



ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR
Sör- és Szeszipari Tanszék

és



IVAX GYÓGYSZERKUTATÓ INTÉZET
Fermentációs Kísérleti Üzem

ARIL- ÉS ARALKIL-METIL KETONOK
SZTEREOSZELEKTÍV REDUKCIÓJA ÉLESZTŐKKEL

ERDÉLYI BALÁZS

DOKTORI ÉRTEKEZÉSÉNEK TÉZISEI

BUDAPEST
2005

A doktori iskola neve: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Biotechnológia

vezetője: Dr. Fekete András
egyetemi tanár
BCE, Fizika és Automatizálási Tanszék

Témavezető: Dr. Hoschke Ágoston
egyetemi tanár
BCE, Élelmiszertudományi Kar, Sör- és Szeszipari Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.



.....
Dr. Fekete András
Iskolavezető jóváhagyása



.....
Dr. Hoschke Ágoston
Témavezető jóváhagyása

A munka előzményei

A sztereoszelektív reakciókkal előállított termékek, illetve szintézis közttermékek mind nagyobb számban fordulnak elő a mai gyógyszer-szintézisekben. A növekvő számú és könnyen hozzáférhető enzimek –többek között a biokatalizált reakciók enyhe körülményei miatt– egyre jobban háttérbe szorítják a kémiai katalizátorokat a sztereoszelektív átalakítások során.

A Talampanel az epilepszia hatékony kezelésére szolgáló, mellékhatásoktól mentes leendőbeli gyógyszerkészítmény, ami jelen pillanatban a klinikai vizsgálatok II. fázisának lezárásánál tart. A Talampanel Intézetünkben (az akkori Gyógyszerkutató Intézet) találták fel, majd jelenlegi tulajdonosunk (IVAX Co., Miami, USA) az Eli Lilly gyógyszeripari vállalattal közösen döntött a gyógyszer világpiacon történő bevezetése mellett.

A hatóanyag jótékony hatását nem kizárólag az epilepsziában szenvedők fogják élvezni. Agydaganat és egyéb agyi megbetegedések kezelésében, valamint a Parkinson kór okozta tünetek visszaszorításában is hatékonyak bizonyult a Talampanel.

Az ipari léptékű szintézisút kifejlesztése Intézetünk feladata lett. A hétlépéses szintézis első lépése a prokirális (3,4-metiléndioxifenil)aceton sztereoszelektív redukciója, amelynek során a célmolekula királis centruma keletkezik.

Célkitűzések

A biokatalizátor optimalizált előállítása

1. A *Zygosaccharomyces rouxii* fenntartásának, és enzimstabilitásának vizsgálata.
2. A megfelelő táptalajok kifejlesztése; világszerte beszerezhető, állati eredetű komponenseket nem tartalmazó (egészségügyi előírások miatt, pl. BSE) inokulum és sejtermelő táptalajok fejlesztése, gazdaságossági szempontok figyelembevételével.
3. Az inokulum és a sejtermelő fermentáció körülményeinek optimalizálása.

A bioredukció fejlesztése

1. A hőmérséklet, a pH és a levegőztetés hatása a biokonverzióra.
2. A legmegfelelőbb keverési módszer kidolgozása, a gyanta mechanikai behatásokkal szembeni védelme.
3. A koszubsztrát minőségének és mennyiségének hatása a sztereoszelektivitásra, valamint a hozamra.

A követő molekulák szintézise és a biokatalizátorok tárolhatósága

1. A *Z. rouxii* és a *Debaryomyces hansenii* ketoreduktáz aktivitásának összehasonlítása 11 aril- és aralkil-metil keton redukcióján keresztül.
2. A különböző fagyasztási módok hatékonyságának vizsgálata.
3. A friss és a liofilizált sejtmassza enzimaktivitásainak összehasonlítása.

