

TRANSESTER HÓA CHỌN LỌC ĐỐI PHÂN MỘT SỐ ALCOL NHỊ CẤP VỚI XÚC TÁC PSL

NGUYỄN QUỲNH TRANG*, LÊ NGỌC THẠCH**

TÓM TẮT

Lipaz thu được từ *Pseudomonas cepacia* (PSL) được dùng làm xúc tác do khả năng chọn lọc đối phân trong sự phân giải hỗn hợp tiêu triền các alcol nhị cấp. Chúng tôi chọn PSL do tính chọn lọc và ổn định của lipaz này. Trong bài báo này, PSL được dùng làm xúc tác cho phản ứng transester hóa trên các alcol nhị cấp như octan-2-ol, heptan-2-ol, hexan-2-ol, pentan-2-ol, butan-2-ol và 1-pheniletanol.

Từ khóa: *Pseudomonas cepacia* lipaz, transester hóa chọn lọc đối phân, hỗn hợp tiêu triền alcol nhị cấp.

ABSTRACT

Enantioselectivity transesterification of some racemic secondary alcohols with PSL catalyst

The lipase from *Pseudomonas cepacia* (PSL) is used as a catalyst for its enantioselectivity in separating the mixture of racemic secondary alcohols. The researchers have selected PSL for the study because of its selectivity and stability. In this paper, PSL was used as catalyst for the enantioselectivity transesterification of some secondary alcohols such as octan-2-ol, heptan-2-ol, hexan-2-ol, pentan-2-ol, butan-2-ol, 1-phenylethanol.

Keywords: *Pseudomonas cepacia* lipase, enantioselectivity transesterification, racemic secondary alcohol.

1. Đặt vấn đề

Việc sản xuất một đối phân tinh khiết giữ vai trò quan trọng trong các ngành dược phẩm, thực phẩm, mỹ phẩm. Vì hầu hết các sản phẩm của tổng hợp hữu cơ là hỗn hợp tiêu triền, nhưng một số trường hợp nhất định chỉ có một đối phân là hữu ích, đặc biệt là trong hóa dược, ngành công nghiệp mà hơn 50% sản phẩm là các hợp chất tinh khiết đối phân [6, 11]. Nhược điểm của các xúc tác hóa học chọn lọc đối phân là độc hại với

môi trường, đắt tiền, tính chọn lọc lập thể thấp (chưa kể chọn lọc vùng). Trong khi đó, các xúc tác sinh học (enzim) có thể hoạt động ở điều kiện bình thường, không đòi hỏi điều kiện nhiệt độ hay áp suất, với độ chọn lọc cao kể cả chọn lọc lập thể (stereoselectivity) và chọn lọc vùng (regioselectivity). [2]

Trong bài báo này, PSL được sử dụng để góp phần sản xuất một đối phân tinh khiết từ hỗn hợp tiêu triền alcol nhị cấp thông qua phản ứng transester hóa với chất nền là acetat vinyl. Phản ứng xảy ra theo cơ chế “bi-bi ping-pong” (ping-pong bi-bi mechanism): hai chất nền được chuyển thành hai sản phẩm (bi-bi)

* HVCH, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG TP HCM

** GS TS, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG TP HCM

và sản phẩm đầu tiên phóng thích khỏi vị trí hoạt động trước khi chất nền thứ hai tiến vào (ping-pong). [9]

Phản ứng giữa hỗn hợp alcol tiêu triển và acetat vinyl với xúc tác PSL bắt đầu bằng sự tác kích của nhóm hidroxil của serin trong PSL vào nhóm carbonyl của acetat vinyl. Oxianion vừa tạo thành được an định bởi lỗ oxianion trong trung gian tứ diện đầu tiên. Việc phóng thích phần alcol của acetat vinyl dẫn đến sự hình thành trung gian acyl-enzim. Alcol tiêu triển R*OH tiến vào và tác kích trung gian acyl-enzim, tạo thành trung gian tứ diện thứ hai. Sản phẩm R*OAc được phóng thích và để lại enzym cho chu kì phản ứng kế tiếp. Sự hình thành trung gian tứ diện thứ hai là bước quan trọng trong sự chọn lọc đối phân: đối phân R cho phản ứng nhanh sẽ nổi trội với trung tâm hoạt động của lipaz hơn là đối phân S. [4, 12]

