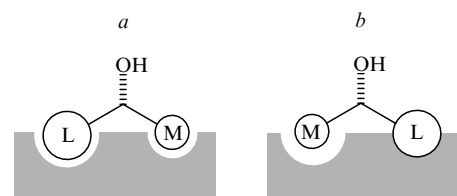


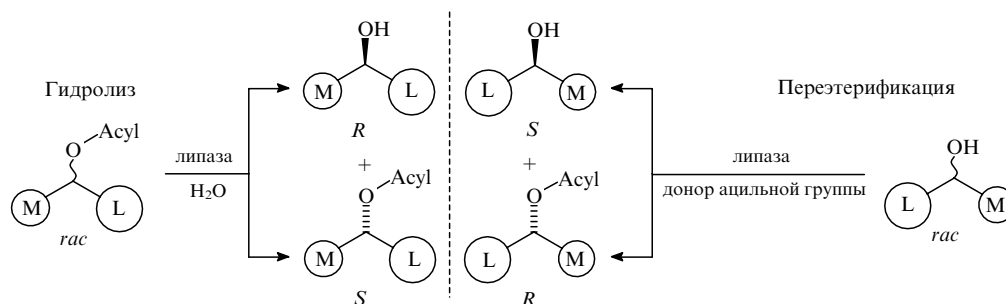
Рис. 1. Выгодный (a) и невыгодный (b) энантиомеры гидроксифосфонатов (L = (*R*)-(RO)₂P(O)(CH₂)_nCH; *n* = 0, 1), согласно правилу Казлаускаса.

При разделении вторичных спиртов ферментативные реакции гидролиза сложных эфиров и переэтерификации могут дополнять друг друга. На схеме 1 показана симметрия обоих процессов согласно правилу Казлаускаса.²⁴

Аналогичная стереопредпочтительность наблюдается и для эфиров гидроксифосфоновых кислот. В α-гидроксифосфонатах (RO)₂P(O)CH(OH)R' за заместитель большего размера обычно принимают фосфоновую группу, а среднего размера — заместитель R'. В этом случае переэтерификации подвергается (*S*)-гидроксифосфонат, а не реагирует (*R*)-гидроксифосфонат. Соответственно, гидролиз рацемического α-ацилоксифосфоната приводит к образованию (*S*)-гидроксифосфоната, а в смеси остается (*R*)-ацилоксифосфонат.

В случае β-гидроксифосфонатов (RO)₂P(O)CH₂CH(OH)R' заместителем L считается фрагмент (RO)₂P(O)CH₂, а заместителем M — группа R'. Так как при этом меняется порядок старшинства заместителей у асимметрического центра, в реакцию переэтерификации вступает (*R*)-гидроксифосфонат,

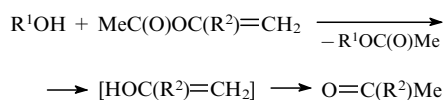
Схема 1



а (*S*)-гидроксифосфонат не реагирует. И соответственно, при гидролизе β -ацилоксифосфонатов расходуется *R*-энантиомер и образуется (*R*)-гидроксифосфонат, а (*S*)-ацилфосфонат остается неизменным. Такая стереонаправленность для реакций α - и β -гидроксифосфонатов наблюдается в большинстве случаев, хотя иногда биокаталитические процессы с участием гидроксифосфонатов идут «против» правила Казлаускаса.²⁸ Последнее в настоящее время широко используется как удобное эмпирическое правило для предсказания стереохимии продуктов, образующихся в результате ферментативного разделения вторичных спиртов и аминов.^{27–30}

а. Разделение α -гидроксифосфонатов биокаталитической перестерификацией

Разделение рацематов с помощью липаз — один из наиболее удобных методов получения энантиомерно чистых соединений. В случае α -гидроксифосфонатов обычно используют реакцию биокаталитической перестерификации в органических растворителях.^{30–39} Для кинетического разделения в реакцию вводят различные доноры ацильной группы: этилацетат, этилхлорацетат, этилбензоат, *n*-хлорфенилацетат, винилацетат или изопропенилацетат. Поскольку биокаталитические реакции перестерификации — гидролиза обратимы, а один и тот же фермент может катализировать как прямую, так и обратную реакции, лучшими ацилирующими реагентами считаются винилацетат и изопропенилацетат. Из винилацетата образуется виниловый спирт, превращающийся в результате keto-енольной таутомерии в уксусный альдегид, а из изопропенилацетата — ацетон, и процесс становится необратимым.



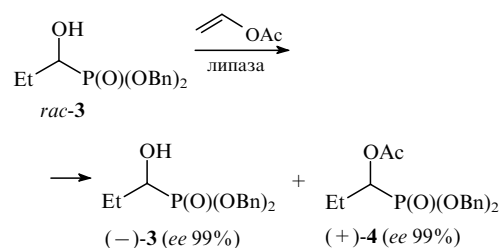
$\text{R}^1 = \text{Alk}; \text{R}^2 = \text{H, Me.}$

В этих случаях перестерификация протекает намного быстрее по сравнению с реакциями свободных карбоновых кислот или таких сложных эфиров, как этилацетат.³⁶

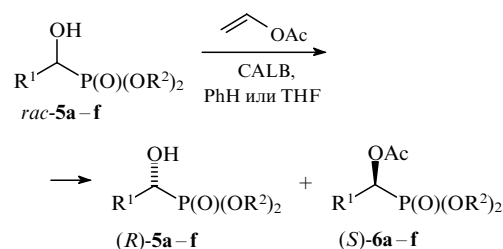
В отличие от результатов асимметрического синтеза с помощью кинетического разделения можно получить необходимый энантиомер только с выходом 50%, так как реакцию проводят до 50%-ной степени превращения.^{21–24} Чтобы увеличить выход необходимого энантиомера, используют динамическое кинетическое разделение (см. раздел I.3).^{30–35}

Куши и соавт.³⁷ разделили энантиомеры гидроксиалкилфосфонатов в присутствии липаз, выделенных из бактерий

Bacillus brevis, *Pseudomonas fluorescens* и *P. putida*. Процесс проводили в диизопропиловом эфире, используя винилацетат как донор ацильной группы. Энантиоселективная перестерификация дибензил-1-гидроксипропилфосфоната (**3**) винилацетатом, катализируемая *P. fluorescens*, привела к правовращающему ацилфосфонату (+)-**4** и непрореагировавшему левовращающему гидроксифосфонату (–)-**3** с ее 99% для обоих продуктов. Энантиомерно чистый спирт (–)-**3** был получен с выходом 82% (в пересчете на вступивший в реакцию субстрат).



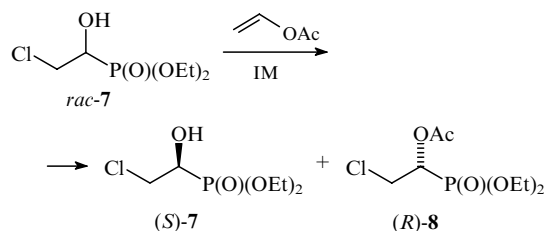
Применение ферментативных реакций значительно упростилось, когда стала коммерчески доступной липаза В из *Candida antarctica* (CALB) и были разработаны условия для реакций с ее участием.³³ Например, авторы работы³² в присутствии CALB ацетилировали рацемические гидроксифосфонаты **5a–f** до соответствующих *S*-ацетатов и после хроматографирования получили оптически чистые спирты (*R*)-**5a–f** и ацетаты (*S*)-**6a–f** с выходами ~50% (табл. 1). Абсолютная конфигурация продуктов реакции согласуется с правилом Казлаускаса, если фосфовую группу считать заместителем L при асимметрическом центре, а алкильную группу — заместителем M.



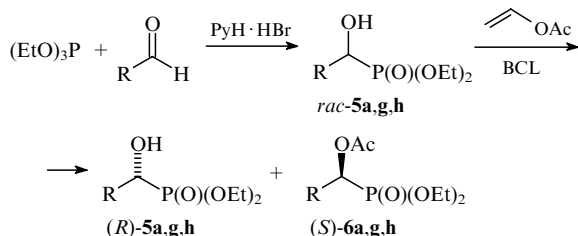
Среди липаз, использованных для разделения диэтил-1-гидрокси-2-хлорэтилфосфоната (**7**), наиболее высокую стереоселективность показала липаза из *Mucor miehei* (IM), однако скорость перестерификации была невысока. Так, в реакции гидроксифосфоната **7** с винилацетатом в безводном диизопропиловом эфире при 30°C продукт ацилирования (*S*)-**8** образуется с выходом 50% в течение недели.⁴⁰

Таблица 1. Ацетилирование гидроксифосфонатов **5a–f** в присутствии CALB.³²

Соединение	R	R'	Время, ч	(R)-5		(S)-6	
				выход, %	ee, %	выход, %	ee, %
a	Me	Et	30	43	95	44	95
b	Me	Pr ⁱ	30	42	95	43	95
c	Et	Me	48	50	50.8	31	95
d	Et	Et	50	47	79.7	41	95
e	CH ₂ =CH	Et	30	41	95	40	95
f	CH ₂ =CH	Pr ⁱ	30	43	95	40	95



Эффективным биокатализатором разделения рацемических α -гидроксифосфонатов является также липаза, выделенная из микроорганизма *Burkholderia cepacia* (BCL).³⁸ Так, в присутствии этой липазы винилацетат этерифицирует только *S*-энантиомер гидроксифосфонатов **5a,g,h**, полученных реакцией триэтилфосфита с альдегидами в присутствии бромид пиридиния.³⁹ В результате образуются эквимольные смеси соответствующих α -ацилфосфонатов и гидроксифосфонатов, которые были разделены колоночной хроматографией.³⁸



R = Me (**a**), Prⁿ (**g**), n-C₅H₁₁ (**h**).

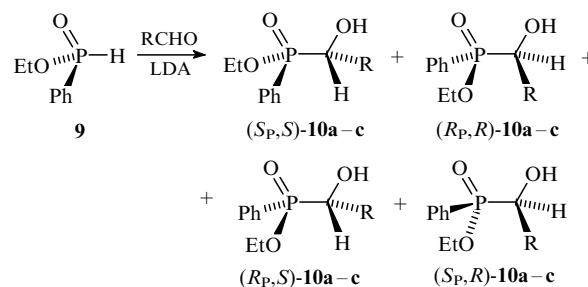
Установлено, что скорость переэтерификации и оптическая чистота продуктов мало зависят от применяемого растворителя (ТГФ, толуол, винилацетат), но сильно зависят от температуры и количества липазы. При повышении температуры до 40 и 60°C скорость реакции увеличивалась в ~1.5 и ~2 раза соответственно. Время достижения 50%-ной конверсии α -гидроксифосфонатов, т.е. полная этерификация *S*-энантиомера, уменьшалось при увеличении количества биокатализатора. Например, для соединения **5a** в ТГФ при 20°C время 50%-ной конверсии в зависимости от соотношения по массе гидроксифосфонат:липаза изменялось следующим образом:

Соотношение	1:0.05	1:0.1	1:0.2	1:0.5	1:1
Время, ч	48	36	24	16	12

Время превращения соединений **5a,g,h** в ТГФ сокращалось с увеличением длины алкильного заместителя и состав-

ляло 12 и 60 ч при 25°C для соединений **5a,g**, 300 ч при 45°C для гидроксифосфоната **5h**. Оптическая чистота продуктов (*R*)-**5a,g,h** и (*S*)-**6a,g,h** была не ниже 99%, что установлено методом ЯМР ³¹P с использованием хирального сольватирующего реагента цинхонидина⁴¹ и дериватизацией кислотой Мошера ((*R*)-(+)- α -метокси- α -трифторметилфенилуксусной кислотой).⁴²

В работе⁴³ описано кинетическое разделение диастереомеров в присутствии липаз CAL (иммобилизованной липазы из *Candida antarctica*, Chirazyme L-2) и Amano AK (иммобилизованной липазы из *Pseudomonas fluorescens*).[†] Сначала из этилфенилфосфината **9** реакцией с альдегидами получили рацемические фосфинаты **10a–c**, содержащие два стереоцентра. Кристаллизацией их разделили на основной продукт (диастереомеры (*S_p*,*S*)-**10** и (*R_p*,*R*)-**10**) и побочный (диастереомеры (*R_p*,*S*)-**10** и (*S_p*,*R*)-**10**).



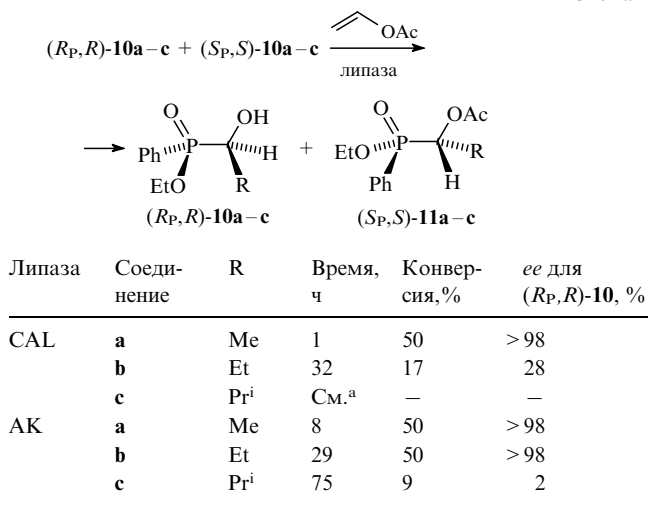
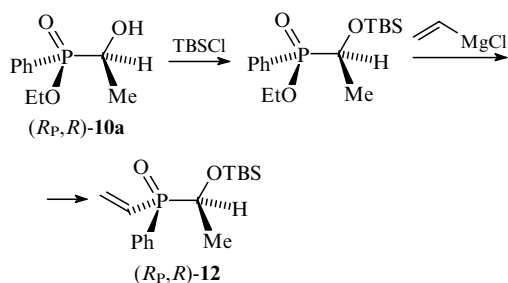
R = Me (**a**), Et (**b**), Prⁱ (**c**); LDA — литийдиизопропиламид.

Затем основной продукт вводили в реакцию переэтерификации, катализируемую липазами CAL и АК, используя винилацетат в качестве донора ацильной группы (схема 2). В результате при конверсии 50% были получены энантиомерно чистые ацилфосфинаты (*S_p*,*S*)-**11a–c** (ee > 98%) и гидроксифосфинаты (*R_p*,*R*)-**10a–c**. Влияние алкильного заместителя R на процесс ацилирования в случае использования CAL в качестве биокатализатора было больше, чем в случае иммобилизованной липазы АК.

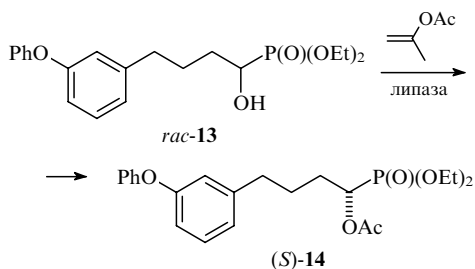
Полученный этил(1-гидроксиэтил)фенилфосфинат (*R_p*,*R*)-**10a** после защиты OH-группы реакцией с винилмагнийбромидом превращали в *P*-хиральный винилфосфин-оксид (*R_p*,*R*)-**(12)** — удобный исходный реагент для синтеза других оптически активных фосфиноксидов.⁴³

[†] В данном разделе приведены только единичные примеры использования соединений с хиральным атомом фосфора, поскольку из них получены хиральные гидроксифосфонаты; подробно см. раздел II.4.

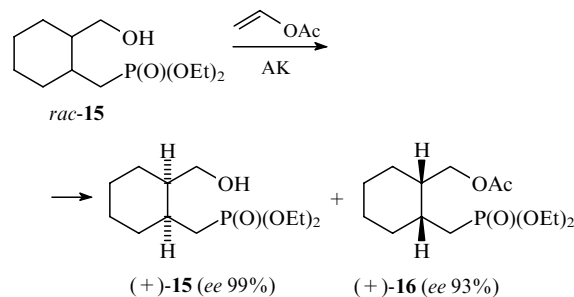
Схема 2

^a Реакция не идет.TBS = Bu^tMe₂Si.

Аналогичным образом Патель и соавт.⁴⁴ осуществили энантиоселективное ацетилирование рацемического [1-гидрокси-4-(3-феноксифенил)бутил]фосфоната (**13**) изопропенилацетатом в толуоле в присутствии липазы из *Geotrichum candidum*. В результате был получен фосфонат (*S*)-**14**, который является промежуточным соединением в полном синтезе ингибитора скваленсаинтазы BMS-188494. Выход основного продукта реакции составлял 38%, а его оптическая чистота — 95%.



Перезэтерификация *цис*-1-диэтилфосфометил-2-гидроксиметилциклогексана (**15**) винилацетатом, катализируемая липазой АК, позволила получить спирт (+)-**15** и соответствующий ацетат (+)-**16** с хорошими выходами и высоким энантиомерным избытком. Реакцию проводили без растворителя, фактор энантиоселективности составил 152. Затем спирт (+)-**15** превращали в оптически активный гидантоин — исходный реагент для синтеза конформационно затрудненных аналогов (2*R*)-амино-5-фосфонопентаноата (AP 5).⁴⁵

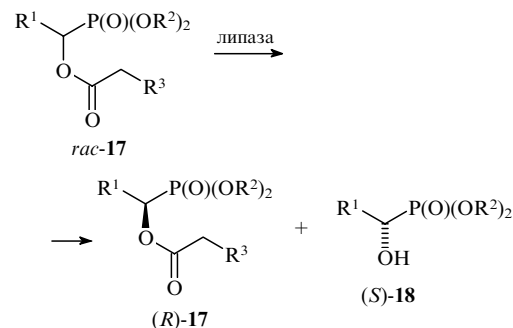


С помощью липазы, выделенной из *Pseudomonas fluorescens*, были разделены на энантиомеры рацемические гидроксиметилфосфинаты. Последние использовали для получения хиральных фосфосульфатов, обладающих высокой гербицидной активностью. Биологические исследования показали, что активность (+)-фосфосульфатов выше, чем активности (–)-энантиомеров и рацемата.⁴⁶

6. Разделение α-гидроксифосфонатов биокаталитическим гидролизом

Ферментативный гидролиз является удобным методом получения хиральных гидроксифосфонатов.^{40, 47–57} Обычно такие реакции проводят в двухфазных системах в присутствии буфера, поддерживающего pH 7, а лучшим растворителем считается смесь гексана с *трет*-бутилметилловым эфиром. Гидрофобные растворители уменьшают активность фермента, однако добавление насыщенных водных растворов соли (MgCl₂ или LiCl) значительно увеличивает энантиоселективность процессов с участием липаз.

Хаммершмидт с соавт.^{47–50} исследовал реакцию гидролиза ацилоксифосфонатов различными ферментами в двухфазных системах в присутствии буфера. В качестве биокатализаторов были протестированы восемь липаз и эстераза свиной печени.^{47, 48} Гидролиз β-ацилоксифосфонатов **17** проводили при комнатной температуре в системе *трет*-бутилметилловый эфир – гексан – фермент – фосфатный буфер (pH 7), величину pH, изменявшуюся в ходе реакции, поддерживали при помощи автотитратора. Установлено, что липазы предпочтительно гидролизуют *S*-энантиомеры сложных эфиров, а протеаза Chirazyme P-2 — *R*-энантиомеры.⁵⁰ Самая высокая энантиоселективность была обнаружена при гидролизе (ацетокси)фенилметилфосфонатов липазами из *Rhizopus oryzae* (FAP 15) и *Aspergillus niger* (AP 6).



Липаза — FAP 15, AP 6; R¹ = Alk, Ar, 1-Naph, 2-Naph, 2-Th, 3-Th, 2-Fu, 2-Py, 3-Py; R² = Me, Et, Prⁱ; R³ = Me, CH₂Cl; Naph — нафтил, Th — тиенил, Fu — фурил, Py — пиридил.

В табл. 2 в качестве примера приведены данные по гидролизу 11 ацилоксифосфонатов **17** (R¹ = Alk) в присутствии

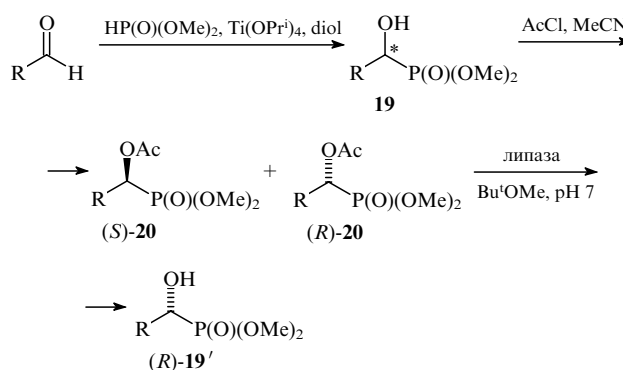
Таблица 2. Катализируемый липазой AP-6 гидролиз β -ацилоксифосфонатов **17** ($R^1 = \text{Alk}$).⁴⁷

R^1	R^2	R^3	Ацетат 17			Гидроксифосфонат 18		
			выход, %	ee, %	конфигурация	выход, %	ee, %	конфигурация
Et	Pr ⁱ	Me	47	51	<i>R</i>	37	77	<i>S</i>
Pr ⁿ	Pr ⁱ	Me	45	68	<i>R</i>	30	83	<i>S</i>
Pr ⁱ	Et	Me	30	26	<i>S</i>	38	32	<i>R</i>
Bu ⁱ	Et	Me	47	3	<i>S</i>	39	7.5	<i>R</i>
Bu ^t	Et	CH ₂ Cl	47	15	<i>S</i>	43	15	<i>R</i>
n-C ₅ H ₁₁	Et	Me	49	48	<i>R</i>	38	69	<i>S</i>
n-C ₇ H ₁₅	Pr ⁱ	Me	36	80	<i>R</i>	43	87	<i>S</i>
	Pr ⁱ	CH ₂ Cl	56	52	<i>R</i>	37	92	<i>S</i>
	Et	CH ₂ Cl	47	57	<i>R</i>	42	63	<i>S</i>
n-C ₉ H ₁₉	Pr ⁱ	CH ₂ Cl	43	44	<i>R</i>	51	73	<i>S</i>
	Et	CH ₂ Cl	49	56	<i>R</i>	45	62	<i>S</i>

липазы AP 6. Видно, что в случае соединений, содержащих разветвленные алкильные группы R^1 , процесс протекал с более низкой энантиоселективностью и приводил к продуктам другой конфигурации. С увеличением длины алкильной цепи ($R^1 = n\text{-C}_n\text{H}_{2n+1}$, $n = 2, 3, 5$) скорость процесса понижалась, в то время как энантиоселективность гидролиза увеличивалась от ee 77 до 87%, а конверсия изменялась мало. При переходе от диэтил- к диизопропил(ацилокси)фосфонатам скорость реакции понижалась с одновременным увеличением оптических выходов продуктов (*S*)-**18**. Хлорацетаты гидроксифосфонатов гидролизались в ~ 50 раз быстрее, чем соответствующие ацетаты.