Anyagok és módszerek

A biokatalizátorok

A (3,4-metiléndioxifenil)aceton léptéknövelt sztereoszelektív redukciójához *Zygosaccharomyces rouxii* (ATCC 14462) élesztőtörzset alkalmaztunk. A további prokirális ketonok bioredukciójához a *Debaryomyces hansenii* (NCAIM Y00468) valódi élesztőt választottuk, mint ígéretes alternatív biokatalizátort.

A biokatalizátorok előállítása

Az élesztőket heti rendszerességgel passzáltuk, az inokulum tenyészeteket 10, a biokatalizátorként alkalmazott sejtmasszát pedig 1000 literes fermentorban állítottuk elő. A fermentlé sejtszeparálására centrifugát (laboratóriumi lépték), vagy dekantert (kísérleti üzemi lépték) alkalmaztunk.

A bioredukció

A prokirális ketonokon elvégzett redukcióhoz a szubsztráton kívül koszubsztrátként glükózt, illetve a *D. hansenii* esetében 2-propanolt adagoltunk a reakcióelegyhez. A növelt koncentrációjú (40 g/l) bioredukcióhoz gyantát (XAD-7) és Na₂HPO₄ oldatot is adtunk. A bioredukciót friss és liofilizált sejtekkel is elvégeztük.

Analitikai módszerek

A bioredukció hozamát denzitometriás vékonyréteg-kromatográfiás módszerrel követtük, míg a képződött alkoholok enantiomer arányát királis töltetű oszlopot tartalmazó HPLC módszerrel mértük.

Eredmények

Az inokulum előállításának vizsgálata

A GYKI-15 típusú fermentorban 22 órán keresztül tartott az exponenciális növekedési szakasz, melynek befejeztét a glükóz fogyását követő pH emelkedés, illetve a sejtkoncentráció növekedésének befejezése jelezte. Legjobb enzimaktivitású tenyészetet abban az esetben kaptunk, amikor a 22 órás tenyészettel oltottuk a főfermentációt.

A sejtermelő fermentációs táptalaj térfogatának mindössze 0,1%-val oltva is megfelelő aktivitású és sejtszámú fermentlevet kaptunk 10 literes fermentorban. A gyakorlatban azonban 1%-kal oltottuk az 1000 literes fermentort, mert így a magasabb kezdeti sejtkoncentráció mellett idegen mikroorganizmus felszaporodása még kisebb eséllyel fordulhatott elő. A 10% oltóanyag alkalmazásánál megfelelő sejtkoncentráció elérése mellett is gyenge enzimaktivitású sejtömeget kaptunk, mert a bioredukciós masszában nagy arányban (kb. 10%) voltak jelen előregedett sejtek.

A sejtmassza előállításával kapcsolatos eredmények

Három igénypont fogalmazódott meg egy új táptalajokat tartalmazó technológia kifejlesztésére:

- Megfelelő enzimaktivitású tenyészet előállítása.
- A táptalajok egyike sem tartalmazhat állati eredetű komponenst.
- Csökkentett költségű táptalajok (léptéknövelten is gazdaságos).

A kukoricafehérjét kukoricafehérje porral (Roquette, Solulys HPP) próbáltuk helyettesíteni, aminek előnye, hogy világszerte beszerezhető, és állandó minőségű komponens. Alkalmazásával nem kaptunk kielégítő enzimaktivitású sejtmasszát, ezért a kukoricafehérje megtisztítása mellett döntöttünk. Kifejlesztettünk egy egyszerű technológiát, melynek során megszabadultunk a hőre, és a magas pH-ra kicsapódó szennyezőktől. Az így előállított kukoricafehérje felülűszóból (CLS) szobahőmérsékleten és a semleges pH tartományban lejátszódó bioredukció során nem csapódott ki szennyező anyag.