Trong sự chọn lọc đối phân thì đối phân R-alcol phản ứng nhanh hơn đối phân S. Kazlauskas cho rằng sự chọn lọc đối phân của lipaz phần lớn phụ thuộc vào cơ cấu alcol: hầu hết lipaz ưu đãi xúc tác cho đối phân R của alcol nhị cấp mang nhóm thế nhỏ và lớn tại tâm thủ tính hydroxy metan và sự chọn lọc càng tăng khi sự khác biệt về kích thước của hai nhóm thế này càng tăng. Kích thước của nhóm thế nhỏ làm giảm khả năng phản ứng của alcol với lipaz: nếu nó vượt quá ba carbon thì chất nền phản ứng chậm hoặc không phản ứng. Đây được gọi là quy tắc Kazlauskas, là một quy tắc thực nghiệm, để dự đoán đối phân ưu đãi. [1, 5, 8, 10]

Chúng tôi tiến hành phản ứng transester hóa acetat vinyl với octan-2-ol, heptan-2-ol, hexan-2-ol, pentan-2-ol, butan-2-ol và 1-phenyletanol nhằm khảo sát ảnh hưởng của hiệu ứng lập thể lên khả năng xúc tác của PSL.

2. Thực nghiệm

2.1. Hóa chất:

Butan-2-ol, pentan-2-ol, hexan-2-ol, Amano PSL (Aldrich), heptan-2-ol, octan-2-ol, 1-phenyletanol, acetat vinyl (Merck).

2.2. Thiết bị

Máy khuấy từ điều nhiệt (IKA-RET), lò vi sóng chuyên dụng (CEM, Discover), lò vi sóng gia dụng Sanyo 900 W, bồn siêu âm Branson 151 OE-DTH, thanh siêu âm GE 130, triển quang kế A. Krüss Optronic GmbH P8000.

2.3. Phân tích

GC/MS Agilent GC-6890 Series II với đầu dò Agilent 5973 Network Mass Selective, cột RTX-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m). GC Shimadzu 17A-AWF, cột sắc kí thủ tính Beta Dex TM325 (30 m x 250 mm x 0,25 mm).

Quy trình phản ứng: Cân 1 mmol alcol, 1 mmol acetat vinyl cho vào bình phản ứng, thêm vào 0,04 g PSL và 2 ml acetat vinyl, khuấy từ. Hỗn hợp sau phản ứng được lọc qua phễu Büchner và rửa bằng dietyl eter. Dung dịch qua lọc được rửa bằng dung dịch Na₂SO₄ 3 lần (20 ml/lần), làm khan bằng Na₂SO₄ khan, cô quay thu hồi eter, cân và phân tích bằng sắc kí khí.

2.4. Cách xác định R-S trên octan-2-ol

Hỗn hợp sau phản ứng được sắc kí cột tách riêng alcol và ester. Đo góc quay

cực hỗn hợp alcol thu được bằng triển quang kế. Dấu của góc quay cực này được so sánh với giá trị chuẩn của các alcol đồng phân theo những tài liệu nghiên cứu trước đó để xác định được đôi phân chiếm ưu thế trong hỗn hợp alcol sau phản ứng (dấu của hỗn hợp trùng với dấu của đồng phân nào thì đồng phân đó chiếm ưu thế trong hỗn hợp alcol thu được sau phản ứng). Từ đó xác định được đôi phân còn lại đã ưu tiên phản ứng, hay nói cách khác là PSL đã xúc tác ưu đãi cho đôi phân có hàm lượng thấp hơn sau phản ứng.