Чтобы увеличить энантиоселективность реакции и одновременно уменьшить время полного кинетического разделения, можно вместо рацематов вводить в реакцию энантиомерно обогащенные соединения. Спиллинг и соавт.⁵¹ использовали этот метод для увеличения оптической чистоты 1-гидроксифосфонатов **19**, содержащих ненасыщенные группы. Катализируемая хиральными алкоголями титана (тетраизопропоксид титана с хиральным диолом в качестве лиганда) реакция альдегидов с диалкилфосфитами приводила к энантиомерно обогащенным α -гидроксифосфонатам **19** с ee 42–77%. Затем энантиомерно обогащенные продукты **19** ацетилировали, а полученные ацетаты **20** подвергали гидролизу, катализируемому липазами (табл. 3). В результате получали спирты (*R*)-**19'** с хорошим выходом и высоким

значением ee (до 99%). Гидролиз ацетатов **20** проводили в Bu^tOMe при комнатной температуре и pH 7.



Diol — (1*S*,2*S*)-*транс*-циклогександиол или диметил-*L*-тарترات.

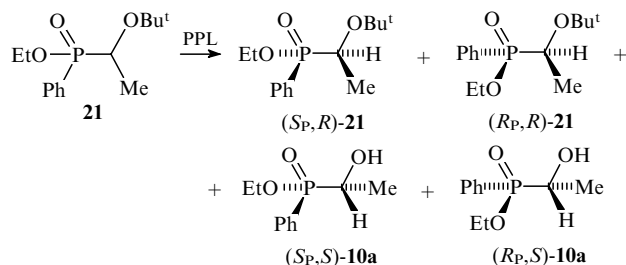
Кафарский и сотр.^{52–54} осуществили дерацемизацию α -гидроксифосфинатов, содержащих два асимметрических центра, в присутствии липаз из различных микроорганизмов — *Candida cylindracea*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus niveus*, *Mucor javaniceus*, *Porcine pancreas*, *Pseudomonas cepacia* и *Mucor circinelloides*. Кинетическое разделение этил(1-гидроксиэтил)фенилфосфината **10a** они проводили ферментатив-

Таблица 3. Ферментативный гидролиз энантиомерно обогащенных 1-ацилоксифосфонатов **20**.

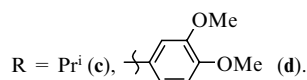
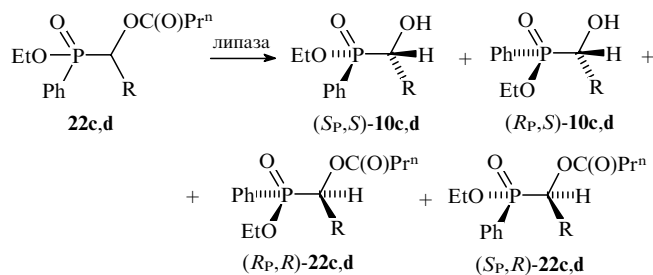
R	Липаза или ее источник	Исходный ацетат 20		Спирт (<i>R</i>)- 19'	
		ee, %	конфигурация	ee, %	выход, %
	FAP 15	42	<i>S</i>	79	72
Ph	PSL	70	<i>R</i>	99	72
MeCH=CH	FAP 15	64	<i>S</i>	97	79
PhCH=CH	PSL	73	<i>R</i>	99	68
	<i>Rhizopus arrizhus</i>	73	<i>S</i>	91	70
PhCH=CMe	PSC	77	<i>R</i>	99	75
n-C ₅ H ₁₁ C $\equiv$ C	AY	49	<i>R</i>	92	59
	<i>Rhizopus arrizhus</i>	49	<i>S</i>	90	74
n-C ₅ H ₁₁ C=CH	FAP 15	69	<i>S</i>	95	74

Примечание. PSL — липаза из *Pseudomonas* sp., PSC — липаза из *Pseudomonas cepacia*, AY — липаза из *Candida cylindracea*.

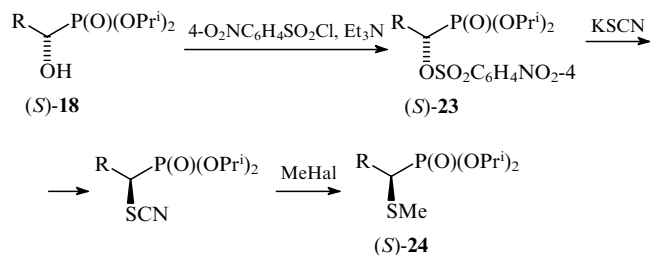
ной перэстерификацией с винилбутиратом или гидролизом этил(1-*трет*-бутоксиэтил)фенилфосфината **21** при помощи липаз.⁵³ Гидролиз соединения **21** в присутствии липазы из бычьей печени (PPL) привел к образованию двух диастереомеров **10a** с *ee* > 98% при степени конверсии, изменяющейся от 10 до 49% в зависимости от условий реакции.⁵⁴



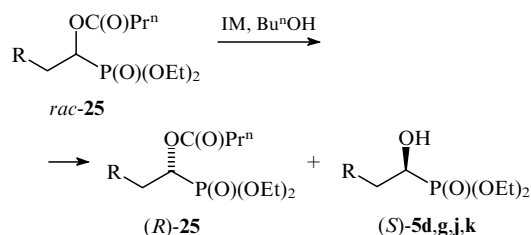
Бутирилоксиалкилфосфинаты **22c,d** гидролизовали с использованием ферментов, полученных из *Candida cylindracea*, *Aspergillus niger*, а также липазы, выделенной из свиной поджелудочной железы.⁵² Реакцию проводили в двухфазной системе при pH 7, органической фазой служила смесь диизопропилового эфира и гексана. Наилучшие результаты были достигнуты в случае липазы из *Aspergillus niger*, которая обеспечила выделение пары диастереомеров (*Sp,S*)- и (*Rp,S*)-**10c,d** в качестве основных продуктов реакции (*ee* 82%).



Оптически активные α-сульфанилфосфонаты **23** и соответствующие метилсульфиды **24** удалось синтезировать из хиральных (*ee* 93–97%) α-гидроксифосфонатов **18**, полученных ферментативным разделением соединений **17** (см. табл. 2).^{23,47} Попытки получить хиральные фосфонаты, содержащие двухвалентный атом серы у α-атома углерода, энантиоселективным гидролизом соответствующих рацемических α-ацетилтиофосфонатов были неудачными: гидролиз в присутствии липаз AP 6, Prozyme 6 и протеазы Chirazyme P-2 давал рацемические продукты, а в присутствии липаз, выделенных из *Candida rugosa* и *Candida cylindracea*, а также липазы FAP 15 реакция вообще не шла.

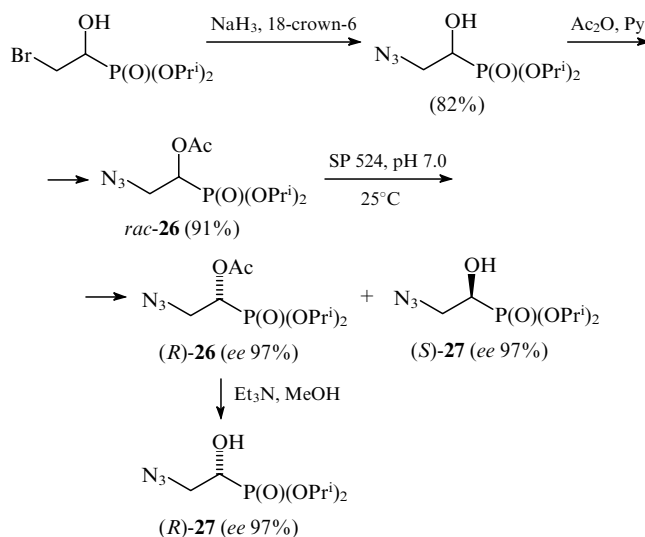


Алкоголиз бутироксипроизводного **25** *n*-бутиловым спиртом в безводном бензоле привел к образованию оптически чистых гидроксифосфонатов (*S*)-**5d,g,j,k** с 40%-ным выходом.⁴⁰

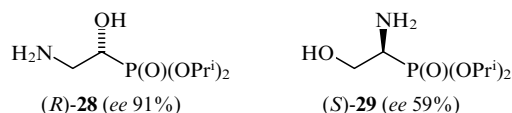


R = Me (d), Et (g), Prⁱ (j), CH₂=CH (k).

Хаммершмидт с соавт.⁵⁷ разделил на энантиомеры диизопропил(2-азидо-1-гидроксиэтил)фосфонаты, используя липазу SP 524 (генетический гибрид *Mucor* и *Aspergillus oryzae*). Из рацемического диизопропил-2-азидо-1-ацетоксиэтилфосфоната (**26**), полученного из соответствующего бромида, при гидролизе в присутствии SP 524 образуются α-гидроксифосфонат (*S*)-(**27**) и эфир (*R*)-**26**, который омыляют до стереоизомера (*R*)-**27**.



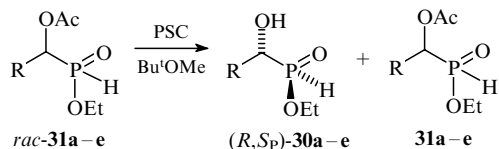
Фосфонаты (*R*)-**27** и (*S*)-**27** затем превращали в α-фосфазисерин ((*R*)-**28**) и α-фосфасерин ((*S*)-**29**).⁵⁷



Юань и соавт.⁴⁰ сообщали, что при разделении на энантиомеры рацемических фосфонатов, содержащих азидогруппу, также эффективна CALB.

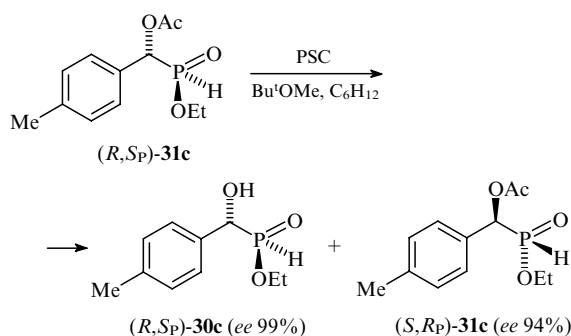
Хиральные α-гидрокси-Н-фосфинаты **30a–e** получали ферментативным гидролизом соответствующих рацемических ацетатов **31a–e** в присутствии липазы из *Pseudomonas cepacia*. Из смеси четырех стереоизомеров α-ацетокси-Н-фосфинатов были выделены оптически чистые α-гидрокси-Н-фосфинаты (*R,S*)-**30a–e**.⁵⁶ Следует отметить, что гидроксифосфонаты, содержащие ароматические заместители,

обычно с трудом вступают в реакции переэтерификации и гидролиза под действием липаз, что объясняют как электронными, так и пространственными факторами. В данном случае, вероятно, сыграла свою роль замена этоксиальной группы у атома фосфора на меньший по размеру атом водорода.



R = n-C₅H₁₁ (a), Bn (b), 4-XC₆H₄ (X = Me (c), H (d), Cl (e)).

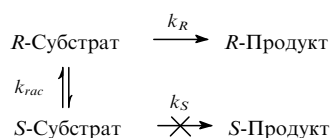
Под действием липазы PSC в смеси гексана и *трет*-бутилметилового эфира в фосфатном буфере (pH 7) гидролизировался только один из четырех присутствовавших в смеси диастереомеров 31с — ацетат *(R,S_P)*-31с, — что привело к соответствующему гидроксифосфату *(R,S_P)*-30с с выходом 18% и *ee* 99%. Одновременно регенерировался ацетат *(S,R_P)*-31с, который авторы выделили с выходом 33%.⁵⁶



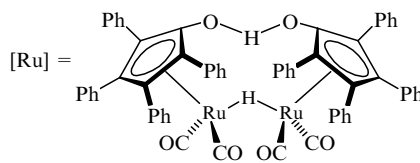
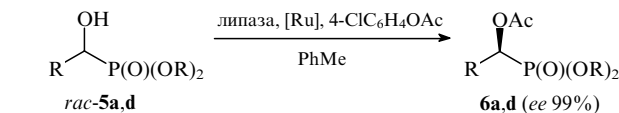
в. Динамическое кинетическое разделение α-гидроксифосфонатов

Кинетическое разделение рацемата позволяет получить максимальный выход 50% для каждого энантиомера, входящего в этот рацемат. Однако такое ограничение может быть преодолено с помощью динамического кинетического разделения (ДКР).^{30–34, 58–60}

В случае ДКР субстрат непрерывно изомеризуется в процессе разделения, т.е. *R*- и *S*-энантиомеры находятся в равновесии, вследствие чего при *k_S* = 0 весь исходный *R*-энантиомер превращается в *R*-продукт.



Для ДКР некоторых гидроксифосфонатов успешно применялось сочетание металлокомплексного катализа и биокатализа. Так, одновременное использование фермента (липазы из *Pseudomonas ceracia* или CALB (коммерческого продукта Novozym-435)) и комплекса рутения, катализирующего изомеризацию спиртов, привело к превращению рацемических гидроксифосфонатов 5a,d в энантиомерно чистые ацетаты 6a,d с высокими выходами.⁵⁸



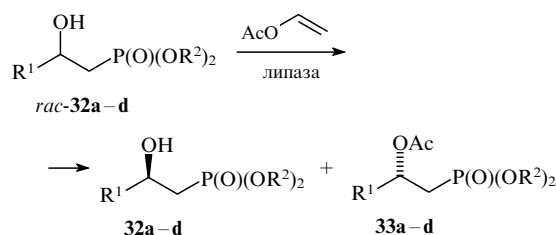
Соединение	R	Липаза	T, °C	Выход, %
a	Me	CALB	60	70
	Me	CALB	70	76
	Me	CALB	80	86
	Me	PSC	60	69
	Me	PSC	80	87
b	Et	PSC	80	85

2. Кинетическое разделение β- и ω-гидроксифосфонатов

Биокаталитическое разделение рацемических фосфонатов, содержащих гидроксильную группу в β-, а также γ- и δ-положениях по отношению к атому фосфора (общее название — ω-гидроксифосфонаты), как и α-производных, осуществляют двумя способами — переэтерификацией эфиров карбоновых кислот и гидролизом ацетилированных соответствующих гидроксифосфонатов.^{61–68}

а. Разделение β- и ω-гидроксифосфонатов биокаталитической переэтерификацией

Рацемические β-гидроксиалкилфосфонаты 32a–d ацилировали винилацетатом в присутствии липаз из *Pseudomonas ceracia* и *Pseudomonas fluorescens*, а также липазы Amano AH-S (LAH-S).[‡] Реакцию проводили в условиях кинетического разделения. Непрореагировавшие субстраты 32a–d и ацетилированные продукты 33a–d разделяли колоночной хроматографией.⁶¹



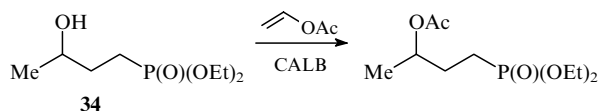
Соединение	R ¹	R ²	Липаза	<i>ee</i> для 32, %	<i>ee</i> для 33, %
a	Me	Et	AK	93	90
b	Bu ⁿ	Me	AK	61	92
c	Ph(CH ₂) ₃	Me	LAH-S	52	43
d	2-Py	Et	PSC	45	62

В работе³² описано успешное разделение β-гидроксиалкилфосфонатов 32 (R¹ = Me, Et, CH=CH₂, CH₂Cl; R² = Me, Et) на *R*- и *S*-энантиомеры переэтерификацией с винилацетатом, катализируемой CALB. Соединения 32,

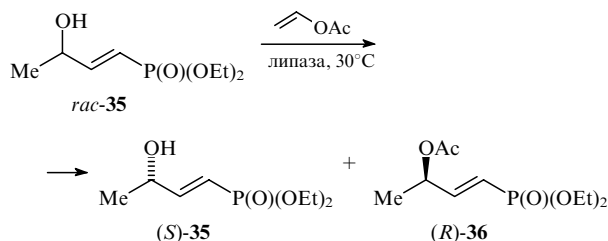
[‡] Здесь и далее если продуцент липазы не указан в оригинальной статье, приведено только коммерческое название фермента.

содержавшие у β -атома углерода метильную, этильную или винильную группу, ацетилировались сравнительно легко, с хорошей энантиоселективностью: фактор энантиоселективности превышал 100. В то же время в случае соединения **32e** ($R^1 = \text{CH}_2\text{Cl}$, $R^2 = \text{Et}$) энантиоселективность была невысока (ee 50%, $E < 5$).

Катализируемая CALB перэтерификация диэтил- γ -гидроксипропилфосфоната (**34**) винилацетатом протекала за 50 ч, однако ее энантиоселективность также была невысокой.³²



Ряд ферментов (Liposyme, Amano AK, Amano PS, ацилаза из *Aspergillus melleus*, Amano AP 6, Amano AY, CALB, PPL, CRL (липаза из *Candida rugosa*), Amano R10) протестировали на способность к кинетическому разделению на энантиомеры рацемического диэтил(3-гидроксипропил-1-енил)фосфоната (**35**).⁶² Наиболее эффективным биокатализатором оказалась липаза Liposyme фирмы Fluka. С ее помощью диэтил(3-ацетоксипропил-1-енил)фосфонат ((*R*)-**36**) образовался с ee 96%, а непрореагировавший (*S*)-гидроксифосфонат **35** выделили с ee 99%. Аналогичные результаты были получены при работе в препаративном масштабе, с граммовыми количествами исходного вещества. Выходы продуктов реакций составляли 46–48%.

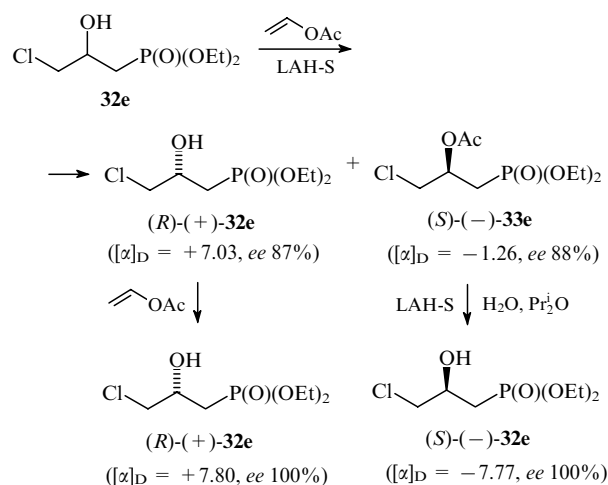


Липаза	Время, ч	Конверсия, %	ee для 36 , %	ee для 35 , %
Liposyme	21	51	99	96
	17	49	95	99
Amano AK	21	50	97	96
Amano PS	17	45	81	98
PPL	49	19	22	99
CRL	10	13	8	54
Amano R-10	10	8	6	69

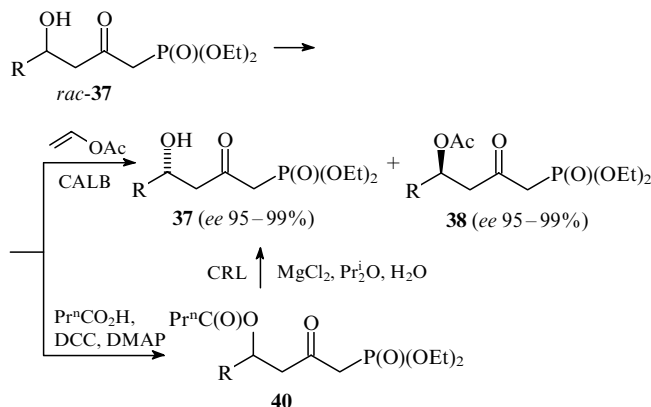
Липазы Amano AK и Amano PS также проявили высокую эффективность в условиях кинетического разделения рацемического β -гидроксифосфоната, причем при использовании второй гидроксифосфонат имел ee 98%. Реакция протекала сравнительно быстро, и фактор энантиоселективности был выше 200. Хорошая оптическая чистота ацилированного продукта (ee 98%) достигалась также в присутствии ацилазы из *Aspergillus melleus*, однако исходный непрореагировавший β -гидроксифосфонат **35** выделили только с ee 49%.⁶²

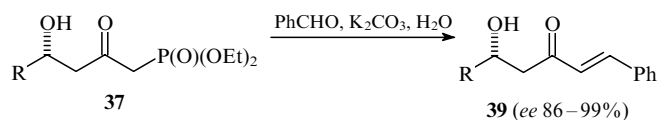
Учитывая интерес к фосфорным аналогам таких важных природных аминокислот, как карнитин и γ -амино- β -гидроксимасляная кислота (GABOB), в литературе был опубликован ряд способов их получения, включая методы ферментативного разделения.^{40, 63, 69} Например, эффективный синтез энантиомерно чистого фосфокарнитина был

разработан на основе легкодоступного 2-гидрокси-3-хлорпропилфосфоната (**32e**).⁶³ Энантиомерно обогащенный ацетат (*S*)-(-)-**33e** с ee 88%, полученный с помощью биокаталитической перэтерификации липазой Amano AH-S или липазой из *Pseudomonas fluorescens*, затем подвергали дополнительному ферментативному гидролизу в присутствии той же липазы. Это позволило существенно повысить чистоту гидроксифосфоната. Гидролиз ацетата (*S*)-**33e** проводили в диизопропиловом эфире, насыщенном водным раствором, который содержал буфер с pH 7.2. Раствор перемешивали при 30°C в течение 25 сут, контроль за ходом реакции осуществляли с помощью спектроскопии ЯМР ³¹P. Когда соотношение спирта (*R*)-**32e** и ацетата (*S*)-**33e** становилось равным 2.5:1, реакцию останавливали, и продукты разделяли методом колоночной хроматографии. В результате был получен β -гидроксифосфонат (*S*)-(-)-**32e** с выходом 25% и ee 100% (ниже приведены значения $[\alpha]_D$, измеренные в MeOH при концентрации 2.21%).



Рацемические 4-гидрокси-2-оксофосфонаты **37** были разделены на энантиомеры с помощью перэтерификации винилацетатом, катализируемой CALB, в бензоле или гидролизом соответствующих бутиратов, катализируемом липазой из *Candida rugosa*, в диизопропиловом эфире, содержащем насыщенный раствор хлорида магния.⁶⁵ В результате были получены ω -гидроксифосфонаты **37** с абсолютной *S*- или *R*-конфигурацией (выход 35–42%) и ацетаты **38** (выход 48–51%). Реакцией с бензальдегидом в присутствии водного раствора поташа соединения **37** превращали в хиральные еноны **39** с оптической чистотой 95–99%.



