

Využití chirálních separací pro stanovení enantioselektivity enzymů

Jiří Břicháč

Enantioselektivita je schopnost chirálního prostředí rozlišit mezi dvěma enantiomery. Enantioselektivní enzym preferuje jeden z enantiomerů jako substrát nebo přednostně vytváří jeden z enantiomerů jako produkt.

Enantioselektivní enzymy jsou užitečné biokatalyzátory, umožňující levnou přípravu opticky čistých chemikálií. V této práci byla stanovena enantioselektivita nových mikrobiálních epoxid hydroláz. Chirálně čisté epoxidy mohou být připraveny kinetickým rozlišením pomocí enantioselektivních epoxid hydroláz a mohou sloužit jako cenné stavební bloky při organické syntéze. Pro měření enantioselektivity byly vyvinuty metody pro analýzu různých chirálních epoxidů s využitím chirální GC na cyklodextrinových stacionárních fázích. Bylo prokázáno, že epoxid hydroláza produkovaná kmenem *Aspergillus niger* M200 enantioselektivně hydrolyzuje *tert*-butyl glycidyl ether.¹

V druhé části této disertační práce byla studována podstata enantioselektivní oxidace *trans*-4-hydroxy-2-nonenalu (HNE) v mitochondrii z krysího mozku.² HNE je cytotoxický produkt lipidové peroxidace který doprovází různorodé choroby včetně Alzheimerovy choroby. V této práci je popsána enzymová kinetika detoxifikace HNE enantiomerů na *trans*-4-hydroxy-2-nonenovou kyselinu (HNEA) působením aldehyd dehydrogenáz (ALDHs).³ Dále byly vyvinuty přímá a nepřímá HPLC metoda pro enantioseparaci HNEA⁴ a LC-MS metoda pro stanovení HNE enantiomerů⁵. Z naměřených dat vyplývá, že krysí ALDH5A enantioselektivně oxiduje (*R*)-HNE se zachováním stereokonfigurace, zatímco krysí ALDH2 nevykazuje žádnou enantioselektivitu.

1. Kotik M., Břicháč J., Kyslík P.: J. Biotechnol. 120, 364 (2005).

2. Honzátka A., Břicháč J., Murphy T. C., Reberg A., Kubátová A., Smoliáková I. P., Picklo M. J., Sr.: Free Radical Biol. Med. 39, 913 (2005).

3. Břicháč J., Ho K. K., Honzátka A., Wang R., Lu X., Weiner H., Picklo M. J., Sr.: Chem. Res. Toxicol. 20, 887 (2007).

4. Břicháč J., Honzátka A., Picklo M. J.: J. Chromatogr. A. 1149, 305 (2007).

5. Honzátka A., Břicháč J., Picklo M. J.: J. Chromatogr. B. 857, 115 (2007).