Xác định *R-S* trên octan-2-ol: góc quay cực của hỗn hợp alcol sau khi tách bằng sắc ký cột đo được trên triển quang kế là +8,432. So sánh với giá trị chuẩn của octan-2-ol (năng lực triển quang của (*S*)-(+)-octan-2-ol là +10,0±0,5° và (*R*)-(-)-octan-2-ol là -10,0±0,5° [2]). Dấu của hỗn hợp trùng với dấu của đôi phân (*S*), hay đôi phân này chiếm ưu thế trong hỗn hợp sau phản ứng. Như vậy, đôi phân (*R*) đã được ưu đãi cho phản ứng transester hóa với xúc tác PSL.

2.5. Cách xác định ee và hiệu suất

Hỗn hợp sau phản ứng được xác định bằng sắc ký khí với cột thủ tính để tính hiệu suất.

$$H\% = \frac{m_{tt}}{m_{lt}} \times 100\%$$

$$m_{tt} = \%GC_R \times m_c$$

$$m_{lt} = \frac{m_{Alcol}}{2M_{Alcol}} \times M_{Ester}$$

H%: hiệu suất phản ứng (trên một đôi phân).

m_R, m_S : khối lượng đôi phân *R* và *S*.

$\%GC_R, \%GC_S$: phần trăm GC của đôi phân *R* và *S* của ester sản phẩm.

m_{tt} : khối lượng thực tế, là khối lượng đôi phân (*R*)-acetat vừa tạo thành.

m_{lt} : khối lượng lí thuyết. Trong hỗn hợp tiêu triển, khối lượng đôi phân (*R*)-alcol bằng một nửa lượng alcol tiêu triển ban đầu. Nếu phản ứng xảy ra hoàn toàn thì toàn bộ (*R*)-alcol sẽ chuyển thành (*R*)-acetat và đây là khối lượng lí thuyết.

m_{Alcol} : khối lượng alcol tiêu triển ban đầu.

m_c : khối lượng hỗn hợp sau phản ứng.

M_{Alcol}, M_{Ester} : phân tử khối của alcol ban đầu và ester sản phẩm.

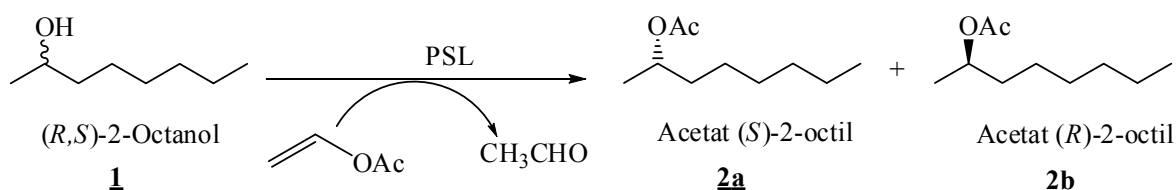
Lượng thừa đôi phân sản phẩm được tính dựa trên %GC theo công thức sau [4]:

$$\%ee = \frac{|m_R - m_S|}{|m_R + m_S|} = \frac{|\%GC_R - \%GC_S|}{|\%GC_R + \%GC_S|}$$

Một hợp chất hoàn toàn thuần túy là tả triển hoặc hữu triển được gọi là tinh chất đôi phân hay lượng thừa đôi phân là 100%. Một hỗn hợp hai đôi phân nhưng không cùng đương lượng mol được gọi là có lượng thừa đôi phân nhỏ hơn 100%. [3]

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Khảo sát phản ứng trên octan-2-ol



