



Laurea Magistrale in Chimica

a.a. 2015-2016

BIOCATALISI

Programma dettagliato e riferimenti per lo studio

Prof. Daria Giacomini

1. ENZIMOLOGIA

Cenni storici sull'utilizzo di enzimi per trasformazioni chimiche. Importanza e impiego di enzimi nei vari settori dell'industria agro-alimentare, cosmetica, chimica e farmaceutica.

Glossario: Bioconversione, biocatalisi e biosintesi.

Classificazione di enzimi nelle 8 classi definite dalla Enzyme Commission (EC).

Materiale di studio ed approfondimento:

- J. E. Leresche, H.-P. Meyer *Organic Process Research & Development* 2006, 10, 572-580.
- Woodley, John M.; Breuer, Michael; Mink, Daniel, *Chemical Engineering Research & Design* 2013, 91 SI 2029-2036
- Straathof, *Current Opinion in Biotechnology*, 2002, 548.
- *Green Chemistry*, 2008,10, 361-372.
- *Biocatalysis in the Pharmaceutical and Biotechnology Industries*. R. N. Patel CRC Press 2007 consultabile nel database di ateneo all'indirizzo <http://www.crcnetbase.com/doi/book/10.1201/9781420019377>

Struttura di enzimi:

Struttura primaria. Discussione dettagliata su struttura e proprietà dei 20 amminoacidi proteinogenici. Influenza dei vari amminoacidi sulla struttura degli enzimi.

Strutture secondarie alfa-elica e beta-sheet: caratteristiche chimiche e organizzazione in superstrutture secondarie.

Struttura terziaria: i domini. Caratteristiche dei domini e loro funzioni. Analisi di alcuni domini tipici.

Struttura quaternaria: omo- eterodimeri e tetrameri.

Sito attivo degli enzimi: sito catalitico e tasche di riconoscimento. Meccanismi di riconoscimento e di binding. Interazioni non-covalenti e gate-binding. Modello Lock & Key e Induced-fit. Oloenzima, apoenzima, zimogeno. Fonte di enzimi: enzimi di origine animale, vegetale e batterica.

Materiale di studio:

- Voet, Voet, Pratt *Fondamenti di Biochimica*.
- Garrett, Grisham *Biochimica*, Piccin ed.
- Banche dati on-line sulla struttura e caratteristiche di enzimi: Protein Data Bank (PDB)

Meccanismi enzimatici

Cinetica enzimatica. Analisi del profilo di reazione per una reazione enzimatica. Fattori di catalisi. Catalisi enzimatica caratteristiche: potere catalitico, specificità, regolazione. Stabilizzazione dello stato di transizione, catalisi preferenziale.

Meccanismi di catalisi: effetto di prossimità ed orbital-steering.

Catalisi acido-base: catalisi acida/basica specifica e general-acida/general-basica. Effetto del pH. Meccanismo di catalisi per proteasi aspartiche e ribonucleasi.

Catalisi covalente. Esempi di catalisi serino-dipendente via complessi acil-enzima: serina-proteasi (chimotripsina, tripsina ed elastasi). Catalisi covalente in Lisozima. Catalisi covalente via immina-enammina nelle aldolasi.

Catalisi metallica. Funzioni dei metalli negli enzimi. Metalloenzimi. Esempi: anidrasi carbonica, metallo-proteasi, aldolasi di classe I.

Materiale di studio:

- Voet, Voet, Pratt Fondamenti di Biochimica.
- Garrett, Grisham Biochemistry

2. ENZIMI & SINTESI ORGANICA

• FORMAZIONE DI LEGAMI C-C

Aldolasi: aldolasi di classe I (diade catalitica e meccanismo immina-enammina) aldolasi di classe II (catalisi metallica zinco-dipendente). Classificazione in base a *donor* e *acceptor*.

Aldolasi diidrossiacetone dipendenti (DHAP). Acetaldeide aldolasi (DERA e RiBA). Piruvato aldolasi. Aldolasi glicina-dipendenti. Stereocomplementarietà di aldolasi.

Selettività enzimatica nel caso di enantioselettività facciale.

Piruvato-decarbossilasi Sintesi aciloinica. Cofattore Tiamina; meccanismo di catalisi.