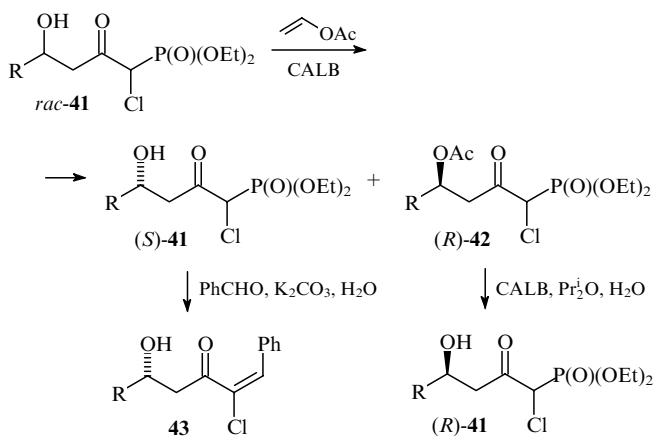


DCC — дициклогексилкарбодиимид, DMAP — 4-диметиламинопиридин.

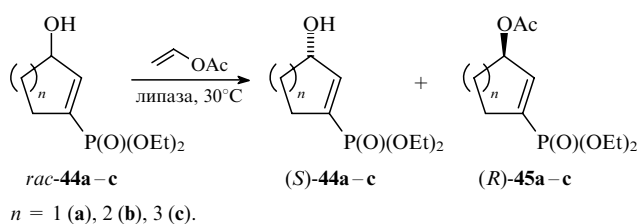
R	Липаза	Выход, %		<i>ee</i> для 39, %	Конфигурация для 39	<i>E</i>
		37	39			
Me	CALB	40	48	99.1	<i>S</i>	> 25
Et	CALB	42	45	95	<i>S</i>	> 19
CH ₂ =CH	CALB	35	51	95	<i>R</i>	> 17
Ph	CRL	35	69	98.7	<i>R</i>	> 100
4-FC ₆ H ₄	CRL	38	84	95.9	<i>R</i>	> 87
4-MeC ₆ H ₄	CRL	37	81	100	<i>R</i>	> 100
4-MeOC ₆ H ₄	CRL	32	92	96.8	<i>R</i>	> 92
4-ClC ₆ H ₄	CRL	34	78	99.4	<i>R</i>	> 100
2-BrC ₆ H ₄	CRL	36	86	98.0	<i>R</i>	> 100
2-ClC ₆ H ₄	CRL	38	90	97.0	<i>R</i>	> 100
2-Fu	CRL	31	95	85.9	<i>R</i>	> 19

Отметим, что для разделения ω -гидроксифосфонатов 37 на энантиомеры использовали также биокаталитический гидролиз эфира масляной кислоты 40.

Рацемические α -хлор- β -оксо- γ -(гидроксикал)фосфонаты 41 (*R* = Me, Et, CH₂=CH) сначала разделяли перегидрированием, катализируемым CALB.⁶⁶ В результате образовались оптически активные гидроксифосфонаты (*S*)-41 (выход 42–45%) и ацетилированные продукты (*R*)-42 (выход 45–50%). Затем ацетаты 42 дополнительно гидролизовали в присутствии CALB (или CRL) до спиртов (*R*)-41. Последующая обработка соединений 41 бензальдегидом и поташом дала смеси геометрических изомеров хиральных α,β -ненасыщенных кетонов, из которых были выделены соединения 43 с энантиомерной чистотой > 98%.

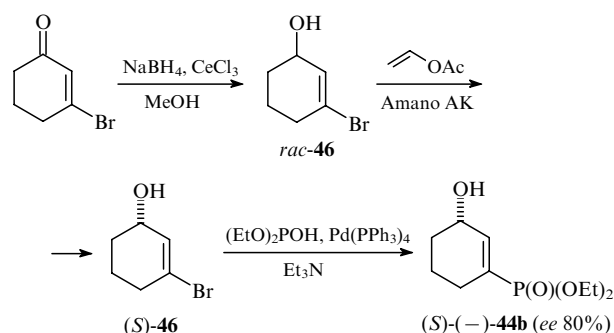


Энантиомерно чистые циклические (*S*)-диэтил-3-гидроксициклоалк-1-енилфосфонаты 44а–с были получены ферментативным разделением соответствующих раце-



тов.^{70, 71} В этой реакции образовывались также *R*-ацетаты 45а–с. Среди нескольких использованных липаз (Amano AY, Amano PS, Amano AK, PPL) наилучшие результаты показали липазы Amano AK и Amano PS, которые обеспечили энантиомерную чистоту соединений (*S*)-44а–с вплоть до 99%.⁷¹

Для получения хирального шестичленного гидроксифосфоната (*S*)-44б использовали несколько иную методологию. Ферментативное разделение с помощью липазы Amano AK проводили на стадии образования бромциклогексенола 46, в результате был получен его *S*-энантиомер с *ee* 80%.⁷¹ Последующее катализируемое палладием фосфорилирование этого соединения привело к гидроксифосфонату (*S*)-44б с тем же значением энантиомерной чистоты.



6. Ферментативный гидролиз сложных эфиров β - и ω -гидроксифосфонатов

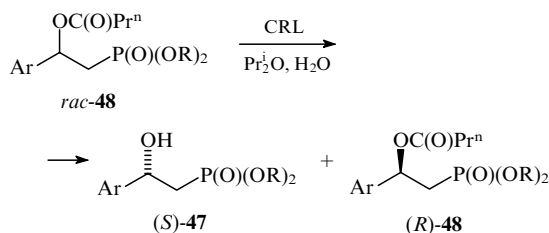
Удобным методом разделения рацемических смесей β - и ω -гидроксифосфонатов является биокаталитический гидролиз их сложных эфиров. В ряде случаев этим методом были получены энантиомеры гидроксифосфонатов, которые не удавалось разделить биокаталитической перегидрированием.^{72–76} Например, Хаммершмидт с соавт.⁷² осуществил гидролиз ряда хлорацетоксифосфонатов липазой из *Candida cylindracea* и протеазой субтилизином из *Bacillus subtilis* в двухфазной системе и получил (*S*)-гидроксифосфонаты с *ee* от 51 до 92%.

Рацемические хлорацетоксифосфонаты, содержащие циклические алкильные группы, подвергались гидролизу, катализируемому липазой AP 6 из *Aspergillus niger*. Наряду со спиртом предпочтительно образовывались *S*-энантиомеры сложных эфиров с хорошими выходами и энантиомерными избытками от удовлетворительных до высоких.^{73–75}

Аттолини и соавт.⁶² описали ферментативный сольволиз диэтил(3-гидроксипропил-1-енил)фосфоната 35 изопропиловым спиртом в диизопропиловом эфире, выполнявшем роль акцептора ацильной группы. Ацилированный продукт 36 имел абсолютную конфигурацию *R*, а непрореагировавший гидроксифосфонат — конфигурацию *S*.

Юань и соавт.⁶⁴ предложили удобную методику для получения оптически чистых 2-гидрокси-2-арилэтилфосфонатов 47. Энантиоселективный гидролиз соответствующих бутиратов 48 проводили в присутствии липаз в органических растворителях. Так, в диизопропиловом эфире, насыщенном водой, оба соединения ((*S*)-47 и (*R*)-48) были получены с высоким выходом и хорошим энантиомерным избытком (*ee* ~ 95%). Среди ряда исследованных липаз наиболее эффективной оказалась липаза CRL: в водно-буферной системе фактор энантиоселективности реакции составлял 65. Альтернативная методика включала проведение гидролиза, катализируемого CRL, в диизопропиловом эфире, насыщенном 0.5%-ным водным раствором MgCl₂. К сожалению, выделе-

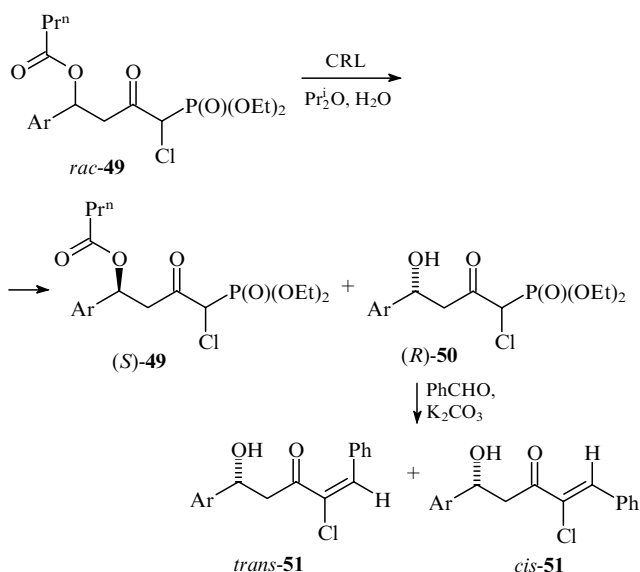
ние полученных продуктов из водных растворов вызывало затруднения, поэтому их выходы были невысокими.



Ar = X_nC₆H_{5-n} (X_n = H, 4-Me, 4-Et, 4-NO₂, 2-Br, 4-Br, 2-Cl, 3-Cl, 4-F, 2-CF₃, 2,4-Cl₂), 2-Fu, 2-Naph; R = Me, Et, Prⁱ.

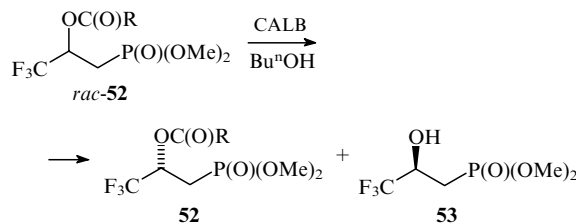
В работе⁶⁵ изучена аналогичная реакция для бутиратов, содержащих как алифатические, так и ароматические заместители. Абсолютную конфигурацию образующихся гидроксифосфонатов устанавливали методом рентгеноструктурного анализа. Выходы продуктов реакции сильно зависели от природы заместителей в исходных рацемических смесях и от органического растворителя.

Рацемический α-хлор-β-оксо-δ-гидроксиалкилфосфонат 49 разделили на энантиомеры с помощью CRL-катализируемого гидролиза в диизопропиловом эфире, насыщенном водным раствором MgCl₂. Синтезированные спирты (R)-50 использовали как хиральные реагенты в реакции Хорнера–Уодсворда–Эммонса, в результате получили хиральные α,β-ненасыщенные кетоны 51.⁶⁶



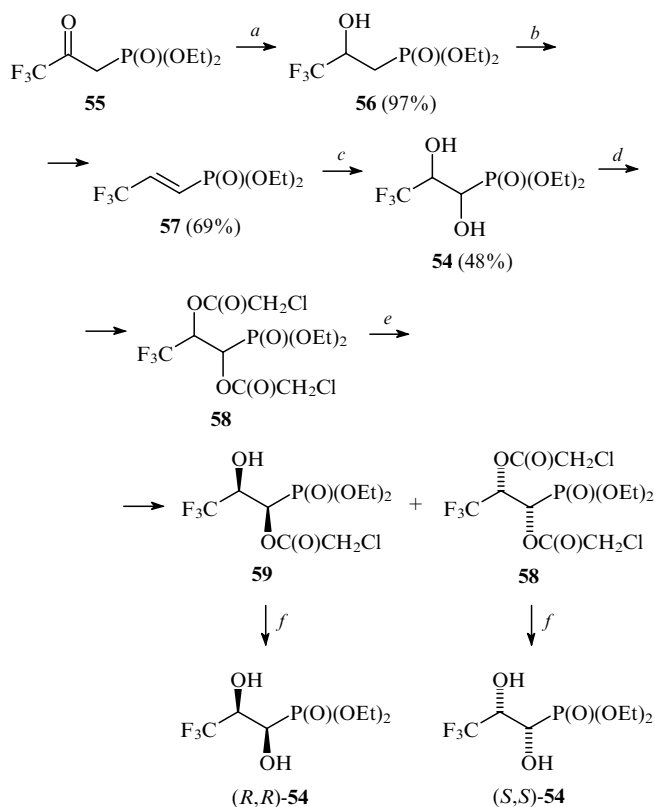
Присутствие в молекуле гидроксифосфонатов таких заместителей, как CF₃, CH₂Cl, CH₂N₃, затрудняет биокаталитическое разделение этих соединений на энантиомеры. Например, в работе³² отмечалось, что соединения с трифторметильным заместителем вообще не вступают в реакцию ферментативного ацетилирования из-за электроноакцепторного влияния CF₃-группы. Однако Юань и соавт.⁶⁷ подобрали соответствующие ферменты и разработали методы для разделения на энантиомеры рацемических α- и β-гидроксиалкилфосфонатов, содержащих трифторметильную группу. Наилучшие результаты были достигнуты при проведении алкоголиза, катализируемого липазами *Mucor miehei*, CALB, и гидролиза, катализируемого липазой *Candida rugosa*, в органических растворителях. Эфиры трифторметилсодержащих β-гидроксифосфонатов 52 в присутствии CALB при 30°C под действием *n*-бутанола как

нуклеофила в безводном бензоле превращались в спирты 53. После достижения 50%-ной конверсии реакцию останавливали, а смесь хиральных ацилоксиалкилфосфоната 52 и спирта 53 разделяли хроматографическими методами.



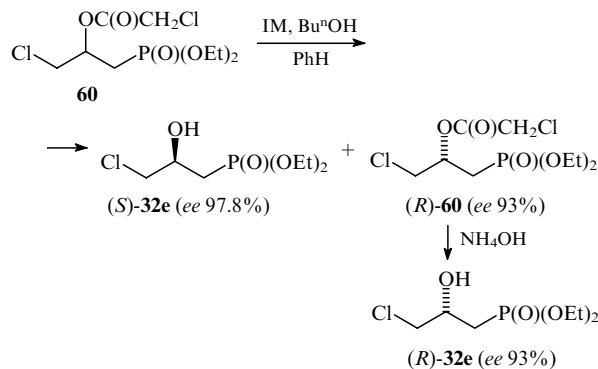
R = ClCH₂, Prⁿ.

В работе⁶⁸ описан удобный и эффективный метод получения хирального 2-трифторметил-1,2-дигидроксипропилфосфоната 54, основанный на ферментативном катализе. Реакцией этилтрифторацетата с анионом метилфосфоната получают 2-оксо-3,3,3-трифторпропилфосфонат (55), который сначала восстанавливают боргидридом натрия до 2-гидрокси-3,3,3-трифторпропилфосфоната (56), а затем реакцией с триметиламином превращают в винилфосфонат 57. Последний дигидроксируют действием перманганата калия с образованием диола 54. Ферментативный алкоголиз рацемического продукта 58, катализируемый CALB или иммобилизованной липазой IM, приводит к оптически активным фосфонатам 58 и 59 с удовлетворительными химическим и энантиомерным выходами (*ee* ~ 75–88%). Далее эти соединения гидролизуют до диолов 54. Абсолютная конфигурация полученных продуктов согласуется с правилом Казлаускаса, если диэтилфосфонильный заместитель принять за группу большего размера.



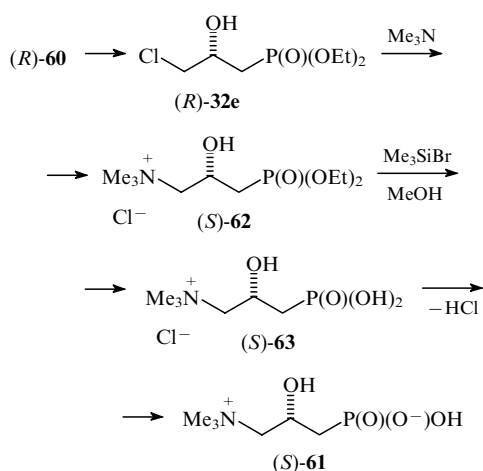
a — NaBH₄; b — Me₃N; c — KMnO₄; d — ClCH₂CO₂H, DCC, DMAP; e — CALB или IM, BuⁿOH, 30°C, 40 ч; f — NH₄OH.

Рацемат **32e** удалось разделить на энантимеры алкоголизом хлорацетатов **60** действием *n*-бутанола в безводном бензоле в присутствии липазы IM или CALB.⁴⁰ После хроматографирования реакционной смеси получили оптически чистые гидроксифосфонат (*S*)-**32e** и хлорацетат (*R*)-**60**, который далее обрабатывали аммиаком.

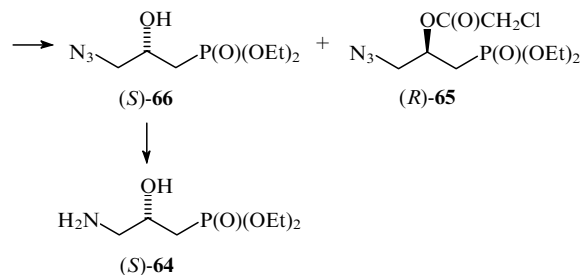
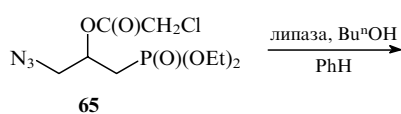


Энантиомеры (*S*)- и (*R*)-**32e** использовали как исходные соединения для синтеза фосфокарнитина (**61**) (схема 3). Полученное из хлорацетата (*R*)-**60** соединение (*R*)-**32e** сначала превращали в триметиламмониевую соль (*S*)-**62**, которую обрабатывали бромтриметилсиланом в метаноле. После дегидрохлорирования образовавшейся соли фосфокарнитина (*S*)-(**63**) получали оптически чистый фосфорный аналог карнитина (*S*)-**61**.

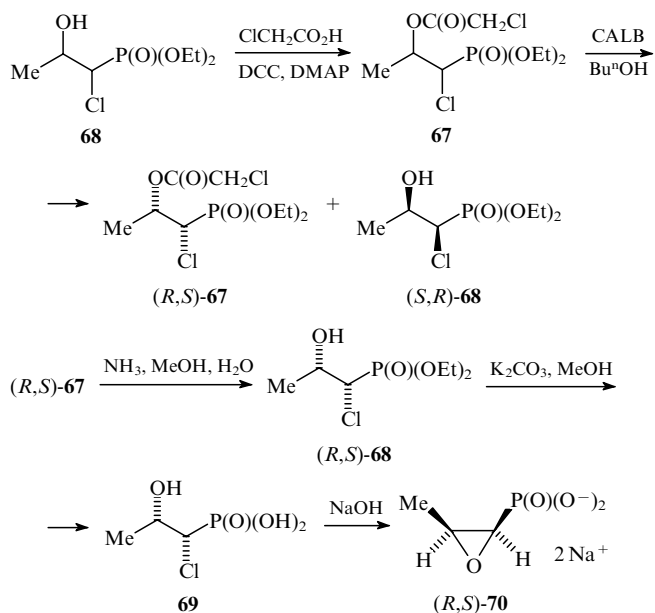
Схема 3



Энантиомеры этилового эфира фосфо-GABOV (**64**) синтезированы⁴⁰ методом, разработанным Хаммершмидтом.⁵⁷ Ключевая стадия синтеза заключается в ферментативном расщеплении на энантиомеры рацемического хлорацетата **65**. В присутствии липаз CALB или IM из соединения **65** образуются (*R*)-энантиомер эфира **65** и спирт (*S*)-**66**, который превращают в соединение (*S*)-**64**.



Катализируемый CALB алкоголиз рацемического хлорацетата **67**, полученного из β -гидроксифосфоната **68**, привел к соединениям (*R,S*)-**67** и (*S,R*)-**68** с оптической чистотой >95% (установлено на основании анализа спектров ЯМР ^{19}F и ^{31}P соответствующих эфиров Мошера).⁴⁰ Удовлетворительные результаты были получены также при использовании липазы IM. Гидролиз оптически чистого хлорацетата (*R,S*)-**67** аммиаком в водном метаноле протекал без рацемизации с образованием гидроксифосфоната (*R,S*)-**68** (выход 85%). Последний гидролизовали до кислоты **69**, циклизующейся в щелочной среде в соль фосфомицина ((*R,S*)-**70**) — природного антибиотика широкого спектра действия.

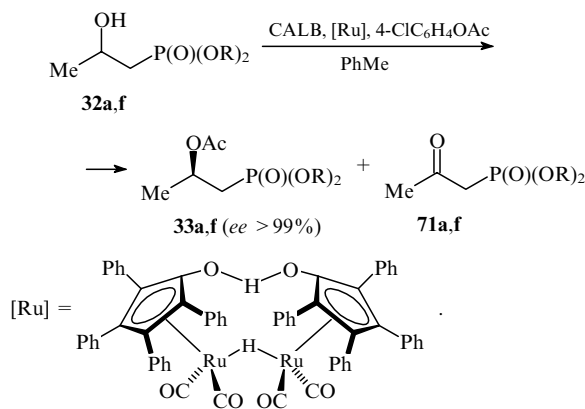


в. Динамическое кинетическое разделение β -гидроксифосфонатов

Динамическое кинетическое разделение рацемических β -гидроксифосфонатов **32a,f** ($\text{R} = \text{Et}$ (**a**), Me (**f**)) осуществляли под действием липаз в сочетании с катализируемой комплексом рутения изомеризацией спирта.^{31, 58–60}

С этой целью рацемические диалкил(2-гидроксипропил)-фосфонаты **32a,f** обрабатывали 3 экв. 4-хлорфенилацетата в толуоле при 60°C в присутствии различных липаз. Во всех случаях энантиоселективность ацилирования была достаточно высокой, хотя выходы и чистота основных продуктов реакции (**33a,f**) варьировались и зависели от типа липазы. Наиболее высокую активность показала липаза CALB (коммерческий реагент Novozym 435), а другие липазы (CRL, липазы из *Porcine pancreas*, *Candida cylindracea* и *Aspergillus* sp.) были малоактивны.