Bảng 1. Phản ứng transester hóa hỗn hợp tiêu triển octan-2-ol bằng xúc tác PSL

Stt	Nhiệt độ (°C)	Dung môi (số ml)	PSL (g)	Thời gian (giờ)	% GC			ee (%)	Hiệu suất (%)
					1	2a	2b		
1	ndp	Acetat vinyl (2)	0,04	5	80,699	1,553	17,748	84	28
2	40	Acetat vinyl (2)	0,04	5	80,850	1,581	17,569	83	27
3	50	Acetat vinyl (2)	0,04	5	80,972	1,630	17,398	83	27
4	60	Acetat vinyl (2)	0,04	5	83,234	1,493	15,273	82	24
5	ndp	Hexan (2)	0,04	5	66,193	3,620	30,187	79	44
6	ndp	Toluen (2)	0,04	5	67,481	3,461	29,058	79	43
7	ndp	Cloroform (2)	0,04	5	85,828	0,547	13,625	92	20
8	ndp	Aceton (2)	0,04	5	85,998	0,873	13,129	87	20
9	ndp	Cloroform (2)	0,06	5	81,387	0,739	17,874	92	26
11	ndp	Cloroform (2)	0,08	5	78,080	0,876	21,044	92	31
12	ndp	Cloroform (2)	0,10	5	72,726	1,094	26,180	92	38
13	ndp	Cloroform (2)	0,12	5	76,996	0,907	22,097	92	33
14	ndp	Cloroform (2)	0,14	5	82,236	0,659	17,105	92	25
15	ndp	Cloroform (1)	0,10	5	74,633	0,975	24,393	92	34
16	ndp	Cloroform (3)	0,10	5	81,454	0,716	17,830	92	26
17	ndp	Cloroform (4)	0,10	5	88,667	0,459	10,874	92	16
18	ndp	Cloroform (2)	0,10	7	69,295	1,305	29,400	91	43
19	ndp	Cloroform (2)	0,10	9	66,186	1,546	32,268	91	48
20	ndp	Cloroform (2)	0,10	11	62,089	1,892	36,019	90	53
21	ndp	Cloroform (2)	0,10	13	64,206	1,958	33,836	89	50
22	ndp	Cloroform (2)	0,10	14	62,060	3,929	34,011	79	50
23	ndp	Cloroform (2)	0,10	1	82,054	0,723	17,223	92	25
24	ndp	Cloroform (2)	0,10	1	94,588	0,267	5,145	90	7
25	ndp	Cloroform (2)	0,10	1	98,649	0	1,351	100	2
26	ndp	Cloroform (2)	0,10	1	98,002	0,069	1,929	93	3
27	ndp	Cloroform (2)	0,10	1	98,617	0,039	1,344	94	2
28	ndp	Cloroform (2)	0,10	2	95,829	0,114	4,057	94	6

Ghi chú: ndp: nhiệt độ phòng,

1-23: khuấy từ, 24: chiếu xạ vi sóng (lò gia dụng),

25: chiếu xạ vi sóng (lò chuyên dụng), 26: chiếu xạ siêu âm (thanh siêu âm),

27-28: chiếu xạ siêu âm (bồn siêu âm).

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Kết quả cho thấy PSL hoạt động tốt trong khoảng từ nhiệt độ phòng đến 50°C. Trên 50°C, hoạt tính của PSL giảm đáng kể dẫn đến hiệu suất và độ chọn lọc đối phân không đạt kết quả tốt khi kéo dài thời gian phản ứng. Chúng tôi chọn thực hiện phản ứng ở nhiệt độ phòng vừa cho kết quả tốt vừa dễ thực hiện và tiết kiệm năng lượng do không phải gia giảm nhiệt độ.

3.3. Ảnh hưởng của dung môi

Dung môi ít phân cực cho hiệu suất phản ứng tốt nhưng khả năng chọn lọc đối phân của PSL kém. Phản ứng cho độ chọn lọc tốt nhất trong cloroform, tuy hiệu suất thấp hơn các dung môi khác, có thể vì độ phân cực và cơ cấu phân tử của cloroform thích hợp với cấu hình hoạt động của enzym nên chúng tôi chọn cloroform làm dung môi để tiến hành các bước khảo sát tiếp theo.

3.4. Ảnh hưởng của lượng PSL

Khi tăng khối lượng enzym tức là làm tăng khối lượng lipaz xúc tác nên hiệu suất phản ứng tăng và đạt giá trị cao nhất khi khối lượng PSL là 0,1 g. Tuy nhiên, khi khối lượng enzym tăng quá cao (trên 0,1 g) thì sẽ gây ức chế phản ứng làm giảm hiệu suất phản ứng và còn gây lãng phí xúc tác sử dụng. Do đó, chúng tôi chọn khối lượng xúc tác là 0,10 g để thực hiện các khảo sát tiếp theo.