A sejtermelő fermentáció pH görbéje szabályozás nélkül 4,0-4,5-ig csökkent a növekedés exponenciális szakaszában, majd a glükóz teljes kimerülése után 7,0 fölé emelkedett. A pH szabályozás hatásának vizsgálatát GYKI-15 típusú fermentorban végeztük el. Ammónia, illetve nátrium-hidroxid oldattal úgy szabályoztuk a fermentálé pH-ját, hogy az ne csökkenjen 6,0 alá. A 24 órás tenyésztés után megvizsgáltuk a PMW-t és a sejtömeg enzimaktivitását. A sejtkoncentrációban nem tapasztaltunk különbséget, míg az ammónia oldattal szabályzott

tenyészet enzimaktivitása gyengének bizonyult. A tenyészet enzimaktivitása azonban pH szabályozás nélküli növesztés mellett is megfelelő volt.

Az alkalmazott folyamatirányító rendszer részeként egy oldott oxigén szabályozó programot fejlesztettünk ki. Két beavatkozási sorrend közül választhattunk: levegőztetés – keverés – nyomás, vagy keverés – levegőztetés – nyomás. Esetünkben az oldott oxigén hirtelen és gyors zuhanását csak a levegőztetés emelésével tudtuk ellensúlyozni (200 liter/percről 700 liter/percig emeltük), majd amikor elértük a levegőztetés emelésének felső határát, akkor a keverést emeltük 250 rpm-ről 350-ig, amennyiben ez sem volt elegendő, a belső nyomást növeltük 0,2-ről 0,4 barra. Alsó relatív oldott oxigén szintnek a 30%-ot választottuk. Érdekes eredmény, hogy a rosszul levegőztetett körülmények ($DO \leq 30\%$) között előállított sejtmassza tömege kisebb, de enzimaktivitása megegyezik a jól levegőztetett tenyészetek aktivitásával.

Multi-funkcionális mintavevő berendezés gyantát tartalmazó rendszerekhez

Kifejlesztésre került egy olyan mintavevő berendezés, amelyik önmagában alkalmas a nedves, és a száraz gyanta mennyiségének meghatározására, továbbá a gyanta felületén adszorbeált termék/szubsztrát leoldására szerves oldószer átszívásával.

A hőmérséklet hatása a bioeredukcióra

Sem hozamban, sem enantiomer tisztaságban nem tapasztaltunk különbséget 25 és 36°C közötti tartományban. Technológiai szempontból a lehető legalacsonyabb hőmérséklet kívánatos, hogy az idegen mikroorganizmusok ne szaporodhassanak fel a bioeredukció során.

A levegőztetés hatása

A reakció a levegőztetéstől függetlenül zajlott le. Egyedüli problémát a szén-dioxid feldúsulása, és az ezzel együttjáró pH csökkenés okozott. Ezt kizárólag légmentesen zárt edényben tapasztaltuk, azonban enyhe keverés is már a szén-dioxid kilevegőzését okozta. A baktériumok felszaporodásának elkerülése érdekében azonban a levegő bevezetése nem javasolt. Laboratóriumi lépték mellett nitrogén bevezetésének hatására nem tapasztaltuk sem az élő sejtszám, sem az enzimaktivitás csökkenését. A szén-dioxid kihajtásának és az aerob baktériumok visszaszorításának érdekében nitrogén bevezetését javaslom a további léptéknöveléshez.

A reakcióelegy keverésének vizsgálata

A mágneskeverős kísérleti felállítás mellett összehasonlításképpen sikrázón is elvégeztük a kísérletet. Ez utóbbit vettük az elérhető legjobb reakciósebességnek, mivel itt a gyanta biztosan nem sérül. A gyanta nagyobb méretű keverőelem, valamint nagyobb fordulatszámú keverés hatására is elveszítette adszorbeáló képességét, ezzel megállította a reakció lefutását. A léptéknövelt bioredukció esetében a Rosenmund reaktor speciális keverőeleme 30 rpm keverési sebesség mellett többszöri felhasználás során sem rongálta a gyantát.