Существенными отличиями ДКР рацемических β -гидроксифосфонатов от процессов с участием α -гидроксифосфонатов являются более длительное время разделения (48 ч вместо 24 ч), низкие выходы продуктов **33a,f**, а также образование побочных кетофосфонатов **71a,f**. Введение в систему газообразного водорода (опыт №4) или 2,4-диметилпентан-3-ола (опыт №5) ингибировало образование кетофосфонатов **71a,f**, однако эффективность ДКР и оптическая чистота продуктов **33a,f** при этом не уменьшались.⁵⁸

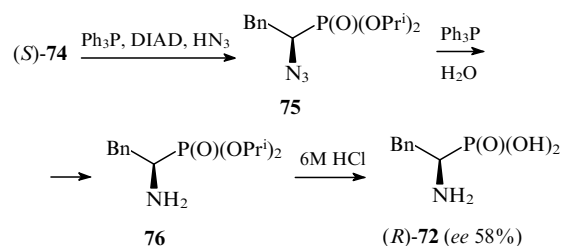
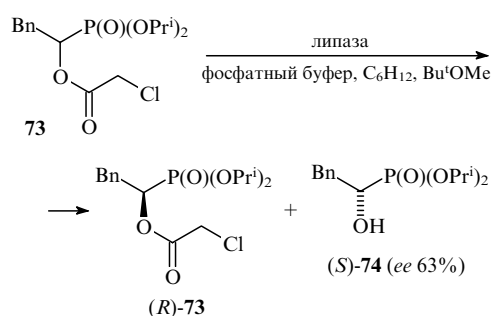


Опыт, №	Соединение	R	T, °C	Выход, %	
				33	71
1	a	Et	60	54	18
2	a	Et	70	65	10
3	a	Et	80	69	19
4	a	Et	70	53	0
5	a	Et	70	57	0
6	f	Me	70	62	16

3. Ферментативное разделение аминфосфонатов

Поскольку аминалфосфоновые кислоты вызывают большой интерес как потенциально биологически активные вещества, предпринимались попытки применить биокатализ для синтеза их энантиомеров. Первые сведения об использовании хемоферментативных методов для получения хиральных аминфосфоновых кислот можно найти в патентах, зарегистрированных сотрудниками фирмы Хехст еще в 80-е гг. XX в. (см., например,¹⁸).

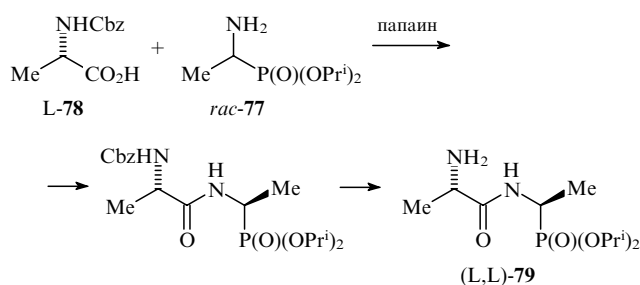
Хаммершмидт с соавт.^{72–76} успешно осуществил хемоферментативный синтез фосфорных аналогов фенилаланина, тирозина, валина, β -аминоизокапроновой кислоты, изолейцина и α -амино- γ -метилтиомасляной кислоты. Ниже в качестве примера представлена последовательность реакций, в результате которой была получена аминфосфоновая кислота (*R*)-**72**. При ферментативном разделении рацемата **73** в присутствии липазы из *Aspergillus niger* образовались соответствующие оптически активные фосфонаты (*R*)-**73** и (*S*)-**74**. Последний вводили в реакцию Мицунобу, которая



DIAD — диизопропилацетилендикарбоксилат.

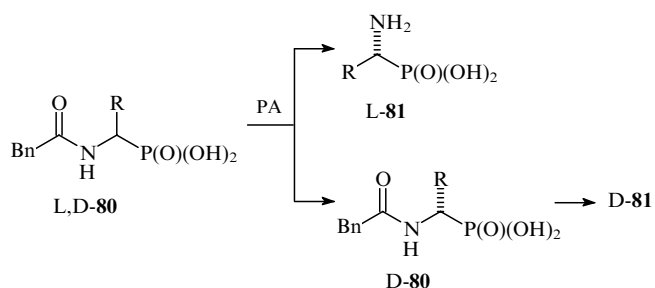
через стадию образования азида **75** привела к амину **76**. После кислотного гидролиза выделили аминфосфоновую кислоту (*R*)-**72**.

В работе⁷⁷ для разделения рацемической аминфосфоновой кислоты **77** использовали протеазу папаин (фермент, выделенный из растения *Carica papaya*, катализирует гидролиз белков и пептидов). Реакцию *N*-бензилоксикарбонилаланина **L-78** с рацемическим аминфосфонатом **77** проводили в присутствии папаина, иммобилизованного на полиамидном носителе, в растворе в ацетонитриле при комнатной температуре.⁷⁸ Этим методом был получен оптически активный антибактериальный препарат алафосфалин (**79**).⁷⁷



Cbz = BnOC(O).

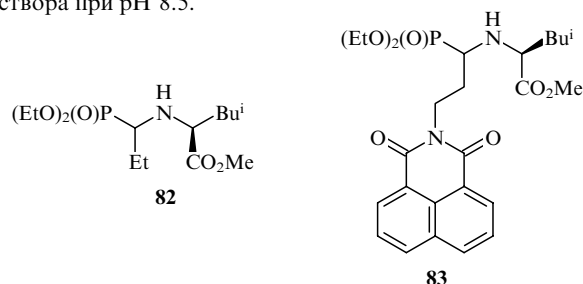
В других работах Кухарь с соавт.^{79–82} разделили рацемические *N*-фенилацетиламинфосфоновые кислоты **80** на соединения **D-80** и **L-81**, используя реакцию гидролиза, катализируемую пенициллинацилазой (PA).



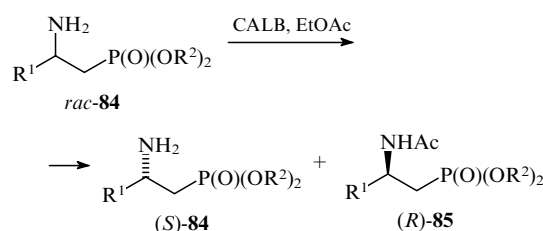
R	Конфигурация для 81	Выход, %	$[\alpha]_D^{20}$
Me	L	80	−17.0
Me	D	80	+16.5
Ph	L	73	+24.0
Ph	D	71	−23.0
Bu ⁱ	L	76	−34.5
Bn	L	77	−50.0

Хуши и соавт.³⁷ осуществили одно из первых ферментативных разделений аминфосфонатов **82**, **83** гидролизом соответствующих эфиров фосфо(амино)изокапроновой кислоты с помощью протеазы субтилизины Carlsberg и липазы из *Aspergillus oryzae*. Кинетически контролируемое

биопревращение проводили в водном растворе при pH 7, соответствующий непрореагировавший эфир выделяли из раствора при pH 8.5.



Рацемические β-аминоалкилфосфонаты **84** удалось разделить на энантиомеры кинетическим N-ацилированием, контролируемым биокатализатором CALB.⁸³ В качестве ацилирующего агента использовали этилацетат, поскольку винилацетат вследствие высокой нуклеофильности ацилировал аминофосфонаты даже в отсутствие CALB. В результате из диэтил-2-аминопропилфосфоната **84** ($R^1 = \text{Me}$, $R^2 = \text{Et}$) была получена смесь соответствующих энантиомерно обогащенных аминофосфоната (*S*)-**84** (*ee* 99.5%) и *N*-ациламинофосфоната (*R*)-**85** (*ee* 78%), которую разделяли колоночной хроматографией.

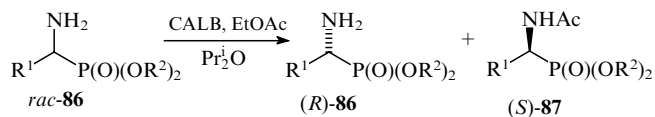


R^1	R^2	Время, ч	84		85	
			выход, %	<i>ee</i> , %	выход, %	<i>ee</i> , %
Me	Et	120	40	99.5	54	78
Me	Pr ⁿ	120	41	100	53	76
Me	Pr ⁱ	148	40	100	55	72
Et	Et	148	44	64	42	79
Et	Pr ⁿ	240	41	56	40	74
Et	Pr ⁱ	240	43	26	41	41
CH ₂ =CH	Et	24	0	0	> 90	0

На эффективность процесса влияли заместители у атома фосфора. Установлено, что для успешного катализируемого CALB разделения группа R^2 не должна быть слишком большой. Например, в тех же условиях энантиоселективность разделения диизопропил-2-аминопропилфосфоната **84** ($R^1 = \text{Me}$, $R^2 = \text{Pr}^i$) была низкой (*ee* продуктов составляли ~54 и 64% соответственно). Энантиоселективность разделения удалось повысить до $E > 70\%$ при проведении реакции соединения **84** ($R^1 = \text{Me}$, $R^2 = \text{Pr}^i$) в диизопропиловом эфире. Энантиоселективность ацилирования понижалась также, если в качестве заместителя R^1 выступала винильная группа.

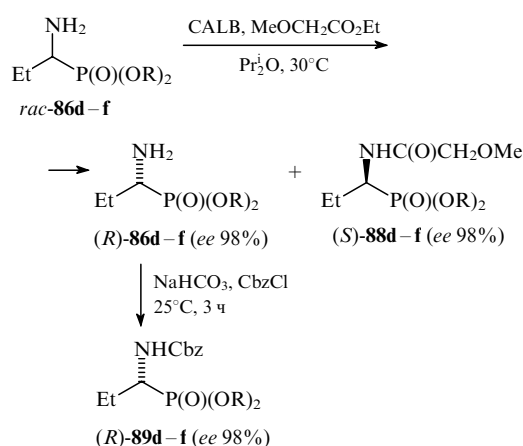
N-Ацилирование этилацетатом α-аминофосфонатов **86a–d** в присутствии CALB протекало сравнительно медленно, 50%-ная конверсия достигалась в течение 5 сут, хотя энантиоселективность в большинстве случаев была вполне удовлетворительной, превышая *ee* 90%. В результате получали смесь соединений (*R*)-**86a–d** и (*S*)-**87a–d**.

Вместо этилацетата в качестве ацилирующего агента иногда использовали более реакционноспособный этилметоксикацетат. Это, например, улучшило эффективность



Соединение	R^1	R^2	<i>(R)</i> - 86		<i>(S)</i> - 87	
			выход, %	<i>ee</i> , %	выход, %	<i>ee</i> , %
a	Me	Et	41	99.7	48	90
b	Me	Pr ⁱ	42	90	42	90
c	Et	Me	44	96	43	98
d	Et	Et	73	18	10	100

разделения энантиомеров α-аминофосфонатов **86d–f**.⁸³ В дальнейшем эфиры аминофосфоновых кислот (*R*)-**86d–f** отделяли от ацилированных производных (*S*)-**88d–f** и превращали в соединения **89d–f** с защищенной аминогруппой.



$R = \text{Et}$ (**d**), Pr^n (**e**), Pr^i (**f**).

Стереонаправленность ацилирования, катализируемого CALB, всех приведенных выше α- и β-аминоалкилфосфонатов согласуется с правилом Казлаускаса (рис. 2).

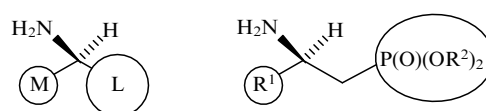
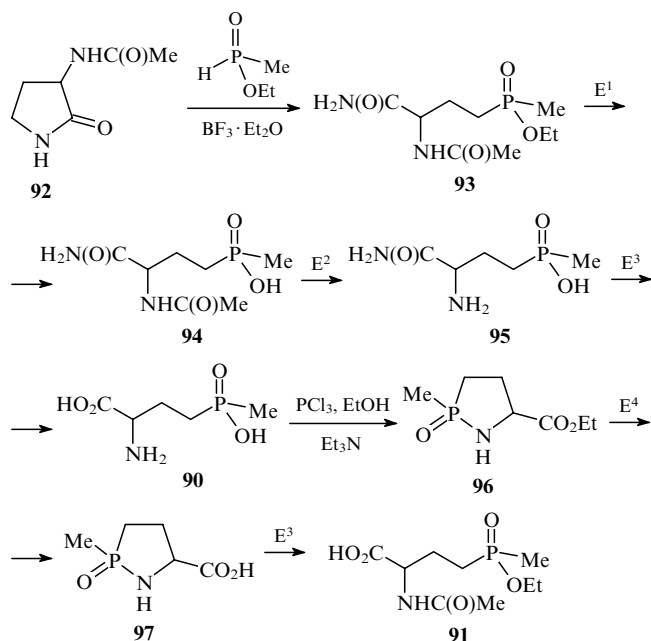


Рис. 2. Абсолютная конфигурация *S*-стереоизомеров аминокилфосфонатов — продуктов разделения, катализируемого CALB.⁸³

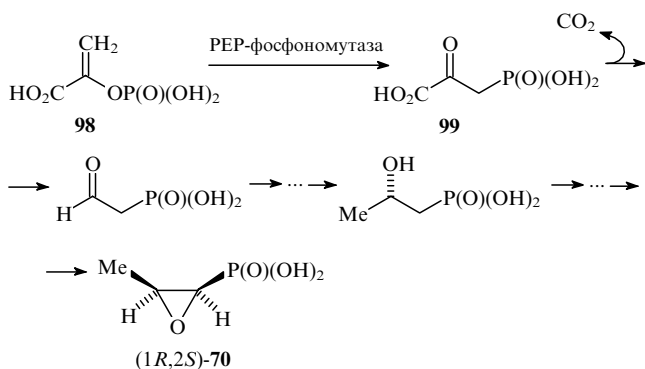
Натчев^{17,84} описал ферментативный синтез D- и L-энантиомеров фосфинотрицина (2-амино-4-гидрокси-метилфосфинилбутановой кислоты, **90**) и его производного **91**. L-Фосфинотрицин — известный гербицид, выделенный из микроорганизмов *Streptomyces hydropiscus*. Ацетилированный DL-3-аминопирролидин-2-он (**92**) реакцией с этилметилфосфинатом был превращен в ациклический фосфинат **93**. Последовательный ферментативный гидролиз фосфодиэстеразой, ацилазой и глутаминазой через стадии образования соединений **94**, **95** привел к фосфинотрицину **90**, из которого получили эфир азафосфолидинкарбоновой кислоты **96**, а после обработки глутаминазой — циклическую фосфоновую кислоту **97**. На последней стадии под действием α-химотрипсина образовалось производное L-фосфинотрицина **91**.



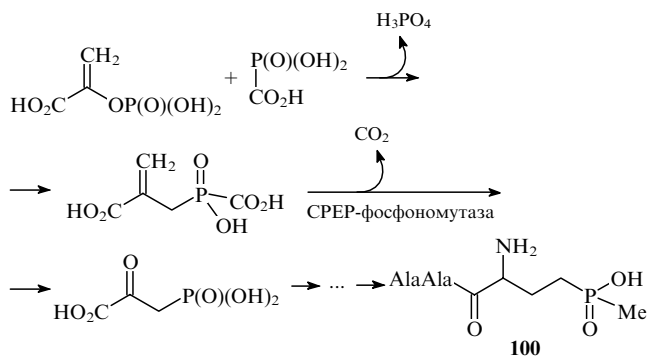
E¹ — фосфодиэстераза, E² — ацилаза I, E³ — глутаминаза, E⁴ — α -химотрипсин.

4. Биосинтез соединений со связью C—P

После открытия природных фосфонатов, таких как 2-аминоэтилфосфиновая кислота, фосфинотрицин, фосфомидин и др., значительное количество исследований было посвящено механизму образования связи C—P в биологических системах.^{85–94} Установлено, что ключевой стадией реакции, в результате которой образуется фосфонат, является перегруппировка фосфоенолпирувата (PEP) в фосфонопируват.^{86–88} Она катализируется ферментами, ответственными за образование связи P—C. В частности, фосфомидин (70) образуется в результате биокаталитической перегруппировки фосфоенолпирувата (98) в фосфонопируват (99) под действием PEP-фосфомутаза (EC 6.4.2.9), которая была выделена из простейших организмов — *Tetrahymena pyriformis* и *Streptomyces hygroscopicus*.⁸⁸ В результате внутримолекулярной перегруппировки PEP превращается в фосфонопирувиноградную кислоту, которая затем декарбоксилируется с образованием фосфоноацетальдегида и через ряд последовательных стадий превращается в фосфомидин (1*R*,2*S*)-70.^{86,87} В работе⁹³ с помощью меток ¹⁸O доказано, что катализируемый *Tetrahymena pyriformis* переход фосфорной группы от атома кислорода к атому углерода в енолпирувате 98 является внутримолекулярным процессом, протекающим с сохранением абсолютной конфигурации атома фосфора.^{91,92}

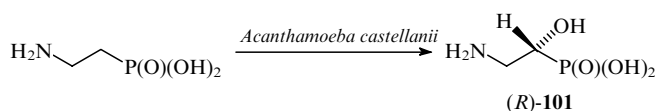


По аналогичному механизму образуется гербицид билафос (SF-1293, 100). Этот трипептидный антибиотик вырабатывается бактериями *Streptomyces veridochromogenes* и обладает гербицидной и фунгицидной активностью. Биокатализ осуществляется ферментом, выделенным из инфузории *Tetrahymena pyriformis* и представляющим собой CPEP-фосфомутазу (CPEP — карбоксифосфоенолпируват). Этот фермент инициирует конденсацию PEP с фосфоноформиатом и перегруппировку фосфоенолпирувата в фосфонопируват с образованием связи P—C. Реакция, катализируемая CPEP-фосфомутазой, также протекает с сохранением абсолютной конфигурации атома фосфора.⁹⁴

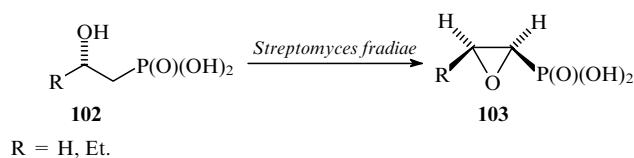


Ala — остаток аланина.

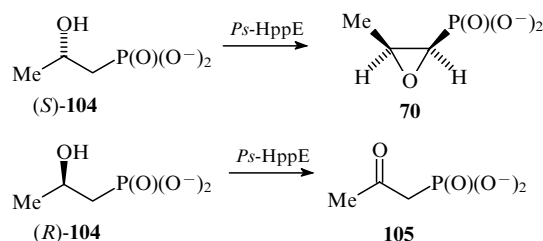
В работах^{17,89} описан биосинтез 2-амино-1-гидроксиэтилфосфиновой кислоты (ОН-АЕР) (*R*)-101. Энантиоселективное гидроксирование 2-аминоэтилфосфиновой кислоты (АЕР) осуществляется ферментом, выделенным из амёбы *Acanthamoeba castellanii*.



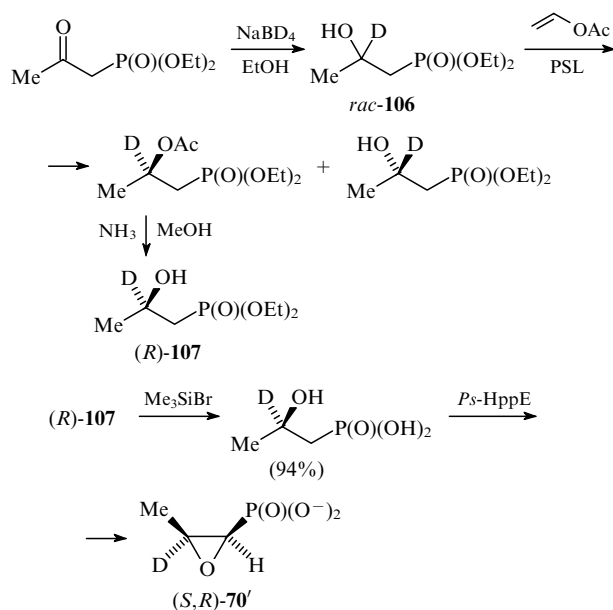
Хаммершмидт с соавт.^{95–97} исследовал биокаталитическое эпексидирование (*S*)-2-гидроксиалкилфосфиновых кислот 102 в эпоксиды 103 — аналоги фосфомидина. Реакцию инициировали ферментом, выделенным из штамма *Streptomyces fradiae*. Замещение атома водорода у α -атома углерода дейтерированных 2-гидроксипропилфосфиновых кислот, катализируемое этим ферментом, протекало стереоспецифично; было найдено, что питательная среда *Streptomyces fradiae* содержит, кроме *cis*-эпоксида фосфомидина, также 3% *trans*-эпоксида, являющегося со-метаболизмом. При образовании *cis*-эпоксидов происходила инверсия абсолютной конфигурации атома углерода, тогда как *trans*-эпоксиды получались с сохранением конфигурации. Этот факт доказали превращением дейтерированных гидроксифосфонатов в эпоксиды. Дейтерированную (1*S*,2*S*)- и (1*R*,2*S*)-2-гидрокси-1-*D*-пропилфосфиновую кислоту синтезировали из (1*S*,2*S*)-2-бензилокси-1-*D*-пропанола, который, в свою очередь, получали каталитическим восстановлением соответствующего альдегида в присутствии алкогольдегидрогеназы, выделенной из печени лошади.⁸⁶



Аналогичное биокаталитическое превращение гидрокси-фосфоната **104** в фосфомицин **70** в присутствии эпоксидазы (*S*)-2-гидроксипропилфосфоновой кислоты (*Ps*-HrpE), выделенной из фитопатогенных бактерий *Pseudomonas syringae*, описано в работах^{98,99}. Очищенный фермент *Ps*-HrpE катализировал эпексидирование (*S*)-гидроксипропилфосфоновой кислоты **104** с образованием соли фосфомицина **70**, а окисление гидроксипропилфосфоновой кислоты (*R*)-**104** в тех же самых условиях приводило к 2-оксипропилфосфоновой кислоте (**105**).