3.5. Ảnh hưởng của thể tích dung môi cloroform

Phản ứng cho kết quả tốt nhất khi thể tích cloroform là 2 ml. Thể tích dung môi tăng làm nồng độ chất nền giảm, khả năng tiếp xúc giữa các chất tham gia

phản ứng với xúc tác giảm, dẫn đến tiến trình phản ứng xảy ra chậm hơn, kết quả thu được giảm. Nhưng thể tích dung môi giảm thì phản ứng cũng chậm hơn có thể do nồng độ chất nền cao gây ức chế enzym.

3.6. Ảnh hưởng của thời gian phản ứng

Khi kéo dài thời gian phản ứng, độ chọn lọc của phản ứng giảm nhẹ (lượng thừa một loại đối phân sản phẩm %ee từ 92% ở 5 giờ còn 90%, ở 11 giờ) có thể là do càng kéo dài thời gian lượng (*R*)-octan-2-ol càng giảm do PSL ưu đãi xúc tác, lúc đó, lượng (*S*)-octan-2-ol chiếm hàm lượng áp đảo, do PSL có tác dụng xúc tác với cả hai nên lượng (*S*)-octan-2-ol tham gia phản ứng nhiều hơn ban đầu dẫn đến %ee sản phẩm giảm dần. Hiệu suất phản ứng tăng khi tăng thời gian phản ứng, đạt kết quả cao nhất ở 11 giờ, qua ngưỡng này hiệu suất giảm có thể do lượng acetaldehyd tạo thành trong phản ứng đã tác dụng với các nhóm -NH₂ tự do của enzym làm biến tính enzym, khả năng xúc tác phản ứng của enzym giảm dần.

3.7. Sự hỗ trợ vi sóng và siêu âm

Phương pháp chiếu xạ siêu âm cho kết quả thấp có thể do enzym không bền trong siêu âm nên bị mất hoạt tính, dẫn đến hiệu suất phản ứng không cao.

Phương pháp chiếu xạ vi sóng (lò gia dụng) sau thời gian chiếu xạ là 1 giờ làm hỗn hợp nóng lên (~ 60 °C), có thể điều này đã làm giảm hoạt tính của enzym, dẫn đến hiệu suất kém.

Để kiểm soát sự gia tăng nhiệt độ gây bất lợi cho phản ứng, chúng tôi tiến hành phản ứng trong lò vi sóng chuyên dụng với thời gian chiếu xạ được kéo dài

đến 1 giờ, mặc dù đã được chọn ở nhiệt độ phòng với công suất chiếu xạ thấp nhất (1 W) nhưng tác dụng của vi sóng cũng làm cho hỗn hợp nóng lên (~ 39 °C) và phản ứng cho hiệu suất rất thấp (4%). Do đó, chúng tôi kết luận vi sóng không hỗ trợ cho phản ứng này. Theo chúng tôi, kích hoạt phản ứng bằng vi sóng có tác dụng tích cực với những phản ứng cần nhiệt độ cao do tác dụng làm quay các phân tử phân cực, do đó làm nóng nhanh hỗn hợp phản ứng, trong khi phản ứng transester hóa sử dụng xúc tác PSL cần thực hiện ở nhiệt độ phòng để duy trì hoạt tính xúc tác của enzym, nhưng vi sóng lại làm phản ứng nóng lên quá nhanh (lò vi sóng gia dụng làm nóng nhanh nhất, lò vi sóng chuyên dụng có hệ thống điều nhiệt được đặt ở 30 °C nên nhiệt độ hỗn hợp chỉ tăng đến khoảng 39 °C) làm mất hoạt tính của enzym. Các

phương pháp chiếu xạ vi sóng và siêu âm trong trường hợp này không cho kết quả tốt bằng sự kích hoạt phản ứng bằng khuấy từ vì có thể phản ứng transester hóa cần sự xáo trộn cơ học. Mặt khác, phản ứng thực hiện trong dung môi cloroform có nhiệt độ sôi khá thấp (~ 60°C), khi xúc tiến phản ứng bằng vi sóng sẽ gia tăng nhiệt độ hỗn hợp nhanh chóng, hỗn hợp có thể trào bất cứ lúc nào gây nguy hiểm và có thể làm hỏng thiết bị sử dụng.