A koszubsztrát mennyiségének hatása

Az egész-sejtes bioredukciós rendszerek nagy előnye a kofaktor *in vivo* regenerálása. A NADP kofaktor redukációjához koszubsztrátra van szükség, melynek lebontása során NADPH keletkezik. Jónéhány cukrot és alkoholt megvizsgáltunk, és megállapítottuk, hogy az alkoholok nem megfelelő koszubsztrátjai a *Z. rouxii*-nak, a cukrok közül a glükóz és a szaharóz alkalmazása vezetett teljes átalakításhoz. Az emelt szubsztrátkoncentrációjú, gyantás rendszerhez 2 és 12% közötti mennyiségű cukrot adagoltunk. A 2 és 4% glükóz adagolása kevésnek bizonyult, 8% glükóz adagolása mellett kisebb szórással magasabb átlagértékkel kaptuk az alkoholt, mint 6% adagolása mellett. A 10 és 12% glükóz adagolásakor pedig a képződő etanol lehetett felelős az átalakítás gátlásáért.

*A *Z. rouxii* ketoreduktáz enzimrendszerének jellemzése*

A különböző fenilaceton származékok sztereoszelektív redukciója a Talampanel követők szintézise miatt vált fontossá, az acetofenon, a benzilaceton, illetve annak származéka, az anizilaceton pedig a lánchossz növekedése és a hozam, illetve az optikai tisztaság közötti összefüggés miatt volt érdekes számunkra. A vizsgált ketonok:

1a	(3,4-metiléndioxifenil)aceton
1b	fenilaceton
1c	(2-metoxifenil)aceton
1d	(3-metoxifenil)aceton
1e	(4-metoxifenil)aceton
1f	(3,4-dimetoxifenil)aceton
1g	(2,4-dimetoxifenil)aceton
1h	(4-klórfenil)aceton
2a	benzilaceton
2b	anizilaceton
3	acetofenon

Az alacsony terhelés mellett (10 mmól) a 60% alatti hozam értékeket gyengének minősítettük. Az ilyen szubsztrátok esetében (**1c**, **1f**, **1g**, **2a**, **2b**, **3**) más biokatalizátort kell keresni, amennyiben szükség lesz a belőlük képzett alkoholokra, egy kiválasztott hatóanyag szintézise

során. A *Z. rouxii* a szubsztituálatlan fenilacetont (**1b**) jobb hozammal alakította át, mint a talamapanel kiindulási szubsztrátját (**1a**). Esetünkben az enzimes reakciót jobban befolyásolja a szubsztitúciós csoport helye, mint a csoport minősége.

A 4. szénatomon halogénezett (**1h**), valamint a metoxi csoportot tartalmazó fenilaceton (**1e**) átalakítása is jó hozammal és enantiomer szelektivitással ment végbe, míg a 2. szénatomon metoxi csoportot tartalmazó származék (**1c**) átalakítása gyenge. Mivel a dimetoxi származékoknál (**1f**, **1g**) ugyanezt figyeltük meg, feltételezhetjük, hogy a 2. szénatomon lévő szubsztituens gátolja az enzim-szubsztrát kapcsolat kialakulását, ilyen származékok esetében más biokatalizátort kell találnunk.

A szénlánc növelése (**2a**) alacsonyabb enantiomer tisztaságot eredményezett, míg a rövidebb szénláncú acetofenont (**3**) tökéletes optikai tisztasággal redukálta a *Z. rouxii*. A hozam értékek viszont ezzel ellentétesek; az acetofenont gyenge hozam mellett alakította át optikailag tiszta alkohollá. A hosszabb szénláncú benzilaceton esetében is láthatjuk, hogy a 4. szénatom szubsztituense segíti az enantiomer irányultságot, akárcsak a fenilaceton esetében, a benzilacetonnál is magasabb enantiomer értéket kaptunk a 4-metoxi származékok esetében (**1b** vs **1e** és **2a** vs **2b**).