Ацилирование гидроксифосфоната **106** винилацетатом проводили в изопропиловом эфире в присутствии липазы из *Pseudomonas syringae*. Реакция завершалась за 5 сут при 30°C. После хроматографирования на силикагеле и дезацетилирования был получен оптически активный гидроксифосфонат (*R*)-(**107**) (выход 46%), который затем удалось превратить в дейтерированный аналог фосфомицина (*S,R*)-**70'**. Эксперимент с изотопной меткой показал, что атом кислорода эпексидной группы фосфомицина (*S,R*)-**70'** происходит из гидроксильной группы гидроксифосфоната **106**.⁹⁸



5. Ферментативный синтез соединений с хиральным атомом фосфора

Проблема создания хирального центра на атоме фосфора методами биокатализа имеет важное теоретическое и практическое значение.^{100–119} Известно, что соединения с хиральным атомом фосфора используются в качестве лигандов для металлокомплексных катализаторов асимметрического синтеза.^{120, 121}

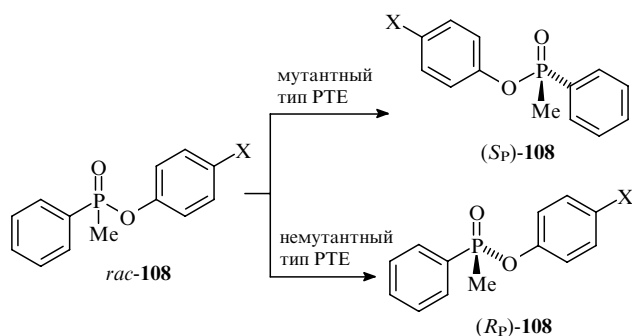
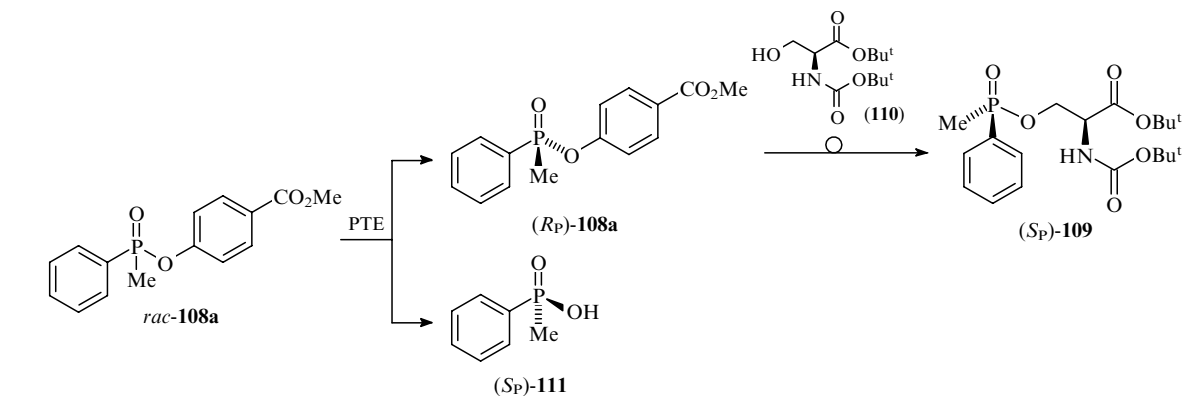
Особо следует остановиться на вопросах о старшинстве заместителей в хиральных фосфонатах и фосфинатах и об определении абсолютной конфигурации атома фосфора в этих соединениях.^{122–124} В отличие от соединений углерода, которые содержат истинно кратную связь C=O, в которых заместители располагаются по старшинству следующим образом: Alk < R–O–C < C=O, в соединениях с тетраэдрическим атомом фосфора порядок заместителей иной. Связь P=O традиционно изображается в фосфатах, фосфонатах и родственных соединениях как двойная связь, хотя правильнее ее рассматривать как одинарную связь с двумя парами электронов на атоме кислорода. Поэтому заместители у тетраэдрического атома фосфора располагаются по старшинству в следующем порядке: Alk < P=O < R–O–P. Длительное время в номенклатуре существовала неоднозначность в определении стереохимических дескрипторов для соединений с тетраэдрическим атомом фосфора. Часть химиков считала группу P=O старше сложноэфирной группы R–O–P, а другие исследователи придерживались противоположной точки зрения. Такая ситуация приводила к противоречиям в обозначениях стереодескрипторов *R* и *S* при определении абсолютной конфигурации таких соединений. Однако после того как в 2004 г. были опубликованы рекомендации ИЮПАК,¹²⁴ существовавшие противоречия в значительной степени были сняты. В данной работе, чтобы избежать противоречий в определении стереодескрипторов, мы обозначали конфигурации атома фосфора в соответствии с новыми рекомендациями ИЮПАК, даже если авторы цитируемых статей пользовались устаревшими правилами.

а. Кинетическое разделение эфиров фосфорсодержащих кислот

Раушел с соавт.^{100–105} разделили на энантиомеры рацемические фосфинаты, содержащие у атома фосфора фенольную группу в качестве уходящей, с помощью фермента фосфотриэстеразы из *Pseudomonas diminuta* (PTE). Методом рентгеноструктурного анализа установлено,¹⁰³ что активный центр PTE состоит из двух ионов Zn²⁺, которые соединены гидроксидным мостиком. Активный центр этого фермента асимметричен, что позволяет использовать фермент для кинетического разделения рацемических фосфатов и фосфонатов с высокой энантиоселективностью. Авторы обнаружили, что скорости ферментативного гидролиза под действием PTE стереоизомеров фосфината **108a**, имеющего асимметрический центр у атома фосфора, сильно различаются. Так, при проведении реакции в водном метаноле при pH 8.0 в присутствии HEPES-буфера (HEPES — 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазиноэтансульфоуксидная кислота) эта разница превышает 3 порядка. В результате гидролиза был получен хиральный фосфинат **108a**, оптическая чистота которого, установленная методом хирального электрофореза, оказалась > 99.8% (схема 4). Абсолютная конфигурация продуктов доказана с помощью PCA соединения (*S*)-**109**, полученного дериватизацией защищенной аминокислотой **110**. На основании этих результатов авторы сделали вывод, что катализируемый PTE гидролиз сложного эфира фосфината *rac*-**108a** приводит к метилфенилфосфинату (*S*)-**111**, а непрореагировавшим остается фосфинат (*R*)-**108a**.¹⁰⁰

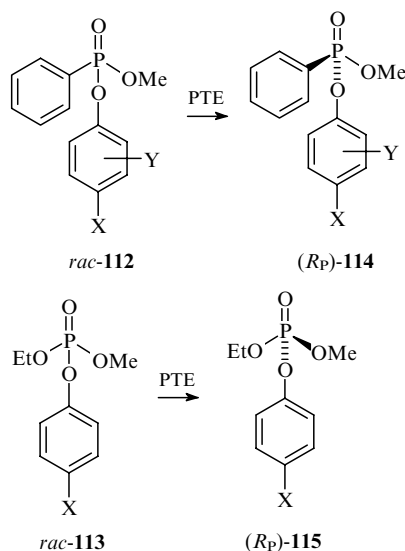
Обнаружено,¹⁰⁰ что мутантная PTE предпочтительно гидролизует *S*-стереоизомеры фосфинатов **108**, а мутантная фосфотриэстераза I106T/F132A/H254G/H257W (TAGW) — (*R*)-фосфинаты. В последнем случае фактор энантиоселективности образования соединений (*S*)-**108** был равен 17.

Схема 4



X = H, NO₂, CHO, CN, Ac, CO₂Me, Cl, F.

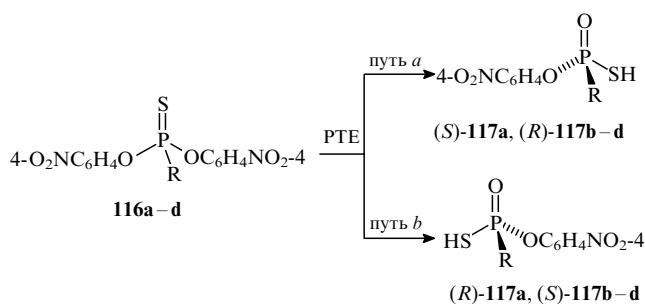
На стереоселективность природной фосфотриэстеразы влияло значение pK_a фенола, соответствующего уходящей группе.^{101–104} В оптимальных условиях стереоселективность гидролиза фосфинатов **112** и фосфатов **113** фосфотриэстеразой была очень высокой.¹⁰⁴ Соединения (*R_P*)-**114**, (*R_P*)-**115** были очищены хроматографией на силикагеле и получены с выходом 98% и *ee* 99%.¹⁰¹



X = NO₂, CHO, CN, Ac, CO₂Me, Cl; Y = 2-F, 3-F, H.

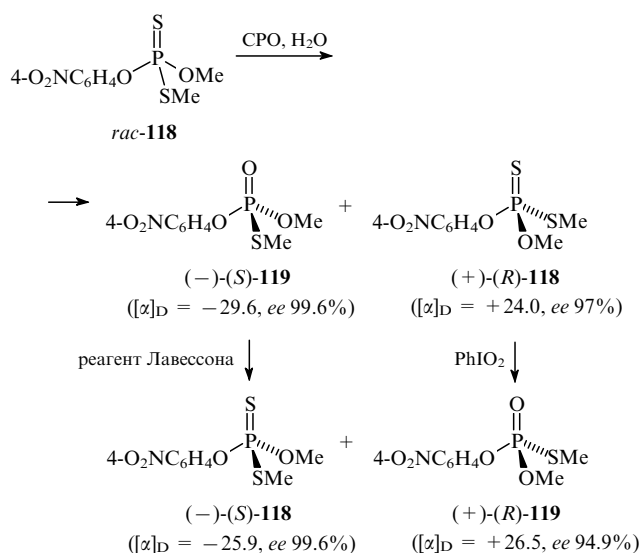
В работе¹⁰² показано, что PTE мутантного или немутантного типа гидролизуют *S*- и *R*-энантимеры фосфатов с различной скоростью. Авторы выделили стереохимически

чистые *R_P*- и *S_P*-энантимеры органофосфонатов **116** в препаративных количествах с помощью ферментативного кинетического разделения соответствующих рацематов. Реакции инициировали введением в реакционную среду немутантных и мутантных (G60A, I106G/F132G/H257Y, I106A/F132A/H257W) ферментов. Как показано ниже, под действием фосфодиэстеразы гидролиз прохиральной (*S*)-4-нитрофенокисильной группы (путь *a*) приводил к тиокислоте *S*-конфигурации, а гидролиз прохиральной (*R*)-4-нитрофенокисильной группы (путь *b*) — к *R*-тиокислоте. На стереохимию образующихся продуктов влияли заместители в соединениях **116** и природа PTE. Гидролиз фосфоната **116a** (R = Me) немутантной PTE давал преимущественно тиокислоту (*S*)-**117a**, тогда как гидролиз мутантными видами приводил к образованию тиокислоты (*R*)-**117a**. Напротив, гидролиз эфиров тиокислот **116b–d** немутантной и мутантными типами PTE в большинстве случаев давал тиокислоты (*S*)-**117b–d** с *ee* 99%. Хиральные тиофосфаты **117**, синтезированные этими методами, рассматриваются в качестве исходных соединений для синтеза сложных органических и фосфорорганических соединений.¹⁰²



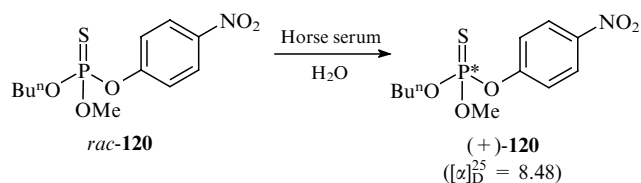
R = Me (a), OMe (b), OEt (c), OPrⁱ (d).

Биокаталитическое окисление рацемического *O,S*-диметил(*O*-4-нитрофенил)фосфородитиоата (**118**) хлорпероксидазой из *Caldariomyces fumago* (CPO) привело к образованию (–)-(*S*)-энантимера соответствующего тиофосфата (**119**) и неокисленного субстрата **118**, имеющего (+)-(*R*)-конфигурацию.¹²⁵ Оба соединения были получены с высоким энантиомерным выходом (99.6 и 97% соответственно). Реакция тионирования полученного (–)-(*S*)-тиофосфата **119** реагентом Лавессона (2,4-бис(4-метоксифенил)-1,3-дитиа-2,4-дифосфетан-2,4-дисульфидом) дала (–)-(*S*)-фосфородитиоат **118** с полной стереоспецифичностью, а при окислении непрореагировавшего субстрата (+)-(*R*)-**118** иодоксибензолом образовался оксон (+)-(*R*)-**119** с *ee* 94.9 %.



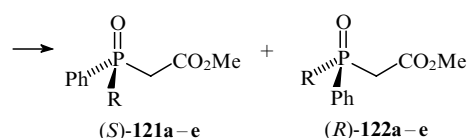
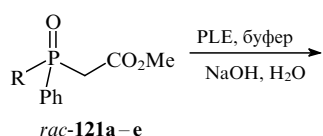
Раушел и соавт.¹²⁶ исследовали механизм гидролиза трифосфатов фосфодиэстеразой, выделенной из *Pseudomonas diminuta*, в меченной изотопом O^{18} воде. При гидролизе (*S*)-*O*-(4-нитрофенил)-*O*-этилфенилтиофосфата фосфодиэстеразой образовался *S*-энантиомер *O*-этилфенилтиофосфоновой кислоты. Авторы сделали вывод, что реакция протекает с инверсией абсолютной конфигурации атома фосфора.

Дадман и Зернер¹⁰⁷ описали ферментативный синтез оптически активных фосфатов, содержащих асимметрический атом фосфора. Катализируемый сывороткой лошадиной крови (Horse serum) гидролиз рацемического метил-(*n*-бутил)-4-нитрофенилфосфата **120** привел к оптически чистому фосфату (+)-**120** с *ee* 99%.



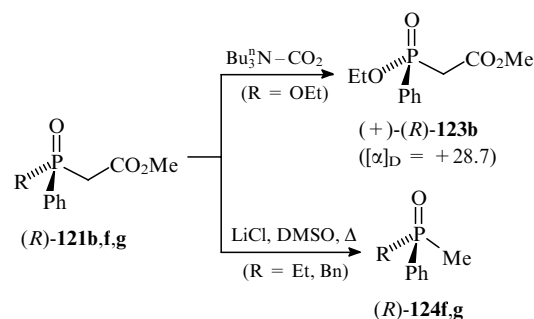
Изучена¹⁰⁶ гидролитическая активность РТЕ по отношению к энантиомерам некоторых нервнопаралитических веществ типа зарина и зомана. Найдено, что мутантные формы РТЕ гидролизуют *S*-энантиомеры этих соединений с более высокой скоростью. Мутантные формы РТЕ более активно гидролизуют *S*-энантиомеры и в соответствующих рацематах, что было предложено для их разделения.

Ферментативный гидролиз рацемических фосфинатов **121a–e** проводили в присутствии эстеразы свиной печени (PLE) при 30°C в фосфатном буфере.^{113, 116, 118, 119} Для того чтобы поддерживать значение pH по ходу реакции, использовали автоматический титратор. Реакцию останавливали при достижении 50%-ной конверсии. Непрореагировавшие эфиры (*S*)-**121a–e** и образовавшиеся в результате гидролиза кислоты (*R*)-**122a–e** разделяли хроматографически (см.^{113, 116, 118, 119}).



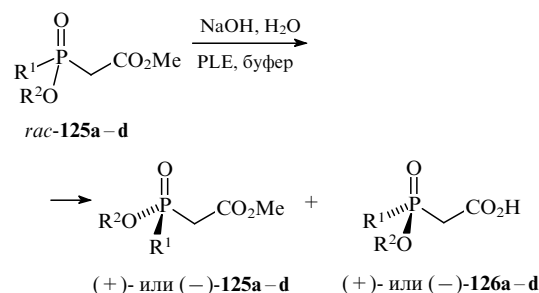
Соединение	R	121		122	
		выход, %	ee, %	выход, %	ee, %
a	MeO	40	9.5	44	64
b	EtO	46	67	40	71
c	PrO	69	48	30	50
d	Pr ⁿ O	50	26	47	14
e	Bu ⁿ O	54	30	33	40

Энантиомерно чистые сложные эфиры **121b,f,g** декарбоксилировали с образованием оптически активных фосфината **123b** и фосфиноксидов **124f,g**. Абсолютную конфигурацию соединений определяли посредством химической корреляции и методом кругового дихроизма.¹¹⁶



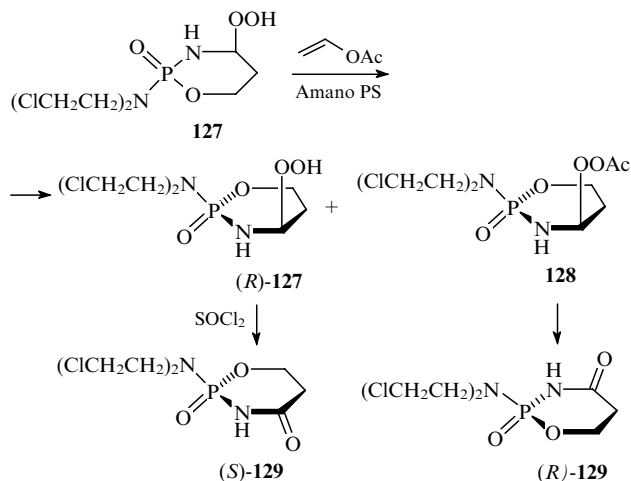
R = EtO (**b**), Et (**f**), Bn (**g**).

Фосфонил- (**125a,b**) и фосфорилацетаты (**125c**), а также фосфамид **125d** гидролизуют в присутствии PLE, в результате были получены смеси *P*-хиральных фосфорсодержащих уксусных кислот **126a–d** и эфиров **125a–d**.¹¹⁸ Ферментативный гидролиз в условиях кинетического разделения проводили до 50%-ной конверсии.¹¹³ Гидролиз фосфонилацетатов, катализируемый PLE, протекал энантиоселективно и приводил к образованию оптически активных продуктов с хорошими химическими выходами, однако оптические выходы были относительно невысоки. Во всех случаях предпочтительно реагировали *R*-энантиомеры ацетатов **125a–d**.

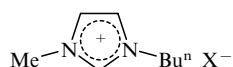


Соединение	R ¹	R ²	125		126	
			выход, %	ee, %	выход, %	ee, %
a	Et	Me	50	38	34	42
b	Et	Et	40	—	60	—
c	PhO	Et	66	20	22	52
d	Et ₂ N	Me	20	90	58	25

Японские авторы¹⁰⁸ описали кинетическое разделение рацемического 4-гидропероксициклофосамина **127**, обладающего противоопухолевой активностью. Ацилированием в присутствии липазы Amano PS получали соединения (*R*)-**127** и **128**, которые превращали в продукты *S*- и *R*-стереоизомеры **129** соответственно.



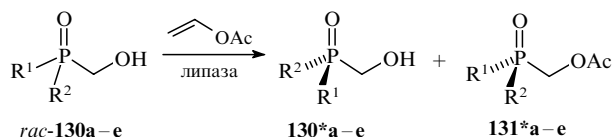
Для разделения рацемических фосфинатов использовали различные органические среды, в том числе ионные жидкости, и сверхкритический CO₂.¹¹⁵ Ацелирование рацемических *P*-хиральных гидроксиметилфосфинатов и -фосфиноксидов в присутствии липазы было проведено в условиях кинетического разделения в ионных жидкостях BMIM⁺X⁻ (BMIM — 1-*n*-бутил-3-метилимидазолий).^{111, 112}



X = PF₆, BF₄.

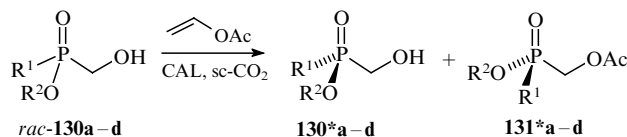
Липазы из *Pseudomonas fluorescens* — иммобилизованная (Amano AK) и неиммобилизованная (PFL) — действовали в 6 раз более эффективно в среде BMIM⁺PF₆⁻, чем в органических растворителях.¹¹⁰ Напротив, аналогичные реакции в BMIM⁺BF₄⁻ были практически нестереоселективны.

Рацемические гидроксиметилфосфинаты **130a–d** и -фосфиноксид **130e** ацелировали винилацетатом в присутствии липаз в ионной жидкости. Из двух исследованных ионных жидкостей лучшие результаты были получены с BMIM⁺PF₆⁻, которая позволила повысить стереоселективность ферментативного разделения и получить соединения **130*a–e**, **131*a–e** с удовлетворительной оптической чистотой. Значения *E* были в 3–6 раз выше в случае субстратов, имеющих объемные органические заместители.



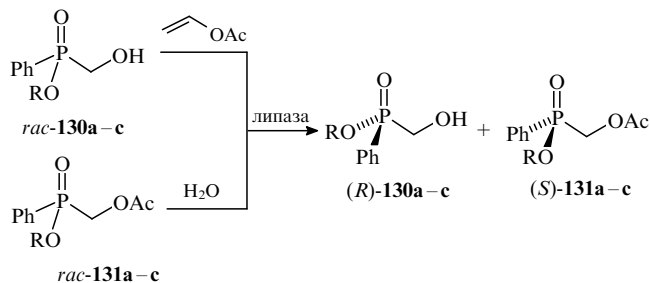
Соединение	R ¹	R ²	Липаза	<i>ee</i> для 130* , %	<i>ee</i> для 131* , %
a	Ph	MeO	PFL	89	89
b	Ph	EtO	AK	79	83
c	Ph	Pr ⁱ O	PFL	96	80
d	Et	Pr ⁱ O	PFL	95	50
e	Ph	Bu ^t	AK	43	53

При различных условиях изучено кинетическое разделение рацемических *P*-хиральных гидроксиметилфосфинатов **130a–d** посредством биокаталитической переэтерификации в сверхкритическом диоксиде углерода (sc-CO₂).^{114, 115} Установлено, что на выходы и энантиомерную чистоту образующихся продуктов **130*a–d**, **131*a–d** влияет избыточное давление. Скорость реакции достигала максимального значения, когда давление приближалось к критической величине 11 МПа, а при дальнейшем росте давления до 15 МПа скорость реакции уменьшалась. Оптимальные результаты были получены при давлении 13 МПа — легко достигалась 50%-ная конверсия, а энантиоселективность была максимальной. Таким образом, изменяя давление, можно влиять на реакционную способность субстрата и стереоселективность процесса. На стереоселективность реакции влияли также растворитель, объем заместителей у атома фосфора и растворимость субстратов в sc-CO₂. Наилучшие результаты были получены с липазой из *Candida antarctica* (Novozym 435).¹¹⁴



Соединение	R ¹	R ²	Конверсия, %	130*		131*	
				выход, %	<i>ee</i> , %	выход, %	<i>ee</i> , %
a	Ph	Me	8	81	4	5	7
b	Ph	Et	93	6	88	82	6
c	Ph	Pr ⁱ	46	52	38	46	27
d	Et	Pr ⁱ	100	—	—	90	—

Разделение рацемических гидроксиметилфосфинатов **130a–c** переэтерификацией с винилацетатом в присутствии липазы из *Pseudomonas cepacia* (Amano PS) протекало с умеренными *ee*. В некоторых случаях гидролиз соответствующих ацетатов **131a–c** был более эффективным и приводил к увеличению *ee*. Обнаружено, что три последовательных проведения гидролиза энантиомерно обогащенных ацетатов **131a–c** липазами PFL и Amano PS увеличивали энантиомерную чистоту продуктов до > 92%.¹¹⁷

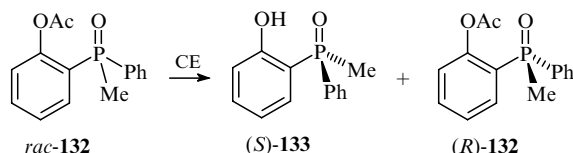


Соединение	R	Липаза	130		131	
			выход, %	<i>ee</i> , %	выход, %	<i>ee</i> , %
a	Me	PFL	44	80	39	89
	Me	Amano PS	42	92	44	86
b	Et	PFL	42	54	53	47
	Et	Amano PS	30	54	68	21
c	Pr ⁱ	PFL	52	36	45	24

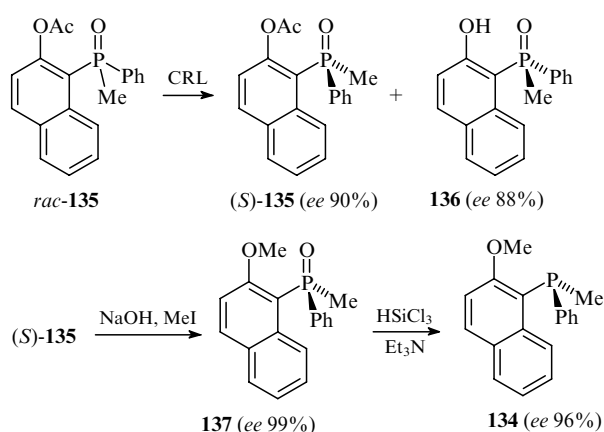
б. Ферментативное разделение фосфиноксидов и фосфинов

Среди различных классов хиральных фосфорсодержащих соединений особое значение имеют хиральные фосфин-оксиды.^{120, 121} Они используются как хиральные индукторы в реакциях асимметрического синтеза и являются предшественниками фосфинов — хиральных лигандов в комплексах переходных металлов. Поэтому разработка методов синтеза фосфиноксидов, содержащих асимметрический атом фосфора, с применением биокатализа вызывает значительный интерес исследователей.

