

University of Groningen

## Enantioselective biocatalytic conversions of epoxides

Lutje Spelberg, Jeffrey Harald

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2003

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Lutje Spelberg, J. H. (2003). *Enantioselective biocatalytic conversions of epoxides*. s.n.

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

# **Enantioselective Biocatalytic Conversions of Epoxides**

**Jeffrey Lutje Spelberg**



This work was carried out as part of the Innovation Oriented research Programme on Catalysis (IOP Katalyse, no. IKA94007a) sponsored by the Netherlands Ministry of Economic Affairs.

Printed by Stichting Drukkerij C. Regenboog, Groningen

**RIJKSUNIVERSITEIT GRONINGEN**



**ENANTIOSELECTIVE BIOCATALYTIC  
CONVERSIONS OF EPOXIDES**

Proefschrift

ter verkrijging van het doctoraat in de  
Wiskunde en Natuurwetenschappen  
aan de Rijksuniversiteit Groningen  
op gezag van de  
Rector Magnificus, dr. F. Zwarts,  
in het openbaar te verdedigen op  
vrijdag 10 januari 2003  
om 14.15 uur

door

**Jeffrey Harald Lutje Spelberg**

geboren op 26 augustus 1970  
te Enschede

Promotores:

Prof. Dr. D. B. Janssen  
Prof. Dr. R. M. Kellogg

Beoordelingscommissie:

Prof. Dr. B. L. Feringa  
Prof. Dr. L. Dijkhuizen  
Prof. Dr. J. B. F. N. Engberts

## Bedankwoorden

Toen ik een aantal jaren geleden op het lab binnenkwam moest ik eerst even wennen aan de toch ietwat stuggere Groningse mentaliteit. Waarschijnlijk hebben de meesten ook aan mijn benadering moeten wennen. Als *fysisch* organisch chemicus (synthese?) kwam ik terecht bij de afdeling biotechnologie (enzymen?). Gelukkig is de biokatalyse een combinatie van beide vakgebieden zodat ik mij als eenoog organisch chemicus prima heb weten te redden tussen de biochemici.

Promoveren doe je zelf. Je kunt het echter niet zonder de hulp en met name het enthousiasme van anderen. Omdat mijn onderzoek op het snijvlak van de biochemie en organische chemie heeft plaatsgevonden, is het een voorrecht geweest om begeleiders op beide vakgebieden te hebben. Als allereerste wil ik Dick bedanken voor het vertrouwen dat je mij gaf om lekker aan de gang te kunnen gaan. De perfecte combinatie van je enthousiaste “open deur”, het vertrouwen in mijn eigen plannen, het kritische oog voor kwaliteit en natuurlijk jouw veelkleurige correctie-pen heeft ervoor gezorgd dat dit proefschrift zijn huidige vorm heeft bereikt. Prof. R.M. Kellogg heeft het onderzoek in de juiste setting weten te plaatsen, waardoor ik mijn artikelen in de “organische” journals kon publiceren.

De beoordelingscommissie bestaande uit Prof. dr. B.L. Feringa, Prof. dr. L. Dijkhuizen en Prof. dr. J.B.F.N. Engberts wil ik bedanken voor het goede en snelle beoordelen van dit proefschrift. Erik en Nanne wil ik bedanken voor het aanstaande *paranimfen*.

De afgelopen jaren heb ik met vele mensen op een wetenschappelijke manier samengewerkt. Ik wil Rick, Jaap en Bert (epoxide hydrolase), Johan, Lixia en Ghannia (haloalcohol dehalogenase), Mariël en Tjibbe (haloalkaan dehalogenase) bedanken voor het veelvuldig “lenen” van de enzymen. Mijn dank aan Rick (gaf mij de schuld van de stank) en Johan (weekje meten, artikeltje klaar) voor het delen van de wilde ideeën die soms geleid hebben tot mooie publicaties. Ik wil Marco en Rene van de kristallografiegroep van Prof. dr. B. Dijkstra bedanken voor de nieuwe onderzoeksinzichten die opheldering van de enzymstructuren opleverden. Ik wil Roland Pieters bedanken voor onze samenwerking met de helaas niet bijster enantioselectieve haloalkaan dehalogenasen. Gelukkig resulteerde het toch nog in een publicatie.

I want to thank Prof. dr. Roland Furstoss for inviting me to do a part of the research described in Chapter 3 in beautiful Marseille. I also want to thank Alain Archelas for the cooperation and many inspiring epoxide hydrolase discussions. Yvonne Genzel wil ik bedanken voor de wetenschappelijke samenwerking en de gezelligheid gedurende de zes weken in Marseille.

Vooraf in het begin van mijn promotieonderzoek deed ik synthese (joepie!!) van epoxiden een verdieping hoger, bij organische chemie. Ik wil met name Edzard, Leggy, Sape, Gerard en Peter bedanken dat ze me, ondanks dat ik niet zoveel aanwezig was, het gevoel gaven een onderdeel van de zaal te zijn. Een groot deel van mijn promotieonderzoek heb ik besteed aan het analyseren van de inhoud van ontelbare GC-vials. Ik ben Marinus Suijkerbuijk en Marc

van Gelder dankbaar voor hun kennis en kunde van de chromatografie. Ik wil alle gaschromatografen bedanken voor de vele analyses die jullie voor mij hebben uitgevoerd. Margriet, Sandra, Tamara en Renate bedank ik voor de gezelligheid en voor hun uitgebreide keuze in enveloppen.