A D. hansenii ketoreduktáz enzimrendszerének megfelelő koszubsztrát kiválasztása

Ennél a törzsnél is több koszubsztrátot vizsgáltunk meg, hogy kiválasszuk a törzs enzimrendszerének legmegfelelőbbet. A primer alkoholok és a szénhidrátok adagolása mellett alacsony hozammal ment végbe a bioredukció (**1a**, **2a**), viszont mindkét vegyület bioredukciója nagy hozammal ment végbe 2-propanol adagolása mellett. Vizsgálataink során megállapíthattuk, hogy az alkalmazott törzsek esetében a koszubsztrát minősége a hozamra nagy mértékben, míg az enantiomer tisztaságra nincs hatással.

A szubsztráttolerancia vizsgálata

A vizsgált ketonok mindegyikén elvégeztük a bioredukciót és összevetettük a *Z. rouxii* alkalmazása során kapott eredményekkel. Az alkalmazott *D. hansenii* törzs ketoreduktáz enzimrendszere szélesebb szubsztráttoleranciával rendelkezik. A vizsgált 11 aril metil ketont 57-99% hozam értékek mellett alakította át, a 2. szénatomon szubsztituált fenilaceton származékokat (**1c**, **1g**) is megfelelő hozammal és magas enantiomer tisztasággal redukálta. A *D. hansenii* kisebb hozammal redukálta a 4-metoxi (**1e**), nagyobb hozammal 3-4-dimetoxi származékot (**1f**) magas ee értékek mellett. Akárcsak a *Z. rouxii*, a *D. hansenii* is alacsony enantiomer tisztasággal redukálta a benzilacetont (**2a**), a 4-metoxi származéka (**2b**) szintén

jelentősen javította az optikai tisztaságot, de a reakció hozama itt is alacsony maradt. A fenilaceton (**1b**) és a 4-metoxi-fenilaceton esetében is (**1g**) a termék optikai tisztaságának javulását tapasztaltuk. A halogénezett származékot (**1h**) megfelelő hozammal és szintén tökéletes optikai tisztasággal redukálta a *D. hansenii* is. Nagy különbséget az acetofenon (**3**) redukciója során mértünk, szintén tökéletes optikai tisztaság mellett nagyobb hozammal állította elő az alkoholt.

A liofilizált biokatalizátorok ketoreduktáz aktivitása

A fagyasztás módjának hatása a biokatalizátorra

Első lépésként megvizsgáltuk, hogy a különböző fagyasztási módszerek milyen hatással vannak a liofilizátum későbbi életképességére és enzimaktivására. Azt tapasztaltuk, hogy lassú lehűtés, illetve a -200°C hőmérsékletig hűtés során az élő sejtszám csökkenése jelentős, valamint a sejtek enzimaktivitása is visszaesett. Az acetonos szárazjégben történő fagyasztás, majd szárítás után kapott por tömege 65-70%-kal kevesebb, mint a bemért sejtmasszáé. Amennyiben a sejtmasszát megtisztítottuk a szárítási művelet előtt, úgy fehér színű port kaptunk.

A liofilizált és a friss sejtmasszák enzimaktivitásának összehasonlítása

A liofilizált, majd regenerált biokatalizátor a hozamot tekintve nem hozott jelentősen eltérő eredményeket a friss sejtmasszával kapottaktól. Az ee értékek között viszont van magasabb érték, mint a friss sejtmasszával végzett redukcióknál. Az **1g**, illetve **2b** esetében kifejezetten magas enantiomer tisztaságot értünk el liofilizált sejtekkel.

Ugyanezt a kísérletsort elvégeztük a *D. hansenii* liofilizált, majd hasonlóképpen regenerált sejtmasszájával is. Az **1e** és a **2b** redukciótermékének enantiomer tisztasága jelentősen javult. A *D. hansenii* esetében általánosan elmondható, hogy a liofilizálás javított a biokatalizátor enzimrendszerének tulajdonaságain, míg a *Z. rouxii* enzimaktivitása nem változott jelentősen, az aktivitás enyhe csökkenését figyeltük meg.