Казлаускас и Серрекви¹²⁷ сообщили, что *P*-хиральные гидроксиарилфосфины и фосфиноксиды могут быть получены методом ферментативного ацетилирования. Среди испытанных коммерчески доступных гидролитических ферментов наилучшие результаты достигнуты с использованием холестеринэстеразы (CE) и CRL. Катализируемый CE гидролиз неприродного субстрата — ацетата фосфиноксида **132** — протекал в 7 раз быстрее, чем гидролиз в тех же условиях природного ацетата холестерина. Аналогичные результаты показала CRL. Энантиоселективность разделения варьировалась от низкой до высокой, но оптическая чистота соединения (*S*)-**133** достигала 95%.

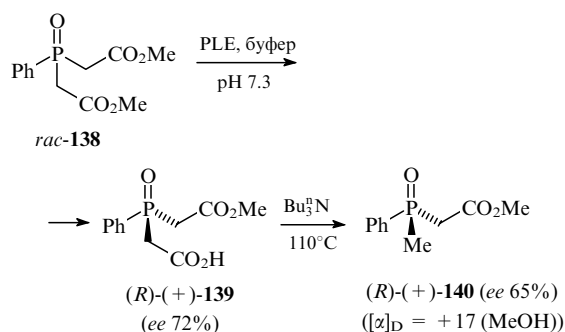


Эта же стратегия была использована для синтеза хиральных третичных нафтилфосфинов **134** — исходных соединений для получения хиральных реагентов Виттига. При биокаталитическом гидролизе образуется смесь ацетата **135** и спирта **136**. Последующее метилирование продукта (*S*)-**135** приводит к хиральному метоксифосфиноксиду **137** (*ee* 99%). Затем стереоспецифическим восстановлением соединения **137** получают хиральный третичный фосфин **134** (*ee* 96%). Реакции с использованием CRL и CE показали близкую энантиоселективность.¹²⁷

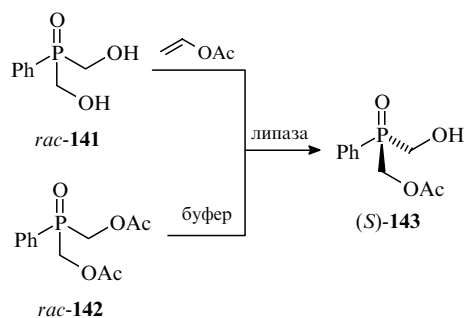


Миколойчик с соавт.¹⁰⁹ исследовал биокаталитическую десимметризацию бифункциональных фосфинатов и фосфиноксидов. Гидролиз бис(метоксикарбонилметил)фенилфосфиноксида (**138**) проводили в фосфатном буфере в присутствии эстеразы свиной печени. Хиральный моноацетат (*R*)-**139** выделяли с помощью колоночной хроматографии (выход 92%) и декарбоксилировали. В результате образовался хиральный фосфиноксид **140**, абсолютная кон-

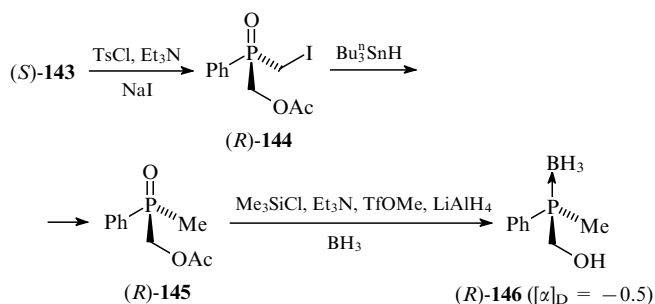
фигурация которого была известна, что позволило установить (*R*)-конфигурацию соединения **139**.



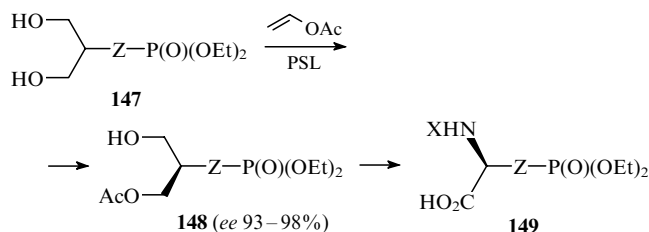
Биокаталитическое ацетилирование прохирального бис(гидроксиметил)фенилфосфиноксида (**141**) и биокаталитический гидролиз прохирального бис(ацетоксиметил)фенилфосфиноксида (**142**) проводили в присутствии различных липаз.¹⁰⁹ Среди испытанных липаз — PFL, LAN-S, Amano AK и Amano PS — наилучшие результаты были достигнуты с использованием PFL в хлороформе. В этом случае получили хиральное соединение (*S*)-**143** с выходом 50% и *ee* 79%. На выход продукта и стереоселективность реакции не влияли замена растворителя (в том числе применение ионной жидкости BMIM⁺PF₆[−]) и введение различных добавок.



Абсолютную конфигурацию соединения (*S*)-**143** установили с помощью химической корреляции. С этой целью спирт (*S*)-**143** сначала превращали в иодид (*R*)-**144**, который восстанавливали до фосфината (*R*)-**145**. Последующее превращение привело к борановому комплексу фосфинистой кислоты (*R*)-**146**, абсолютная конфигурация которого была известна.¹⁰⁹



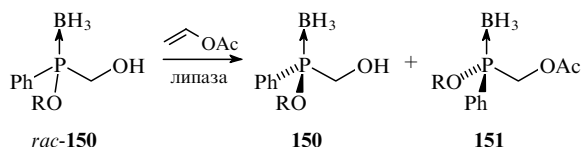
Аналогичный прием использовали для десимметризации прохиральных 2-(ω-фосфо)алкилпропан-1,3-диола **147**. Катализируемое липазой из *Pseudomonas* sp. ацетилирование диола **147** привело к хиральным фосфонатам **148** с энантиоселективностью *ee* 93–98%. Соединения **148** были превращены в защищенные хиральные α-амино-ω-фосфоновой кислоты **149**.¹²⁸



Z = CH₂, CH₂CH₂, CH₂CF₂; X = Cbz, Boc.

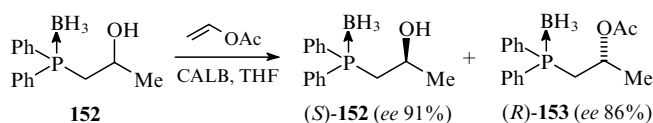
6. Ферментативное разделение борановых комплексов соединений трехвалентного фосфора

В отличие от Р-хиральных гидроксиметилфосфиноксидов аналогичные Р-борановые комплексы оказались плохими субстратами в катализируемых липазой превращениях.^{129–131} Реакции протекали медленно и с низкой стереоселективностью, что, вероятно, объясняется различием в размерах атома кислорода и BH₃-группы, а также разным электронным влиянием связей P=O и P–BH₃. Миколайчик и соавт.¹²⁹ провели биокаталитическое разделение алкокси-(гидроксиметил)фенилфосфинборанов **150**, используя переэтерификацию винилацетатом. Реакции проводили в присутствии липаз CAL, PSC, Amano AK, Amano PS, Amano AH в диизопропиловом эфире или циклогексане. В диизопропиловом эфире реакция протекала медленно (от 10 до 40 сут) и с низкой стереоселективностью (ee продуктов **150**, **151** составлял от 2 до 20%). В циклогексане скорость реакции существенно увеличивалась (время превращения 6–21 ч), однако стереоселективность оставалась невысокой (ee 37%). Отметим, что липазы Amano AK и Amano PS приводили к образованию оптических антиподов энантиомерно обогащенных фосфинитов.



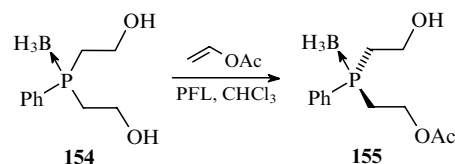
R = Et, Prⁱ.

Стереоселективность разделения увеличивалась в случае боранового комплекса 2-гидроксипропилфосфина **152**, содержащего асимметрический центр в боковой цепи. Был изучен большой ряд ферментов: Amano R10, Amano AK, Amano AY, CALB, PPL, PFL, липазы из *Mucor miehei*, *Candida* sp., *Aspergillus niger*, *Candida lipolytica*, а также ацилаза I и протеиназа 6. Наиболее высокая эффективность разделения была достигнута при использовании CALB. Например, в присутствии этой липазы под действием винилацетата из рацемического (2-гидроксипропил)дифенилфосфинборана **152** получили (S)-энантиомер спирта **152** (ee 91%) и ацетат **153**. Фактор энантиоселективности составил 41, что является вполне удовлетворительной величиной.¹³⁰

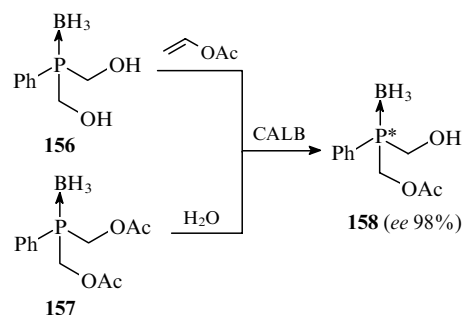


Для десимметризации прохирального диола **154** использовали винилацетат как ацетирующий реагент и ряд

различных липаз (CAL, PFL, PSC, Amano AK, Amano AH, Amano PS), из которых, однако, только PFL оказалась эффективной. Природа растворителя сильно влияла на стереоселективность процесса: так, замена хлороформа на диизопропиловый эфир приводила к образованию оптического антипода продукта **155**. Вероятно, это связано с различной полярностью используемых растворителей, так как в менее полярном хлороформе реакция протекала более стереоселективно (ee продукта 90%), чем в диизопропиловом эфире (ee 10%).¹²⁹

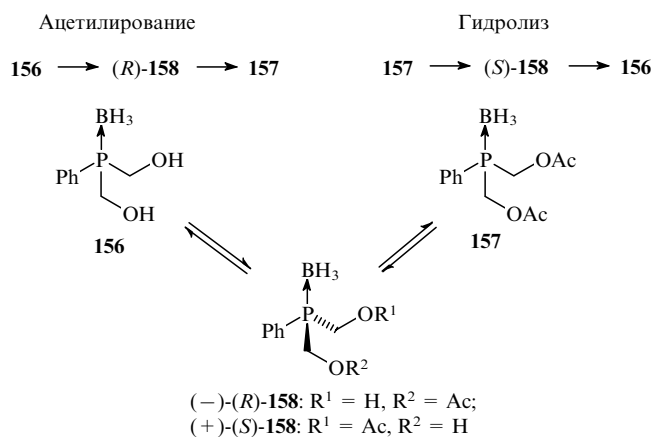


Виктелиус с соавт.¹³¹ использовал различные липазы (Amano A, Amano PS, CALB (Novozym 435), Amano AK, PPL (Fluka)) для десимметризации прохиральных комплексов фосфинов **156**, **157**, которые в результате превращались в энантиомеры **158**. Среди изученных липаз наилучшие результаты были достигнуты при действии CALB: соединения **158** получались с оптической чистотой > 98%.



На схеме 5 представлена стереохимия реакций ацетилирования (винилацетат, липаза) и гидролиза (липаза, THF–Pr₂O, pH 7) соединений **156** и **157** соответственно в условиях, позволяющих регенерировать субстраты. Гидролиз ацетоксифосфонатов был более медленным и протекал с меньшей стереоселективностью, чем биокаталитическое ацетилирование гидроксифосфонатов. По-видимому, это обусловлено меньшим различием в размерах заместителей. В результате десимметризации образовывались разные энантиомеры соединения **158**.¹³¹

Схема 5



Таким образом, липазы, которые относятся к сравнительно недорогим ферментам и довольно удобны в экспериментальном отношении (особенно иммобилизованные на носителях), постепенно вытесняют живые микроорганизмы из повседневной работы химических лабораторий. К сожалению, в случае рацемических ФОС липазы иногда проявляют недостаточно высокую активность, поэтому приходится применять для биокатализа и микроорганизмы.

III. Микробиологический синтез хиральных фосфорорганических соединений

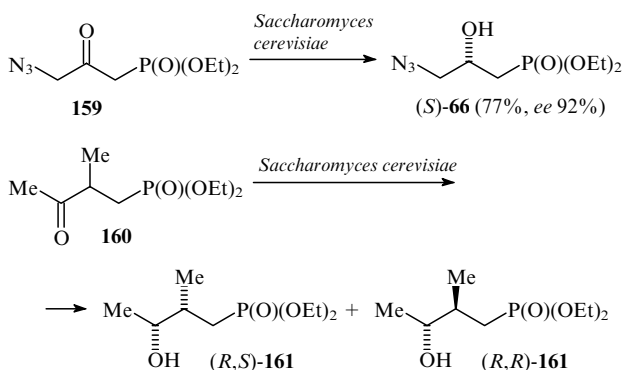
Для биокаталитических превращений рацемических субстратов в энантиомерно чистые продукты можно использовать живые микроорганизмы, которые выделяют ферменты непосредственно в реакционную среду.^{132–136} Главным преимуществом микроорганизмов является высокая стереоселективность инициируемых ими реакций. К недостаткам следует отнести малые скорости (времена превращения от нескольких дней до недель) и низкую концентрацию субстрата в реакционной среде. Обычно биокатализ микроорганизмами проводят в водных растворах,¹³² поэтому субстрат должен быть растворим в воде. В последние годы были разработаны методы, позволяющие проводить микробиологические реакции в неводных средах,¹³⁵ что особенно важно для ФОС, которые часто неустойчивы или нерастворимы в воде. Такие методы включают использование двухфазных систем, эмульсий или безводных сред. Однако во всех случаях живой биокатализатор нуждается в создании условий, обеспечивающих его активность и жизнеспособность в органической среде. Так, лиофилизация и иммобилизация повышают устойчивость биокатализатора к токсичному воздействию органических растворителей. Эти приемы использовали, например, для биовосстановления α -кетофосфонатов, которые в воде легко гидролизуются с разрывом P—C-связи.¹³⁶

В ряде случаев активность микроорганизмов удается повысить методами прединкубации за счет предварительной температурной обработки, культивирования в анаэробных условиях или в условиях голодания. Кроме того, на активность микроорганизмов влияют различные добавки.^{132, 133} Недавно были опубликованы монографии^{2, 3} и обзор¹³⁴, посвященные применению микроорганизмов для стереоселективных биопревращений органических соединений. Представленный ниже раздел является дополнением этих публикаций, поскольку сведения по фосфорорганическим соединениям в них не отражены.

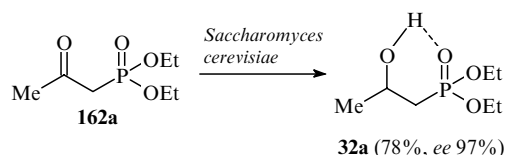
Для биосинтеза ФОС применяли различные дрожжи, микроскопические грибы и бактерии.^{135–149} Описано использование бактерий *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhodococcus* sp., *Serratia liquefaciens*; грибов *Aspergillus niger*, *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Cladosporium* sp. Op328, *Cunninghamella elegans*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium oxalicum*, *Verticillium* sp., а также дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula rubra*, *Rhodotorula glutinis*. Некоторые из этих микроорганизмов являются источниками биокатализаторов, которые выделяют для последующего использования. Микроорганизмы в лиофилизированном виде (как наиболее удобном для применения) можно приобрести в коммерческих фирмах, занимающихся продажей химических и биохимических реактивов (Sigma-Aldrich, Fluka и др.).

1. Синтез с использованием дрожжей

Пекарские дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) широко применяют в органическом синтезе,^{132–143} поскольку такой катализатор доступен и универсален. Для проведения экспериментов вполне подходят обычные дрожжи, купленные в продуктовом магазине. Наиболее изученный и часто используемый метод биопревращений в присутствии этого биокатализатора — восстановление кетонов, в том числе фосфорсодержащих. Так, катализируемое дрожжами асимметрическое восстановление диэтил-2-оксоалкилфосфонатов **159**, **160** приводит к 2-гидроксиалкилфосфонатам **66**, **161** соответственно с хорошими выходами и оптической чистотой, достигающей ~97–100%.^{132, 139} В случае фосфоната **160** образуется смесь диастереомеров с общим выходом 70% и соотношением (*R,S*):(*R,R*) = 2:1.



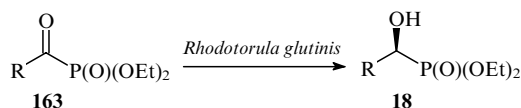
При аналогичном биовосстановлении диэтил-2-оксопропилфосфоната **162a** получен 2-гидроксиалкилфосфонат **32a** с энантиомерным избытком ~97%.¹³² Спектроскопические исследования показали, что этот гидроксифосфонат существует в конформации, которая «заморожена» вследствие образования внутримолекулярной водородной связи между атомом кислорода фосфоната и атомом водорода гидроксильной группы.



Эффективность биовосстановления β -кетофосфонатов **160**, **162a** с использованием *Saccharomyces cerevisiae* сильно зависит от природы субстрата.^{130, 138} Например, при наличии пространственных затруднений, создаваемые метильным заместителем, который находится в непосредственной близости от карбонильной группы (соединение **160**), уменьшается выход продуктов реакции. Использование дрожжей, выращенных в анаэробных условиях, позволяет частично преодолеть эту проблему, повысить выход продукта и стереоселективность восстановления.¹⁴⁰ Например, анаэробная прединкубация позволила осуществить биовосстановление диэтил-3-оксо-4-метилбутилфосфоната, который не удавалось восстановить в обычных условиях, и получить соответствующий гидроксифосфонат с ee 85%.¹⁴⁰

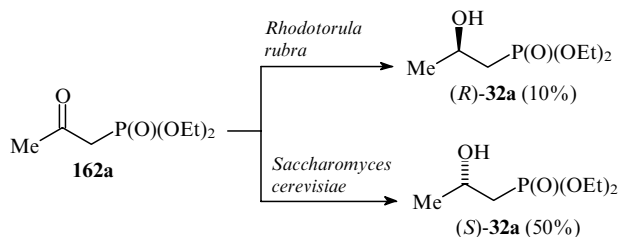
Микроорганизмы *Rhodotorula rubra*, *Rhodotorula glutinis*, *Cladosporium* sp., *Verticillium* sp. и *Saccharomyces cerevisiae* были использованы для энантиоселективного восстановления диэтил- α -кетофосфонатов **163**, которые легко гидроли-

зуются в водной среде с разрывом связи С–Р. Чтобы подавить гидролиз, процесс проводили в безводных условиях. Использование лиофилизированных клеток, иммобилизованных на целите R 630, привело к образованию α -гидроксифосфонатов **18**.^{135, 136, 140} Наилучшие результаты были получены при восстановлении соединений **163** в абсолютном гексане с иммобилизованными клетками *Rhodotorula glutinis*; в этом случае продукты **18** были получены с оптической чистотой, достигавшей 99%.^{135, 142, 145}



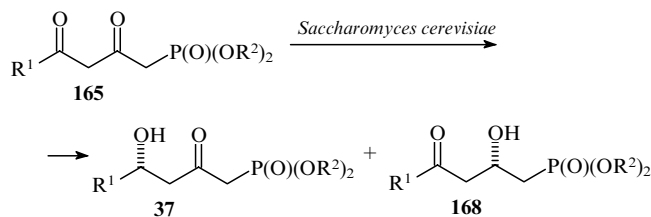
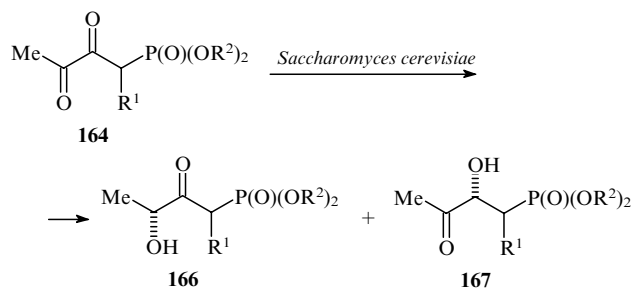
R = H, Me, Prⁱ, PhCH₂CH₂.

Хиральные (*R*)- и (*S*)-диэтил-2-гидроксипропилфосфонаты **32a** высокой энантиомерной чистоты получали биовосстановлением кетофосфоната **162a** в присутствии следующих микроорганизмов: *Rhodotorula rubra*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula gracilis* и *Saccharomyces cerevisiae*.¹⁴³ Восстановление в присутствии *Saccharomyces cerevisiae* давало только *S*-энантиомеры, а при использовании *Rhodotorula rubra* образовался (*R*)-гидроксифосфонат **32a**. Энантиомерный избыток продуктов превышал 90%.