Ossinitrilasi. Sintesi di Cianidrine: (R) ed (S)-ossinitrilasi. Fonte di HCN, scelta del solvente, enantioselettività facciale.

Materiale di studio:

- K. Faber Biotransformations in Organic Chemistry.
- Current Opinion in Chemical Biology 2010, 14, 154-167.
- *C-C Bond-Forming Lyases in Organic Synthesis* Chem. Rev. 2011, 111, 4346–4403
- Applied Microbiol. Biotech 2007, 76, 309-320
- Trends in Biotechnology 2009, 27, 599-607.
- *Effect of solvents on carbonylation* Adv. Synth. Catal. 2012, 354, 2805 – 2820.

• REAZIONI DI IDROLISI

Idrolasi. Classificazione di: Lipasi, esterasi, peptidasi. Analisi della cinetica e della stereochimica

Applicazioni di Lipasi ed esterasi nelle risoluzioni cinetiche di alcoli ed esteri. Regioselettività, selettività endo-exo e selettività E/Z. Desimmetrizzazione di meso-diesteri e diesteri prochirali, selettività enantiotopica di leganti omotopici. Modelli di enantioselettività per le lipasi: "Kazlauskas rule". Esterificazione/transesterificazione di alcoli..

Risoluzioni cinetico-dinamiche (DKR) e selettività enzimatica.

Proteasi ed Ammidasi. Sintesi del legame ammidico con proteasi Sintesi dell'aspartame con termolisina. Penicillina G amidase nella sintesi di 6-APA e di penicilline semi-sintetiche.

Nitrilasi e nitrile-idratasi. sintesi industriale della acrilammide, della niacina, dell'adiponitrile Bioremediation con nitrilasi.

Materiale di studio:

- K. Faber Biotransformations in Organic Chemistry.
- Appl. Microbial Technology, 2003, 61, 385.
- ChemCatChem 2012,4, 592.
- Lipases and their Industrial applications Applied Biochemistry and Biotechnology 2004, 118, 155
- Immobilised lipases in the cosmetics industry. Chem. Soc. Rev., 2013, 42, 6475
- Developments in nitrile and amide biotransformation processes. Trends in Biotechnology 2010,28, 561.

• REAZIONI REDOX

Deidrogenasi. Cofattori e metodi di riciclo del cofattore. Selettività facciale nella riduzione enantioselettiva di chetoni. Desimmetrizzazione di dichetoni. Lattobacillo-deidrogenasi: riduzione enantioselettiva di α -chetoacidi. Amminazione riduttiva e sintesi di α -amminoacidi chirali. Sintesi della *tert*-Leucina.

Materiale di studio:

- K. Faber Biotransformations in Organic Chemistry.
- Green Chem. 2011, 13, 2285

- Tetrahedron: Asymmetry 2009, 20, 513-557
- Angew.Chem. 2014, 53, 3070

Ossigenasi. Idrossilazione di carboni non-attivati ad opera di monoossigenasi citocromo-P450. Laccasi per l'ossidazione di composti fenolici. Laccase-mediator-system (LMS) nell'ossidazione di alcoli primari e secondari. Monoossigenasi per reazione di Bayer-Villiger.
Diossigenasi. Sintesi di 1,2-cis-dioli, applicazione nella sintesi industriale del blu-indigo.

Materiale di studio:

- K. Faber Biotransformations in Organic Chemistry.
- Green Chem. 2011, 13, 226
- Chem. Rev. 2011, 111, 4111.
- Chem. Rev. 2011, 111, 4073.
- Laccasi: Adv. Synth. Catalysis 2014, 356, 897; Cell. Mol. Life Science 2015,72, 923; ChemCatChem 2013, 5, 46-60.
- BV ossigenasi: Org. Biomol. Chem 2012, 10, 6249.
- Citocromo P450 Chem. Commun. 2011, 47, 2490.

3. TECNOLOGIA

Immobilizzazione di enzimi: vantaggi e svantaggi. Tecniche di immobilizzazione. Assorbimento non-covalente, immobilizzazione covalente, cross-linking (CLE)

Materiale di studio:

- R.A. Sheldon, Organic Process Research& Development 2011, 15, 213.
- Chem. Soc. Rev., 2013, 42, 6406—6436
- Adv. Synth. Catalysis 2011, 353, 2885.
- Adv. Materials 2011, 23, 5275.