Következtetések és javaslatok

A törzs fenntartása és az oltóanyag enzimaktivitásának folyamatos ellenőrzése egy szakképzett mikrobiológiai háttérrel igényel. Kísérleti eredményeink bizonyítják, hogy a jó enzimaktivitással rendelkező tenyészet liofilizált készítménye megfelelő oltóanyag az inokulum fermentor oltásához. A Talampanel előállításának első lépcsőjét az általunk kifejlesztett technológiával ipari léptékben is megoldhatónak gondoljuk. A további léptéknövelésnél problémát okozhat a sejtmassza szeparálása. Az általunk alkalmazott Flottweg dekanterrel 6 óra alatt tudtuk az 1000 liter fermentléből a sejtmasszát kiülepíteni. Mivel szilárd szennyező részecskét nem tartalmaz a fermentlé, ezért egy ipari léptékű tányéros szeparátort javaslok a nagyobb térfogatú fermentlevek ülepítéséhez.

A *Z. rouxii* és a *D. hansenii* ketoreduktáz enzimaktivitását összehasonlítva megállapítottuk, hogy a *D. hansenii* egy jó alternatívát jelenthet a *Z. rouxii* kiváltására számos prokirális keton esetében. A *D. hansenii* szélesebb szubsztráttoleranciájú enzimrendszerrel rendelkezik, valamennyi vizsgált ketont elfogadható hozammal redukálta, magas ee értékek mellett.

A liofilizált sejtmassza nem csak oltóanyagként került felhasználásra. Egy rövid regenerációs idő után kiváló biokatalizátort kaptunk, amelyik hasonló aktivitással, néha jobb enantiomer tisztasággal állította elő a királis alkoholokat. Amennyiben a biokatalizátor előállítása és a Talampanel szintézise időben/térben elkülönül, úgy érdemes megvizsgálni a porlasztva szárított sejtmassza ketoreduktáz aktivitását is.

Új tudományos eredmények

1. Új táptalajt dolgoztunk ki a biokatalizátor előállítására, optimalizáltuk az oltóanyag előállításának körülményeit. Egy olyan fermentációs technológiát fejlesztettünk ki, amelyik ipari körülmények között is reprodukálhatóan alkalmas a biokatalizátor gazdaságos előállítására.
2. A kofaktor *in vivo* regenerálásához nélkülözhetetlen koszubsztrát mennyiségét optimalizáltuk a gyantás közegű bioredukcióhoz. A *D. hansenii* hatékony koszubsztrátjának a 2-propanolt választottuk.
3. Új mintavevő és mintaelőkészítő eszközt fejlesztettünk, amely alkalmas gyantát tartalmazó reakcióelegyből való analitikai célú mintavételre.
4. A *Z. rouxii* ketoreduktáz aktivitását különböző aril- és aralkil-metil ketonok sztereoszelektív redukciójával jellemeztük.
5. A *Z. rouxii* ketoreduktáz aktivitását összehasonlítottuk a *D. hansenii* enzimaktivitásával, és legfontosabb eredményként megállapítottuk, hogy az utóbbi szélesebb szubsztráttoleranciával rendelkezik, valamint a vizsgált ketonok nagy részén magas ee érték mellett végezte el a redukciót.
6. A liofilizálás megfelelő módszer a biokatalizátorként használt élesztősejtek tárolási idejének megnövelésére, valamint szállítható állapotba hozására. A liofilizált sejtek enzimaktivitása jelentősen nem csökkent, néhány esetben pedig nagyobb ee értéket kaptunk, mint friss sejtek alkalmazásakor.
7. Az általunk tesztelt élesztőtörzsek és ketonok esetében megdőlt az általános nézet, miszerint a szénlánc hosszúságával nő az ee érték. Esetünkben az acetofenont magasabb ee érték mellett redukálták a vizsgált élesztők, mint a hosszabb szénláncú benzilacetont.