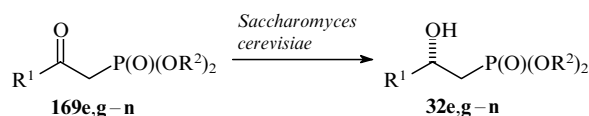
Добавки этилхлорацетата или метилвинилкетона в восстановительную среду также приводили к изменению абсолютной конфигурации продукта биовосстановления пекарскими дрожжами: в этом случае получался *R*-стереоизомер 2-гидроксифосфоната, в то время как в отсутствие добавок — (*S*)-2-гидроксифосфонат с энантиомерным избытком 99%.

При биовосстановлении диоксоалкилфосфонатов **164**, **165**, содержащих две кетогруппы, в присутствии пекарских дрожжей образуются смеси изомеров гидрокси(кето)алкилфосфонатов **166**, **167** и **37**, **168** соответственно. Химические выходы продуктов удовлетворительные, а оптические — от умеренных до хороших (*ee* от 80 до 92–94%). Некоторые из этих соединений были выделены из смесей в индивидуальном виде и использованы как хиральные реагенты в реакции Хорнера – Уотсворда – Эммонса.¹⁴¹



R¹ = Me, CF₃, Prⁿ; R² = Et, Buⁿ.

Асимметрическим восстановлением галогенсодержащих диэтил-2-кетоалкилфосфонатов **169e.g–n** сухими дрожжами были получены соответствующие диэтил-2-гидроксифосфонаты **32e.g–n** с хорошими выходами и удовлетворительной оптической чистотой.^{139, 141}



Соединение	R ¹	R ²	Время, ч	Выход, %	ee, %	Конфигурация
e	CH ₂ Cl	Et	12	82	72	<i>R</i>
g	CH ₂ Cl	Me	24	74	70	<i>R</i>
h	CH ₂ Cl	Pr ⁱ	24	57	13	—
i	CH ₂ Cl	Bu	24	88	70	<i>R</i>
j	CH ₂ Br	Et	24	35	83	<i>R</i>
k	CH ₂ Br	Pr ⁱ	24	41	52	—
l	CH ₂ Br	Bu ⁿ	24	55	87	<i>R</i>
m	CF ₃	Et	48	86	52	—
n	C ₃ F ₇	Et	24	55	20	—

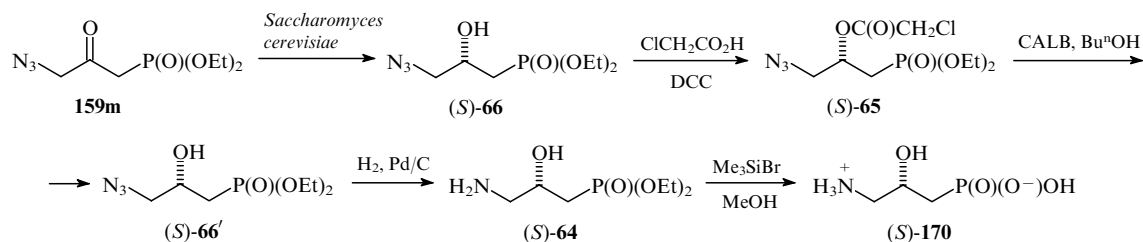
Примечание. Прочерк означает, что конфигурация не определена.

Восстановление кетофосфонатов **169** проводили при 30°C в аэробных условиях. В случае нереакционноспособных соединений применяли анаэробное восстановление. Стереоселективность восстановления зависела от природы 3-замещенных 2-оксопропилфосфонатов. Электроноакцепторные заместители в боковой цепи понижали оптические выходы продуктов. Например, энантиомерный выход и чистота 1-бром-2-гидроксипропилфосфонатов **32j–l** были выше, чем таковые для хлорсодержащих аналогов, а в случае фосфонатов **169m,n** с группой CF₃ или C₃F₇ биовосстановление протекало с невысокими энантиомерными избытками.¹⁴¹ Объемные изопропильные группы у атома фосфора кетофосфонатов **32h,k** также затрудняли процесс.

Синтезированные этим способом 3-замещенные-2-гидроксипропилфосфонаты **32** использовались как хиральные реагенты для синтеза фосфорных аналогов биологически активных молекул, таких как карнитин и GABOV.^{40, 139, 141} Последовательность превращений аналогична представленной на схеме 3.

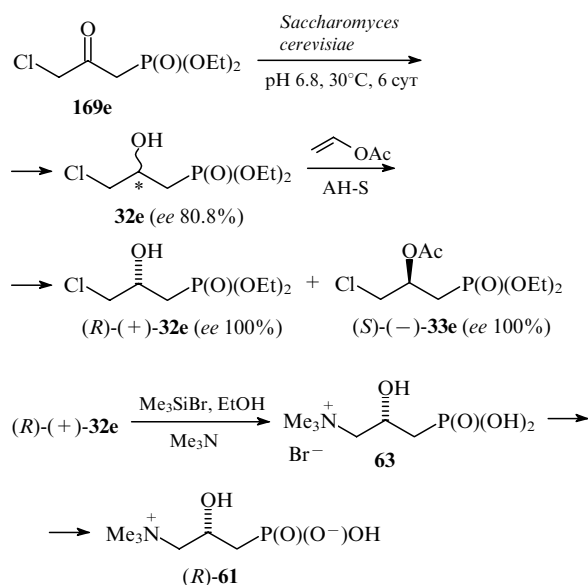
Авторы работы⁴⁰ усовершенствовали энантиоселективный синтез фосфо-GABOV (**170**), проведя двойной биокатализ для получения энантиомерно обогащенного гидроксифосфоната **66**. При биовосстановлении кетона **159m** образуется гидроксифосфонат **66** с *ee* 90%, который далее подвергают дополнительному ферментативному разделению с использованием CALB, что позволило получить оптически чистый продукт (*S*)-**66'**. Последующим восстановлением азида (*S*)-**66'** водородом в присутствии палладия получили 3-амино-2-гидроксипропилфосфонат (*S*)-**64**, кото-

Схема 6

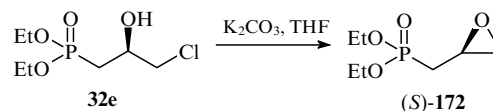
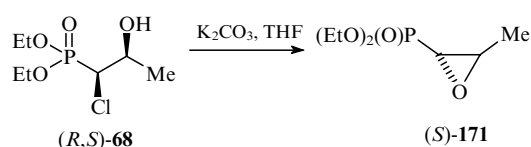


рый после обработки бромтриметилсиланом и метанолом с высоким выходом и высоким энантимерным избытком превращался в фосфо-GABOV (*S*)-170 (схема 6).

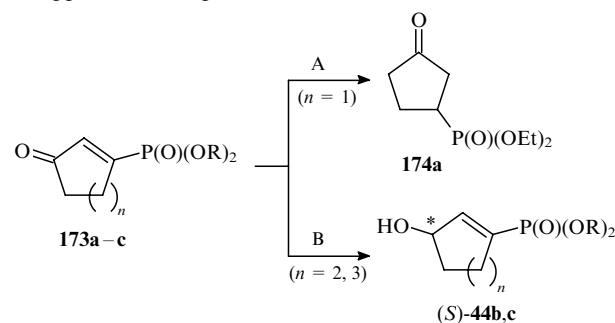
Хемоферментативный синтез энантиомеров фосфокарнитина был разработан Миколайчиком и соавт.⁶³ с использованием микробиологического восстановления на ключевой стадии процесса. Фосфокарнитин (**61**) синтезировали из диэтил-2-оксо-3-хлорпропилфосфоната **169e** в три стадии, включая восстановление, дополнительную ферментативную очистку энантимерно обогащенных фосфонатов **32e**, **33e**, превращение соединения **32e** в фосфовую кислоту и заключительную реакцию с триметиламином, которая привела к триметиламмониевой соли (*R*)-**61**. Разработанная методология позволила получить энантимерно чистые фосфонаты (*R*)-(+)-**32e** и (*S*)-(–)-**33e**, которые были превращены в энантиомеры фосфокарнитина.



Оптически чистые гидрокси(хлор)алкилфосфонаты **32e** и **68**, полученные микробиологическим методом,^{40, 139} были использованы также для получения предшественников фосфомицина. Обработка хиральных соединений (*R*)-**32e** и (*R,S*)-**68** карбонатом калия в ТГФ привела к хиральным эпоксифосфонатам (*S*)-**171** и (*S*)-**172** с хорошими выходами и удовлетворительной оптической чистотой.



Аттолини и соавт.^{70, 71} осуществили энантиоселективное восстановление циклических диалкил-3-оксоалк-1-енилфосфонатов **173a–c** с различными видами дрожжей: ферментированными дрожжами, лиофилизированными сухими дрожжами, а также ацетоновыми экстрактами из дрожжей, применяемыми в виде сухих порошков. Восстановление шести- и семичленных енонов **173b,c** ферментированными дрожжами привело к соответствующим фосфонатам **44b,c** с удовлетворительными выходами и с умеренными или хорошими энантимерными избытками. В то же время восстановление пятичленного енонфосфоната **173a** протекало с участием двойной связи C=C и приводило к циклическому кетону **174a** с низким значением *ee*. Изменение условий заметно не улучшало оптическую чистоту продуктов реакции. Для шестичленных циклов было найдено, что наличие объемных алкильных групп у атома фосфора повышает энантиоселективность восстановления до *ee* 95%. Восстановление шестичленных енонфосфонатов **173b** ацетоновым экстрактом дрожжей повышало выход продуктов восстановления **44b**, хотя их оптическая чистота осталась примерно на том же уровне. Восстановление циклических енонов сухими дрожжами в органических растворителях не приводило к повышению выходов продуктов и энантиоселективности реакции. При увеличении объема алкильной группы у атома фосфора (от Me к Et и Prⁿ) шестичленных соединений **173b** оптические выходы продуктов реакции **44b** увеличивались от 45 до 95%. Абсолютная конфигурация синтезированных шестичленных гидроксифосфонатов **44b** была установлена методом химической корреляции и определена как *S*.



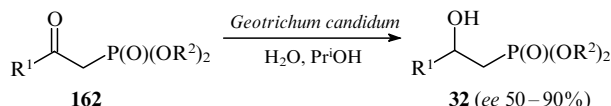
$n = 1$ (a), 2 (b), 3 (c); R = Me, Et, Prⁿ;

A — ферментированные дрожжи, B — сухие дрожжи.

2. Синтез с использованием микроскопических грибов

Микроскопические грибы *Geotrichum candidum* (молочная плесень), которые доступны в двух различных формах — IFO 4597 и IFO 5767, обычно проявляют высокую стерео-

селективность при восстановлении кетонов различного строения. Однако в случае 2-кетоалкилфосфонатов эти грибы оказались эффективными только при восстановлении диэтил-2-оксипропилфосфоната **162** ($R^1 = \text{Me}$, $R^2 = \text{Et}$), который действием *Geotrichum candidum* превратили в (+)-(*R*)-диэтил-2-гидроксипропилфосфонат (**32a**) с *ee* 98% и удовлетворительным выходом.⁶¹ Другие субстраты **162**, содержащие более объемные заместители, давали или продукты восстановления с низкими выходами, или не вступали в эту реакцию.

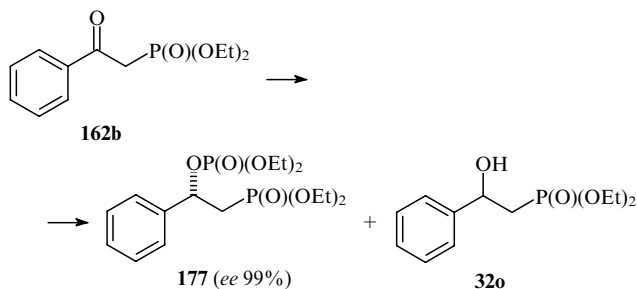


$R^1 = \text{Me, Bu}^n, \text{Ph, Ph}(\text{CH}_2)_3$; $R^2 = \text{Me, Et}$.

Гидролитическое раскрытие оксиранового кольца замещенных 1,2-эпоксипропилфосфонатов **175** осуществляли действием эпосидных микробных клеточных культур.^{136, 144, 148} В отличие от химического гидролиза в условиях биокатализа фосфорсодержащие оксираны преимущественно превращались в *эритро*-1,2-дигидроксифосфонаты, содержащие лишь незначительные количества *трео*-изомеров.¹⁴⁸ Например, химический гидролиз соединения *trans*-**175** приводил к смеси *трео*- и *эритро*-стереоизомеров **176** с выходом 79% и соотношением 85 : 15. В то же время микробиологический гидролиз грибами *Beauveria bassiana* давал эти стереоизомеры в соотношении 42 : 58 с общим выходом 59%.^{136, 144} *эритро*-Изомер был получен с 100%-ным энантиомерным избытком, а *трео*-изомер с *ee* 98% как 2*S*-энантиомер. Установлено, что данный тип реакции типичен для таких микроорганизмов, как *Aspergillus niger*, *Cunninghamella elegans*, *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Rhodotorula glutinis* и *Rhodococcus* sp. (схема 7).

Биопревращение диэтил-2-оксо-2-фенилэтилфосфоната (**162b**) под действием штаммов *Beauveria bassiana* 271B, *Rhodotorula rubra* 70403, *Rhodotorula glutinis* 10134, *Geotrichum candidum* 6593, *Penicillium oxalicum* и *Cladosporium* sp. Оп328 привело к оптически активному *O*-фосфорилированному 2-гидрокси-2-фенилэтилфосфонату (**177**) с *ee* 99%, а также к некоторому количеству соответствующего гидроксифосфоната **32o**.^{54, 144, 145} Биотрансформация этими микроорганизмами протекала в течение 72 ч при комнатной температуре при интенсивном перемешивании, в качестве добавки использовали этилацетат.¹⁴⁵ Аналогичное превращение, катализируемое *Cladosporium* sp., приводило только к *S*-стереоизомеру соединения **32o**. Использование *Beauveria bassiana* также давало целевой продукт (общий выход смеси 85%), даже в отсутствие дополнительных реагентов. Чтобы повы-

сить активность биокатализатора, грибы *Geotrichum candidum* были выращены с применением химических добавок, влияющих на их активность. Например, введение в реакционную смесь этилового спирта увеличивало выход соединения **177**.⁵⁵ Микроскопические грибы *Penicillium oxalicum*, *Aspergillus flavus*, *Geotrichum candidum* и *Rhodotorula gracillis* выращивали на картофельном агаре декстрозы и затем в питательной среде Чапека, которая обеспечивала благоприятные условия для выращивания микроорганизма.



Рацемический этил-1-гидоксибензил(фенил)фосфинат (**178**) использовали как субстрат в процессе, катализируемом грибами. Рацемическая смесь состояла из четырех стереоизомеров: левовращающей пары (R_P, R) + (S_P, S) и правовращающей пары (R_P, S) + (S_P, R). Прединкубация биокатализатора, т.е. специально приготовленные клетки *Geotrichum candidum*, с химическими добавками или без них, в присутствии щавелевой кислоты, которая повышала эффективность биопревращения, позволила разделить фосфинат **178** на пары диастереомеров (R_P, R)-**178** и (S_P, R)-**178** с высокими значениями энантиомерного избытка (> 99%).¹⁴⁶

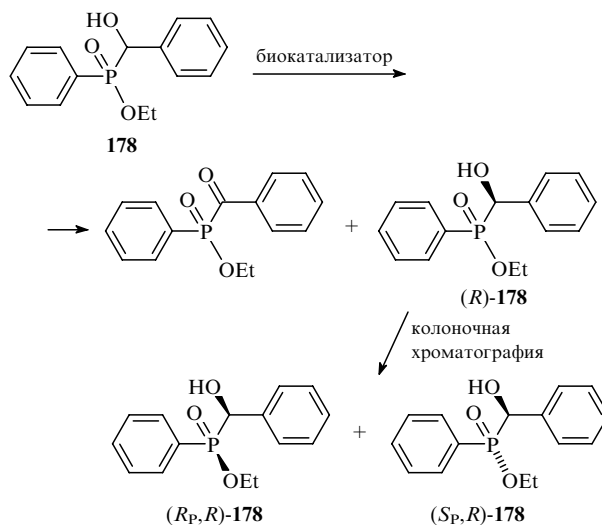
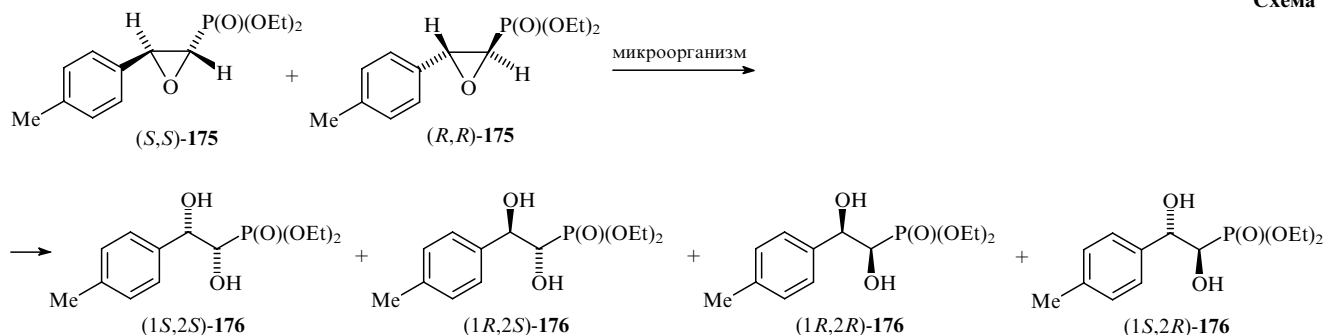
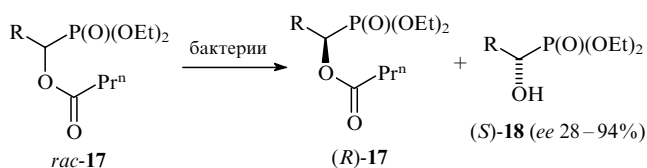


Схема 7



3. Синтез с использованием бактерий

Кафарский и сотр.^{135–137, 149} успешно использовали липолитические бактерии для разделения на энантиомеры рацемических α -гидроксиалкилфосфонатов **17**. Например, гидролиз рацемических диэтил-1-бутироксиалкилфосфонатов **17** микроорганизмами *Pseudomonas fluorescens* и *Penicillium citrinum* привел к хиральным гидроксифосфонатам (*S*)-**18** с хорошей энантиоселективностью.¹⁴² Бактерии *Penicillium citrinum* гидролизировали субстраты, содержащие алифатические заместители в α -положении, тогда как *Pseudomonas fluorescens* были более эффективны в случае субстратов с ароматическими заместителями. Степень превращения субстратов увеличивалась со временем, но при этом уменьшалась энантиомерная чистота продуктов.



Бактерии — *Pseudomonas fluorescens* или *Penicillium citrinum*;

R = Et, Prⁿ, Buⁿ, Buⁱ, All, 4-XC₆H₄ (X = H, Cl, MeO),

PhCH₂CH₂, PhCH(Me), 2-Fu.

Бактерии оказались эффективными при разделении диастереомерных смесей гидроксифосфинатов, содержащих два асимметрических центра. Например, рацемические эфиры фосфинатов **179**, состоявшие из четырех диастереомеров, сначала гидролизировали бактериями четырех видов: *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter baumannii*, *Serratia liquefaciens* и *Pseudomonas aeruginosa*.^{53, 137} Эти бактерии предпочтительно гидролизировали диастереомеры, имеющие абсолютную *S*-конфигурацию α -атома углерода. Наилучшие результаты (ee продуктов 90%) были получены при использовании бактерий *Bacillus subtilis*. В результате из четырех диастереомеров — (*S*_p,*S*)-**10**, (*R*_p,*R*)-**179**, (*R*_p,*S*)-**10** и (*S*_p,*R*)-**179** — образовались две пары диастереомеров, которые разделили колоночной хроматографией. Затем диастереомерно обогащенные ацилоксифосфинаты **10** еще раз гидролизировали с использованием бактерий *Bacillus subtilis*. Полученные диастереомерные пары очищали препаративной ВЭЖХ. В результате удалось выделить некоторые из диастереомеров в оптически чистом виде. В частности, был получен оптически чистый гидроксифосфонат (*R*_p,*S*)-**10** (R = Ph), а его абсолютная конфигурация установлена методом рентгеноструктурного анализа (схема 8).¹³⁷

Бактерии *Pseudomonas fluorescens* и плесневые грибы *Penicillium citrinum* использовали также для кинетического разделения 1-бутоксифосфонатов, в результате получили оптически активные (*S*)-диэтил- α -гидроксиалкилфосфонаты с выходами от умеренных до хороших и удовлетворительной

оптической чистотой.^{147, 149} С помощью различных видов микроорганизмов (*Aspergillus fumigatus*, *Proteus vulgaris*, грибов класса актиномицетов (*Actinomycetes*)) удалось разделить на *S*- и *R*-энантиомеры рацемическую *цис*-1,2-эпокси-пропилфосфоновую кислоту.¹⁵⁰

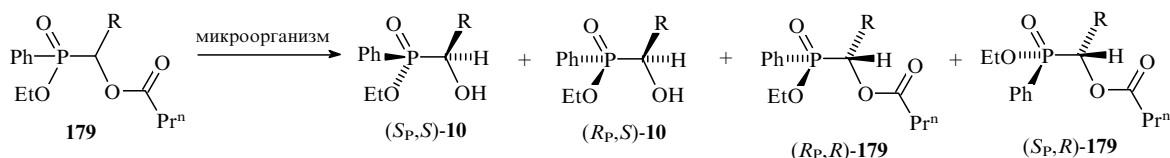
IV. Заключение

В предлагаемом обзоре были рассмотрены различные методы ферментативного кинетического разделения, а также некоторые другие способы, которые позволяют получать индивидуальные энантиомерно чистые ФОС с высоким оптическим выходом. Следует отметить, что, несмотря на впечатляющие успехи, достигнутые в области синтеза и изучения свойств хиральных ФОС, к настоящему времени решены далеко не все проблемы получения таких соединений. По-прежнему актуальным является поиск энантиоселективных методов, открывающих легкий доступ к оптически активным фосфорсодержащим кислотам, третичным фосфинам и фосфиноксидам. В связи с этим особенно важным является создание высокоэффективных методов синтеза хиральных ФОС с помощью ферментов и микроорганизмов.