Ieder half jaar ging ik met veel plezier mijn resultaten bespreken met mijn “industriële begeleidingscommissie”. Ik wil met name de voorzitter Tom Kieboom en Birgit Schulze bedanken voor het stimuleren van mijn wetenschappelijke en commerciële onderzoeksgeest tijdens de vele rumoerige vergaderingen. Ik wil de voorzitter van IOP-katalyse, de Heer Oelderik en zijn twee secretarissen Ward en Merlijn bedanken voor het organiseren van de Toogdagen, de leuke IOP-katalyse gadgets, de inspirerende posterale uitspraken en de lucratieve posterwedstrijden.

Gedurende de eerste jaren van mijn promotieonderzoek heb ik een tweetal hoofdvakstudenten mogen begeleiden: Bertin Kok en Marlon Gons. Bertin, jij hebt het substraatbereik van het epoxide hydrolase uitgebreid onderzocht. Toen je de synthese onder de knie had, heb je de meest vreemde epoxiden, met wisselend succes, op het enzym los gelaten. Tot mijn verbazing en verwondering was jouw benadering van mensen nog “directer” dan die van mij. Marlon, jij hebt getracht de omzettingen met de epoxide hydrolases op te schalen en vond uit dat dit enzym helaas niet zo goed tegen organische oplosmiddelen kan. Ondanks mijn verwoede pogingen heb ik niet de “vonk” van onderzoek doen op je kunnen overdragen.

Ik (JdeB) wil alle HBO'ers, hoofdvakstudenten, AIO's, post-docs en buitenlandse gasten bedanken voor al het plezier dat we in de afgelopen jaren hebben beleefd. De “uitsprakenlijst” is maar een zwakke afspiegeling van alle verbale lol tijdens de vele borrels en koffiepauzes. Mijn dank aan: Johan (Superfly, godfather van de Sooooo!), Martin (de eeuwig zittende onderzoeker), Tjibbe (goede beantwoorder van de Sooooo!), Uwe (legde mij uit wat een enzym nou eigenlijk was), Wim (bleef niet lang genoeg om mijn humor te begrijpen), Marijn (Hardcore technica, had meer studenten dan goed voor *ons* was), Astrid (was goed in het maken, én laten nakomen van schoonmaak lijstjes), Roland (zat als begenadigd syntheticus niet op de juiste plek), Gerrit (ondanks zijn forse lichaam een redelijk tafeltennisser), Marko (Fen the Man, wetenschapper, informaticus, brandweercommandant, ....?), Mariël (moeilijk mee te krijgen naar een feestje), Rick (staat open voor de mafste mensen (50 \$, USA) en wetenschappelijke ideeën), Julian (cheesy, verliest zijn riem al na een paar biertjes), Jolanda (deelt rake klappen uit, maar legt daarna ook weer graag een verbandje aan), Nico (de wijze oudere man van het lab), Jaap (Japiejoo, gouden vingertjes met de enzymen), Erik (Dokkum, 1<sup>e</sup> klas reizen, IOP betaalt toch, mede-ondernemer, geweldige Baltikatrip naar Moskou), Wouter (de kabouter, zorgvuldige planner), Wijnand (Botte Fries, foute overhempjes), René (Floris, nog foutere overhempjes), Geja (nooit praktisch werk zien doen?), Piet (technische duizendpoot, kundig in techno), Nanne (ongeevenaarde normen en waarden), Inez (gaf het begrip praten een geheel nieuwe dimensie), Helen (ondanks al mijn pogingen toch zeer Engels gebleven), Lixia (Sambal bij?, van superbeleefd naar superbrutaal), Bert (Brrrrrrrrt, wandelende encyclopedie, is te handzaam met Stryer), Arjen

(Positivo!), Marco (Fraaije, maakt van zijn huis graag een speelplaats), Esther (sleept zich graag over de gang, geweldige Bacarditrip naar Puerto Rico), Peter (piieeep!!), Jantien (meest nuchtere vrouw van het lab), Simon (eeuwige één na beste tafeltennisser), Isabella (plant genoeg experimenten voor wel 10 AIO's), Martijn (sterk voorstander van de vierdaagse werkweek) en natuurlijk Ghannia (weet feilloos de zwakke plekken van mijn glaswerk te vinden). Allemaal bedankt.

Ik wil mijn ouders bedanken voor hun opleidingsstimulatie (wiskundeles ipv afwassen) en voor hun niet aflatende enthousiasme tijdens mijn studie- en promotietijd. Ronald, ik ben blij dat je binnenkort(?) ook gaat promoveren, anders had “eerder dan jouw” weinig betekenis gehad. Tenslotte wil ik Tanja (schrijf maar een brief, goed voor je sollicitatie-ervaring) bedanken, dat ze me naar het verre Groningen is gevolgd, voor de steun, het afremmen, de motivatie, en natuurlijk de afwas.

Door jou kan ik zijn wie ik ben.

Jeffrey





# Contents

<b>1</b>	Introduction	1
<b>2</b>	Enantioselectivity of a recombinant epoxide hydrolase from <i>Agrobacterium radiobacter</i>	23
<b>3</b>	Biocatalytic potential of the epoxide hydrolase from <i>Agrobacterium radiobacter</i> AD1 and a mutant with enhanced enantioselectivity	33
<b>4</b>	A tandem enzyme reaction to produce optically active halohydrins, epoxides and diols	45
<b>5</b>	Exploration of the biocatalytic potential of a halohydrin dehalogenase using chromogenic substrates	55
<b>6</b>	Highly enantioselective and regioselective biocatalytic azidolysis of aromatic epoxides	71
<b>7</b>	Enzymatic dynamic kinetic resolution of epihalohydrins	81
<b>8</b>	Summary and concluding remarks	97
	Samenvatting	109
	List of publications and patents	117