Az értekezés témakörében megjelent publikációk

Folyóiratban megjelent közlemények

1. B. Erdélyi, L. Birincsik and A. Szabó: TLC method for quantitation of methylenedioxyphenylacetone and its derivative formed in a resin-added bioreduction process. *Journal of Planar Chromatography*, (2003) **16**, 246-248. [1,049]
2. B. Erdélyi, A. Szabó and L. Birincsik: Process development of methylenedioxyphenylacetone chiral bioreduction, *Journal of Molecular Catalysis: B Enzymatic*, (2004) **29**, 195-199. [1,475]
3. B. Erdélyi, A. Szabó, L. Birincsik, G. Seres, J. Salát, J. Ivanics and A. Kónya: TLC/HPTLC and HPLC methods for monitoring microbial transformation processes, *Journal of Planar Chromatography*, (2004) **17**, 132-136. [1,049]
4. A. Szabó, B. Erdélyi: Magnetizable molecular model (MMM) – behaviour of enantiomers in magnetic fields. *Journal of Molecular Structure THEOCHEM*, (2005) **715**, 215-217. [1,027]

Előadások és poszterek

5. B. Erdélyi and G. Keresztúri: Process development and scale-up of *Zygosaccharomyces rouxii* fermentation for the bioreduction of 3,4-methylenedioxyphenyl-2-propanone. Poster on Power of Microbes in Industry and Environment, Opatija, Croatia. 7-9 June, 2002. Abstract: P57.
6. Erdélyi B. és Birincsik L.: *Zygosaccharomyces rouxii* sejtmassza előállításának méretnövelése, valamint mérési módszer kidolgozása a sejt enzimaktivitásának ellenőrzésére. Poszter a Magyar Mikrobiológiai Társaság 2002. évi Nagygyűlésén, Balatonfüred, 2002. október 8-10.
7. B. Erdélyi, A. Szabó and L. Birincsik: Optimization of methylenedioxyphenylacetone chiral bioreduction. Poster on 6th International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations, Olomouc, Czech Republic, 28 June- 3 July, 2003. Abstract in *Chem. Listy*, **97**, 502.
8. B. Erdélyi, A. Szabó, L. Birincsik, Gy. Máté, I. Láng and A. Kónya: Chiral bioreduction of different phenylacetone derivatives using *Zygosaccharomyces rouxii*. Poster on 23rd International Specialised Symposium on Yeasts, Budapest, Hungary, 26-29 August, 2003.
9. B. Erdélyi, A. Szabó, L. Birincsik, J. Salát and G. Seres: TLC methods for survey microbiological transformation processes. Oral presentation on International Symposium for High Performance Thin Layer Chromatography, Lyon, France, 15-18 October, 2003.
10. Erdélyi B., Szabó A., Ivanics J., Birincsik L., Kónya A. és Seres G.: Királis alkoholok előállítása aromás ketonok bioredukciójával. Előadás az MTA Terpenoidkémiai és Elemorganikus Munkabizottság szakmai előadóján, 2004. április 2.
11. Erdélyi B., Birincsik L., Szabó A. és Seres G.: Kromatográfiai módszerek bioredukciós folyamatok nyomonkövetésére. Előadás az Analitikai Vegyészkonferencián, Balatonföldvár, 2004. június 30.–július 2.
12. B. Erdélyi, J. Ivanics, A. Szabó and A. Kónya: Stereoselective reduction of aryl methyl ketones by *Zygosaccharomyces rouxii* and *Debaryomyces hansenii*. Poster on the 1st International Conference on Industrial, Environmental and Applied Microbiology, Badajoz, Spain, 15-18th March, 2005.