В настоящее время в фосфорорганической химии для получения хиральных соединений активно используются липазы. Возможность осуществления ферментативных процессов с высокой селективностью делает липазы очень привлекательными катализаторами, особенно в случае превращений, которые не удается провести в других условиях. Мы продемонстрировали многосторонность использования биокатализаторов, с помощью которых можно получить различные биологически активные ФОС в органических растворителях. Большинство биокаталитических реакций могут быть выполнены в безопасных для здоровья, экологически чистых условиях. Преимущества биокатализа перед чисто химическими процессами обусловлены его высокой стереоселективностью и возможностью проведения при комнатной температуре и атмосферном давлении. Ферменты могут катализировать различные типы химических реакций, предоставляя доступ к широкому кругу хиральных соединений. Поэтому сочетание биокатализа и асимметрического органического синтеза будет стимулировать создание новых синтетических стратегий, имеющих как теоретический, так и практический интерес.^{151–154}

Можно ожидать, что биокаталитические методы получения фосфорорганических соединений в дальнейшем останутся предметом интенсивных исследований, особенно в области поиска биологически активных соединений. В будущем направленное развитие методов применения липаз, их модифицирование и создание новых препаративных форм позволят получать на их основе новые биокатализаторы, которые найдут широкое применение в промышленности, особенно в фармацевтическом секторе.

Схема 8



R = Me, Ph.

Обзор подготовлен при финансовой поддержке Государственного фонда фундаментальных исследований Украины и Российского фонда фундаментальных исследований (совместный проект № Ф40.3/034).

Литература

1. A.Liljeblad, L.T.Kanerva. *Tetrahedron*, **62**, 5831 (2006)
2. *Industrial Biotransformations*. (2nd Ed.) (Eds A.Liese, K.Seelbach, Ch.Wandrey), Wiley-VCH, Weinheim, 2006
3. R.N.Patel. *Enzyme Microb. Technol.*, **31**, 804 (2002)
4. T.Matsuda, R.Yamanaka, K.Nakamura. *Tetrahedron: Asymmetry*, **20**, 513 (2009)
5. K.Nakamura, R.Yamanaka, T.Matsuda, T.Harada. *Tetrahedron: Asymmetry*, **14**, 2659 (2003)
6. R.N.Patel. *Coord. Chem. Rev.*, **252**, 659 (2008)
7. R.N.Patel. *Food Technol. Biotechnol.*, **42**, 305 (2004)
8. D.R.Yazbeck, C.A.Martinez, S.Hu, J.Tao. *Tetrahedron: Asymmetry*, **15**, 2757 (2004)
9. T.Ema. *Tetrahedron: Asymmetry*, **15**, 2765 (2004)
10. K.Faber. *Pure Appl. Chem.*, **69**, 1613 (1997)
11. U.T.Bornscheuer, R.J.Kazlauskas. *Hydrolases in Organic Synthesis: Regio- or Stereoselective Biotransformations*. (2nd Ed.) Wiley-VCH, Weinheim, 2006
12. O.I.Kolodiaznyi. *Tetrahedron: Asymmetry*, **16**, 3295 (2005)
13. P.Kielbasiński, M.Mikolajczyk. In *Enzymes in Action: Green Solutions for Chemical Problems*. (Eds B.Zwanenburg, M.Mikolajczyk, P.Kielbasiński). Kluwer, Dordrecht, 2000. P. 161
14. P.Kielbasiński, M.Mikolajczyk. In *Future Directions in Biocatalysis*. (Ed. T.Matsuda). Elsevier, Amsterdam, 2007. P. 159
15. M.Brzezinska-Rodak, E.Zymanczyk-Duda, P.Kafarski, B.Lejczak. *Biotechnol. Prog.*, **18**, 1287 (2002)
16. F.Hammerschmidt. *Liebigs Ann. Chem.*, 531 (1988)
17. I.A.Natchev. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **61**, 3699 (1988)
18. Patent US 4389488 (1982)
19. Patent US 4226941 (1980)
20. M.Drescher, S.Felsinger, F.Hammerschmidt, H.Kählig, S.Schmidt, F.Wuggenig. *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.*, **140**, 79 (1998)
21. A.Ghanema, H.Y.Aboul-Enein. *Tetrahedron: Asymmetry*, **15**, 3331 (2004)
22. F.Hammerschmidt, F.Wuggenig. *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.*, **141**, 231 (1998)
23. M.Gulea, F.Hammerschmidt, P.Marchand, S.Masson, V.Pisljagic, F.Wuggenig. *Tetrahedron: Asymmetry*, **14**, 1829 (2003)
24. V.Gotor-Fernandez, R.Brieva, V.Gotor. *J. Mol. Catal. B*, **40**, 111 (2006)
25. C.-S.Chen, S.-H.Wu, G.Girdaukas, C.J.Sih. *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 2812 (1987)
26. R.J.Kazlauskas, A.N.E.Weissfloch, A.T.Rappaport, L.A.Cuccia. *J. Org. Chem.*, **56**, 2656 (1991)
27. K.Buchholz, V.Kasche, U.T.Bornscheuer. In *Biocatalysts and Enzyme Technology*. Wiley-VCH, Weinheim, 2005. P. 465
28. J.Whittall, P.Sutton. *Practical Methods for Biocatalysis and Biotransformations*. Wiley, Atrium, Southern Gate; Chichester, West Sussex, 2010
29. S.M.Roberts, N.J.Turner, A.J.Willetts, M.K.Turner. *Introduction to Biocatalysis Using Enzymes and Microorganisms*. Cambridge University Press, Cambridge, 1995
30. H.Pellissier. *Tetrahedron*, **59**, 8291 (2003)
31. O.Pamies, J.-E.Bäckvall. *J. Org. Chem.*, **67**, 1261 (2002)
32. Y.Zhang, C.Yuan, Z.Li. *Tetrahedron*, **58**, 2973 (2002)
33. S.Lutz. *Tetrahedron: Asymmetry*, **15**, 2743 (2004)
34. O.Pamies, J.-E.Bäckvall. *Chem. Rev.*, **103**, 3247 (2003)
35. M.-J.Kim, Y.K.Choi, M.Y.Choi, M.J.Kim, J.Park. *J. Org. Chem.*, **66**, 4736 (2001)
36. J.Otera. *Chem. Rev.*, **93**, 1449 (1993)
37. T.Khushi, K.J.O'Toole, J.T.Sime. *Tetrahedron Lett.*, **34**, 2375 (1993)
38. О.О.Колодяжная, О.И.Колодяжный. *Журн. общ. химии*, **80**, 1718 (2010)
39. О.И.Колодяжный. *Журн. общ. химии*, **79**, 1578 (2009)
40. K.Wang, Y.Zhang, C.Yuan. *Org. Biomol. Chem.*, **1**, 3564 (2003)
41. О.И.Колодяжный, А.О.Колодяжная, В.П.Кухарь. *Журн. общ. химии*, **76**, 1398 (2006)
42. J.A.Dale, H.S.Mosher. *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 512 (1973)
43. K.Shioji, A.Tashiro, S.Shibata, K.Okuma. *Tetrahedron Lett.*, **44**, 1103 (2003)
44. R.N.Patel, A.Banerjee, L.J.Szarka. *Tetrahedron: Asymmetry*, **8**, 1055 (1997)
45. T.Yokomatsu, N.Nakabayashi, K.Matsumoto, S.Shibuya. *Tetrahedron: Asymmetry*, **6**, 3055 (1995)
46. L.A.Spangler, M.Mikolajczyk, E.L.Burdge, P.Kielbasiński, H.C.Smith, P.Lyzwa, J.D.Fisher, J.Omelanczuk. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 318 (1999)
47. M.Drescher, F.Hammerschmidt, H.Kählig. *Synthesis*, 1267 (1995)
48. Y.-F.Li, F.Hammerschmidt. *Tetrahedron: Asymmetry*, **4**, 109 (1993)
49. G.Eidenhammer, F.Hammerschmidt. *Synthesis*, 748 (1996)
50. F.Hammerschmidt, F.Wuggenig. *Tetrahedron: Asymmetry*, **10**, 1709 (1999)
51. B.J.Rowe, C.D.Spilling. *Tetrahedron: Asymmetry*, **12**, 1701 (2001)
52. P.Majewska, M.Doskocz, B.Lejczak, P.Kafarski. *Tetrahedron: Asymmetry*, **20**, 1568 (2009)
53. P.Majewska, P.Kafarski, B.Lejczak. *Tetrahedron: Asymmetry*, **17**, 2870 (2006)
54. P.Majewska, P.Kafarski, B.Lejczak. *Pol. J. Chem.*, **79**, 561 (2005)
55. E.Zymanczyk-Duda, M.Brzezinska-Rodak, M.Klimek-Ochab, R.Latajka, P.Kafarski, B.Lejczak. *J. Mol. Catal. B*, **52–53**, 74 (2008)
56. T.Yamagishi, T.Miyamae, T.Yokomatsu, S.Shibuya. *Tetrahedron Lett.*, **45**, 6713 (2004)
57. F.Hammerschmidt, W.Lindner, F.Wuggenig, E.Zarbl. *Tetrahedron: Asymmetry*, **11**, 2955 (2000)
58. O.Pamies, J.-E.Bäckvall. *J. Org. Chem.*, **68**, 4815 (2003)
59. P.Kielbasiński, M.Rachwalski, M.Mikolajczyk, M.A.H.Moelands, B.Zwanenburg, F.P.J.T.Rutjes. *Tetrahedron: Asymmetry*, **16**, 2157 (2005)
60. F.F.Huerta, A.B.E.Minidis, J.-E.Bäckvall. *Chem. Soc. Rev.*, **30**, 321 (2001)
61. R.Zurawinski, K.Nakamura, J.Drabowicz, P.Kielbasiński, M.Mikolajczyk. *Tetrahedron: Asymmetry*, **12**, 3139 (2001)
62. M.Attolini, G.Iacazio, G.Peiffer, M.Maffei. *Tetrahedron Lett.*, **43**, 8547 (2002)
63. M.Mikolajczyk, J.Luczak, P.Kielbasiński. *J. Org. Chem.*, **67**, 7872 (2002)
64. Y.Zhang, Z.Li, C.Yuan. *Tetrahedron Lett.*, **43**, 3247 (2002)
65. Y.Zhang, C.Xu, J.Li, C.Yuan. *Tetrahedron: Asymmetry*, **14**, 63 (2003)
66. C.Xu, C.Yuan. *Tetrahedron*, **60**, 3883 (2004)
67. Y.Zhang, J.Li, C.Yuan. *Tetrahedron*, **59**, 473 (2003)
68. C.Yuan, J.Li, W.Zhang. *J. Fluorine Chem.*, **127**, 44 (2006)
69. V.V.Nesterov, O.I.Kolodiaznyi. *Synlett*, 2400 (2007)
70. M.Attolini, F.Bouguir, G.Iacazio, G.Peiffer, M.Maffei. *Tetrahedron*, **57**, 537 (2001)
71. M.Attolini, G.Iacazio, G.Peiffer, Y.Charmasson, M.Maffei. *Tetrahedron: Asymmetry*, **15**, 827 (2004)
72. A.Woschek, W.Lindner, F.Hammerschmidt. *Adv. Synth. Catal.*, **345**, 1287 (2003)
73. M.Drescher, F.Hammerschmidt. *Tetrahedron*, **53**, 4627 (1997)

74. M.Drescher, Y.-F.Li, F.Hammerschmidt. *Tetrahedron*, **51**, 4933 (1995)
75. F.Wuggenig, F.Hammerschmidt. *Monatsh. Chem.*, **129**, 423 (1998)
76. F.Wuggenig, F.Hammerschmidt. *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.*, **147**, 439 (1999)
77. V.A.Solodenko, V.P.Kukhar. *Tetrahedron Lett.*, **30**, 6917 (1989)
78. В.А.Солоденко, Ю.В.Митин, В.П.Кухарь. *Журн. общ. химии*, **58**, 700 (1988)
79. V.A.Solodenko, M.Y.Belik, S.V.Galushko, V.P.Kukhar, E.V.Kozlova, D.A.Mironenko, V.K.Svedas. *Tetrahedron: Asymmetry*, **4**, 1965 (1993)
80. V.A.Solodenko, T.N.Kasheva, V.P.Kukhar, E.V.Kozlova, D.A.Mironenko, V.K.Svedas. *Tetrahedron*, **47**, 3989 (1991)
81. V.P.Kukhar, V.A.Solodenko, V.A.Soloshonok, T.N.Kasheva. *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.*, **109–110**, 529 (1996)
82. В.А.Солоденко, Т.Н.Кашева, Д.А.Мироненко, Е.В.Козлова, В.К.Швядас, В.П.Кухарь. *Журн. общ. химии*, **62**, 1417 (1992)
83. C.Yuan, C.Xu, Y.Zhang. *Tetrahedron*, **59**, 6095 (2003)
84. I.A.Natchev. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 125 (1989)
85. A.Schweifer, F.Hammerschmidt. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **18**, 3056 (2008)
86. F.Hammerschmidt. *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.*, **76**, 111 (1993)
87. M.S.McQueney, S.L.Lee, W.H.Swartz, H.L.Ammon, P.S.Mariano, D.Dunaway-Mariano. *J. Org. Chem.*, **56**, 7121 (1991)
88. M.S.McQueney, S.L.Lee, E.Bowman, P.S.Mariano, D.Dunaway-Mariano. *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 6885 (1989)
89. F.Hammerschmidt. *Liebigs Ann. Chem.*, 961 (1988)
90. F.Hammerschmidt. *Liebigs Ann. Chem.*, 553 (1992)
91. F.Hammerschmidt. *Angew. Chem.*, **106**, 334 (1994)
92. F.Hammerschmidt. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1993 (1991)
93. S.Freeman, H.M.Seidel, C.H.Schwalbe, J.R.Knowles. *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 9233 (1989)
94. T.Hidaka, H.Seto, S.Imai. *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 8012 (1989)
95. F.Hammerschmidt. *Monatsh. Chem.*, **122**, 389 (1991)
96. A.Woschek, F.Wuggenig, W.Peti, F.Hammerschmidt. *ChemBioChem*, **3**, 829 (2002)
97. B.P.Simov, F.Wuggenig, M.Lämmerhofer, W.Lindner, E.Zarbl, F.Hammerschmidt. *Eur. J. Org. Chem.*, 1139 (2002)
98. J.W.Munos, S.-J.Moon, S.O.Mansoorabadi, W.Chang, L.Hong, F.Yan, A.Liu, H.-W.Liu. *Biochemistry*, **47**, 8726 (2008)
99. F.Yan, S.-J.Moon, P.Liu, Z.Zhao, J.D.Lipscomb, A.Liu, H.-W.Liu. *Biochemistry*, **46**, 12628 (2007)
100. Y.Li, S.D.Aubert, E.G.Maes, F.M.Raushel. *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 8888 (2004)
101. Y.Li, S.D.Aubert, F.M.Raushel. *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 7526 (2003)
102. W.-S.Li, Y.Li, C.M.Hill, K.T.Lum, F.M.Raushel. *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 3498 (2002)
103. J.Kim, P.-C.Tsai, S.-L.Chen, F.Himo, S.C.Almo, F.M.Raushel. *Biochemistry*, **47**, 9497 (2008)
104. F.Wu, W.-S.Li, M.Chen-Goodspeed, M.A.Sogor, F.M.Raushel. *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 10206 (2000)
105. C.Nowlan, Y.Li, J.C.Hermann, T.Evans, J.Carpenter, E.Ghanem, B.K.Shoichet, F.M.Raushel. *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 15892 (2006)
106. P.-C.Tsai, A.Bigley, Y.Li, E.Ghanem, C.L.Cadieux, S.A.Kasten, T.E.Reeves, D.M.Cerasoli, F.M.Raushel. *Biochemistry*, **49**, 7978 (2010)
107. N.P.B.Dudman, B.Zerner. *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 3019 (1973)
108. N.Baba, K.Ikeda, J.Iwasa. *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.*, **70**, 326 (1992); *Chem. Abstr.*, **118**, 191838 (1993)
109. P.Kielbasinski, R.Zurawinski, M.Albrycht, M.Mikolajczyk. *Tetrahedron: Asymmetry*, **14**, 3379 (2003)
110. P.Kielbasinski, M.Albrycht, J.Luczak, M.Mikolajczyk. *Tetrahedron: Asymmetry*, **13**, 735 (2002)
111. C.Baudequin, J.Baudoux, J.Levillain, D.Cahard, A.-C.Gaumont, J.-C.Plaquevent. *Tetrahedron: Asymmetry*, **14**, 3081 (2003)
112. C.Baudequin, D.Bregeon, J.Levillain, F.Guillen, J.-C.Plaquevent, A.-C.Gaumont. *Tetrahedron: Asymmetry*, **16**, 3921 (2005)
113. P.Kielbasinski, R.Zurawinski, K.M.Pietrusiewicz, M.Zablocka, M.Mikolajczyk. *Pol. J. Chem.*, **72**, 564 (1998)
114. M.Albrycht, P.Kielbasinski, J.Drabowicz, M.Mikolajczyk, T.Matsuda, T.Harada, K.Nakamura. *Tetrahedron: Asymmetry*, **16**, 2015 (2005)
115. T.Matsuda, T.Harada, K.Nakamura, T.Ikariya. *Tetrahedron: Asymmetry*, **16**, 909 (2005)
116. P.Kielbasinski, P.Goralczyk, M.Mikolajczyk, M.W.Wieczorek, W.R.Majzner. *Tetrahedron: Asymmetry*, **9**, 2641 (1998)
117. P.Kielbasinski, J.Omelanczuk, M.Mikolajczyk. *Tetrahedron: Asymmetry*, **9**, 3283 (1998)
118. P.Kielbasinski, M.Mikolajczyk. *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.*, **109–110**, 497 (1996)
119. P.Kielbasinski, R.Zurawinski, K.M.Pietrusiewicz, M.Zablocka, M.Mikolajczyk. *Tetrahedron Lett.*, **35**, 7081 (1994)
120. *Phosphorus Ligands in Asymmetric Catalysis: Synthesis and Applications*. (Ed. A.Börner). Wiley-VCH, Weinheim, 2008
121. R.Noyori. *Asymmetric Catalysis in Organic Synthesis*. Wiley, New York, 1994
122. G.P.Moss. *Pure Appl. Chem.*, **68**, 2193 (1996)
123. P.Mata, A.M.Lobo, C.Marshall, A.P.Johnson. *Tetrahedron: Asymmetry*, **4**, 657 (1993)
124. *IUPAC. Provisional Recommendation, Chemical Nomenclature and Structure Representation Division. Nomenclature of Organic Chemistry. Preferred IUPAC Names*. September 2004; Ch. 9, P. 59
125. M.Mikolajczyk, J.Luczak, P.Kielbasinski, S.Colonna. *Tetrahedron: Asymmetry*, **20**, 1948 (2009)
126. V.E.Lewis, W.J.Donarski, J.R.Wild, F.M.Raushel. *Biochemistry*, **27**, 1591 (1988)
127. N.A.Serreqi, R.J.Kazlauskas. *J. Org. Chem.*, **59**, 7609 (1994)
128. T.Yokomatsu, M.Sato, S.Shibuya. *Tetrahedron: Asymmetry*, **7**, 2743 (1996)
129. P.Kielbasinski, M.Albrycht, R.Zurawinski, M.Mikolajczyk. *J. Mol. Catal. B*, **39**, 45 (2006)
130. B.Faure, G.Iacazio, M.Maffei. *J. Mol. Catal. B*, **26**, 29 (2003)
131. D.Wikteliu, M.J.Johansson, K.Luthman, N.Kann. *Org. Lett.*, **7**, 4991 (2005)
132. E.Zymanczyk-Duda, B.Lejczak, P.Kafarski, J.Grimaud, P.Fischer. *Tetrahedron*, **51**, 11809 (1995)
133. E.P.S.Filho, J.A.R.Rodrigues, P.J.S.Moran. *J. Mol. Catal. B*, **15**, 23 (2001)
134. K.B.Borges, W.de Souza Borges, R.Duran-Patron, M.T.Pupo, P.S.Bonato, I.Gonzalez Collado. *Tetrahedron: Asymmetry*, **20**, 385 (2009)
135. E.Zymanczyk-Duda. *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.*, **183**, 369 (2008)
136. P.Kafarski, B.Lejczak. *J. Mol. Catal. B*, **29**, 99 (2004)
137. P.Majewska, P.Kafarski, B.Lejczak, I.Bryndal, T.Lis. *Tetrahedron: Asymmetry*, **17**, 2697 (2006)
138. K.Wang, J.-F.Li, C.-Y.Yuan, Z.-Y.Li. *Chin. J. Chem.*, **20**, 1379 (2002)
139. C.-Y.Yuan, K.Wang, Z.-Y.Li. *Heteroat. Chem.*, **12**, 551 (2001)
140. E.Zymanczyk-Duda, P.Kafarski, B.Lejczak. *Enzyme Microb. Technol.*, **26**, 265 (2000)
141. K.Wang, Z.Li, C.Yuan. *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.*, **177**, 1797 (2002)
142. Z.Ziora, A.Maly, B.Lejczak, P.Kafarski, J.Holband, G.Wojcik. *Heteroat. Chem.*, **11**, 232 (2000)
143. E.Zymanczyk-Duda, M.Klimek-Ochab, P.Kafarski, B.Lejczak. *J. Organomet. Chem.*, **690**, 2593 (2005)
144. S.Pedragosa-Moreau, A.Archelas, R.Furstoss. *Tetrahedron*, **52**, 4593 (1996)

145. E.Zymanczyk-Duda, M.Brzezinska-Rodak, B.Lejczak. *Enzyme Microb. Technol.*, **34**, 578 (2004)
146. M.Klimek-Ochab, E.Zymanczyk-Duda, M.Brzezinska-Rodak, P.Majewska, B.Lejczak. *Tetrahedron: Asymmetry*, **19**, 450 (2008)
147. B.Lejczak, E.Haliniarz, M.Skwarczynski, P.Kafarski. *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.*, **111**, 86 (1996)
148. A.Maly, B.Lejczak, P.Kafarski. *Tetrahedron: Asymmetry*, **14**, 1019 (2003)
149. M.Skwarczynski, B.Lejczak, P.Kafarski. *Chirality*, **11**, 109 (1999)
150. Patent US 3635795 (1972)
151. O.I.Kolodiazhnyi. *Tetrahedron: Asymmetry*, **9**, 1279 (1998)
152. Patent US 4389488 (1983)
153. Patent US 4859602 (1989)
154. Patent US 5587319 (1996)

ENZYMANIC SYNTHESIS OF ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS

O.I.Kolodiazhnyi

*Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine
1, Ul. Murmanskaya, 02094 Kyiv, Ukraine, Fax +38(044)573–2552*

Data on the biocatalytic methods for the preparation of chiral organic compounds are generalized and described systematically. Various examples of enzymatic and microbiological synthesis of hydroxyphosphonates, aminophosphonates, phosphinites, phosphine oxides and tertiary phosphines are discussed.

Bibliography — 154 references.

Received 9th June 2010