3.8. Áp dụng trên một số alcol

Khảo sát ảnh hưởng của xúc tác PSL lên sự phân giải hỗn hợp tiêu triển một số alcol nhị cấp bằng cách áp dụng điều kiện tối ưu vừa khảo sát octan-2-ol ở trên, nhưng thay octan-2-ol bằng heptan-2-ol, hexan-2-ol, pentan-2-ol, butan-2-ol và 1-phenyletanol với cùng một khối lượng là 1 mmol.

Bảng 2. Transester hóa hỗn hợp tiêu triển một số alcol nhị cấp với xúc tác PSL

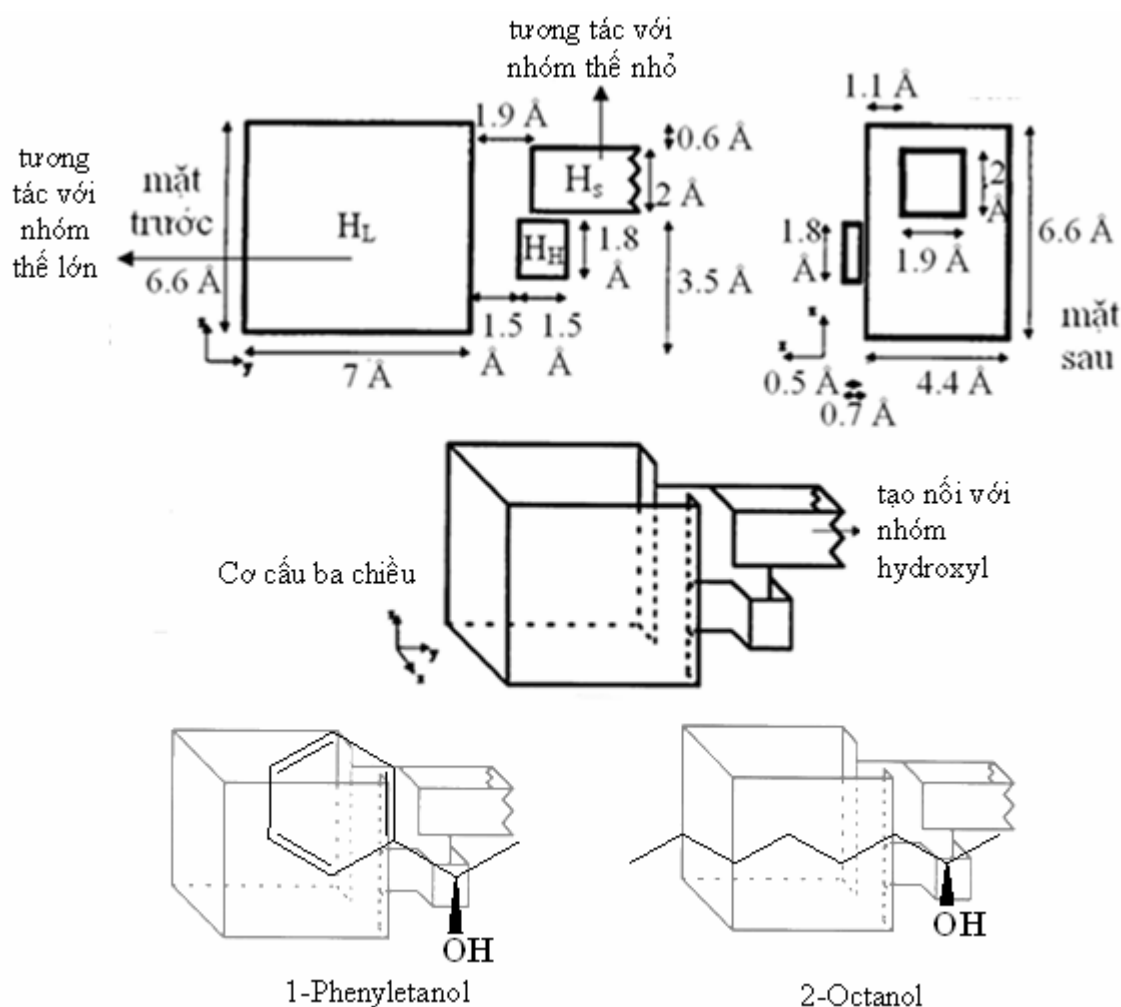
Stt	Alcol	%GC			%ee _{ester}	Hiệu suất (%)
		Alcol	Ester			
			(R)	(S)		
29	Octan-2-ol	62,089	1,892	36,010	90	53
30	Heptan-2-ol	70,081	1,942	27,977	87	44
31	Hexan-2-ol	73,717	2,085	24,198	84	40
32	Pentan-2-ol	75,311	3,502	21,187	72	31
33	Butan-2-ol	83,367	5,734	10,899	31	15
34	1-Phenyletanol	(R) 23,258 (S) 49,937	-	26,807	100 (%ee _{alcol} 36)	40

Từ octan-2-ol đến butan-2-ol, dây carbon ngắn dần, độ chọn lọc đối phân và hiệu suất phản ứng giảm. Điều này có thể được giải thích do cấu tạo của trung tâm hoạt động (TTHĐ) của PSL. Grabuleda mô tả TTHĐ của PSL gồm túi kị nước H_L

lớn (a large hydrophobic pocket) (7 × 6,6 × 4,4 Å³) tương tác với nhóm thế lớn (H_L tương tác tốt với nhóm phenyl tốt hơn dây carbon dài), túi kị nước H_s (a tunnel-shaped hydrophobic pocket) dạng đường hầm (2 Å × 1,9 Å³) tương tác với nhóm

thể nhỏ, túi nhỏ và ưa nước hơn H_H (hydrophilic pocket) ($1,8 \times 1,8 \times 1,5 \text{ \AA}^3$) cần trong việc tạo nối với nhóm hydroxyl của alcol. Túi kị nước H_L tương tác tốt với nhóm thế lớn; do đó, octan-2-ol cho kết quả tốt nhất do có dây carbon dài nhất; kết quả giảm dần khi dây carbon ngắn dần và butan-2-ol cho kết quả thấp

nhất. Điều này có thể giải thích là do octan-2-ol có dây carbon dài vừa với với kích thước của túi kị nước H_L , trong khi butan-2-ol có dây carbon ngắn, nổi lẻo với túi H_L nên dễ dàng rời khỏi vị trí xúc tác của lipaz làm phản ứng xảy ra khó khăn hơn.



Hình 1. Cấu tạo của PSL và sự sắp xếp 1-phenylethanol và octan-2-ol trong TTHĐ của PSL [7]

Kết quả này phù hợp với quy tắc thực nghiệm Kazlauskas: PSL ưu đãi xúc tác cho đối phân R của alcol nhị cấp mang nhóm thế nhỏ và lớn tại tâm thủ

tính hydroxy metan và sự chọn lọc càng tăng khi sự khác biệt về kích thước của hai nhóm thế này càng tăng.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu của đề tài có thể tóm tắt lại như sau:

- Khảo sát được điều kiện tối ưu cho phản ứng transester hóa octan-2-ol. Áp dụng điều kiện tối ưu của octan-2-ol lên heptan-2-ol, hexan-2-ol, 1-pentanol, butan-2-ol, 1-phenyletanol.

- Thực nghiệm cho thấy khi dây carbon ngắn dần hiệu quả xúc tác của PSL càng giảm. PSL cho kết quả tốt nhất với 1-phenyletanol.

- Heptan-2-ol, hexan-2-ol, pentan-2-ol, butan-2-ol chưa được nghiên cứu trên cùng lipaz PSL trong hóa vẩn.

- Các phương pháp kích hoạt xanh như vi sóng và siêu âm được thực hiện và cho kết quả không tốt trong trường hợp này.

- Phản ứng sử dụng xúc tác xanh là PSL, bền vững cho môi trường.

- Phân giải hỗn hợp tiêu triền 1-phenyletanol có thể thu được hai đối phân (*R*) và (*S*) tinh khiết là hai đối phân có giá trị. (*R*) và (*S*)-1-phenyletanol tinh khiết dùng để tách đối phân trong các hỗn hợp tiêu triền khác. (*S*)-(-)-1-phenyletanol dùng trong tổng hợp polimer tinh thể lỏng hướng nhiệt sử dụng trong một số ngành kỹ thuật cao và là nguyên liệu điều chế 2-halogeno-1-phenyletanol và oxid stiren quang hoạt dùng trong dược phẩm, hóa chất nông nghiệp, trung gian trong tổng hợp hữu cơ.

Với các kết quả đã đạt được chúng tôi hi vọng sẽ tiếp tục nghiên cứu trên nhiều hợp chất khác để mở rộng khả năng ứng dụng của PPL trong tổng hợp hữu cơ nhất là trong việc điều chế các hợp chất thủ tính, đặc biệt là các alcol có dây carbon dài và mang các nhóm thế hương phươg.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Uwe T. Bornscheuer (2002), "Microbial carboxyl esterases: classification, properties and application in biocatalysis", *FEMS Microbiology Reviews*, 26, pp. 73-81.
2. J. Carey, D. Laffan, C. Thomson, M. Williams (2006), "Analysis of the reactions used for the preparation of drug candidate molecules" *Org. Biomol. Chem.*, 4, pp. 2337-2347.
3. Ernest L. Eliel, Samuel H. Wilen (1994), *Stereochemistry of Organic Compounds*, Wiley-Interscience, New York.
4. T. Ema (2004), "Mechanism of enantioselectivity of lipase and other synthetically useful hydrolases", *Curr. Org. Chem.*, 8, pp. 1009-1025.
5. Vicente Gotor-Fernández, Vicente Gotor (2007), "Chapter 18: Use of lipases in organic synthesis", *Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications*, Springer, Dordrecht, pp. 301-309.
6. M. Gavrilescu, Y. Chisti (2005), "Biotechnology - a sustainable alternative for chemical industry", *Biotechnol. Adv.*, 23, pp. 471-499.
7. X. Grabuleda, C. Jaime, A. Guerrero (1997), "Estimation of the lipase PS (*Pseudomonas cepacia*) active site dimensions based on molecular mechanics calculations", *Tetrahedron: Asymmetry*, 8(21), pp. 3675-3683.

8. R. J. Kazlauskas, A. N. E. Weissfloch, A. T. Rappaport, L. A. Cuccia (1991), "A rule to predict which enantiomer of a secondary alcohol reacts faster in reactions catalysed by cholesterol esterase, lipase from *Pseudomonas cepacia*, and lipase from *Candida rugosa*", *J. Org. Chem.*, 56, pp. 2656-2665.
9. J. Kraut (1977), "Serine proteases: structure and mechanism of catalysis". *Annu. Rev. Biochem.*, 46, pp. 331-358.
10. Karin Lemke, Michael Lemke, Fritz Theil (1997), "A three-dimensional predictive active site model for lipase from *Pseudomonas cepacia*", *J. Org. Chem.*, 62(18), pp. 6268-6273.
11. A. Schmid, J. Dordick, B. Hauer, A. Kiener, M. Wubbolts, B. Witholt (2001), "Industrial biocatalysis today and tomorrow", *Nature*, 409, pp. 258-268.
12. Tanja Schulz, Jürgen Pleiss, Rolf D. Schmid (2000), Stereoselectivity of *Pseudomonas cepacia* lipase toward secondary alcohols: A quantitative model, *Protein Science*, 9, pp. 1053-1062.

(Ngày Tòa soạn nhận được bài: 03-7-2012; ngày phản biện đánh giá: 30-7-2012;
ngày chấp nhận đăng: 30-10-2012)